

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**Depto. Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal.**

**EFEITOS DA INGESTÃO DE PROTEÍNA DEGRADÁVEL NO RÚMEN  
SOBRE ASPECTOS REPRODUTIVOS DE TOUROS**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e  
Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, Câmpus  
de Jaboticabal, para obtenção do título de Doutor em  
Medicina Veterinária.

Área de concentração: Reprodução animal

**PÓS-GRADUANDO: ERIC DE LAURENTIZ CAIADO CASTRO**

**ORIENTADOR: Prof. Dr. CESAR ROBERTO ESPER**

**Jaboticabal/SP**

**Março/2006**

**DEDICO...**

Com todo meu respeito e admiração ao **professor Dr. Cesar Roberto Esper**, amigo fiel e dedicado orientador, sempre disposto a compartilhar seus conhecimentos e experiências com contagiante entusiasmo pela profissão. Exemplo de seriedade, humildade, amor a família e a profissão de médico veterinário. Agradeço por toda sua dedicação...

**OFEREÇO....**

Ao meu filho Marcelo e minha esposa Viviane pela alegria e amor que proporcionam à minha vida

Ao meu pai Welington e minha mãe Eliana pela dedicação, ajuda e aconchego.

À memória de meu avô José de Laurentiz Junior...  
... Muitas saudades...

## **AGRADEÇO**

Ao meu orientador prof. Dr. Cesar Roberto Esper

Ao prof. Dr. Joaquim Mansano Garcia, prof. Dr. Francisco Guilherme Leite, prof. Dr. Gilson Hélio Toniollo, prof. Dra. Vera F. M. Hossepian de Lima, prof. Dr. Wilter R. R. Vicente e prof. Dr. Paulo Henrique Franceschini, pela amizade, pelas preciosas sugestões, pela dedicação e por um ambiente de trabalho produtivo e descontraído.

Aos integrantes da banca de qualificação, prof. Dr. Gilson Hélio Toniollo, Dr. Paulo Henrique Franceschini, prof. Dr. Antonio Carlos Alessi, prof. Dr. Ricardo Reis e prof. Dr. César Roberto Esper pelas brilhantes e sinceras sugestões.

Aos meus irmãos Elisana, Eline, Eduardo, meu sobrinho João Henrique, minha avó Henriqueta e cunhados Alessander, Jerrinho, Juninho e Sheyla por toda atenção, carinho e amizade.

Ao meu tio José de Laurentiz Neto, por ter me entusiasmado e proporcionado sua agradável e reconfortante presença em todos momentos.

Ao meu sogro e sogra José Maurício Dias e Kelen S. Sgobbi Dias pelo incentivo e companherismo.

Aos amigos prof. Dr. Sergio De Bortoli e Angela pela amizade.

A amiga prof. Dra. Rosângela Z. Machado, pela confiança e segurança que me deu paz interior para ampliar meus horizontes...

Ao competente amigo Dr. Rogério Marchiori Coan pela amizade e pelo suporte na formulação da ração bem como por ter esclarecido muitas dúvidas.

Ao Laboratório de Nutrição Animal (LANA) do Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP – Câmpus de Jaboticabal pelas análises bromatológicas.

Ao prof. Dr Antonio Carlos Santana Castro pelas sugestões e pelo auxílio na colheita de material para histologia

A Vando Edésio Soares pela análise estatística do experimento.

Aos amigos Ivo Luiz de Almeida, Roberta Vantini, Renata Lemos Nagib Jorge, Alexandre Biondi, Ana Paula Oliveira Sader e sr. Orandi Mateus pelo valioso auxílio técnico...

A Isabel Aparecida Penariol Ntarelli pelo capricho e eficiência na secretaria do departamento de reprodução animal.

Ao prof. Dr. José Jurandir Fagliari e prof. Dr. Enrico Lippi Ortolani pelas sugestões e por disponibilizarem seus laboratórios.

A Clara Satsuki Mori pela preciosa colaboração nas técnicas laboratoriais de dosagem de amônia.

A Damares Perecim Roviero por todo empenho nas dosagens de testosterona.

A minha esposa Viviane S. Dias de Caiado Castro por todo apoio profissional e emocional.

A todos amigos do Departamento de Reprodução, Tânia, Marcelo Costa, Erica Morani, Sandra, Walt, Lucia, José Antonio, Alexandre, Chris, Felipe, Naiara, Max, Edson, Letícia, Andréia, Raquel, Karina, Gerson Azeredo, Marcelo Seneda, Marcelo Roncoleta, Sara, Cassiana, Antônio, Gisele, Everaldo, Simone, Loro e Ju, entre outros..., pela amizade e pelos bons momentos.

A Christina R. Ferreira e Felipe Perecin pela indispensável colaboração.

Aos estagiários e amigos Gisele, Roberta e Gustavo pela dedicação.

Aos amigos Paulo André Rampazzo, Roberto, Helio, Cavi, João, Robertinho e Carrapicho pela eficiência e dedicação com que prepararam as rações, trataram os animais e ajudaram nas colheitas.

À Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus Jaboticabal, por toda estrutura, organização e eficiência que oferece aos seus alunos.

Ao serviço bibliotecário e a seção de pós-graduação da Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus Jaboticabal por todo apoio e dedicação.

À Universidade de Alfenas (UNIFENAS) por ter me proporcionado adequada formação acadêmica e ser um lugar onde conheci grandes amigos.

A Deus por me guiar pelos melhores caminhos...

## SUMÁRIO

|                                                                                                            |      |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| INDICE DE TABELAS.....                                                                                     | viii |
| INDICE DE FIGURAS.....                                                                                     | ix   |
| LISTA DE ABREVIATURAS.....                                                                                 | xi   |
| RESUMO.....                                                                                                | xii  |
| SUMMARY.....                                                                                               | xiv  |
| I.INTRODUÇÃO.....                                                                                          | 1    |
| II.REVISÃO DA LITERATURA.....                                                                              | 3    |
| 2.1 Diferentes exigências nutricionais entre <i>Bos taurus taurus</i> e<br><i>Bos taurus indicus</i> ..... | 3    |
| 2.2 Excessos na nutrição de touros.....                                                                    | 5    |
| 2.3 Alta Proteína Bruta na dieta – efeitos nos parâmetros reprodutivos.....                                | 5    |
| 2.4 Aspectos da digestão da proteína em ruminantes.....                                                    | 6    |
| 2.4.1 Nitrogênio protéico e nitrogênio não protéico.....                                                   | 8    |
| 2.4.2 Degradabilidade da proteína no rúmen.....                                                            | 9    |
| 2.4.3 Necessidade de energia na síntese de proteína microbiana.....                                        | 10   |
| 2.5 Amônia e uréia.....                                                                                    | 11   |
| 2.5.1 Mecanismos de intoxicação.....                                                                       | 12   |
| 2.5.2 Urease.....                                                                                          | 14   |
| 2.5.3 Transporte pela membrana celular.....                                                                | 14   |
| 2.5.4 Mecanismo de desintoxicação.....                                                                     | 15   |
| 2.5.5. Efeitos sobre a reprodução.....                                                                     | 16   |
| 2.6. Reversão de planos alimentares.....                                                                   | 18   |
| III.OBJETIVOS.....                                                                                         | 19   |
| 3.1 Gerais.....                                                                                            | 19   |
| 3.2 Específicos.....                                                                                       | 19   |
| IV.MATERIAL E MÉTODOS.....                                                                                 | 20   |
| 4.1 Local.....                                                                                             | 20   |
| 4.2 Grupos experimentais.....                                                                              | 20   |
| 4.3 Colheita e avaliação do sêmen.....                                                                     | 23   |
| 4.4 Análises laboratoriais.....                                                                            | 24   |
| 4.5 Avaliação histopatologica dos testículos.....                                                          | 24   |

|                                             |    |
|---------------------------------------------|----|
| 4.6 Análise estatística.....                | 25 |
| V.RESULTADOS.....                           | 26 |
| 5.1 Exames físicos do sêmen.....            | 26 |
| 5.2 Morfologia espermática.....             | 35 |
| 5.3 Dosagens sanguíneas.....                | 40 |
| 5.4 Análise histológica dos testículos..... | 47 |
| VI.DISSCUSSÃO.....                          | 50 |
| VII.CONCLUSÕES.....                         | 55 |
| VIII.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....        | 56 |
| IX.APÊNDICES.....                           | 67 |

## ÍNDICE DE TABELAS

|                   |                                                                                                                                                                                                             |    |
|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1.</b>  | Composição do grupo experimental.....                                                                                                                                                                       | 20 |
| <b>Tabela 2.</b>  | Dietas fornecidas aos touros em função do grupo experimental que pertenciam e ao tempo decorrido de experimento.....                                                                                        | 22 |
| <b>Tabela 3.</b>  | Níveis nutricionais da ração de acordo com os tratamentos.....                                                                                                                                              | 22 |
| <b>Tabela 4</b>   | Turbilhonamento (0-5) dos ejaculados dos touros do grupo Cq (110% PDR acima NRC), grupo G (30 e 75% PDR acima NRC) e grupo C em relação ao período experimental.....                                        | 27 |
| <b>Tabela 5.</b>  | Motilidade espermática (%) dos ejaculados dos touros do grupo Cq (110% PDR acima NRC), grupo G (30 e 75% PDR acima NRC) e grupo C em relação ao período experimental.....                                   | 29 |
| <b>Tabela 6.</b>  | Vigor espermático (0-5) dos ejaculados dos touros do grupo Cq (110% PDR acima NRC), grupo G (30 e 75% PDR acima NRC) e grupo C em relação ao período experimental.....                                      | 31 |
| <b>Tabela 7.</b>  | Concentração espermática (0-5) dos ejaculados dos touros do grupo Cq (110% PDR acima NRC), grupo G (30 e 75% PDR acima NRC) e grupo C em relação ao período experimental.....                               | 33 |
| <b>Tabela 8.</b>  | Valores médios dos defeitos maiores dos espermatozóides (%) dos ejaculados dos touros dos grupo Cq (110% PDR acima NRC), grupo G (30 e 75% PDR acima NRC) e grupo C em relação ao período experimental..... | 36 |
| <b>Tabela 9.</b>  | Valores médios dos defeitos menores dos espermatozóides (%) dos ejaculados do grupo Cq (110% PDR acima NRC), grupo G (30 e 75% PDR acima NRC) e grupo C em relação ao período experimental.....             | 38 |
| <b>Tabela 10.</b> | Concentrações médias de uréia (mg/dl) no plasma sanguíneo dos touros do grupo Cq (110% PDR acima NRC), grupo G (30 e 75% PDR acima NRC) e grupo C em relação ao período experimental.....                   | 41 |
| <b>Tabela 11.</b> | Concentrações médias de amônia (mg/dl) no plasma sanguíneo dos touros do grupo Cq (110% PDR acima NRC), grupo G (30 e 75% PDR acima NRC) e grupo C em relação ao período experimental.....                  | 43 |
| <b>Tabela 12.</b> | Concentrações médias de testosterona (mg/dl) no plasma sanguíneo dos touros do grupo Cq (110% PDR acima NRC), grupo G (30 e 75% PDR acima NRC) e grupo C em relação ao período experimental.....            | 45 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1.</b> Valores médios e desvio padrão do turbilhonamento dos ejaculados dos touros dos grupos (C, G, Cq ) no período experimental.....                      | 28 |
| <b>Figura 2.</b> Valores médios e desvio padrão do turbilhonamento dos ejaculados dos touros entre as subespécies taurina e zebuína.....                              | 28 |
| <b>Figura 3.</b> Valores médios e desvio padrão da motilidade dos ejaculados dos touros dos grupos (C, G, Cq ) no período experimental.....                           | 30 |
| <b>Figura 4.</b> Valores médios e desvio padrão da motilidade dos ejaculados dos touros entre as subespécies taurina e zebuína.....                                   | 30 |
| <b>Figura 5.</b> Valores médios e desvio padrão do vigor dos ejaculados dos touros dos grupos (C, G, Cq ) no período experimental.....                                | 32 |
| <b>Figura 6.</b> Valores médios e desvio padrão do vigor dos ejaculados dos touros entre as subespécies taurina e zebuína.....                                        | 32 |
| <b>Figura 7.</b> Valores médios e desvio padrão da concentração dos ejaculados dos touros dos grupos (C, G, Cq ) no período experimental.....                         | 34 |
| <b>Figura 8.</b> Valores médios e desvio padrão da concentração dos ejaculados dos touros entre as subespécies taurina e zebuína.....                                 | 34 |
| <b>Figura 9.</b> Valores médios e desvio padrão dos defeitos maiores dos espermatozóides dos touros dos grupos (C, G, Cq ) no período experimental.....               | 37 |
| <b>Figura 10.</b> Valores médios e desvio padrão dos defeitos maiores dos espermatozóides dos touros entre as subespécies taurina e zebuína.....                      | 37 |
| <b>Figura 11.</b> Valores médios e desvio padrão dos defeitos menores dos espermatozóides dos touros dos grupos (C, G, Cq ) no período experimental.....              | 39 |
| <b>Figura 12.</b> Valores médios e desvio padrão dos defeitos menores dos espermatozóides dos touros entre as subespécies taurina e zebuína.....                      | 39 |
| <b>Figura 13.</b> Valores médios e desvio padrão das concentrações de uréia no plasma sangüíneo dos touros nos grupos (Cq, G e C) durante o período experimental..... | 42 |
| <b>Figura 14.</b> Valores médios e desvio padrão das concentrações de uréia no plasma sangüíneo dos touros entre as subespécies taurina e zebuína.....                | 42 |
| <b>Figura 15.</b> Valores médios e desvio padrão das concentrações de amônia no plasma sangüíneo dos animais dos grupos Cq, G e C durante o período experimental..... | 44 |
| <b>Figura 16.</b> Valores médios e desvio padrão das concentrações de amônia no plasma sangüíneo dos touros entre as subespécies taurina e zebuína.....               | 44 |

|                                                                                                                                                                                                              |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 17.</b> Valores médios e desvio padrão das concentrações de testosterona no plasma sanguíneo dos animais dos grupos (Cq, G e C) durante o período experimental.....                                | 46 |
| <b>Figura 18.</b> Valores médios e desvio padrão das concentrações de testosterona no plasma sanguíneo dos touros entre as subespécies taurina e zebuína.....                                                | 46 |
| <b>Figura 19.</b> Fotomicrografias de testículos (A,B,C e D) e cauda do epidídimo (E,F,G e H) de touros ( <i>Bos taurus indicus</i> ) submetidos a dietas de alto nível de proteína degradável no rúmen..... | 48 |
| <b>Figura 20.</b> Fotomicrografias de testículos (A,B,C e D) e cauda do epidídimo (E,F,G e H) de touros ( <i>Bos taurus taurus</i> ) submetidos a dietas de alto nível de proteína degradável no rúmen.....  | 49 |

## LISTA DE ABREVIATURAS

|                              |                                        |
|------------------------------|----------------------------------------|
| AFRC                         | Agricultural and Food Research Council |
| C                            | Grupo controle                         |
| COOH                         | Carboidratos (grupo carboxila)         |
| Cq                           | Grupo choque                           |
| DC                           | Dieta controle                         |
| DEP                          | Diferença esperada progênie            |
| EDTA                         | Ácido etileno diamino tetra-acético    |
| EE                           | Estrato etéreo                         |
| ENN                          | Estrativo não nitrogenado              |
| FDN                          | Fibra detergente neutro                |
| G                            | Grupo gradual                          |
| H <sup>+</sup>               | Hidrogênio                             |
| IA                           | Inseminação Artificial                 |
| LH                           | Hormônio Luteinizante                  |
| mg                           | Miligrama                              |
| mg/dL                        | Miligrama por Decilitro                |
| MM                           | Matéria Mineral                        |
| mMol                         | Milimol                                |
| MS                           | Matéria Seca                           |
| N                            | Nitrogênio                             |
| NDT                          | Nutrientes Digestíveis Totais          |
| N-FDA                        | Fibra em Detergente Ácido              |
| N-FDN                        | Fibra em Detergente Neutro             |
| NH <sub>2</sub>              | Radical Amino                          |
| NH <sub>3</sub>              | Amônia                                 |
| NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> | Amônio                                 |
| NNP                          | Nitrogênio Não-Protéico                |
| NRC                          | National Research Council              |
| NUP                          | Nitrogênio uréico plasmático           |
| NUS                          | Nitrogênio uréico sanguíneo            |
| °C                           | graus Celsius                          |
| PAS                          | Ácido Periódico de Schiff              |
| PB                           | Proteína Bruta                         |
| PDR                          | Proteína Degradável no Rúmen           |
| PGF <sub>2α</sub>            | Prostaglandina F <sub>2α</sub>         |
| SAS                          | Statistical Analysis System            |
| T                            | Testosterona                           |
| UDP                          | Proteína Não Degradável no Rúmen       |
| μ Mol/L                      | MicroMol por Litro                     |

## RESUMO

Três grupos de 8 touros, sendo cada grupo formado por 4 animais da raça Simental (*Bos taurus taurus*) e 4 da raça Nelore (*Bos taurus indicus*), perfazendo um total de 24 touros com idade aproximada de 30 meses foram submetidos a dietas isoenergéticas com diferentes níveis de proteína degradável no rúmen e água *ad libitum*. As rações foram constituídas basicamente de feno de *Tifton 85*, farelo de soja, milho e uréia (Nitrogênio Não Protéico) e formuladas individualmente para cada touro de acordo com a análise bromatológica dos ingredientes, peso e ingestão dos animais. Na dieta do grupo controle (C) foram seguidas as normas do NRC (1996) para nutrição de touros em reprodução. Na dieta do grupo “gradual” (G) foram acrescidas 30% e, após quatro semanas, 75% de proteína degradável em relação à dieta controle, através do aumento na quantidade fornecida de uréia (NNP). Na dieta do grupo “Choque” o nível de proteína degradável foi 110% superior à ração do grupo controle durante todo o período experimental.

Os touros permaneceram em baias individuais e após o período de adaptação de 21 dias foram submetidos semanalmente a colheitas de sêmen. O sêmen dos animais foram obtidos por eletroejaculação e avaliados quanto aos exames físicos do sêmen (turbilhonamento, motilidade, vigor e concentração) e morfologia espermática durante o período experimental de 15 semanas. Foram realizadas colheitas semanais de sangue 2 horas após a alimentação dos animais com a finalidade de mensurar os níveis plasmáticos de amônia e uréia durante seu pico de produção.

Os ejaculados dos touros dos grupos tratados (Cq e G) apresentaram menor turbilhonamento, motilidade, vigor e concentração em relação ao grupo controle (C) a partir da décima terceira semana de experimento ( $P<0,01$ ). Em relação à morfologia espermática observou-se maior número de defeitos maiores nos taurinos ( $P<0,05$ ) durante todo período experimental, porém, não foram observadas diferenças significativas entre tratamentos quanto aos aspectos analisados. Foram encontradas diferenças significativas na uréia plasmática ( $P<0,01$ ) dos touros em relação aos tratamentos. O grupo choque e gradual apresentaram valores bem acima do grupo controle desde a quarta semana do período experimental

( $P < 0,01$ ). Observou-se que os animais da subespécie zebuína apresentaram concentrações de amônia e uréia superiores aos taurinos ( $P > 0,05$ ). Não foram observadas diferenças na concentração de testosterona entre os touros sob diferentes tratamentos nas condições deste estudo.

Pelos resultados encontrados, pode-se concluir que touros alimentados com dietas com altos níveis de proteína degradável no rúmen podem ter sua fertilidade comprometida, caso não seja acompanhada de adequado suporte energético.

**Palavras-chave: touros, sêmen, espermatogênese, balanço energético, proteína, uréia, amônia**

## SUMMARY

Three experimental groups, each containing eight bulls, were given isoenergetic diets with different levels of ruminal-degradable protein and *ad libitum* water. Each group was constituted by four Fleckvieh (*Bos taurus taurus*) and four Nellore (*Bos taurus indicus*) bulls, in a total of 24 animals with mean age of 30 months. Diets were composed basically of *Tifton 85* hay, soy bran, corn and urea (non-proteic nitrogen; NPN) and formulated for each animal individually, according to ingredients' bromatologic analysis, animal's weight and uptake capacity. For the Control-group (C-group) diet, NRC (1996) nutrition recommendations for bulls on reproduction were followed. In the Gradual-group (G-group) diet, 30% more ruminal-degradable protein (compared to the C-group) was added, and after four weeks, the level increased to 75% through the addition of urea (NPN). For the Choque-group (Cq-group), degradable protein level was 110% higher than in C-group during all experimental period.

Bulls were maintained in individual boxes and after an adaptation period of 21 days, semen samples were collected. Semen was obtained through electroejaculation and analysed for physical (whirl movement, motility, vigour and concentration) and morphological characteristics during the period of 15 weeks. Blood sampling was performed weekly two hours after feeding in order to measure ammonia and ureal levels during its peak production.

Treatment groups (Cq-group and G-group) presented lower whirl movement, motility, vigor and concentration than the C-group after the 13<sup>th</sup> week ( $P < 0,01$ ). Spermatic morphology showed increased levels of greater spermatic defects for taurines ( $P < 0,05$ ) during all experimental period, but no significant differences were observed among treatments for these characteristics. Significant differences in plasmatic urea ( $P < 0,01$ ) occurred. Cq-group and G-group presented higher levels than the C-group after the 4<sup>th</sup> week ( $P < 0,01$ ). It was observed that animals from the zebuine subspecies presented higher levels of ammonia and urea than the taurine ones ( $P < 0,05$ ). No differences were observed in testosterone concentration among bulls in all treatments under these experimental conditions.

According to these results, it's possible to conclude that bulls fed with high level of ruminal-degradable protein diets may have compromised fertility if no adequate energetic supplementation is provided.

Key-words: Bulls, semen, spermatogenesis, energetic balance, protein, urea, ammonium

## I. INTRODUÇÃO

A necessidade de intensificar a produção, a busca do chamado ganho de escala nos vários setores da economia brasileira tem efeitos marcantes também sobre a pecuária no Brasil que atualmente passa por um período de adequação ao mundo globalizado. A implantação de sistemas de rastreabilidade, criação do Sistema Brasileiro de Identificação e Certificação Bovina (Sisbov), programa de apoio a produção do novilho precoce e tipificação da carne, programa de qualidade do Nelore natural (PQNN-chamado “boi orgânico”), são medidas que visam novos mercados consumidores.

A utilização de biotécnicas como inseminação artificial, sexagem de espermatozóides, superovulação, fertilização *in vitro*, transferência, sexagem e criopreservação de embriões vêm sendo constantemente aprimoradas. Essas técnicas têm sido difundidas entre os pecuaristas na busca de produtividade e qualidade, exigidas nos tempos modernos afim de permanecerem na cadeia produtiva ou obter valor agregado na venda de seus produtos.

A inseminação artificial (IA) é uma das técnicas mais simples e de baixo custo empregada na área de reprodução animal e que apresenta bons resultados quando se pretende realizar a seleção e melhoramento genético de um rebanho como um todo. Apesar de sua simplicidade, a IA requer um criterioso e rígido controle de suas diferentes etapas, desde a seleção do reprodutor, passando pelo processamento tecnológico do sêmen, seleção e controle do rebanho, chegando até o treinamento do inseminador (OHASHI, 2002). No Brasil, muitas vezes os fatores operacionais não permitem a implantação de um sistema de inseminação artificial, levando a uma grande demanda por touros que deveriam ser repostos todos os anos.

Quando se trata de seleção de touros, tanto os doadores de sêmen para centrais de inseminação que seguem uma legislação específica, como aos destinados ao sistema de monta natural, os métodos utilizados foram incrementados tornando-se mais objetivos e científicos na busca por animais com valores genéticos aditivos em função de características produtivas e econômicas. A diferença esperada de progênie (DEP), exames andrológicos periódicos,

programas de melhoramento genético com alta pressão de seleção, entre outras, são ferramentas que oferecem grande segurança ao produtor na escolha de touros que atendam aos objetivos de produção exigidos pelo mercado, porém estes devem estar adaptados às condições ambientais e de manejo empregado, exercendo efeito positivo na fertilidade (PEDRITO, 2002).

Tratando-se da produtividade de touros dá-se especial atenção à nutrição, pois, genericamente, é aceito que o manejo nutricional constitui-se no fator limitante essencial para reprodução em várias espécies de animais domésticos (SHORT e ADAMS, 1988).

A superalimentação de touros, como muitas vezes vem a ser praticado para a preparação dos animais para a venda ou exposições, também pode afetar a capacidade reprodutiva (SKINNER, 1981); O excesso alimentar, bem como a alimentação intensiva resulta em baixos índices reprodutivos (SCHILLING e KRAJNC, 1964; YOUNG, 1974) tendo associação com a diminuição da circunferência escrotal, reserva espermática no epidídimo, e qualidade seminal (PRUIT e CORAH, 1985), podendo levar à degeneração testicular com uso de excesso de proteína na dieta (CASTRO, 2002). Portanto, parece ser preferível os efeitos de uma subalimentação moderada aos da superalimentação, particularmente em touros jovens de raças de grande porte físico (PRUIT e CORAH, 1985).

Porém, maiores esclarecimentos sobre o efeito da dieta sob a capacidade reprodutiva de touros de corte são necessárias para estabelecer um esquema de manejo racional para uso nas propriedades (COULTER et al., 1987). Outros fatores que carecem de estudos complementares são os mecanismos como a nutrição afeta a função testicular (BROWN, 1993) e o efeito da fonte de proteína na produção e qualidade do sêmen (CASTILHO et al., 1990).

## II. REVISÃO DA LITERATURA

O aumento na produtividade vem sendo verificado de diversas formas nas espécies domésticas, dentre as quais, a bovina. Modificações na nutrição, instalações, manejo sanitário e reprodutivo têm sido pesquisadas há várias décadas (SENEDA, 1999).

A reprodução constitui-se num dos maiores fatores relacionado com a eficiência produtiva da propriedade. No entanto, entre os fatores que afetam a reprodução dos animais, a nutrição vem se destacando como um dos mais importantes (ASELTINE, 1989; BLANCHARD et al., 1990; SANTOS et al., 1994; FUCK et al., 2000) e tem sido assunto de várias revisões como Blaxter (1956), Lamming (1969), Allden (1970), Leathem (1970), Dziuk e Bellows (1983), Kemp e Den Hartog (1989), Lindsay et al, (1990), Brown (1993), dada a sua reconhecida importância à manutenção de índices reprodutivos satisfatórios.

Na década de 20, com particularidade para a espécie bovina, foi dado início a uma série de pesquisas demonstrando que a percentagem de machos impróprios ou falhos na reprodução era relativamente elevada. Essas pesquisas puderam demonstrar que os touros de baixa fertilidade apresentavam lesões patológicas que podiam ser reveladas pelo exame clínico, pelo exame do sêmen ejaculado, ou por ambos os métodos, o que tornava as conclusões mais seguras (WILLIAMS, 1965).

Em geral, as deficiências nutricionais podem causar alterações na atividade reprodutiva, variando desde uma pequena alteração nas características seminais ou de libido, até a infertilidade irreversível (SKINNER, 1981); no entanto, alguns estudos contrariam estas afirmações afirmando que a dieta não é uma fonte de variação para a motilidade espermática total (MWANSA e MAKARECHIAN, 1991).

### **2.1 Diferentes exigências nutricionais entre *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus***

Os índices de produtividade podem ser alterados pelas mudanças nas condições ambientais, incluindo fatores nutricionais e na composição genética dos

animais. O suprimento das exigências nutricionais específicas de cada raça é de extrema importância, uma vez que nos sistemas brasileiros de produção de gado de corte, vêm sendo utilizados dados de tabelas gerados na Europa ou Estados Unidos (AFRC, NRC), obtidos, na sua maioria, com animais e ambientes diferentes (PUTRINO, 2002).

Tem sido demonstrado que animais *Bos taurus indicus* tem menores necessidades de manutenção que os *Bos taurus taurus* (FRISH & VERCOE, 1977; TAYLOR et.al., 1986) o que lhes dariam vantagens em momentos de escassez de alimento, como durante a estação seca.

Os animais da raça Nelore digerem energia com maior eficiência que os da holandesa e búfalos, não diferindo dos mestiços europeu-zebu. Entretanto, isto é variável, pois, zebuínos (algumas vezes) são mais eficientes em dietas com alta proporção de forragem de baixa qualidade, mas são piores em dietas com alta proporção de concentrados (LIMA, 1986 ).

Os requerimentos líquidos de proteína tendem a ser menos importantes em relação aos requerimentos energéticos para novilhos em crescimento com maturação precoce como das raças Angus e Hereford. Isso ocorre devido a menor retenção de sua energia como proteína (12 a 15%) e conter somente 12% de proteína no ganho de peso vivo. Esse tipo de animal preenche suas exigências protéicas utilizando somente os aminoácidos provenientes da fermentação microbiana (GEAY, 1984). Por outro lado, requerimentos protéicos mais elevados foram encontrados trabalhando-se com tourinhos em crescimento de raça de maturidade tardia (Simental, Limousin e Charolês), os quais retiveram ao redor de 38% de energia como proteína. Esse tipo de animal não consegue preencher suas exigências protéicas somente com aminoácidos supridos pelas bactérias do rúmen, independente de seu peso vivo ou ganho de peso diário (ROHR & DAENICKE, 1984).

Portanto, maior atenção deve ser dada às exigências protéicas por variarem de acordo com parâmetros como raça, sexo e a taxa de ganho de peso, sendo maiores para animais inteiros, em relação aos animais castrados e, quando definidas para animais do mesmo sexo, são maiores para touros de maturidade tardia em relação aos de maturidade precoce (GEAY, 1984).

## **2.2 Excessos na nutrição de touros**

A superalimentação de touros, como muitas vezes vem a ser praticado para a preparação dos animais para a venda ou exposições, também pode afetar a capacidade reprodutiva (SKINNER, 1981). O excesso alimentar, bem como a alimentação intensiva resulta em baixos índices reprodutivos (SCHILLING e KRAJNC, 1965; YOUNG, 1974), tendo associação com a diminuição da circunferência escrotal, reserva espermática no epidídimo, e qualidade seminal; portanto, parece ser preferível os efeitos de uma sub-alimentação moderada aos da superalimentação, particularmente em touros jovens de raças de grande porte físico (PRUITT e CORAH, 1985).

Verifica-se ainda que, a contínua oferta de rações com baixos níveis de proteína, ou excesso da mesma na alimentação, podem reduzir a libido de touros quando comparados com animais que receberam rações com níveis normais de nutrientes (BROWN, 1993).

## **2.3 Alta proteína bruta na dieta – efeitos nos parâmetros reprodutivos.**

Altas concentrações de proteína na dieta estão negativamente correlacionados com a eficiência reprodutiva (FOLMAN et al., 1981; FERGUSON & CHALUPA, 1989; ELROD e BUTLER, 1993)

A deficiência de proteína na dieta decresce a atividade sexual e a qualidade seminal (MEACHAN et al., 1963). Por outro lado, um excesso de proteína não melhora esse perfil, podendo até afetá-lo negativamente (BRANTON et al., 1947). Um regime de ingestão intensa de proteína pode provocar acidose metabólica afetando decisivamente as células espermáticas e, portanto, a produção de sêmen (HAMMOND, 1959).

Confirmando essas observações foram encontradas desordens no metabolismo da atividade sexual e qualidade de sêmen de touros consumindo dietas com 18% de proteína bruta, enquanto que, aqueles contendo 12 e 14% de proteína, a produção de sêmen e atividade sexual foram normais (FLIPSE &

ALMQUIST, 1963). Aumentando-se a percentagem de proteína na dieta para 20%, também não foi observado nenhum efeito benéfico adicional na qualidade de sêmen de touros (SHIRLEY et al., 1963).

Resultados parcialmente diferentes dos anteriores foram encontrados em pesquisas onde uma dieta com altos níveis de proteína foi oferecida por vários anos (JOHNSON et al., 1971) obtendo-se a redução da capacidade de produção espermática, porém, nenhum efeito sobre a motilidade espermática ou percentagem de espermatozóides anormais foi observado. Observações similares foram obtidas em algumas pesquisas onde foi indicado que o cuidado com as dietas protéicas deveria existir apenas até o animal completar os 5 meses após o nascimento, onde se alcança o total desenvolvimento dos genitais. uma vez que esse fator exerce pouco efeito sobre a qualidade do esperma (KARG, 1964). Outro argumento no mesmo sentido seria que os touros com dieta contendo uréia, mantinham níveis normais de atividade sexual, sendo os resultados de sua subsequente fertilidade inalterados, concluindo-se que a proteína verdadeira não seria essencial na dieta de touros de corte para manutenção de fertilidade normal (JOHNSON et al., 1971). Porém, Blanchard et al. (1990) afirmaram que alta concentração de PB ou PDR pode diminuir a motilidade dos espermatozóides e a habilidade do mesmo para penetrar o muco cervical *in vitro*

## **2.4 Aspectos da digestão da proteína em ruminantes**

Uma proteína é constituída de unidades chamadas aminoácidos. Os aminoácidos são caracterizados pelo radical amino (NH<sub>2</sub>) ligado ao carbono adjacente do grupo carboxílico (COOH). Os aminoácidos das proteínas são conjugados uns aos outros por ligações peptídicas (união entre o grupo alfa amino de um aminoácido com o grupo carboxílico do outro (LUCCI, 1997).

Considerando as diferentes composições de aminoácidos das fontes de proteína, grandes diferenças podem ser encontradas (COTO & GARCIA-TRUJILLO, 1987), devendo levar-se em conta, portanto, diferentes níveis de absorção de aminoácidos (RERÁT et al., 1976).

A junção de vários aminoácidos forma uma cadeia polipeptídica, que constitui uma proteína. Na digestão, os aminoácidos são liberados no intestino delgado, e

aí absorvidos. Os nutrientes são os aminoácidos e não as proteínas que os contém (hoje admite-se que dipeptídeos e tripeptídeos sejam liberados nos intestinos, absorvidos e aproveitados) (LUCCI, 1997). Portanto, de nada adianta contar com uma proteína de bom aminograma, mas que passe pelo trato digestivo sem sofrer digestão, não liberando os aminoácidos e dipeptídeos para que sejam absorvidos, como ocorre nas mucoproteínas, onde algumas seções da cadeia peptídica são altamente resistentes ao ataque de enzimas. Também pode-se destacar o exemplo das celulosas e hemicelulosas das paredes da planta, que podem tornar as proteínas das células indisponíveis. Temos também o fator anti-tripsina, presente na soja crua (esse fator é termo-lábil, sendo que o aquecimento melhora muito a utilização desta fonte protéica). Outro exemplo muito discutido de bloqueio da lisina é a reação de seu grupo com o gossipol presente nas sementes de algodão. Na separação do óleo do farelo de algodão, o calor úmido sob pressão libera gossipol dos depósitos presentes nas plantas e essa substância combina-se com a proteína, bloqueando a lisina. Portanto, fica esclarecida que a importância das análises químicas e aminogramas *per si*, tem valor muito relativo na avaliação protéica e que, estudos com animal *in vivo* são imprescindíveis para a boa avaliação protéica (LUCCI, 1997).

O valor protéico dos alimentos é expresso em termos de Proteína Bruta (PB). A percentagem de proteína bruta é calculada multiplicando-se a porcentagem de nitrogênio total (N) por 6,25 (BOIN, 1995). As proteínas contêm uma porção grande e relativamente constante de nitrogênio em suas moléculas, algo em torno de 15,5% a 18%. A média destes valores dá 16%, daí o fator 6,25 (100:16) (LUCCI, 1997).

O nitrogênio dos alimentos está na forma de nitrogênio não protéico e de nitrogênio protéico. O nitrogênio não protéico dos alimentos só fica disponível para os animais se for usado na síntese de proteína microbiana. A amônia é o composto básico para a síntese de proteína microbiana e essencial para as bactérias celulolíticas. Aminoácidos e peptídeos podem funcionar como fonte de nitrogênio para as bactérias que fermentam amido e açúcares. De fato, a eficiência de síntese de proteínas por essas bactérias é afetada pela relação peptídeos/carboidratos não estruturais e peptídeos no rúmen (BOIN, 1995).

Os açúcares e as gorduras são utilizadas no organismo para produção de energia; já a proteína é usada na construção de estruturas orgânicas e produtos de secreção, formada por unidades chamadas de aminoácidos. Na digestão, os aminoácidos são liberados no intestino delgado e então absorvidos (LUCCHI,1997).

#### **2.4.1 Nitrogênio protéico e nitrogênio não protéico**

Quando o assunto é nitrogênio não protéico, a tendência é de se pensar em uréia administrada na alimentação. Contudo, observa-se que quase todo tipo de fonte de proteína torna-se uma fonte de nitrogênio não protéico, muitas vezes em proporções elevadas; Um bom exemplo são as pastagens de gramíneas que bem adubadas podem atingir o nível de 20% de sua proteína bruta como nitrogênio não protéico (LUCCHI,1997).

A uréia alimentar (pecuária) encontrada no comércio contém 42 a 45% de nitrogênio, enquanto aquela utilizada na agricultura como adubo varia de 44 a 46%. A uréia adubo é mais hidrosscópica e pode conter nitratos, o que impede sua utilização na alimentação animal porque, no organismo animal, os nitratos são reduzidos a nitritos que se combinam com a hemoglobina, dando a metahemoglobina, incapaz de transportar o oxigênio. A uréia pecuária é mais pura, contendo um equivalente protéico de 281% ( $45 \times 6,25$ ) (ANDRIGUETTO et al., 1983).

Um aspecto importante a ser lembrado é que a proteína bruta alimentar deve ser composta de duas frações: uma degradável no rúmen, constituída de nitrogênio não protéico e de proteína verdadeira; e a outra, não degradável no rúmen, constituída de proteína verdadeira. Uma parte da proteína degradável no rúmen deve ser constituída de proteína verdadeira para que haja aminoácidos e peptídeos disponíveis para a síntese de proteína microbiana (BOIN, 1995).

A necessidade de nitrogênio (N) pode ser atendida pelo N dietético, ou melhor, sua parte degradável no rúmen, e, em parte, pelo nitrogênio reciclado por via metabólica, que reingressa no rúmen via saliva ou paredes do órgão através da irrigação sangüínea, sob a forma de uréia. Deve haver uma sincronização entre a liberação de nitrogênio da proteína degradável e a disponibilidade de energia (LUCCHI,1997). O conteúdo de nitrogênio da uréia (N-uréia), que corresponde a

46,6% da molécula, pode ser medido no leite (NUL) e no sangue, nas frações plasmáticas (NUP) ou sérica (NUS). Esses parâmetros são eficientes na avaliação do equilíbrio de nitrogênio de ruminantes, por auxiliar no monitoramento dos efeitos do excesso de proteína e da deficiência de carboidratos fermentáveis ou da assincronia entre a degradabilidade da proteína e a disponibilidade de energia no rúmen (OLIVEIRA et al., 2004).

Sistemas desenvolvidos nos Estados Unidos e na Alemanha relacionaram o potencial de formação de proteína microbiana no rúmen com a energia disponível na ração (BURROUGHS et al., 1975; LUCCHI, 1997).

### **2.4.2 Degradabilidade da proteína no rúmen**

Quando a proteína ingressa no rúmen ela pode tomar 2 caminhos:

1. Passar pelo órgão sem sofrer modificações e atingir estômago e intestinos, onde será em parte digerida pela ação de enzimas e, em parte, excretada pelas fezes.
2. ser degradada dentro do rúmen e transformada em peptídeos, aminoácidos e, acredita-se que na maior parte em amônia ( $\text{NH}_4$ ), que vem a ser a principal fonte de nitrogênio para o crescimento (proliferação) bacteriano. A amônia, na presença de energia, serve para a síntese de proteína microbiana que, ao chegar no intestino delgado, libera aminoácidos que serão absorvidos pelo organismo.

Uma fração variável do nitrogênio protéico é degradada no rúmen (depende da taxa de degradação das diferentes frações protéicas de cada alimento e da taxa de passagem), contribuindo para a quantidade de nitrogênio não protéico (amônia, aminoácidos e peptídeos) disponível para a síntese de proteína microbiana. Em rações bem balanceadas, a quantidade total diária de proteína disponível no trato digestível inferior (proteína microbiana+proteína do alimento que passou pelo rúmen sem ser degradada) tende a ser igual à quantidade de proteína bruta fornecida diariamente pela ração (BOIN, 1995).

A exigência de proteína dos ruminantes é atendida pelos aminoácidos absorvidos no intestino delgado, denominada exigência de proteína metabolizável. A proteína que chega ao intestino delgado consiste de fração microbiana, da

fração dietética não degradada no rúmen e da proteína endógena (VALADARES FILHO, 1997).

Para que a eficiência de síntese de proteína pelos microorganismos ruminais seja máxima, a degradabilidade da proteína dietética deve atender exatamente às necessidades microbianas, desde que não haja limitação da fonte energética entre outros fatores. E para que a eficiência de utilização de proteína nos tecidos seja máxima, a soma da proteína microbiana e da proteína dietética não-degradada no rúmen deve atender às exigências dos tecidos, em termos quantitativos e qualitativos (WALDO & GLEN, 1981).

Dietas com alta proporção de proteínas favorecem organismos proteolíticos, e dietas com alta proporção de amido (que são pobres em fibras), estão associadas com uma grande população de microorganismos amilolíticos (VAN SOEST, 1994).

Quando o valor estimado para a degradabilidade protéica de um alimento estiver muito abaixo do real, a quantidade de nitrogênio amoniacal à disposição será maior do que a capacidade de síntese protéica das bactérias e haverá falta de proteína dietética chegando ao intestino, resultando na redução do desempenho de animais altamente produtivos, além dos efeitos causados pelo aumento de amônia no rúmen e excesso de uréia no sangue. Por outro lado, a superestimativa da degradabilidade poderá conduzir à falta de nitrogênio disponível para as bactérias do rúmen, o que conduz a menor ingestão voluntária de alimentos e conseqüentemente deficiência energética; ao mesmo tempo a quantidade de proteína que entra no duodeno será excessiva, implicando possivelmente no seu uso para suprir finalidades de energia.

### **2.4.3 Necessidade de energia na síntese de proteína microbiana**

VAN KESSEL & RUSSEL (1996) realizaram cultivos contínuos de bactérias ruminais e encontraram efeito positivo do nitrogênio sobre a eficiência de síntese microbiana somente quando havia quantidade de energia em excesso. Quando havia limitação energética, porém com altos níveis de amônia, a suplementação com peptídeos e aminoácidos não modificaram os ritmos de crescimento da população microbiana cultivada.

Quando o animal está sub-alimentado em energia, menores acréscimos de proteína na ração conduzem a aumentos consideráveis na amônia rumenal e níveis da uréia sangüínea. Excesso de proteína resulta em maiores concentrações de amônia no rúmen e uréia no sangue. Contudo, não importa tanto o teor protéico, mas sim, os valores de suas frações: proteína degradável no rúmen(RDP) e não-degradável no rúmen(UDP) (LUCCI,1997).

Apesar da importância na síntese de proteína microbiana, existe a possibilidade que os lipídios escrotais adicionais e/ou deposição de gordura em torno do plexo pampiniforme, resultante de uma dieta (concentrado) rica em energia, possa impossibilitar a termoregulação escrotal, reduzindo as reservas espermáticas epididimárias e presumidamente a produção espermática (COULTER e KOZUB, 1984). Devido a essas circunstâncias, anormalidades morfológicas no espermatozóide dos ejaculados também possam ser encontradas (BROWN, 1993).

Porém, vale lembrar que modificações que ocorrem nos genitais e qualidade espermática, devem ser atribuídas não propriamente a alta proteína, mas, à deficiência energética que a acompanha em dietas desequilibradas (FLIPSE e ALMQUIST, 1963; MEYER, 1972).

## **2.5. Amônia e uréia**

A maior parte da amônia absorvida no trato digestivo é convertida em uréia no fígado (SYMONDS et al., 1981), este processo requer um alto custo energético (GARCIA-BOJALIL et al., 1998), podendo alcançar até 30% da energia de manutenção em vacas leiteiras (HARESIGN & COLE, 1988).

Segundo Russel et al. (1992) quanto maior for a degradabilidade da proteína da ração, maior será a produção de amônia e possivelmente, maiores serão as perdas urinárias de compostos nitrogenados na forma de uréia.

Em ruminantes, a oferta de dietas que conduzem a elevada taxa de amônia no rúmen, elevam facilmente as taxas de amônia e uréia no sangue, nos tecidos reprodutivos e fluidos do corpo, alterando as funções endócrinas do organismo e do corpo lúteo (LUCCI, 1997). Isto ocorre pois o nível de amônia no sangue tende

a ser menor que o do rúmen, ao passo que, o nível de uréia é menor no rúmen que no sangue, criando um potencial favorável de transferência mútua entre os dois compostos favorecendo a reciclagem através da saliva ou por difusão pela parede ruminal (VAN SOEST, 1994).

A elevação da concentração de amônia sanguínea ocorre logo após a ingestão de alimento, ocorrendo seu pico de uma a duas horas (PANDE & SHUKLA, 1981; MAHADEVAN et al., 1982; KOLB, 1987) ou duas a três horas após o fornecimento da dieta (DAVIS & STALLCUP, 1967; BUCHANAN-SMITH; YAO, 1978)

A análise da uréia indica o balanço protéico da dieta. Valores normais de nitrogênio uréico no sangue (NUS) de bovinos estão entre 10 e 30 mg/dl (DUKES, 1996). Porém, estudos indicam que a tolerância individual à amônia depende de fatores genéticos, fisiológicos e nutricionais (LUCCI, 1997). Nos animais adaptados à alimentação com NNP, há menor atividade de urease bacteriana (VISEK, 1984) e maior quantidade de ornitina no fígado, em relação aos alimentados com proteína vegetal, sendo a ornitina, como citado anteriormente, importante para formar uréia a partir de amônia (LUCCI, 1997).

Pelo fato da intoxicação por amônia produzir sinais clínicos que não são específicos, seu diagnóstico é baseado somente em elevadas concentrações de amônia no sangue (STAHL, 1963). Porém, não é somente em casos graves de hiperamonemia que os efeitos tóxicos da amônia são observados, tornando problemático o diagnóstico dos casos subclínicos de toxicidade (VISEK, 1984).

### **2.5.1. Mecanismos de intoxicação**

Qualquer composto que originar amônia no rúmen de forma a provocar sua absorção em velocidade superior à capacidade hepática de transformar amônia em uréia, causará intoxicação.

A amônia como citada anteriormente, é reconhecida como causadora de efeitos deletérios em várias áreas da biologia e medicina e essa abrangência de problemas por ela causados são devidos à atuação no meio intracelular, podendo se manifestar quando o processo normal de desintoxicação são impossibilitados

por alguma doença, quando a quantidade formada de amônia no meio é excessiva, quando a amônia é absorvida de forma muito rápida ou ainda quando a forma de amônia introduzida é muito tóxica (VISEK, 1968).

Em relação às fontes de nitrogênio não protéico (NNP), como exemplo a uréia pecuária, que possui alta degradabilidade após ser ministrada ao animal, forma-se um pico de amônia no rúmen, mas, mesmo após esse pico, níveis elevados de amônia ruminal permanecem por muitas horas e compõem um reservatório de nitrogênio para o crescimento bacteriano (LUCCI, 1997). Porém, observa-se que proteínas com alta degradabilidade no rúmen, podem liberar amônia até mais rapidamente que certas fontes de nitrogênio não protéico (WOHLT & CLARK, 1978).

Toxicidade ocorre com ingestões de 45 g a 50 g de uréia por 100 Kg de peso corpóreo, em curto espaço de tempo; animais adaptados resistem a quantidades duas a três vezes maiores. O pH do rúmen e o nível de amônia no sangue estão altamente relacionados com a intoxicação, mas os níveis de amônia no rúmen e a uréia no sangue não estão relacionados necessariamente. Intoxicações ocorreram em animais que ingeriram 0,31g de uréia por quilo de peso, na forma líquida, e 0,51g/Kg na forma sólida. Os sintomas da intoxicação foram detectados com nível de amônia sangüínea, superior a 2 mg% e a letalidade ocorreu com nível de 3 mg% (LUCCI, 1997).

Segundo Brito (1998), poucos são os trabalhos que procuram avaliar as concentrações normais de amônia plasmática em ruminantes. Entre eles citam-se os de WINNICA et al., (1992); CHOUNG & CHAMBERLAIN, (1995) e HUSSAIN & CHEEKE, (1995) que relatam que estas concentrações situam-se dentro da faixa de 7 a 95  $\mu\text{mol/L}$ . KITAMURA (2002), ao desenvolver um modelo experimental de intoxicação por amônia em bovinos pela infusão de solução de cloreto de amônio na veia jugular, obteve níveis basais de amônia no plasma sanguíneo de bovinos valores em torno de 30  $\mu\text{mol/L}$  ( $\pm 14,4$ ). Vale ressaltar que valores de 914,3  $\mu\text{mol/L}$  ( $\pm 334,2$ ) de amônia plasmática causaram tremores musculares nos animais durante a infusão no referido protocolo e convulsões em torno de 1.943  $\mu\text{mol/L}$  ( $\pm 372,6$ ).

### 2.5.2. Urease

A uréia quando no interior do rúmen, é degradada em amônia, pela ação da urease microbiana em uma conversão cerca de 80 a 100 mg por 100 ml de conteúdo ruminal, quatro vezes maior que a velocidade de utilização da amônia pelos microorganismos e tem sua atividade aumentada com a elevação da temperatura (alcançando um ápice a 49° C), bem como com a elevação do pH, ficando a atividade máxima entre pH 7,0 e 9,0 (LUCCI, 1997).

### 2.5.3. Transporte pela membrana celular

No rúmen a amônia em solução, apresenta-se quase que totalmente na forma ionizada  $\text{NH}_4^+$  (a um pH 6,9 cerca de 99,2% apresenta-se como  $\text{NH}_4^+$  e somente 0,8% como  $\text{NH}_3$ ) (VISEK, 1968). Em valores de pH mais altos, aumenta a forma não ionizada: em pH 8,1 cerca de 11,2% está na forma de  $\text{NH}_3$  e em um pH de 9,0 cerca de 50%. A importância destas observações diz respeito à alta permeabilidade da membrana à forma  $\text{NH}_3$ . Um rápido equilíbrio é estabelecido entre as formas  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NH}_3$ , sendo que as quantidades de forma não ionizada dependem do pH e a quantidade total de amônia no rúmen. A percentagem de  $\text{NH}_3$  é pequena (0,7% em pH 6,9), contudo esta forma passa facilmente através das membranas, no sentido de uma concentração fisiológica menor, e embora sua quantidade seja pequena, é imediatamente repostada pelo equilíbrio  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NH}_3$  e  $\text{H}^+$ . Existe muito pouca amônia na circulação sanguínea, pois o fígado converte a mesma em uréia através do ciclo da ornitina, assim a absorção de  $\text{NH}_3$  é contínua, devido a um gradiente de concentração (LUCCI, 1997). Um detalhe a se destacar é que o aumento da concentração de ornitina no fígado parece estar relacionado com maior capacidade de desintoxicação (VISEK, 1984).

#### 2.5.4. Mecanismo de desintoxicação

Estudos sugerem que 5 mg/100 ml de N amoniacal é um ponto máximo para conversão em proteína microbiana, e o mesmo pode ser atingido em dietas com aproximadamente 13% de PB ; acima desse valor a amônia ruminal aumenta rapidamente com a maior ingestão de proteína (LUCCI,1997). Porém, existem opiniões diferentes das anteriores onde é preconizado que mesmo em concentrações de amônia de 81 a 124 mg/100ml (cerca de 20 vezes maiores que o limite acima citado ) ainda existe resposta na produção de proteína microbiana, ao injetar-se NNP no pró-ventrículo (STILES et al., 1970; BARTLEY et al., 1976), talvez devido a uma proporção adequada de proteína e energia, pois já foi constatado que as concentrações ruminais de N amoniacal atingem 5 mg/100 ml muito mais cedo quando as dietas são energeticamente pobres, portanto, estas fontes serão melhor utilizadas em rações ricas em energia (LUCCI,1997). A alimentação com grandes quantidades de proteínas degradáveis no rúmen pode elevar a amônia, uréia e outros componentes nitrogenados nos tecidos do corpo. Neste caso, adicionar nutrientes ricos em energia poderia proteger o animal contra o excesso de amônia do rúmen, não só por maximizar a construção de proteína microbiana, como também por auxílio aos mecanismos hepáticos de desintoxicação (LUCCI, 1997).

Trabalhos foram realizados procurando definir a máxima capacidade hepática de converter a forma  $\text{NH}_3$  da amônia (que é altamente tóxica) em uréia, que é considerada pelos autores como menos toxica aos tecidos e chegaram ao valor de 1.84 mmol por minuto por quilo de peso do parênquima hepático, porém houveram casos onde sinais de intoxicação ocorreram com concentrações nos níveis plasmáticos de 0.8 mmol of  $\text{NH}_3$ . Outros resultados semelhantes foram observados com valores de 1.05 e 0.6 mmol de  $\text{NH}_3$  no sangue da carótida e jugular respectivamente, de vacas demonstrando sinais de intoxicação após receberem uréia intra-ruminal (SYMONDS et al., 1981).

Outro aspecto observado por pesquisadores foi que bovinos mais resistentes à intoxicação por amônia tiveram alta produção urinária, baixos pH sanguíneo e urinário e excretaram grandes quantidades de amônia e uréia pela urina. Essas

observações levaram à conclusão que conjuntamente com a desintoxicação hepática da amônia os rins são fundamentais para aliviar a intoxicação por amônia em bovinos (KITAMURA, 2002). Em trabalhos anteriores, ORTOLANI et al. (2000) trataram com sucesso cinco cabras intoxicadas (duas já apresentando convulsão) com ácido acético em associação com hidratação intravenosa e furosemida, sugerindo a possibilidade de ocorrer maior excreção de amônia pela urina confirmando a importância da via renal na desintoxicação.

### **2.5.5 Efeitos sobre a reprodução**

Apesar do fato de vários estudos terem sido conduzidos para avaliar o efeito da proteína no tecido reprodutivo, o mecanismo exato pelo qual o excesso de proteína bruta ou proteína degradável na dieta possa prejudicar negativamente a reprodução não tem sido elucidado (SANTOS & ALMSTADEN, 1998).

Os prováveis efeitos negativos do excesso de proteína nas dietas de vacas em lactação, independentemente de sua degradabilidade, e/ou de compostos nitrogenados não protéicos (NNP) sobre os parâmetros reprodutivos têm sido atribuídos a redução na concentração plasmática de progesterona (JORDAN & SWANSON, 1979); alteração na composição iônica do fluido uterino e redução do pH intra-uterino (JORDAN et al., 1983; ELROD & BUTLER, 1993; ELROD et al., 1993); exacerbação do balanço energético negativo e aumento da secreção endometrial de PGF<sub>2</sub>α (BUTLER, 1998); presença de componentes tóxicos do metabolismo do nitrogênio (amônia ou uréia) nas secreções dos órgãos reprodutivos, comprometendo a viabilidade de espermatozóides ou ovócitos ou a sobrevivência e o desenvolvimento embrionário inicial (GARCIA-BOJALIL et al., 1994).

A fertilidade pode ser reduzida devido a efeitos tóxicos da amônia, uréia e outros componentes nitrogenados sobre ovócitos, espermatozóides e embriões na fase inicial de desenvolvimento. A uréia é tóxica para o espermatozóide de touros, e, em relação as fêmeas, tóxica para o zigoto, podendo causar abortamento quando injetada intraamnioticamente (GREENHALF, 1971).

Os níveis exatos de amônia ou uréia que inibem a fertilidade ainda não foram definidos. Vacas com nível sanguíneo de uréia maior que 20 mg/dl no momento da cobertura tem três vezes menos oportunidades de ficarem prenhes (FERGUSON & CHALUPA, 1989; FERGUSON et al., 1993). Em experimentos realizados quando a uréia no plasma foi igual a 24,5 mg/dl, a uréia no conteúdo vaginal alcançou 20,9 mg/dl (LUCCI, 1997) e parece certo que, quando o nível de uréia no conteúdo vaginal excede 40 mg/dl, não há possibilidade de concepção (N.R.C., 1989).

Sabe-se que o excesso de proteína causa prejuízos à vida reprodutiva de vacas de leite (VISEK, 1984). No caso das fêmeas apenas a relação entre proteína bruta e fertilidade das fêmeas não constitui bom parâmetro, sendo melhor a relação entre as exigências de proteína degradável no rúmen e fertilidade das vacas, pois uma pesquisa, lançando mão de análises de regressão demonstrou que o aumento de proteína degradável no rúmen em relação às exigências, diminui as chances de prenhez das fêmeas (FERGUSON & CHALUPA, 1989). Em vacas tratadas com 20% de proteína bruta a concentração de uréia no plasma foi maior, e o desenvolvimento reprodutivo, acentuadamente inferior (FOLMAN et al., 1984). Em relação ao alto custo energético da detoxificação da amônia pelos tecidos, SCHILO (1992) afirmou que o quadro de balanço energético negativo tem levado a uma diminuição da liberação de LH em vacas.

Os mecanismos bioquímicos que determinam como a amônia afeta as células e seu metabolismo são pouco estudadas, não está definido se os efeitos tóxicos são causados por uma supressão imunológica ou efeitos locais nos tecidos. Embora concentrações tóxicas de amônia produza mudanças histológicas no cérebro, nenhum tecido tem demonstrado mudanças histológicas que persistam no caso da exposição excessiva ao agente tóxico for finalizado (VISEK, 1984). Porém, mais recentemente, Butler (1997) afirmou que existe evidências *in vitro* que células endometriais respondem ao aumento de uréia na circulação aumentando a secreção de sódio e prostaglandina F2 $\alpha$  e que este último quando em excesso prejudica o desenvolvimento e a sobrevivência dos embriões.

Fernandez et al.(1988) verificaram que a concentração de glicose e uréia aumentaram 39 e 12% respectivamente, durante a infusão de cloreto de amônio em oito touros da raça Hereford, sendo observado que a concentração de insulina

diminuiu de 26 até 46% durante a infusão e aumentou de 89 até 122% após infusão, ficando claro neste experimento que hiperamonemia pode causar problemas na insulina circulante, bem como no metabolismo de glicose.

## **2.6. Reversão de planos alimentares**

Experimentos envolvendo reversão dos planos alimentares têm produzido alguns resultados controversos.

Verificou-se que, aumentando o plano nutricional de touros com baixos níveis de nutrientes na dieta, houve um aumento de sua produção espermática, a qual se procedeu em uma taxa maior em relação ao aumento do peso corpóreo do animal avaliado (JAMES, 1950).

Contrariando esses resultados verifica-se o fato que realimentando-se touros por 1 ano com 100% NDT, sendo esses animais anteriormente alimentados com uma dieta de baixo nível (60% NDT) desde 8 semanas até 46 meses de idade, não tiveram nenhum efeito no crescimento testicular, volume seminal e produção espermática, mesmo que esses animais voltassem a alcançar 90% do peso corporal do grupo controle que foi alimentado adequadamente (VANDEMARK & MAUGER, 1964). Portanto, o restabelecimento de uma dieta adequada não induz uma elevação na concentração de espermatozóides em animais que passaram por longo período subalimentados (MEACHAM et al., 1963). A falha em restabelecer a função reprodutiva normal em animais jovens anteriormente subnutridos, pode refletir alguns níveis de danos aos centros neurais controladores da reprodução, devido às deficiências nos componentes da dieta na fase inicial da vida ou na diminuição da habilidade dos animais em sintetizar proteína adequadamente, as quais parecem necessárias para facilitar a ação de liberação dos fatores hipotalâmicos (WATANABE et al., 1968; LEATHEM, 1970). A possibilidade de reversão de um quadro degenerativo depende dos danos causados às células da linhagem germinativa, bem como à integridade das paredes dos túbulos seminíferos.

### III. OBJETIVOS

#### 3.1. Gerais

- Verificar a influência de níveis crescentes de proteína degradável no rúmen sobre a qualidade do sêmen de reprodutores bovinos.
- Observar as possíveis diferenças de suscetibilidade entre *Bos taurus indicus* e *Bos taurus taurus* em relação aos efeitos tóxicos dos produtos da degradação da proteína no rúmen sobre a qualidade seminal dos reprodutores.

#### 3.2. Específicos

- Estabelecer a provável concentração plasmática a partir do qual a uréia ou amônia passam a exercer possível efeito tóxico sobre os órgãos reprodutivos e qualidade seminal dos touros.
- Verificar a possível influência dos níveis de uréia e amônia plasmática, sobre o parênquima testicular e epididimário.
- Observar histologicamente as modificações das células da linhagem germinativa durante diferentes estágios de uma possível degeneração testicular.

## IV. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Local

O presente experimento foi conduzido no sítio Estiva do Palmital, localizado às margens da rodovia Jaboticabal-Lusitânia Km 2, município de Jaboticabal, estado de São Paulo, situado a 21° 13' de latitude sul e 48° 17' de longitude oeste de Greenwich, a uma altitude de 604m.

A temperatura máxima e a chuva mensal registrados no período de experimento encontram-se nos quadros do apêndice.

### 4.2. Grupos experimentais

Foram realizadas triagens em lotes de touros em idade reprodutiva da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) e da raça Simental (*Bos taurus taurus*) onde os animais foram avaliados quanto ao peso corporal, idade e qualidade espermática para que fossem obtidos lotes uniformes quanto aos aspectos avaliados.

Foram selecionados três grupos com 8 touros, sendo cada grupo formado por 4 animais da raça Simental (*Bos taurus taurus*) e 4 da raça Nelore (*Bos taurus indicus*), perfazendo um total de 24 touros com idade aproximada de 30 meses.

**Tabela 1. Composição do grupo experimental**

|                                                            | <b>GRUPO<br/>Choque (Cq)</b> | <b>GRUPO<br/>Gradual (G)</b> | <b>GRUPO<br/>Controle (C)</b> |
|------------------------------------------------------------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| <b>Touros Raça Nelore<br/>(<i>Bos taurus indicus</i>)</b>  | <b>4</b>                     | <b>4</b>                     | <b>4</b>                      |
| <b>Touros Raça Simental<br/>(<i>Bos taurus taurus</i>)</b> | <b>4</b>                     | <b>4</b>                     | <b>4</b>                      |
| <b>Total por grupo</b>                                     | <b>8</b>                     | <b>8</b>                     | <b>8</b>                      |
| <b>Total animais</b>                                       | <b>24 touros</b>             |                              |                               |

Os touros permaneceram em baias individuais e após o período de adaptação de 21 dias foram submetidos a dietas isoenergéticas com diferentes níveis de proteína degradável no rúmen e água *ad libitum*. A adaptação dos animais do grupo choque à uréia consistiu no fracionamento da quantidade total em 3 partes. Na primeira semana os touros receberam 30% da quantidade total de uréia da dieta, na segunda semana 70% e na terceira semana a quantidade total definida pelo balanceamento, sempre com o fornecimento dividido em três horários (7:00hs; 13:00hs e 16:00hs). Os touros do grupo gradual foram adaptados de forma semelhante porém, dada a menor quantidade de uréia de sua dieta, no início da terceira semana os animais já recebiam a dieta total em dois horários (7:00hs e 16:00hs)

O arraçãoamento consistiu basicamente de uma dieta de feno de Tifton 85, grão de milho, farelo de soja (fonte de proteína com baixa degradabilidade no rúmen) e uréia (fonte de nitrogênio não protéico com alta degradabilidade no rúmen). Os animais, após o período de adaptação, foram submetidos à dieta controle balanceada de acordo com as normas do NRC (1996) para atender as exigências nutricionais dos touros.

Na dieta do grupo C (controle) foram seguidas, durante todo período, as normas do NRC (1996) para nutrição de touros em reprodução. Na dieta do grupo G (gradual) foram acrescidas 30% e, após quatro semanas, 75% de proteína degradável em relação à ração do grupo controle através de acréscimo na quantidade de uréia. Na dieta do grupo Cq (choque) foi fornecida ração contendo nível de proteína degradável 110% superior a ração do grupo controle durante todo período experimental, conforme representado na tabela2.

**Tabela 2. Dietas fornecidas aos touros em função do grupo experimental que pertenciam e ao tempo decorrido de experimento.**

| <b>Tempo (semanas)</b> | <b>GRUPO Controle</b> | <b>GRUPO Gradual</b> | <b>GRUPO Choque</b> |
|------------------------|-----------------------|----------------------|---------------------|
| T1                     | DC                    | ADAPTAÇÃO            | ADAPTAÇÃO           |
| T2                     | DC                    | ADAPTAÇÃO            | ADAPTAÇÃO           |
| T3                     | DC                    | Dieta I              | ADAPTAÇÃO           |
| T4                     | DC                    | Dieta I              | Dieta III           |
| T5                     | DC                    | Dieta I              | Dieta III           |
| T6                     | DC                    | Dieta I              | Dieta III           |
| T7                     | DC                    | Dieta II             | Dieta III           |
| T8                     | DC                    | Dieta II             | Dieta III           |
| T9                     | DC                    | Dieta II             | Dieta III           |
| T10                    | DC                    | Dieta II             | Dieta III           |
| T11                    | DC                    | Dieta II             | Dieta III           |
| T12                    | DC                    | Dieta II             | Dieta III           |
| T13                    | DC                    | Dieta II             | Dieta III           |
| T14                    | DC                    | Dieta II             | Dieta III           |
| T15                    | DC                    | Dieta II             | Dieta III           |

Dieta controle (DC) – de acordo com normas NRC (1996) para touros

Dieta I – 30% de excesso de PDR em relação às recomendações NRC

Dieta II - 75% de excesso de PDR em relação às recomendações NRC

Dieta III – 110% de excesso de PDR em relação às recomendações NRC

**Tabela 3. Níveis nutricionais da ração de acordo com os tratamentos**

| <b>Variáveis</b>        | <b>DC</b> | <b>Dieta I</b> | <b>Dieta II</b> | <b>Dieta III</b> |
|-------------------------|-----------|----------------|-----------------|------------------|
| MS (%)                  | 87,54     | 87,60          | 87,74           | 87,97            |
| NDT (% MS) <sup>1</sup> | 62,00     | 62,00          | 62,00           | 62,00            |
| EE (%MS)                | 2,30      | 2,55           | 5,57            | 2,60             |
| PB (% MS)               | 11,70     | 13,60          | 16,75           | 21,80            |
| N-FDA (% PB)            | 0,73      | 0,73           | 0,72            | 0,69             |
| NNP (% PB)              | 27,56     | 44,68          | 59,18           | 70,89            |
| FDN (% MS)              | 43,97     | 45,25          | 43,12           | 39,78            |
| PDR (% PB)              | 7,07      | 9,20           | 12,30           | 17,50            |
| NDT/PB                  | 5,30      | 4,56           | 3,70            | 2,84             |

<sup>1</sup> Estimado pelo programa R.L.M 2.0

A dieta total foi dividida em três administrações diárias durante a adaptação e após esse período duas diárias, sendo a primeira às 7:00 e a segunda às 16:00. Os ingredientes da ração foram pesados e fornecidos individualmente, de acordo com o peso e consumo (ingestão de matéria seca) de cada touro. As sobras de alimento no cocho de cada touro foram pesadas e enviadas para análise bromatológica duas vezes por semana. Este procedimento viabilizou correções periódicas no fornecimento da ração proporcionando o consumo desejado sob as condições deste experimento.

A análise laboratorial dos alimentos obedeceu aos critérios adotados por SILVA (1990), sendo analisado, em relação ao volumoso os teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), nitrogênio associado à fibra detergente ácido (N-FDA) e nitrogênio associado à fibra detergente neutro (N-FDN) e em relação ao concentrado os teores de matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo (EE), matéria mineral (MMi), extrativo não nitrogenado (ENN) e fibra em detergente neutro (ver apêndice).

Os touros foram pesados quinzenalmente e, os componentes do arraçãoamento, analisados mensalmente durante todo período experimental para fornecimento de dados precisos para formulação das dietas.

### **4.3. Colheita e avaliação do sêmen**

Após examinados e selecionados quanto aos padrões normais de sêmen e adaptados à nova alimentação, os touros foram submetidos às colheitas semanais de sêmen pelo método da eletroejaculação.

Os ejaculados foram avaliados quanto ao volume, turbilhonamento (movimento em massa), concentração, motilidade e vigor. Alíquotas de sêmen foram tomadas em solução de formol salina (HANCOCK, 1957) e estocadas a 4° C para posterior exame de morfologia espermática.

A morfologia dos espermatozóides foi realizada sob microscopia de contraste de interferência diferencial de fase e classificados como descrito por BLOM (1973) em percentagem de defeitos maiores e defeitos menores. Foram avaliadas 200 células espermáticas de cada touro.

#### **4.4. Análises laboratoriais**

Foram realizadas semanalmente colheitas de sangue para determinação dos teores de uréia e amônia no plasma sangüíneo dos animais no período aproximado de 2 horas pós-ingestão das dietas. Foram utilizadas vacuntainer® com anticoagulante (EDTA) e agulhas descartáveis para colheita de amostra de 10 ml de sangue da veia jugular. Após a colheita as amostras de sangue foram acondicionadas em isopor contendo gelo e, ao término da colheita de 8 animais de cada grupo, o material foi encaminhado ao laboratório para centrifugação a 1400 G durante 15 minutos e determinação da amônia plasmática pelo método enzimático utilizando Kits comerciais - RAICHEM® (San Diego, CA) e da uréia plasmática por espectrofotometria pelo método enzimático/colorimétrico de ponto final através de Kits-LABORLAB® (Guarulhos, SP).

No final do experimento, foram colhidas amostras de sangue em série (total de cinco colheitas por animal) para avaliação da concentração plasmática de testosterona. Foi utilizado o método de radioimunoensaio, usando conjunto de reagentes comerciais para testosterona total. (Coat – A – Count/DPC/ Los Angeles, CA).

#### **4.5. Avaliação histopatológica dos testículos**

Ao fim do período experimental 4 animais de cada grupo (sendo 2 taurinos e 2 zebuínos) foram castrados e seus testículos avaliados quanto ao aspecto morfológico. Após dissecação os testículos foram excisados longitudinalmente ao meio e, fragmentos (4 x 4 mm) do parênquima testicular (exceto região do mediastino) e fixados em solução de Bouin por 24 horas. Posteriormente, os fragmentos dos testículos foram lavados em concentrações crescentes de álcool (70, 80, 90 e 100%) e, em seguida, incluídos em parafina, como descrito por Behmer et al., 1976). Cortes de 4 micrômetros foram realizados, fixados em lâminas, corados pela técnica de hematoxilina-eosina (HE) e, em seguida, cobertos por lamínulas fixadas por Bálsamo do Canadá.

As lâminas contendo os cortes do parênquima testicular e cauda do epidídimo dos 24 testículos e epidídimos foram analisadas sob microscopia de luz (40 e 100 X ). Esta análise consistiu na avaliação qualitativa da morfologia dos túbulos seminíferos e do ducto epididimário. Nos primeiros foi levado em consideração a presença ou ausência de células da linhagem germinativa (espermátogônias, espermatócitos primários e secundários, espermátides e espermatozóides), células de Sertoli, bem como células de Leydig no espaço intersticial. No epidídimo, a constituição do epitélio colunar pseudoestratificado, lâmina própria, cílios foram as principais estruturas levadas em consideração.

#### **4.6. Análise estatística**

O fatorial 3x2 (três tratamentos por duas raças) foram analisados utilizando-se o procedimento PROC GLM (REPEATED ou RANDOM). As médias ajustadas foram comparadas pelo teste de Tukey - Kramer ao nível de 95% de confiança. Utilizou-se o procedimento Proc Reg para a análise dos dados de radicais utilizando o Software SAS versão 8.2 (SAS, 1999-2001).

## V. RESULTADOS

### 5.1 Exames físicos do sêmen

Os resultados dos exames físicos dos ejaculados dos 24 touros durante as 15 semanas de experimento estão expressos sob a forma de Tabelas e Gráficos.

Os ejaculados dos touros dos grupos gradual (G) e choque (Cq) apresentaram menor concentração em relação ao grupo controle (C) a partir da décima terceira até décima quinta semana do período experimental ( $P < 0,01$ ) (Tabela 7 e Figuras 7 e 8). Esta diferença entre tratamentos durante o período final do experimento também foi observada quanto aos parâmetros: turbilhonamento (Tabela 4 e Figuras 1 e 2), motilidade (Tabela 5 e Figuras 3 e 4) e vigor (Tabela 6 e Figuras 5 e 6).

Por outro lado, os animais *Bos taurus taurus* do grupo G e Cq, durante a décima segunda e décima quinta semana, apresentaram os menores valores para os parâmetros: motilidade ( $P < 0,05$ ) e vigor ( $P < 0,05$ ), fato não observado entre os animais *Bos taurus indicus*.

Tabela 4. **Turbilhonamento** (0-5) dos ejaculados dos touros do grupo Cq (110% PDR acima NRC), grupo G (30 e 75% PDR acima NRC) e grupo C em relação ao período experimental.

| Período (semanas)<br>Experimental | Grupos Experimentais / Média* de Turbilhão |                                |                               |
|-----------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
|                                   | Controle                                   | Gradual                        | Choque                        |
| 1                                 | 3 <sup>A</sup> <sub>ab</sub>               | 2 <sup>A</sup> <sub>abc</sub>  | 3 <sup>A</sup> <sub>a</sub>   |
| 2                                 | 3 <sup>A</sup> <sub>ab</sub>               | 1 <sup>B</sup> <sub>c</sub>    | 2 <sup>B</sup> <sub>abc</sub> |
| 3                                 | 3 <sup>A</sup> <sub>ab</sub>               | 3 <sup>A</sup> <sub>a</sub>    | 2 <sup>A</sup> <sub>ab</sub>  |
| 4                                 | 3 <sup>A</sup> <sub>ab</sub>               | 2 <sup>A</sup> <sub>abc</sub>  | 2 <sup>A</sup> <sub>abc</sub> |
| 5                                 | 3 <sup>A</sup> <sub>ab</sub>               | 3 <sup>A</sup> <sub>ab</sub>   | 2 <sup>A</sup> <sub>abc</sub> |
| 6                                 | 2 <sup>A</sup> <sub>ab</sub>               | 2 <sup>A</sup> <sub>abc</sub>  | 2 <sup>A</sup> <sub>abc</sub> |
| 7                                 | 2 <sup>A</sup> <sub>ab</sub>               | 2 <sup>A</sup> <sub>abc</sub>  | 2 <sup>A</sup> <sub>abc</sub> |
| 8                                 | 3 <sup>A</sup> <sub>ab</sub>               | 2 <sup>A</sup> <sub>abc</sub>  | 2 <sup>A</sup> <sub>abc</sub> |
| 9                                 | 2 <sup>A</sup> <sub>b</sub>                | 2 <sup>A</sup> <sub>abc</sub>  | 1 <sup>A</sup> <sub>abc</sub> |
| 10                                | 3 <sup>A</sup> <sub>ab</sub>               | 2 <sup>AB</sup> <sub>abc</sub> | 1 <sup>B</sup> <sub>c</sub>   |
| 11                                | 3 <sup>A</sup> <sub>ab</sub>               | 2 <sup>A</sup> <sub>abc</sub>  | 2 <sup>A</sup> <sub>ab</sub>  |
| 12                                | 3 <sup>A</sup> <sub>ab</sub>               | 2 <sup>AB</sup> <sub>abc</sub> | 1 <sup>B</sup> <sub>abc</sub> |
| 13                                | 3 <sup>A</sup> <sub>ab</sub>               | 1 <sup>B</sup> <sub>bc</sub>   | 1 <sup>B</sup> <sub>abc</sub> |
| 14                                | 3 <sup>A</sup> <sub>ab</sub>               | 1 <sup>B</sup> <sub>bc</sub>   | 1 <sup>B</sup> <sub>bc</sub>  |
| 15                                | 4 <sup>A</sup> <sub>a</sub>                | 1 <sup>B</sup> <sub>bc</sub>   | 1 <sup>B</sup> <sub>abc</sub> |

| Causas de Variação        | Valor de F | Pr > F** |
|---------------------------|------------|----------|
| Tratamento                | 3,26       | 0,1444   |
| Raça                      | 3,31       | 0,1430   |
| Tratamento X Raça         | 2,69       | 0,1760   |
| Tempo                     | 4,21       | <0,0001  |
| Tempo X Tratamento        | 2,12       | 0,0083   |
| Tempo X Raça              | 1,09       | 0,3877   |
| Tempo X Tratamento X Raça | 1,16       | 0,3303   |

1: Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo Teste Tukey (P>0,05)

\* Probabilidade de significância do Teste F

Figura 1. Valores médios e desvio padrão do **turbilhonamento** dos ejaculados dos touros dos grupos (C, G, Cq) no período experimental.

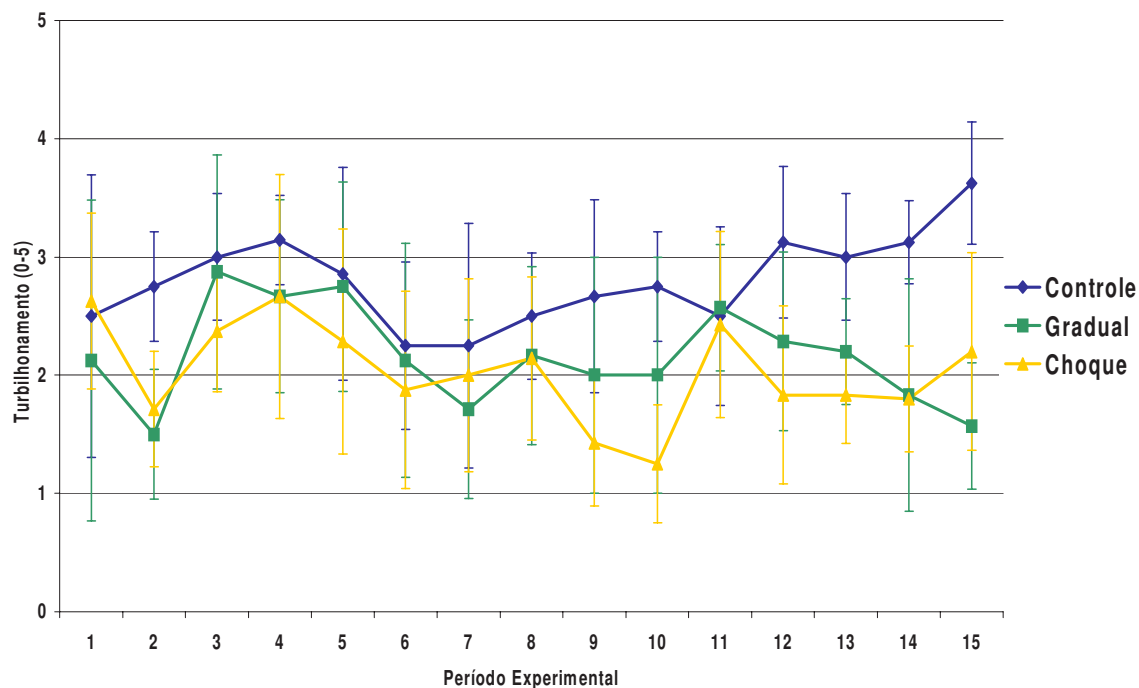


Figura 2. Valores médios e desvio padrão do **turbilhonamento** dos ejaculados dos touros entre as subespécies taurina e zebuína.

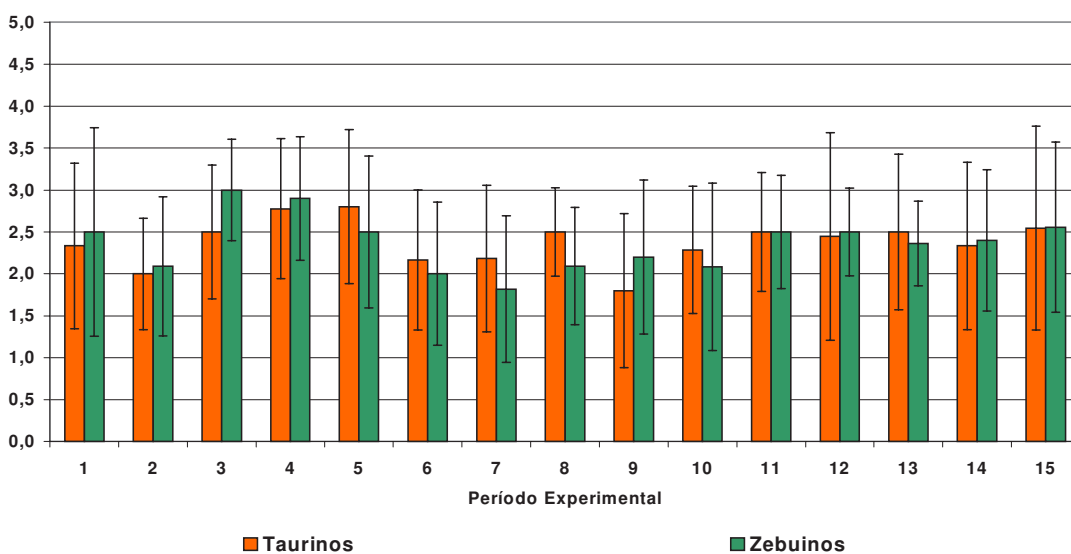


Tabela 5. **Motilidade** espermática (%) dos ejaculados dos touros do grupo Cq (110% PDR acima NRC), grupo G (30 e 75% PDR acima NRC) e grupo C em relação ao período experimental.

| Tratamento                | Raça     | Grupos Experimentais / Média* de Motilidade |                               |                             |                              |                             |                               |                              |                              |                              |                               |                              |                              |                                |                               |                                |
|---------------------------|----------|---------------------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
|                           |          | 1                                           | 2                             | 3                           | 4                            | 5                           | 6                             | 7                            | 8                            | 9                            | 10                            | 11                           | 12                           | 13                             | 14                            | 15                             |
| Controle                  | Zebuinos | 68 <sup>A<sub>a</sub></sup>                 | 70 <sup>A<sub>a</sub></sup>   | 73 <sup>A<sub>a</sub></sup> | 70 <sup>A<sub>a</sub></sup>  | 70 <sup>A<sub>a</sub></sup> | 70 <sup>A<sub>a</sub></sup>   | 68 <sup>A<sub>a</sub></sup>  | 73 <sup>A<sub>a</sub></sup>  | 70 <sup>A<sub>a</sub></sup>  | 70 <sup>A<sub>a</sub></sup>   | 68 <sup>A<sub>a</sub></sup>  | 70 <sup>AB<sub>a</sub></sup> | 68 <sup>AB<sub>a</sub></sup>   | 70 <sup>AB<sub>a</sub></sup>  | 70 <sup>A<sub>a</sub></sup>    |
|                           | Taurinos | 60 <sup>A<sub>a</sub></sup>                 | 60 <sup>A<sub>a</sub></sup>   | 65 <sup>A<sub>a</sub></sup> | 63 <sup>A<sub>a</sub></sup>  | 60 <sup>A<sub>a</sub></sup> | 65 <sup>A<sub>a</sub></sup>   | 68 <sup>A<sub>a</sub></sup>  | 70 <sup>A<sub>a</sub></sup>  | 63 <sup>A<sub>a</sub></sup>  | 65 <sup>AB<sub>a</sub></sup>  | 60 <sup>A<sub>a</sub></sup>  | 75 <sup>A<sub>a</sub></sup>  | 73 <sup>A<sub>a</sub></sup>    | 73 <sup>A<sub>a</sub></sup>   | 70 <sup>A<sub>a</sub></sup>    |
| Gradual                   | Zebuinos | 73 <sup>A<sub>a</sub></sup>                 | 60 <sup>A<sub>a</sub></sup>   | 73 <sup>A<sub>a</sub></sup> | 70 <sup>A<sub>a</sub></sup>  | 70 <sup>A<sub>a</sub></sup> | 68 <sup>A<sub>a</sub></sup>   | 50 <sup>A<sub>a</sub></sup>  | 60 <sup>A<sub>a</sub></sup>  | 63 <sup>A<sub>a</sub></sup>  | 70 <sup>A<sub>a</sub></sup>   | 63 <sup>A<sub>a</sub></sup>  | 68 <sup>AB<sub>a</sub></sup> | 63 <sup>ABC<sub>a</sub></sup>  | 55 <sup>ABC<sub>a</sub></sup> | 55 <sup>AB<sub>a</sub></sup>   |
|                           | Taurinos | 60 <sup>A<sub>a</sub></sup>                 | 53 <sup>A<sub>a</sub></sup>   | 60 <sup>A<sub>a</sub></sup> | 60 <sup>A<sub>a</sub></sup>  | 58 <sup>A<sub>a</sub></sup> | 70 <sup>A<sub>a</sub></sup>   | 68 <sup>A<sub>a</sub></sup>  | 63 <sup>A<sub>a</sub></sup>  | 55 <sup>A<sub>a</sub></sup>  | 58 <sup>AB<sub>a</sub></sup>  | 63 <sup>A<sub>ab</sub></sup> | 50 <sup>BC<sub>a</sub></sup> | 48 <sup>BC<sub>ab</sub></sup>  | 43 <sup>C<sub>ab</sub></sup>  | 40 <sup>B<sub>b</sub></sup>    |
| Choque                    | Zebuinos | 70 <sup>A<sub>a</sub></sup>                 | 68 <sup>A<sub>a</sub></sup>   | 60 <sup>A<sub>a</sub></sup> | 60 <sup>A<sub>a</sub></sup>  | 70 <sup>A<sub>a</sub></sup> | 65 <sup>A<sub>a</sub></sup>   | 65 <sup>A<sub>ab</sub></sup> | 58 <sup>A<sub>a</sub></sup>  | 65 <sup>A<sub>ab</sub></sup> | 58 <sup>AB<sub>bc</sub></sup> | 68 <sup>A<sub>ab</sub></sup> | 60 <sup>AB<sub>c</sub></sup> | 53 <sup>ABC<sub>ab</sub></sup> | 50 <sup>BC<sub>a</sub></sup>  | 50 <sup>AB<sub>abc</sub></sup> |
|                           | Taurinos | 65 <sup>A<sub>bc</sub></sup>                | 55 <sup>A<sub>abc</sub></sup> | 60 <sup>A<sub>c</sub></sup> | 55 <sup>A<sub>ab</sub></sup> | 65 <sup>A<sub>a</sub></sup> | 58 <sup>A<sub>abc</sub></sup> | 65 <sup>A<sub>c</sub></sup>  | 58 <sup>A<sub>bc</sub></sup> | 63 <sup>A<sub>c</sub></sup>  | 45 <sup>B<sub>a</sub></sup>   | 60 <sup>A<sub>a</sub></sup>  | 30 <sup>C<sub>ab</sub></sup> | 45 <sup>C<sub>b</sub></sup>    | 48 <sup>C<sub>ab</sub></sup>  | 55 <sup>AB<sub>ab</sub></sup>  |
| Causas de Variação        |          | Valor de F                                  |                               |                             |                              |                             | Pr > F**                      |                              |                              |                              |                               |                              |                              |                                |                               |                                |
| Tratamento                |          | 6,51                                        |                               |                             |                              |                             | 0,0074                        |                              |                              |                              |                               |                              |                              |                                |                               |                                |
| Raça                      |          | 6,38                                        |                               |                             |                              |                             | 0,0211                        |                              |                              |                              |                               |                              |                              |                                |                               |                                |
| Tratamento X Raça         |          | 0,22                                        |                               |                             |                              |                             | 0,8083                        |                              |                              |                              |                               |                              |                              |                                |                               |                                |
| Tempo                     |          | 3,37                                        |                               |                             |                              |                             | <,0001                        |                              |                              |                              |                               |                              |                              |                                |                               |                                |
| Tempo X Tratamento        |          | 3,53                                        |                               |                             |                              |                             | <,0001                        |                              |                              |                              |                               |                              |                              |                                |                               |                                |
| Tempo X Raça              |          | 1,75                                        |                               |                             |                              |                             | 0,0466                        |                              |                              |                              |                               |                              |                              |                                |                               |                                |
| Tempo X Tratamento X Raça |          | 1,49                                        |                               |                             |                              |                             | 0,0590                        |                              |                              |                              |                               |                              |                              |                                |                               |                                |

1: Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo Teste Tukey (P>0,05)

\* Probabilidade de significancia do Teste F

Figura 3. Valores médios e desvio padrão da **motilidade(%)** dos ejaculados dos touros dos grupos (C, G, Cq) no período experimental.

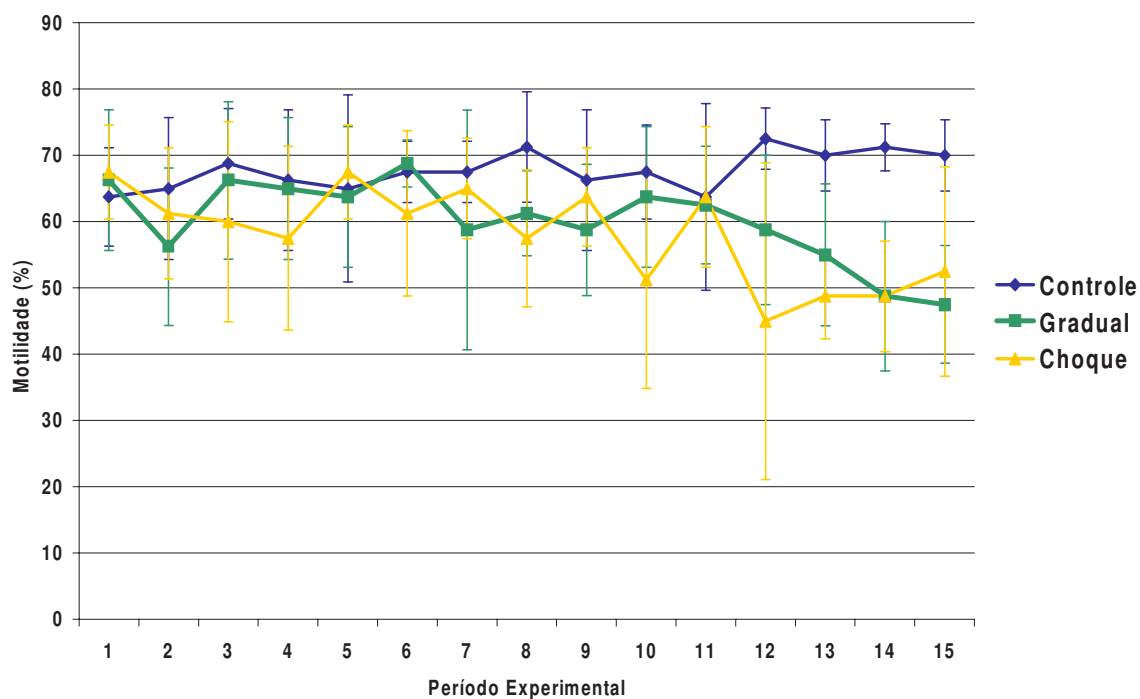


Figura 4. Valores médios e desvio padrão da **motilidade(%)** dos ejaculados dos touros entre as subespécies taurina e zebuína.

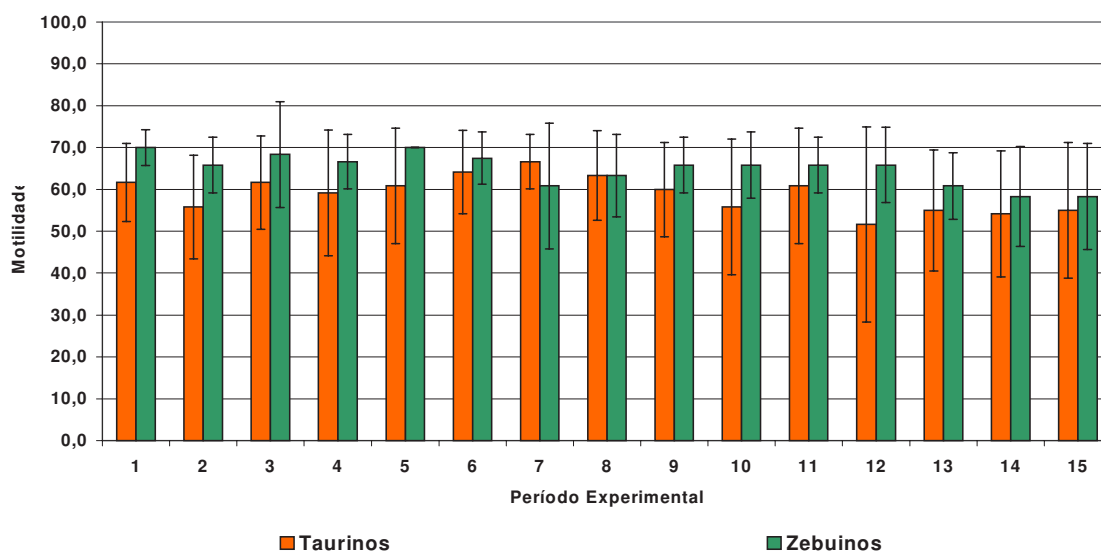


Tabela 6. **Vigor** espermático (0-5) dos ejaculados dos touros do grupo Cq (110% PDR acima NRC), grupo G (30 e 75% PDR acima NRC) e grupo C em relação ao período experimental.

| Tratamento                | Raça     | Grupos Experimentais / Média* de Vigor |                                 |                                 |                                  |                                 |                                  |                                 |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |
|---------------------------|----------|----------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
|                           |          | 1                                      | 2                               | 3                               | 4                                | 5                               | 6                                | 7                               | 8                                | 9                                | 10                               | 11                               | 12                               | 13                               | 14                               | 15                               |
| Controle                  | Zebuinos | 3,75 <sup>A</sup> <sub>a</sub>         | 3,50 <sup>A</sup> <sub>a</sub>  | 3,75 <sup>A</sup> <sub>a</sub>  | 3,75 <sup>A</sup> <sub>a</sub>   | 3,25 <sup>A</sup> <sub>a</sub>  | 3,75 <sup>A</sup> <sub>a</sub>   | 3,25 <sup>A</sup> <sub>a</sub>  | 3,00 <sup>A</sup> <sub>a</sub>   | 3,00 <sup>A</sup> <sub>a</sub>   | 3,00 <sup>A</sup> <sub>a</sub>   | 3,00 <sup>A</sup> <sub>a</sub>   | 3,00 <sup>A</sup> <sub>a</sub>   | 3,00 <sup>AB</sup> <sub>a</sub>  | 3,00 <sup>AB</sup> <sub>a</sub>  | 3,25 <sup>AB</sup> <sub>a</sub>  |
|                           | Taurinos | 3,50 <sup>A</sup> <sub>a</sub>         | 3,25 <sup>A</sup> <sub>a</sub>  | 3,25 <sup>B</sup> <sub>a</sub>  | 3,00 <sup>AB</sup> <sub>a</sub>  | 2,75 <sup>A</sup> <sub>a</sub>  | 3,00 <sup>AB</sup> <sub>a</sub>  | 3,00 <sup>A</sup> <sub>a</sub>  | 3,00 <sup>A</sup> <sub>a</sub>   | 2,75 <sup>A</sup> <sub>a</sub>   | 2,75 <sup>A</sup> <sub>a</sub>   | 2,75 <sup>A</sup> <sub>a</sub>   | 3,50 <sup>A</sup> <sub>a</sub>   | 3,25 <sup>A</sup> <sub>a</sub>   | 3,25 <sup>A</sup> <sub>a</sub>   | 3,75 <sup>A</sup> <sub>a</sub>   |
| Gradual                   | Zebuinos | 3,25 <sup>A</sup> <sub>a</sub>         | 3,25 <sup>A</sup> <sub>a</sub>  | 3,25 <sup>B</sup> <sub>a</sub>  | 3,00 <sup>AB</sup> <sub>a</sub>  | 3,00 <sup>A</sup> <sub>a</sub>  | 3,00 <sup>AB</sup> <sub>a</sub>  | 2,50 <sup>A</sup> <sub>a</sub>  | 3,00 <sup>A</sup> <sub>a</sub>   | 2,50 <sup>A</sup> <sub>a</sub>   | 2,75 <sup>A</sup> <sub>a</sub>   | 2,75 <sup>A</sup> <sub>a</sub>   | 2,75 <sup>AB</sup> <sub>a</sub>  | 2,25 <sup>BC</sup> <sub>a</sub>  | 2,25 <sup>BC</sup> <sub>a</sub>  | 2,50 <sup>BC</sup> <sub>a</sub>  |
|                           | Taurinos | 3,50 <sup>A</sup> <sub>a</sub>         | 3,00 <sup>A</sup> <sub>ab</sub> | 3,00 <sup>B</sup> <sub>ab</sub> | 3,00 <sup>AB</sup> <sub>ab</sub> | 2,75 <sup>A</sup> <sub>ab</sub> | 3,00 <sup>AB</sup> <sub>ab</sub> | 3,00 <sup>A</sup> <sub>ab</sub> | 2,50 <sup>A</sup> <sub>abc</sub> | 2,25 <sup>A</sup> <sub>bc</sub>  | 2,50 <sup>A</sup> <sub>abc</sub> | 2,75 <sup>A</sup> <sub>abc</sub> | 2,00 <sup>BC</sup> <sub>bc</sub> | 1,75 <sup>C</sup> <sub>c</sub>   | 1,75 <sup>C</sup> <sub>c</sub>   | 2,25 <sup>C</sup> <sub>bc</sub>  |
| Choque                    | Zebuinos | 4,00 <sup>A</sup> <sub>a</sub>         | 3,00 <sup>A</sup> <sub>ab</sub> | 2,75 <sup>B</sup> <sub>b</sub>  | 3,00 <sup>AB</sup> <sub>ab</sub> | 3,00 <sup>A</sup> <sub>ab</sub> | 2,75 <sup>B</sup> <sub>b</sub>   | 3,00 <sup>A</sup> <sub>ab</sub> | 2,50 <sup>A</sup> <sub>b</sub>   | 3,00 <sup>A</sup> <sub>ab</sub>  | 2,75 <sup>A</sup> <sub>b</sub>   | 3,00 <sup>A</sup> <sub>ab</sub>  | 3,00 <sup>A</sup> <sub>ab</sub>  | 2,75 <sup>AB</sup> <sub>b</sub>  | 2,50 <sup>ABC</sup> <sub>b</sub> | 2,50 <sup>BC</sup> <sub>b</sub>  |
|                           | Taurinos | 3,50 <sup>A</sup> <sub>a</sub>         | 2,75 <sup>A</sup> <sub>ab</sub> | 2,75 <sup>B</sup> <sub>ab</sub> | 2,75 <sup>B</sup> <sub>ab</sub>  | 3,00 <sup>A</sup> <sub>ab</sub> | 2,50 <sup>B</sup> <sub>abc</sub> | 3,00 <sup>A</sup> <sub>ab</sub> | 2,75 <sup>A</sup> <sub>ab</sub>  | 2,50 <sup>A</sup> <sub>abc</sub> | 2,25 <sup>A</sup> <sub>bc</sub>  | 2,75 <sup>A</sup> <sub>ab</sub>  | 1,50 <sup>C</sup> <sub>c</sub>   | 2,25 <sup>BC</sup> <sub>bc</sub> | 2,25 <sup>BC</sup> <sub>bc</sub> | 2,75 <sup>BC</sup> <sub>ab</sub> |
| Causas de Variação        |          | Valor de F                             |                                 |                                 |                                  |                                 | Pr > F**                         |                                 |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |
| Tratamento                |          | 14,48                                  |                                 |                                 |                                  |                                 | 0,0002                           |                                 |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |
| Raça                      |          | 6,82                                   |                                 |                                 |                                  |                                 | 0,0177                           |                                 |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |
| Tratamento X Raça         |          | 0,17                                   |                                 |                                 |                                  |                                 | 0,8410                           |                                 |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |
| Tempo                     |          | 9,38                                   |                                 |                                 |                                  |                                 | <,0001                           |                                 |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |
| Tempo X Tratamento        |          | 2,27                                   |                                 |                                 |                                  |                                 | 0,0005                           |                                 |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |
| Tempo X Raça              |          | 0,96                                   |                                 |                                 |                                  |                                 | 0,4921                           |                                 |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |
| Tempo X Tratamento X Raça |          | 1,66                                   |                                 |                                 |                                  |                                 | 0,0225                           |                                 |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |

1: Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo Teste Tukey (P>0,05)

\* Probabilidade de significância do Teste F

Figura 5. Valores médios e desvio padrão do **vigor**(0-5) dos ejaculados dos touros dos grupos (C, G, Cq ) no período experimental.

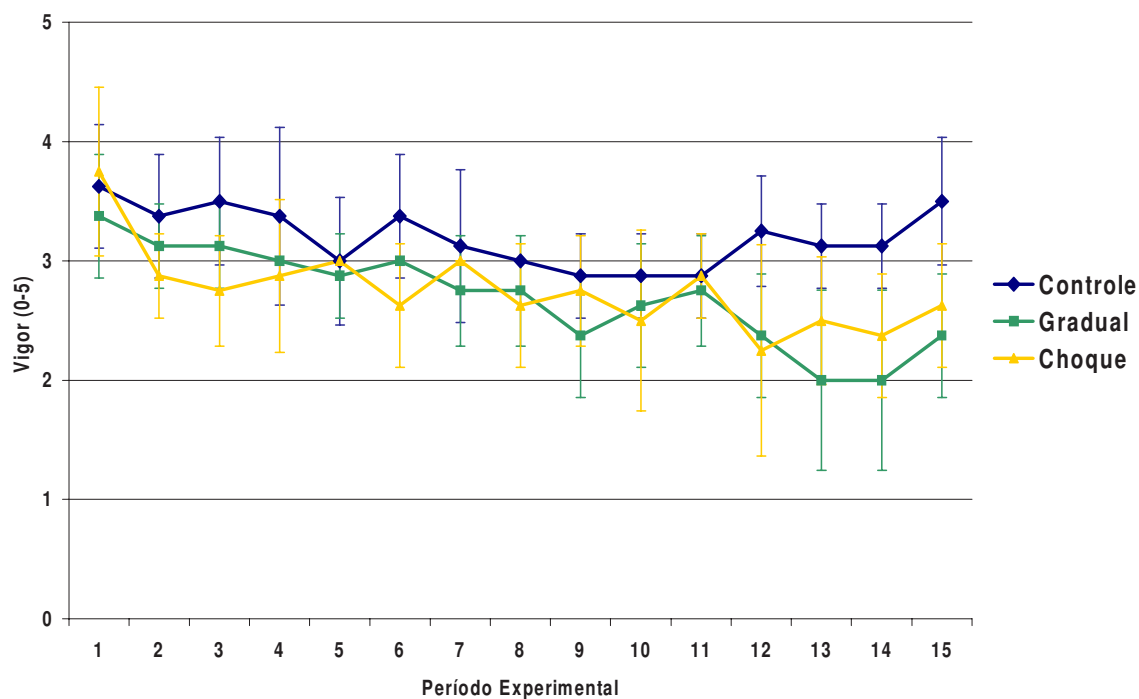


Figura 6. Valores médios e desvio padrão do **vigor**(0-5) dos ejaculados dos touros entre as subespécies taurina e zebuína.

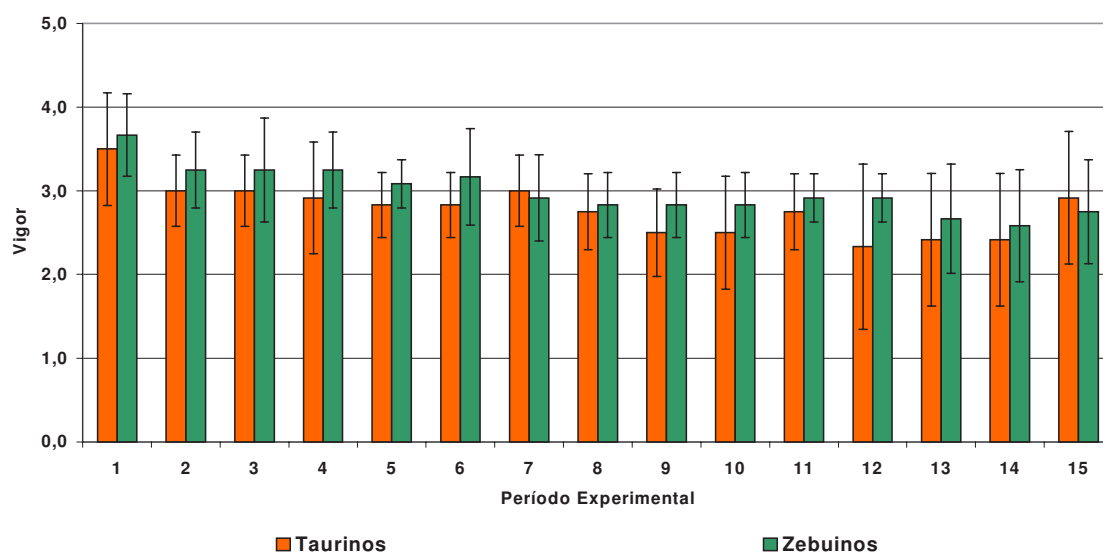


Tabela 7. **Concentração** espermática ( $\times 10^6/\text{ml}$ ) dos ejaculados dos touros do grupo Cq (110% PDR acima NRC) , grupo G (30 e 75% PDR acima NRC) e grupo C em relação ao período experimental.

| Período (semanas)<br>Experimental | Grupos Experimentais / Média* de Concentração |                                |                               |
|-----------------------------------|-----------------------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
|                                   | Controle                                      | Gradual                        | Choque                        |
| 1                                 | 397 <sup>A</sup> <sub>ab</sub>                | 283 <sup>A</sup> <sub>ab</sub> | 296 <sup>A</sup> <sub>a</sub> |
| 2                                 | 310 <sup>A</sup> <sub>ab</sub>                | 168 <sup>A</sup> <sub>b</sub>  | 193 <sup>A</sup> <sub>a</sub> |
| 3                                 | 316 <sup>A</sup> <sub>ab</sub>                | 486 <sup>A</sup> <sub>a</sub>  | 295 <sup>A</sup> <sub>a</sub> |
| 4                                 | 445 <sup>A</sup> <sub>ab</sub>                | 389 <sup>A</sup> <sub>ab</sub> | 304 <sup>A</sup> <sub>a</sub> |
| 5                                 | 299 <sup>A</sup> <sub>ab</sub>                | 393 <sup>A</sup> <sub>ab</sub> | 278 <sup>A</sup> <sub>a</sub> |
| 6                                 | 229 <sup>A</sup> <sub>b</sub>                 | 318 <sup>A</sup> <sub>ab</sub> | 259 <sup>A</sup> <sub>a</sub> |
| 7                                 | 330 <sup>A</sup> <sub>ab</sub>                | 306 <sup>A</sup> <sub>ab</sub> | 269 <sup>A</sup> <sub>a</sub> |
| 8                                 | 326 <sup>A</sup> <sub>ab</sub>                | 276 <sup>A</sup> <sub>ab</sub> | 248 <sup>A</sup> <sub>a</sub> |
| 9                                 | 317 <sup>A</sup> <sub>ab</sub>                | 254 <sup>A</sup> <sub>ab</sub> | 201 <sup>A</sup> <sub>a</sub> |
| 10                                | 329 <sup>A</sup> <sub>ab</sub>                | 291 <sup>A</sup> <sub>ab</sub> | 184 <sup>A</sup> <sub>a</sub> |
| 11                                | 276 <sup>A</sup> <sub>b</sub>                 | 325 <sup>A</sup> <sub>ab</sub> | 345 <sup>A</sup> <sub>a</sub> |
| 12                                | 389 <sup>A</sup> <sub>ab</sub>                | 249 <sup>A</sup> <sub>ab</sub> | 199 <sup>A</sup> <sub>a</sub> |
| 13                                | 425 <sup>A</sup> <sub>ab</sub>                | 203 <sup>B</sup> <sub>b</sub>  | 224 <sup>B</sup> <sub>a</sub> |
| 14                                | 438 <sup>A</sup> <sub>ab</sub>                | 228 <sup>B</sup> <sub>b</sub>  | 202 <sup>B</sup> <sub>a</sub> |
| 15                                | 544 <sup>A</sup> <sub>a</sub>                 | 260 <sup>B</sup> <sub>ab</sub> | 203 <sup>B</sup> <sub>a</sub> |

| Causas de Variação        | Volor de F | Pr > F** |
|---------------------------|------------|----------|
| Tratamento                | 3,91       | 0,0389   |
| Raça                      | 1,54       | 0,2304   |
| Tratamento X Raça         | 0,31       | 0,7363   |
| Tempo                     | 1,9        | 0,0272   |
| Tempo X Tratamento        | 1,9        | 0,0055   |
| Tempo X Raça              | 1,4        | 0,1518   |
| Tempo X Tratamento X Raça | 1,1        | 0,3345   |

1: Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não

diferem entre si pelo Teste Tukey ( $P > 0,05$ )

\* Probabilidade de significancia do Teste F

Figura 7. Valores médios e desvio padrão da **concentração** ( $\times 10^6/\text{ml}$ ) dos ejaculados dos touros dos grupos (C, G, Cq) no período experimental.

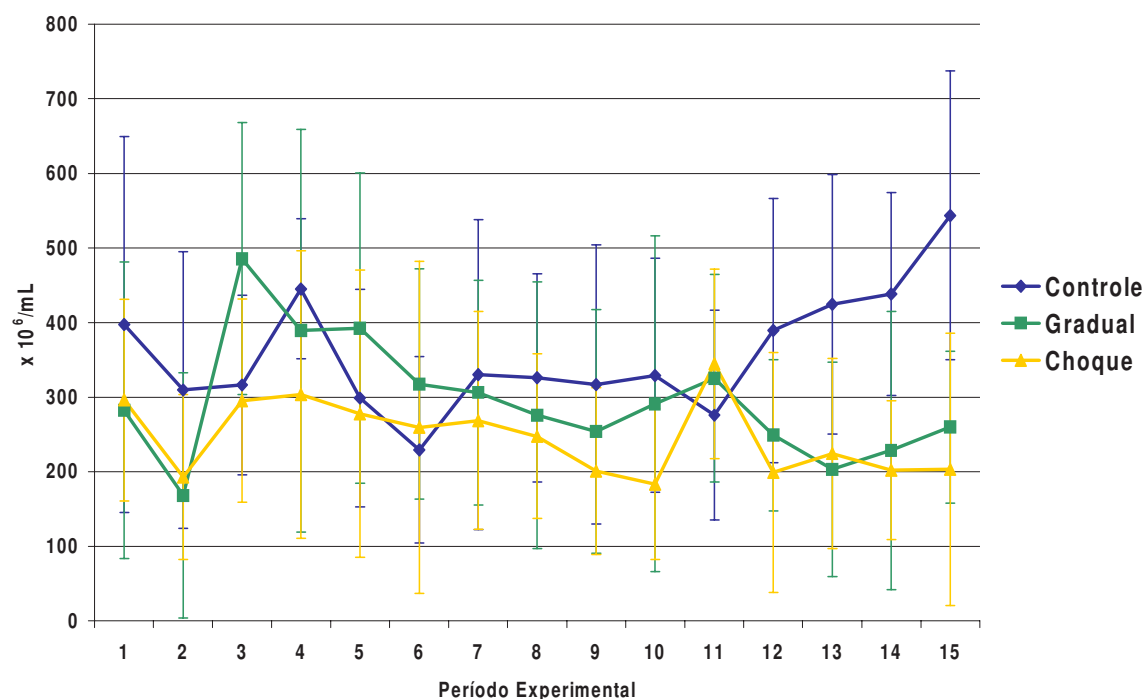
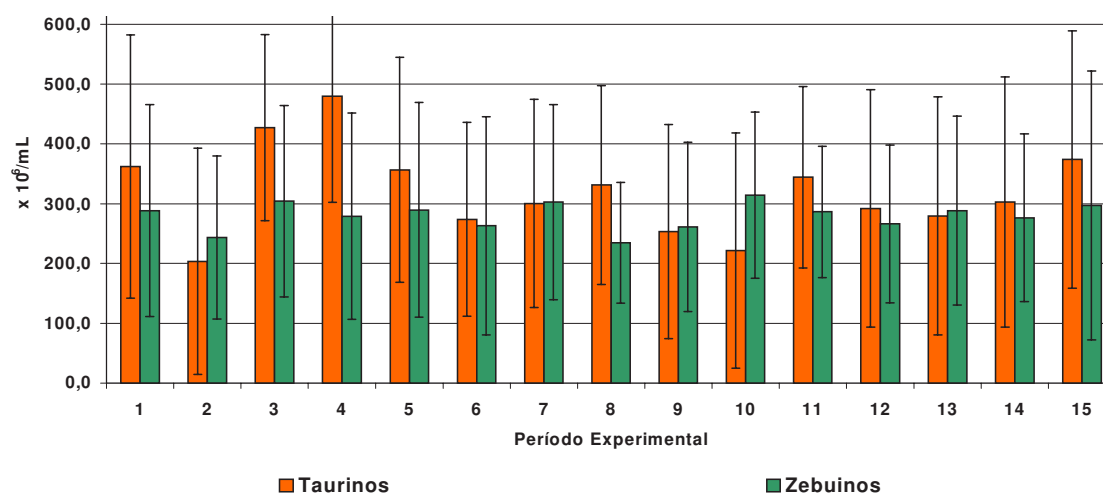


Figura 8. Valores médios e desvio padrão da **concentração** ( $\times 10^6/\text{ml}$ ) dos ejaculados dos touros entre as subespécies taurina e zebuína.



## 5.2 Morfologia espermática

As características morfológicas dos espermatozóides (patologias espermáticas) representadas pelas contagens diferenciais, foram agrupadas para efeito de análise em defeitos maiores (Tabela 8 e Figuras 9 e 10) e menores (Tabela 9 e Figuras 11 e 12), como proposto por BLOM (1973).

Pelo resultado das análises das patologias espermáticas observou-se que os animais *Bos taurus taurus* apresentaram maior número de defeitos maiores que os *Bos taurus indicus* ( $P < 0,05$ ) durante todo período experimental, porém, sem diferença significativa entre os tratamentos. Não existiu diferença entre taurinos e zebuínos quanto aos defeitos menores, embora os animais do grupo choque tenham apresentado maior média de defeitos menores durante grande parte do experimento, mesmo não significativa estatisticamente em todas semanas.

Tabela 8. Valores médios dos **defeitos maiores** dos espermatozóides (%) dos ejaculados dos touros dos grupo Cq (110% PDR acima NRC), grupo G (30 e 75% PDR acima NRC) e grupo C em relação ao período experimental.

| Período (semanas) | Raça <sup>1</sup> /Médias Defeitos Maiores |                 | Tratamento |        | Raça       |        | Tratam   |
|-------------------|--------------------------------------------|-----------------|------------|--------|------------|--------|----------|
|                   | Taurina                                    | Zebuina         | Valor de F | Pr > F | Valor de F | Pr > F | Valor de |
| 1                 | 16 <sup>A</sup>                            | 7 <sup>B</sup>  | 0,19       | 0,8256 | 16,18      | 0,0008 | 0,93     |
| 2                 | 16 <sup>A</sup>                            | 8 <sup>B</sup>  | 0,38       | 0,6883 | 12,05      | 0,0027 | 0,90     |
| 3                 | 17 <sup>A</sup>                            | 8 <sup>B</sup>  | 1,64       | 0,2216 | 8,61       | 0,0089 | 0,36     |
| 4                 | 23 <sup>A</sup>                            | 12 <sup>B</sup> | 0,92       | 0,4172 | 8,20       | 0,0108 | 1,65     |
| 5                 | 22 <sup>A</sup>                            | 10 <sup>B</sup> | 1,21       | 0,3233 | 12,32      | 0,0029 | 0,39     |
| 6                 | 27 <sup>A</sup>                            | 10 <sup>B</sup> | 0,64       | 0,5402 | 9,01       | 0,0077 | 0,01     |
| 7                 | 27 <sup>A</sup>                            | 12 <sup>B</sup> | 0,50       | 0,6171 | 9,09       | 0,0074 | 0,18     |
| 8                 | 30 <sup>A</sup>                            | 11 <sup>B</sup> | 0,20       | 0,8215 | 12,46      | 0,0028 | 1,25     |
| 9                 | 25 <sup>A</sup>                            | 9 <sup>B</sup>  | 0,04       | 0,9630 | 8,54       | 0,0091 | 0,23     |
| 10                | 28 <sup>A</sup>                            | 10 <sup>B</sup> | 0,23       | 0,7932 | 8,61       | 0,0089 | 0,05     |
| 11                | 29 <sup>A</sup>                            | 9 <sup>B</sup>  | 0,47       | 0,6350 | 6,67       | 0,0200 | 0,52     |
| 12                | 22 <sup>A</sup>                            | 15 <sup>A</sup> | 0,26       | 0,7707 | 1,83       | 0,1935 | 0,00     |
| 13                | 33 <sup>A</sup>                            | 15 <sup>B</sup> | 0,59       | 0,5650 | 5,44       | 0,0331 | 0,75     |
| 14                | 27 <sup>A</sup>                            | 10 <sup>B</sup> | 2,17       | 0,1539 | 8,40       | 0,0125 | 0,70     |

1: Médias seguidas pelo menos por uma letra em comum, na linha, não difere entre si pelo Teste F ( $P>0,05$ )

Figura 9. Valores médios e desvio padrão dos **defeitos maiores** dos espermatozóides (%) dos touros dos grupos (C, G, Cq ) no período experimental.

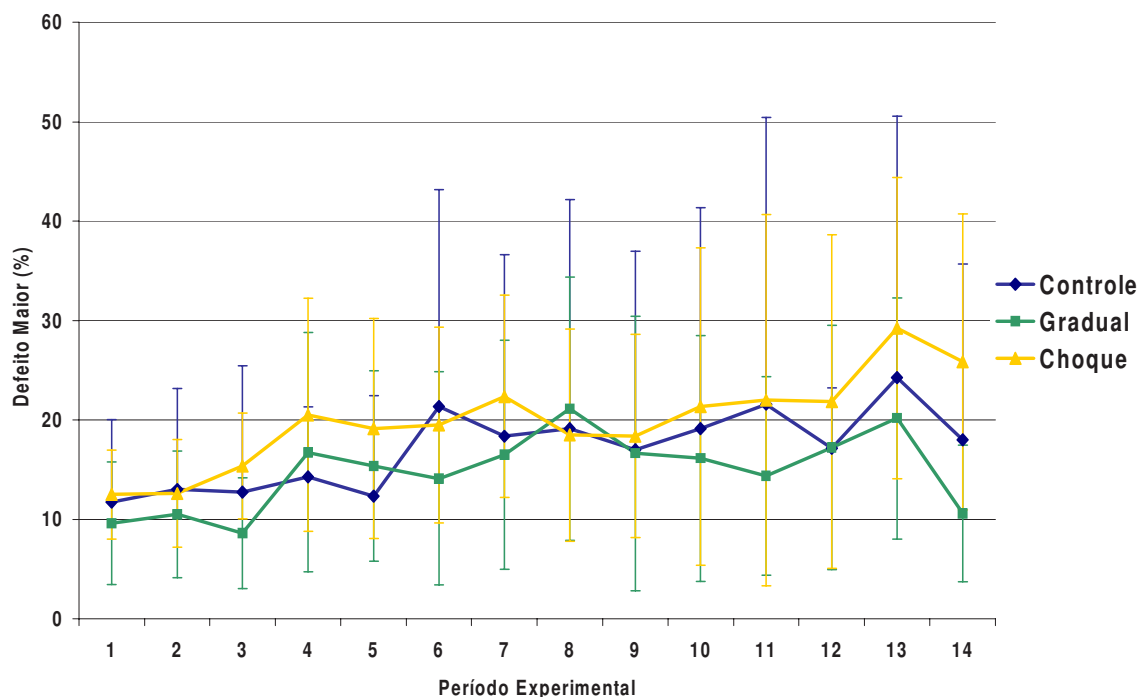


Figura 10. Valores médios e desvio padrão dos **defeitos maiores** dos espermatozóides (%) dos touros entre as subespécies taurina e zebuína.

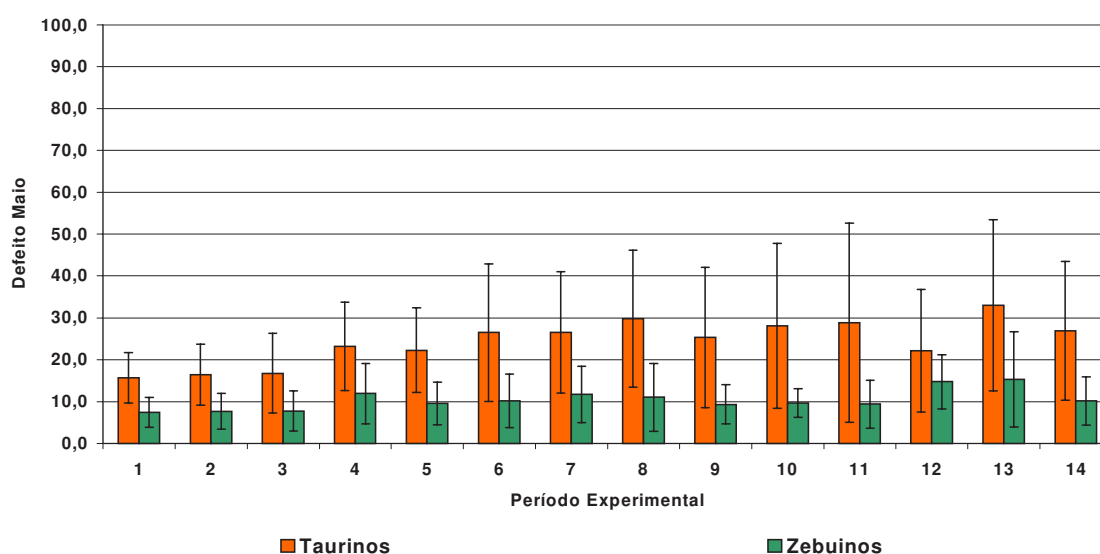


Tabela 9. Valores médios dos **defeitos menores** dos espermatozóides (%) dos ejaculados do grupo Cq (110% PDR acima NRC) , grupo G (30 e 75% PDR acima NRC) e grupo C em relação ao período experimental.

| Período (semanas) | Tratamento <sup>1</sup> /Médias Defeitos Menores |                    |                   | Tratamento        |            | Raça   |            | Tratamento X Raça |            |        |
|-------------------|--------------------------------------------------|--------------------|-------------------|-------------------|------------|--------|------------|-------------------|------------|--------|
|                   | Experimental                                     | Controle           | Gradual           | Choque            | Valor de F | Pr > F | Valor de F | Pr > F            | Valor de F | Pr > F |
| 1                 |                                                  | 1,63 <sup>AB</sup> | 2,13 <sup>A</sup> | 1,00 <sup>B</sup> | 3,52       | 0,0513 | 2,08       | 0,1667            | 1,56       | 0,2377 |
| 2                 |                                                  | 0,88 <sup>A</sup>  | 1,63 <sup>A</sup> | 2,13 <sup>A</sup> | 1,42       | 0,2684 | 0,47       | 0,5036            | 1,42       | 0,2684 |
| 3                 |                                                  | 1,50 <sup>B</sup>  | 1,50 <sup>B</sup> | 3,00 <sup>A</sup> | 3,93       | 0,0384 | 0,98       | 0,3349            | 2,29       | 0,1299 |
| 4                 |                                                  | 3,14 <sup>B</sup>  | 2,63 <sup>B</sup> | 5,00 <sup>A</sup> | 4,60       | 0,0253 | 0,80       | 0,3837            | 0,08       | 0,9266 |
| 5                 |                                                  | 1,33 <sup>A</sup>  | 1,88 <sup>A</sup> | 1,13 <sup>A</sup> | 0,70       | 0,5120 | 0,04       | 0,8454            | 1,15       | 0,3405 |
| 6                 |                                                  | 3,38 <sup>A</sup>  | 4,25 <sup>A</sup> | 3,75 <sup>A</sup> | 0,14       | 0,8741 | 1,62       | 0,2199            | 2,01       | 0,1628 |
| 7                 |                                                  | 1,00 <sup>B</sup>  | 1,88 <sup>B</sup> | 4,00 <sup>A</sup> | 7,83       | 0,0036 | 0,43       | 0,5210            | 0,43       | 0,6579 |
| 8                 |                                                  | 2,00 <sup>A</sup>  | 4,57 <sup>A</sup> | 4,88 <sup>A</sup> | 1,38       | 0,2798 | 0,05       | 0,8293            | 2,11       | 0,1535 |
| 9                 |                                                  | 3,00 <sup>A</sup>  | 3,00 <sup>A</sup> | 4,50 <sup>A</sup> | 0,11       | 0,9001 | 0,95       | 0,3419            | 3,21       | 0,6641 |
| 10                |                                                  | 3,38 <sup>A</sup>  | 2,25 <sup>A</sup> | 3,88 <sup>A</sup> | 0,65       | 0,5318 | 0,02       | 0,8900            | 0,80       | 0,4640 |
| 11                |                                                  | 4,43 <sup>A</sup>  | 2,75 <sup>B</sup> | 5,00 <sup>A</sup> | 5,77       | 0,0130 | 2,41       | 0,1399            | 0,93       | 0,4154 |
| 12                |                                                  | 6,25 <sup>A</sup>  | 5,00 <sup>A</sup> | 7,00 <sup>A</sup> | 0,25       | 0,7782 | 0,02       | 0,9019            | 0,98       | 0,3972 |
| 13                |                                                  | 1,63 <sup>A</sup>  | 2,50 <sup>A</sup> | 1,13 <sup>A</sup> | 0,47       | 0,6330 | 0,01       | 0,9203            | 3,30       | 0,6630 |
| 14                |                                                  | 5,00 <sup>A</sup>  | 6,60 <sup>A</sup> | 7,29 <sup>A</sup> | 0,32       | 0,7304 | 0,30       | 0,5922            | 1,35       | 0,2921 |

1: Médias seguidas pelo menos por uma letra em comum, na linha, não difere entre si pelo Teste F (P>0,05)

Figura 11. Valores médios e desvio padrão dos **defeitos menores** dos espermatozoides (%) dos touros dos grupos (C, G, Cq) no período experimental.

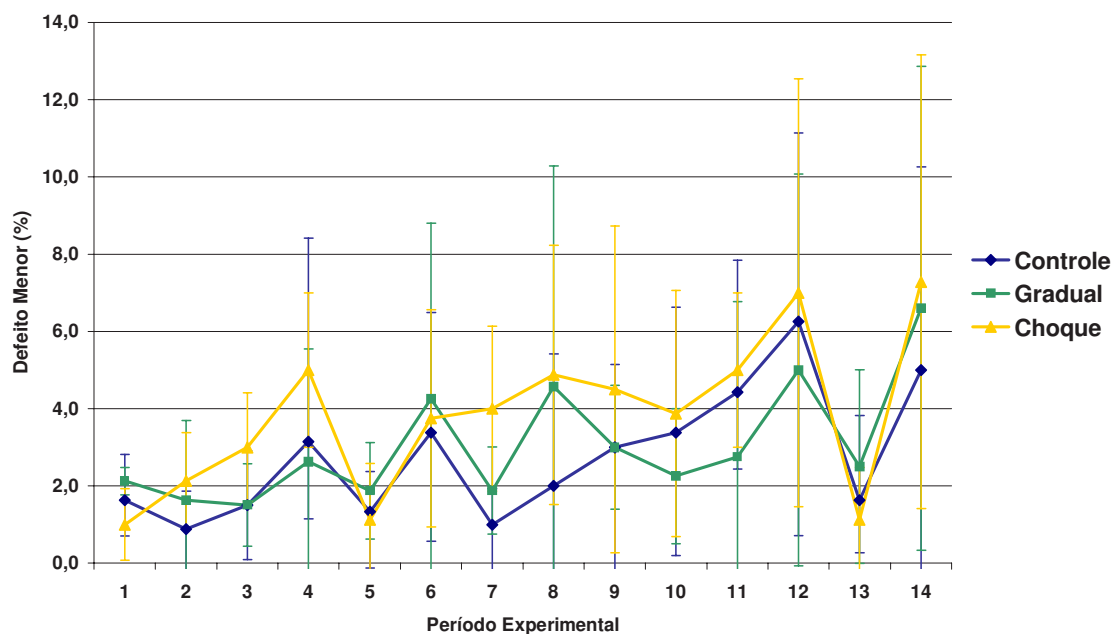
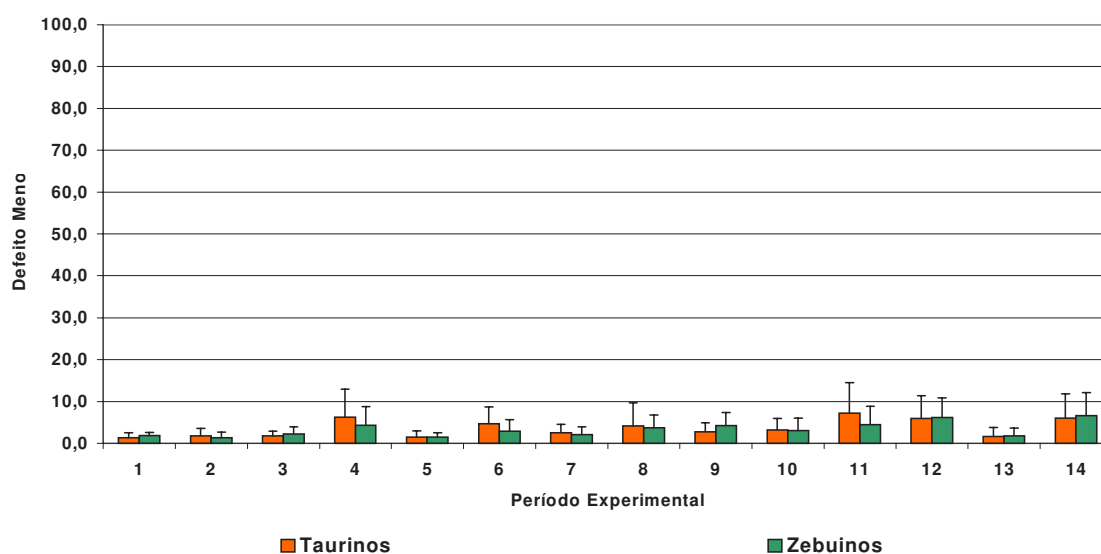


Figura 12. Valores médios e desvio padrão dos **defeitos menores** dos espermatozoides (%) dos touros entre as subespécies taurina e zebuína.



### 5.3 Dosagens sanguíneas

Nas dosagens sanguíneas de uréia (Tabela 10 e Figuras 13 e 14), ficou evidente a relação das concentrações de proteína degradável no rúmen na dieta com as concentrações da uréia no plasma. O grupo choque e gradual apresentaram valores bem acima do grupo controle desde a quarta semana até o final do período experimental ( $P < 0,01$ ). Saliente-se que os animais da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) apresentaram valores superiores quanto à concentração média da uréia ( $P > 0,05$ ) (Figura 14) e amônia ( $P < 0,01$ ) (Figura 16) plasmática em relação aos animais da raça Simental (*Bos taurus taurus*) durante todo período experimental.

Embora as concentrações de amônia plasmática não tenham apresentado relação direta com os níveis de proteína degradável no rúmen, nota-se pela Figura 16 que os zebuínos apresentaram valores médios superiores aos taurinos ( $P < 0,01$ ) ao longo do tempo experimental.

Os valores plasmáticos da concentração de testosterona (Tabela 12 e Figuras 17 e 18) não mostraram diferenças estatisticamente significativas em relação aos tratamentos. Quanto aos horários da colheita de amostras de sangue, observou-se, apenas no grupo controle, a ocorrência de aumento das concentrações plasmáticas de testosterona nos horários das 06:00 hs e das 18:00 hs em relação à 0:00 hs e 12 hs.

Tabela 10. Concentrações médias de **uréia** (mg/dl) no plasma sanguíneo dos touros do grupo Cq (110% PDR acima NRC), grupo G (30 e 75% PDR acima NRC) e grupo C em relação ao período experimental.

| Período (semanas)         | Grupos Experimentais / Média <sup>1</sup> de Ureia |                                 |                                  | Período (semanas) | Grupos Experimentais / Média <sup>1</sup> de Ureia |                                 |
|---------------------------|----------------------------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|-------------------|----------------------------------------------------|---------------------------------|
| Experimental              | Controle                                           | Gradual                         | Choque                           | Experimental      | Taurinos                                           | Zebuínos                        |
| 1                         | 9,26 <sup>A<sub>b</sub></sup>                      | 9,26 <sup>A<sub>e</sub></sup>   | 7,98 <sup>A<sub>e</sub></sup>    | 1                 | 6,22 <sup>B<sub>b</sub></sup>                      | 11,44 <sup>A<sub>b</sub></sup>  |
| 2                         | 10,19 <sup>A<sub>b</sub></sup>                     | 14,91 <sup>A<sub>de</sub></sup> | 11,08 <sup>A<sub>e</sub></sup>   | 2                 | 7,39 <sup>B<sub>b</sub></sup>                      | 16,73 <sup>A<sub>ab</sub></sup> |
| 3                         | 9,51 <sup>A<sub>b</sub></sup>                      | 10,02 <sup>A<sub>e</sub></sup>  | 10,95 <sup>A<sub>e</sub></sup>   | 3                 | 5,94 <sup>B<sub>b</sub></sup>                      | 14,38 <sup>A<sub>b</sub></sup>  |
| 4                         | 9,09 <sup>C<sub>b</sub></sup>                      | 18,69 <sup>B<sub>cd</sub></sup> | 43,83 <sup>A<sub>abc</sub></sup> | 4                 | 21,40 <sup>B<sub>a</sub></sup>                     | 26,33 <sup>A<sub>a</sub></sup>  |
| 5                         | 11,04 <sup>C<sub>b</sub></sup>                     | 21,74 <sup>B<sub>cd</sub></sup> | 49,01 <sup>A<sub>a</sub></sup>   | 5                 | 22,76 <sup>B<sub>a</sub></sup>                     | 31,77 <sup>A<sub>a</sub></sup>  |
| 6                         | 10,93 <sup>C<sub>b</sub></sup>                     | 22,42 <sup>B<sub>c</sub></sup>  | 39,33 <sup>A<sub>cd</sub></sup>  | 6                 | 22,01 <sup>B<sub>a</sub></sup>                     | 26,44 <sup>A<sub>a</sub></sup>  |
| 7                         | 10,62 <sup>C<sub>b</sub></sup>                     | 23,44 <sup>B<sub>bc</sub></sup> | 47,31 <sup>A<sub>ab</sub></sup>  | 7                 | 22,14 <sup>B<sub>a</sub></sup>                     | 32,11 <sup>A<sub>a</sub></sup>  |
| 8                         | 6,88 <sup>C<sub>b</sub></sup>                      | 30,41 <sup>B<sub>ab</sub></sup> | 46,21 <sup>A<sub>abc</sub></sup> | 8                 | 23,67 <sup>B<sub>a</sub></sup>                     | 31,99 <sup>A<sub>a</sub></sup>  |
| 9                         | 8,83 <sup>B<sub>b</sub></sup>                      | 34,74 <sup>A<sub>a</sub></sup>  | 34,32 <sup>A<sub>d</sub></sup>   | 9                 | 23,84 <sup>A<sub>a</sub></sup>                     | 28,09 <sup>A<sub>a</sub></sup>  |
| 10                        | 18,09 <sup>B<sub>a</sub></sup>                     | 30,24 <sup>A<sub>ab</sub></sup> | 34,83 <sup>A<sub>d</sub></sup>   | 10                | 24,52 <sup>B<sub>a</sub></sup>                     | 30,91 <sup>A<sub>a</sub></sup>  |
| 11                        | 23,87 <sup>B<sub>a</sub></sup>                     | 34,67 <sup>A<sub>a</sub></sup>  | 40,94 <sup>A<sub>bcd</sub></sup> | 11                | 30,01 <sup>B<sub>a</sub></sup>                     | 36,30 <sup>A<sub>a</sub></sup>  |
|                           |                                                    |                                 |                                  |                   |                                                    |                                 |
| Causas de Variação        | Valor de F                                         |                                 | Pr > F*                          |                   |                                                    |                                 |
| Tratamento                | 77,26                                              |                                 | <,0001                           |                   |                                                    |                                 |
| Raça                      | 24,1                                               |                                 | 0,0001                           |                   |                                                    |                                 |
| Tratamento X Raça         | 1,51                                               |                                 | 0,2476                           |                   |                                                    |                                 |
| Tempo                     | 87,51                                              |                                 | <,0001                           |                   |                                                    |                                 |
| Tempo X Tratamento        | 31,93                                              |                                 | <,0001                           |                   |                                                    |                                 |
| Tempo X Raça              | 1,44                                               |                                 | 0,1653                           |                   |                                                    |                                 |
| Tempo X Tratamento X Raça | 0,76                                               |                                 | 0,7618                           |                   |                                                    |                                 |

1: Médias ajustadas seguidas pela mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo Teste Tukey-Kramer (P>0,05)

\* Probabilidade de significância do Teste F

Figura 13. Valores médios das e desvio padrão das concentrações de **uréia** (mg/dl) no plasma sangüíneo dos animais dos grupos Cq, G e C durante o período experimental.

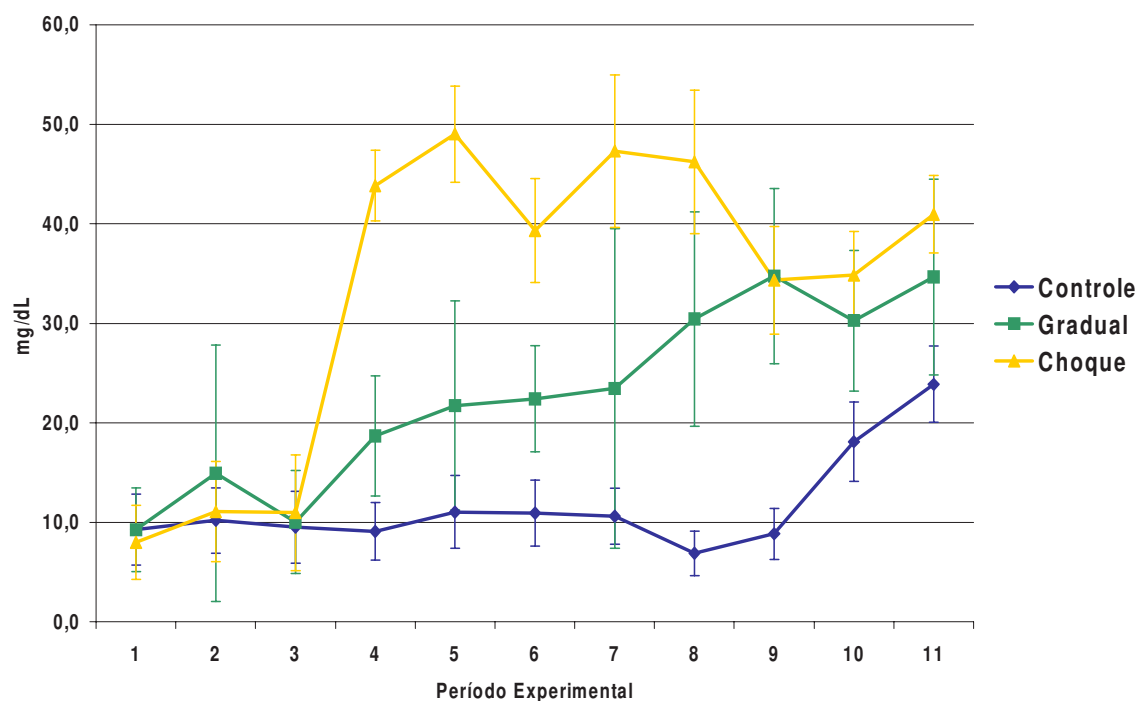


Figura 14. Valores médios e desvio padrão das concentrações de **uréia**(mg/dl) no plasma sangüíneo dos touros entre as subespécies taurina e zebuína.

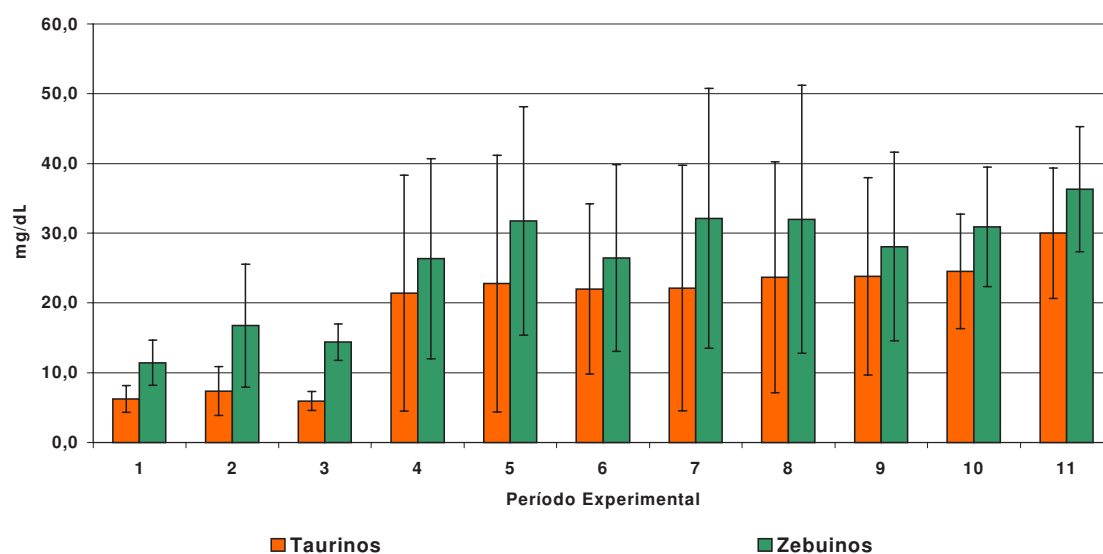


Tabela 11. Concentrações médias de **amônia** (mg/dl) no plasma sanguíneo dos touros do grupo Cq (110% PDR acima NRC), grupo G (30 e 75% PDR acima NRC) e grupo C em relação ao período experimental.

| Tratamento                | Raça     | Grupos Experimentais / Média* de amonia |                                  |                                  |                                   |                                   |                                    |                                  |                                  |                                   |                                  |                                   |
|---------------------------|----------|-----------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
|                           |          | 1                                       | 2                                | 3                                | 4                                 | 5                                 | 6                                  | 7                                | 8                                | 9                                 | 10                               | 11                                |
| Controle                  | Zebuinos | 65,33 <sup>A<sub>d</sub></sup>          | 71,24 <sup>A<sub>cd</sub></sup>  | 83,39 <sup>A<sub>cd</sub></sup>  | 169,66 <sup>ab</sup>              | 170,42 <sup>ab</sup>              | 186,25 <sup>a</sup>                | 129,95 <sup>abc</sup>            | 65,70 <sup>d</sup>               | 94,78 <sup>cd</sup>               | 117,87 <sup>bcd</sup>            | 169,85 <sup>ab</sup>              |
|                           | Taurinos | 66,66 <sup>A<sub>b</sub></sup>          | 79,43 <sup>A<sub>ab</sub></sup>  | 68,22 <sup>A<sub>b</sub></sup>   | 133,75 <sup>A<sub>a</sub></sup>   | 106,49 <sup>BC<sub>ab</sub></sup> | 117,50 <sup>B<sub>ab</sub></sup>   | 79,34 <sup>A<sub>ab</sub></sup>  | 84,11 <sup>B<sub>ab</sub></sup>  | 85,15 <sup>A<sub>ab</sub></sup>   | 85,30 <sup>AB<sub>ab</sub></sup> | 116,75 <sup>AB<sub>ab</sub></sup> |
| Gradual                   | Zebuinos | 82,63 <sup>A<sub>b</sub></sup>          | 80,59 <sup>A<sub>b</sub></sup>   | 73,32 <sup>A<sub>b</sub></sup>   | 109,08 <sup>A<sub>ab</sub></sup>  | 61,77 <sup>C<sub>b</sub></sup>    | 88,59 <sup>B<sub>ab</sub></sup>    | 112,14 <sup>A<sub>ab</sub></sup> | 111,44 <sup>A<sub>a</sub></sup>  | 146,22 <sup>A<sub>a</sub></sup>   | 86,27 <sup>AB<sub>ab</sub></sup> | 89,37 <sup>B<sub>ab</sub></sup>   |
|                           | Taurinos | 54,72 <sup>A<sub>b</sub></sup>          | 88,42 <sup>A<sub>ab</sub></sup>  | 62,73 <sup>A<sub>ab</sub></sup>  | 120,63 <sup>A<sub>a</sub></sup>   | 77,46 <sup>C<sub>ab</sub></sup>   | 71,30 <sup>B<sub>ab</sub></sup>    | 118,80 <sup>A<sub>a</sub></sup>  | 108,56 <sup>A<sub>a</sub></sup>  | 85,93 <sup>A<sub>ab</sub></sup>   | 81,39 <sup>AB<sub>ab</sub></sup> | 89,34 <sup>B<sub>ab</sub></sup>   |
| Choque                    | Zebuinos | 53,35 <sup>A<sub>bc</sub></sup>         | 111,20 <sup>A<sub>ab</sub></sup> | 90,34 <sup>A<sub>abc</sub></sup> | 129,14 <sup>A<sub>a</sub></sup>   | 80,18 <sup>C<sub>abc</sub></sup>  | 123,89 <sup>AB<sub>a</sub></sup>   | 114,14 <sup>A<sub>ab</sub></sup> | 124,76 <sup>AB<sub>a</sub></sup> | 103,56 <sup>A<sub>ab</sub></sup>  | 37,28 <sup>B<sub>c</sub></sup>   | 92,80 <sup>B<sub>abc</sub></sup>  |
|                           | Taurinos | 70,72 <sup>A<sub>bc</sub></sup>         | 98,97 <sup>A<sub>bc</sub></sup>  | 83,29 <sup>A<sub>bc</sub></sup>  | 117,75 <sup>A<sub>abc</sub></sup> | 177,52 <sup>A<sub>a</sub></sup>   | 119,45 <sup>AB<sub>abc</sub></sup> | 120,97 <sup>A<sub>ab</sub></sup> | 160,72 <sup>A<sub>a</sub></sup>  | 116,25 <sup>A<sub>abc</sub></sup> | 58,63 <sup>AB<sub>c</sub></sup>  | 98,88 <sup>B<sub>bc</sub></sup>   |
| Causas de Variação        |          | Valor de F                              |                                  |                                  |                                   |                                   | Pr > F**                           |                                  |                                  |                                   |                                  |                                   |
| Tratamento                |          | 2,2                                     |                                  |                                  |                                   |                                   | 0,1396                             |                                  |                                  |                                   |                                  |                                   |
| Raça                      |          | 1,26                                    |                                  |                                  |                                   |                                   | 0,2768                             |                                  |                                  |                                   |                                  |                                   |
| Tratamento X Raça         |          | 2,53                                    |                                  |                                  |                                   |                                   | 0,1073                             |                                  |                                  |                                   |                                  |                                   |
| Tempo                     |          | 14,51                                   |                                  |                                  |                                   |                                   | <,0001                             |                                  |                                  |                                   |                                  |                                   |
| Tempo X Tratamento        |          | 5,04                                    |                                  |                                  |                                   |                                   | <,0001                             |                                  |                                  |                                   |                                  |                                   |
| Tempo X Raça              |          | 1,28                                    |                                  |                                  |                                   |                                   | 0,2488                             |                                  |                                  |                                   |                                  |                                   |
| Tempo X Tratamento X Raça |          | 2,48                                    |                                  |                                  |                                   |                                   | 0,0014                             |                                  |                                  |                                   |                                  |                                   |

1: Médias ajustadas seguidas pela mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo Teste Tukey-Kramer (P>0,05)

\* Probabilidade de significância do Teste F

Figura 15. Valores médios e desvio padrão das concentrações de **amônia** (mg/dl) no plasma sanguíneo dos touros nos grupos (Cq, G e C) durante o período experimental.

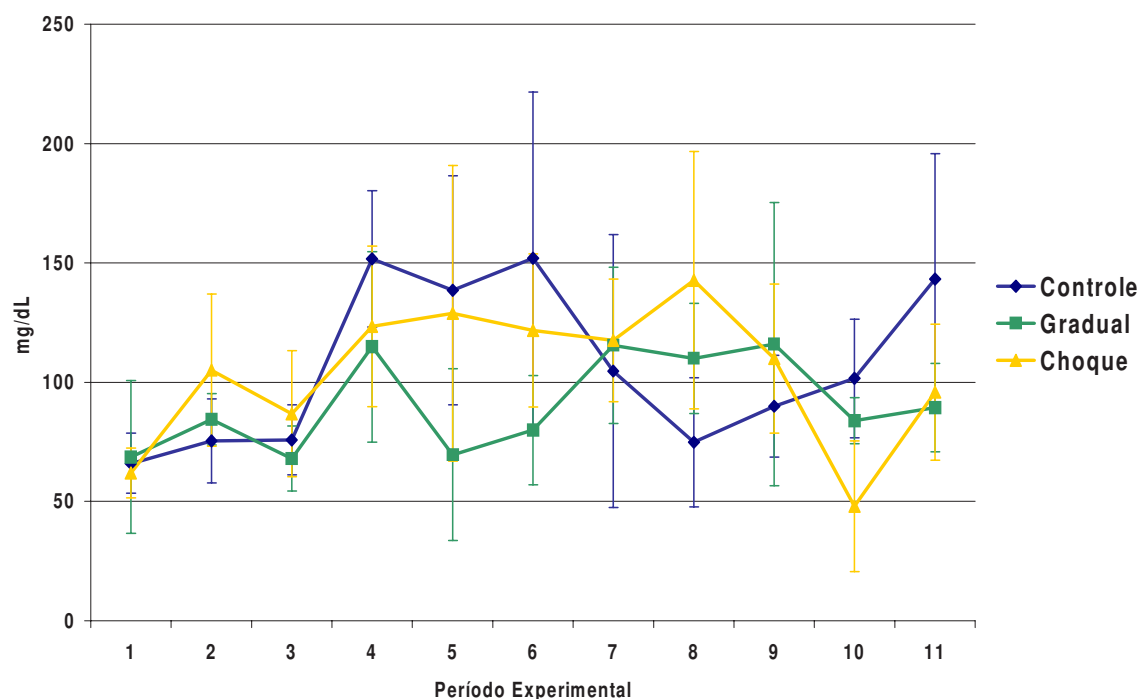


Figura 16. Valores médios e desvio padrão das concentrações de **amônia** (mg/dl) no plasma sanguíneo dos touros entre as subespécies taurina e zebuína.

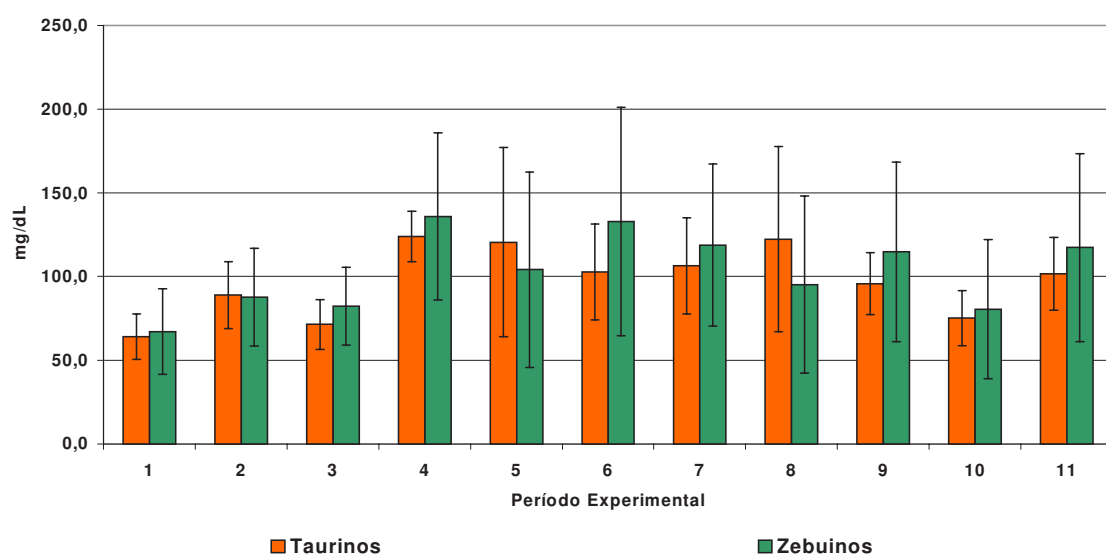


Tabela 12. Concentrações médias de **testosterona** (mg/dl) no plasma sanguíneo dos touros do grupo Cq (110% PDR acima NRC), grupo G (30 e 75% PDR acima NRC) e grupo C em relação ao período experimental.

| Grupos Experimental | Período em Horas / Média <sup>1</sup> Testosterona |                                  |                                 |                                  |
|---------------------|----------------------------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
|                     | 00:00                                              | 06:00                            | 12:00                           | 18:00                            |
| Controle            | 712,97 <sup>A<sub>ab</sub></sup>                   | 759,13 <sup>A<sub>ab</sub></sup> | 459,96 <sup>A<sub>b</sub></sup> | 884,57 <sup>A<sub>a</sub></sup>  |
| Gradual             | 292,15 <sup>B<sub>a</sub></sup>                    | 556,15 <sup>A<sub>a</sub></sup>  | 513,17 <sup>A<sub>a</sub></sup> | 357,10 <sup>B<sub>a</sub></sup>  |
| Choque              | 629,65 <sup>AB<sub>a</sub></sup>                   | 375,79 <sup>A<sub>a</sub></sup>  | 487,59 <sup>A<sub>a</sub></sup> | 522,20 <sup>AB<sub>a</sub></sup> |

| Causas de Variação        | Volor de F | Pr > F* |
|---------------------------|------------|---------|
| Tratamento                | 1,9        | 0,1788  |
| Raça                      | 0,18       | 0,6731  |
| Tratamento X Raça         | 0,94       | 0,4106  |
| Tempo                     | 23,28      | <,0001  |
| Tempo X Tratamento        | 2,1        | 0,0679  |
| Tempo X Raça              | 1,25       | 0,3011  |
| Tempo X Tratamento X Raça | 0,48       | 0,8216  |

1: Médias ajustadas seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo Teste Tukey-Kramer (P>0,05)

\* Probabilidade de significancia do Teste F

Figura 17. Valores médios e desvio padrão das concentrações de **testosterona** (mg/dl) no plasma sangüíneo dos animais dos grupos (Cq, G e C) durante o período experimental.

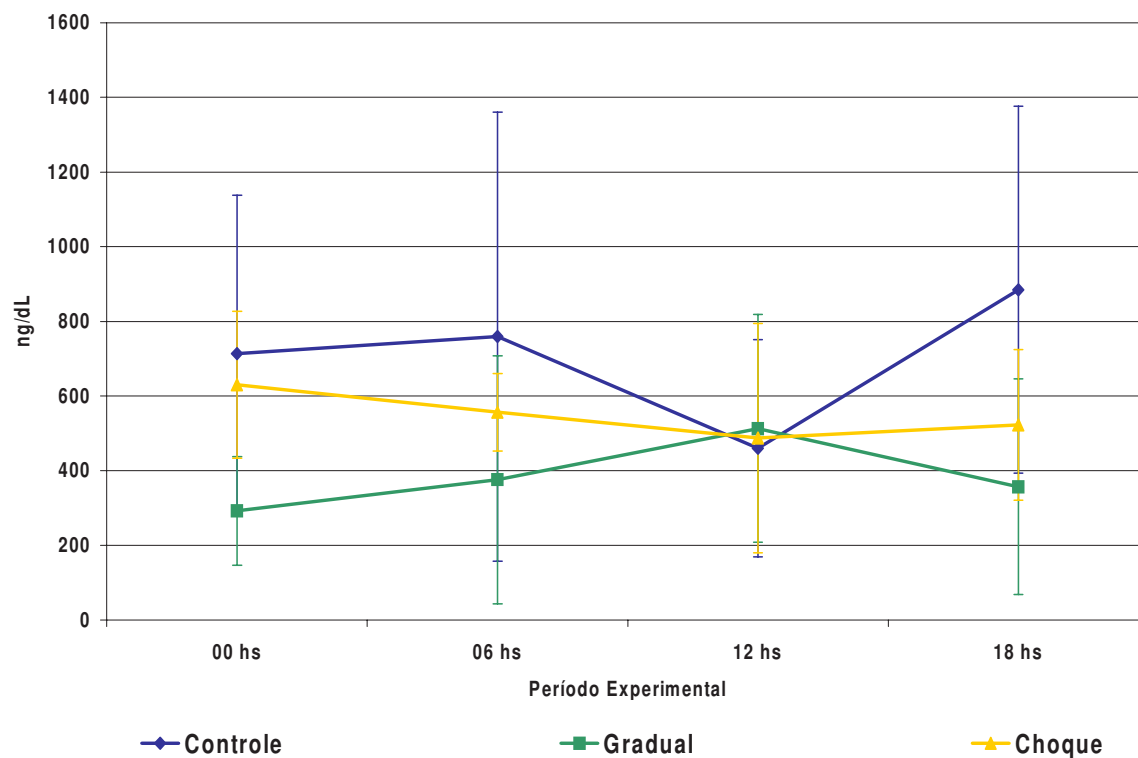
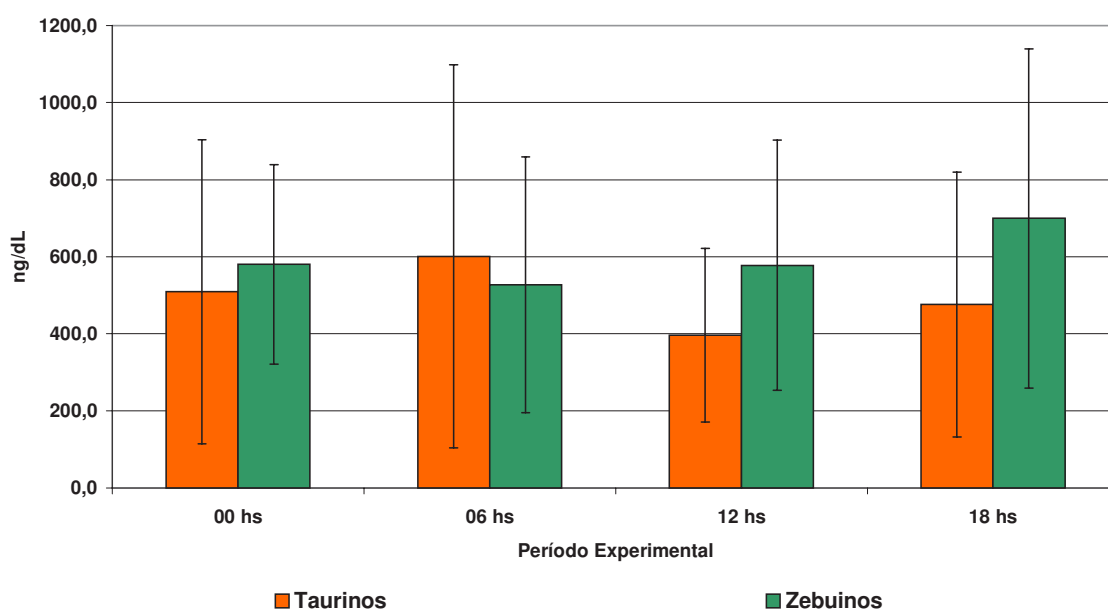


Figura 18. Valores médios e desvio padrão das concentrações de **testosterona** (mg/dl) no plasma sangüíneo dos touros entre as subespécies taurina e zebuína.



## 5.4 Análise histológica dos testículos dos touros

Pela análise histológica do parênquima testicular pode-se notar áreas com perda da estrutura das células da linhagem germinativa. Foram observados maiores danos no testículo de touros *Bos taurus taurus* (Figura 20 - B, D, F e H) em relação aos *Bos taurus indicus* (Figura 19- B, D, F e H) de grupos tratados.

Algumas particularidades foram notadas quanto à cauda do epidídimo. A presença de grande quantidade de espermatozóides no lume epididimário ficou caracterizada em todos os grupos experimentais e entre as duas subespécies. Por outro lado, pode-se notar, pelas Figuras 19 (G-H) e 20 (G-H), que o epitélio colunar pseudoestratificado da cauda do epidídimo dos animais da subespécie zebuína mostrou-se aumentado em relação à taurina no grupo Cq.

Figura 19. Fotomicrografias de testículos (A,B,C e D) e cauda do epidídimo (E,F,G e H) de touros (*Bos taurus indicus*) submetidos a dietas de alto nível de proteína degradável no rúmen. A, C, E e G – Grupo controle. B, D, F e H – Grupo tratado. A,B,E e F: 200x; C,D,G e H: 400x

Túbulos seminíferos      ↖

Espaço intersticial      ✚

Espermatozóides      ★

Epitélio colunar pseudo estratificado      ↗

Epitélio seminífero com células germinativas      ○

Musculatura lisa      ▲

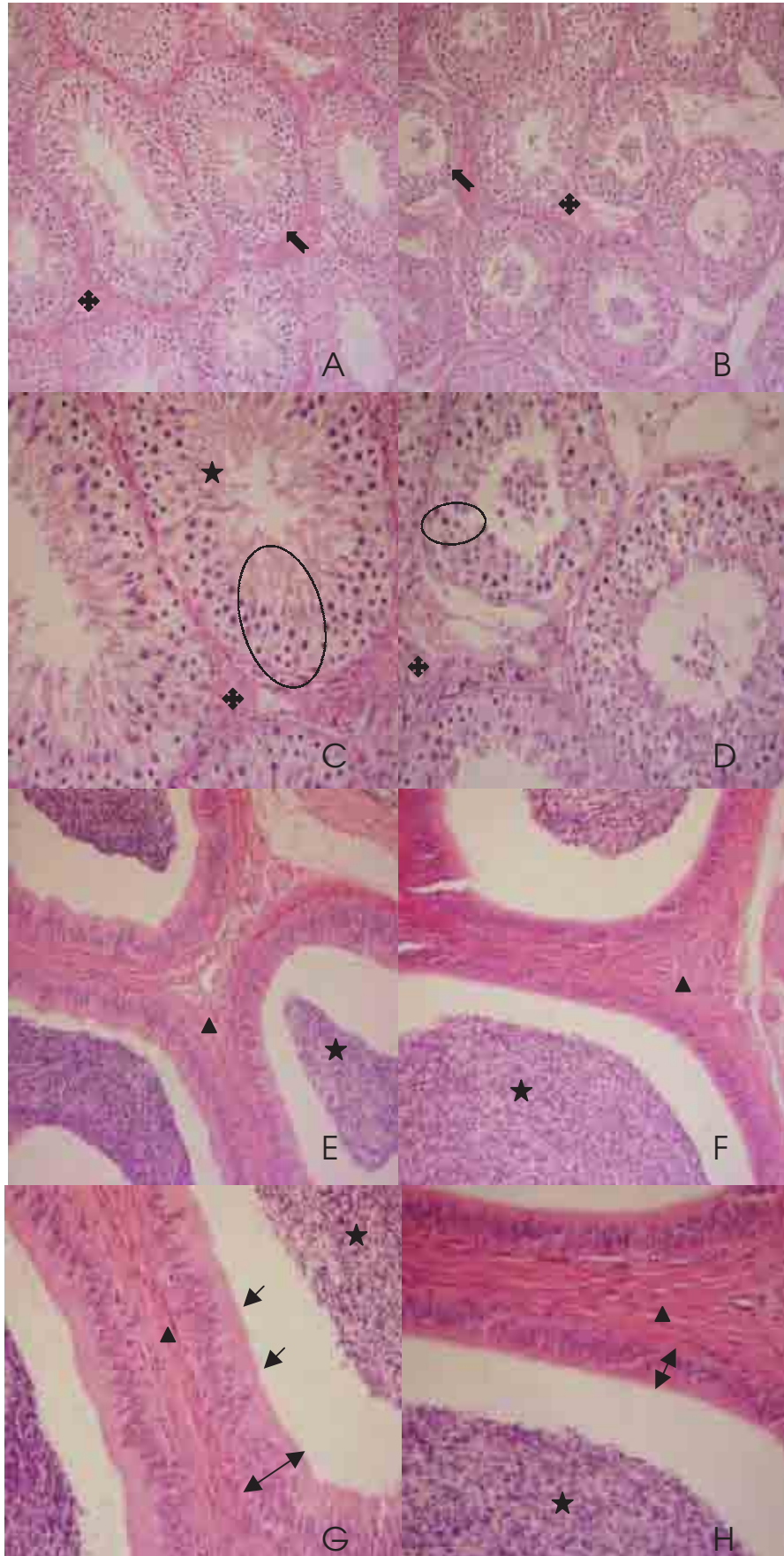
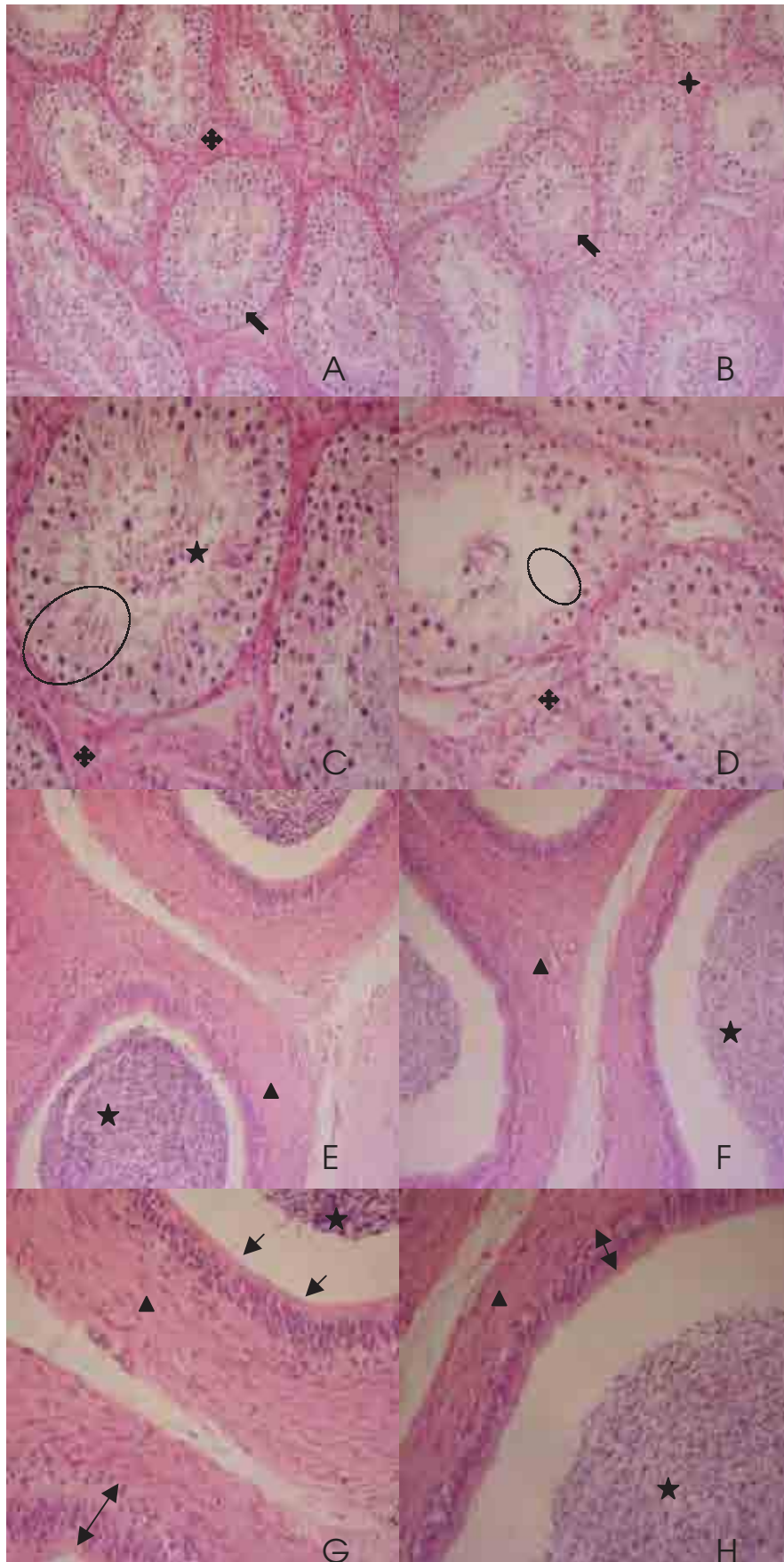


Figura 20. Fotomicrografias de testículos (A,B,C e D) e cauda do epidídimo (E,F,G e H) de touros (*Bos taurus taurus*) submetidos a dietas de alto nível de proteína degradável no rúmen. A, C, E e G – Grupo controle. B, D, F e H – Grupo tratado. A,B,E e F: 200x; C,D,G e H: 400x

- Túbulos seminíferos ↗
- Espaço intersticial ✦
- Espermatozóides ★
- Epitélio colunar pseudo estratificado ↗↘
- Epitélio seminífero com células germinativas ○
- Musculatura lisa ▲



## VI. DISCUSSÃO

Várias revisões têm abordado o efeito da nutrição protéica sobre a reprodução (FERGUSON e CHALUPA, 1989; LAVEN e DREW, 1999; O'CALLAGHAN e BOLAND, 1999) porém, resultados conflitantes têm sido observados devido, provavelmente, à idade, condição de saúde, fonte de nitrogênio da dieta (DAWUDA et al., 2004) e, sobretudo, o balanço energético dos animais (BUTLER, 2000; DAWUDA et al., 2004). Recentemente, resultados contraditórios de experimentos objetivando testar os efeitos da suplementação protéica tem sido imputados ao fato que a alimentação escolhida quanto aos diferentes níveis de ingestão de proteína carecem de formulações adequadas (FERNANDEZ et al., 2004).

Santos et al. (2001) consideraram ser a proteína dietética amplamente degradada no rúmen, gerando grande quantidade de amônia. Esta é potencialmente incorporada pelos microorganismos, principalmente os que degradam carboidratos estruturais na forma de proteína microbiana. Porém, quando o animal não recebe o adequado aporte de energia na dieta ou quando não existe sincronia entre degradação da proteína e a solubilidade destes carboidratos, a amônia liberada suplanta a capacidade de captura e metabolismo pelos microorganismos.

Pelos resultados deste trabalho, verificou-se que as dosagens sanguíneas de uréia mostraram uma relação direta entre as concentrações de uréia plasmática e proteína degradável no rúmen, conferindo ao grupo “choque” os maiores valores para este parâmetro, seguido pelo grupo “gradual” e ambos com média de uréia plasmática no sangue superiores ao grupo “controle”. Vale ressaltar, sob as condições deste experimento, a diferença entre as raças quanto a dosagem de amônia e uréia, com os animais da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) apresentando as maiores médias para estas variáveis durante quase todo período experimental. Por outro lado, as dosagens de amônia, não apresentaram diferenças entre tratamentos, mostrando que, o organismo destes animais, conseguiram, graças à adequada formulação da dieta, converter grande parte da amônia em proteína microbiana e o excesso em uréia pelo fígado.

Em relação à diferença entre tratamentos pode-se verificar a diminuição da concentração, turbilhonamento, motilidade e vigor do ejaculado dos touros do grupo gradual e choque a partir da décima terceira semana. Porém, em relação às diferenças entre raças, observou-se que durante a décima segunda semana até o final do experimento, os animais *Bos taurus taurus* (Simental) dos grupos gradual e choque foram mais afetados que os *Bos taurus indicus* (Nelore) quanto aos parâmetros motilidade e vigor. Observou-se também, pelas análises das patologias espermáticas, que os animais taurinos apresentaram maior número de defeitos maiores que os zebuínos ( $P < 0,05$ ) durante todo o período experimental, porém, sem diferenças significativas entre tratamentos. Resultados anteriores (CASTRO, 2002a) mostraram que níveis altos de ingestão protéica em touros zebuínos induziam ao aparecimento de defeitos maiores e menores, levando a um quadro de degeneração testicular de graduações diferentes. Esta divergência de resultados pode ser atribuída ao balanço energia/proteína na formulação da dieta deste trabalho, onde os animais recebiam arração de acordo com o peso, raça e idade, possibilitando aporte energético individual adequado. Estas observações podem ser atribuídas à própria característica da raça, pois, tem sido demonstrado que animais taurinos necessitam de um maior aporte energético para manutenção em relação aos zebuínos (FRISCH e VERCOE, 1977; TAYLOR et al., 1986). Portanto, o gasto energético na conversão de amônia em uréia resultou em balanço energético negativo mais acentuado nestes animais, com conseqüências à espermatogênese. Outro fator que contribui para as diferenças entre raças é a termoregulação, que por sua vez também é realizada à custa de intenso gasto energético, principalmente em animais que não possuem adequada adaptação ao clima quente.

De maneira semelhante a resultados anteriores (CASTRO, 2002a), os níveis de testosterona neste trabalho não mostraram relação com nenhuma das características analisadas. Observações semelhantes foram constatadas em touros (MANN & WALTON, 1953) e carneiros (PARR & TILBROOK, 1990) quando baixos planos nutricionais, bem como de energia (MOULE et al., 1966) não afetavam a espermatogênese. Sabe-se que níveis altos de testosterona não são necessários para a manutenção da espermatogênese (CASTRO et al., 2002b),

porém, os níveis normais de FSH e LH seriam fundamentais para que a produção espermática fosse alcançada (MATSUMOTO & BREMNE, 1989).

A degeneração testicular constitui-se no principal problema levando à infertilidade nos machos das espécies domésticas e suas causas são as mais diversas, desde o estresse térmico às mais variadas desordens nutricionais (McENTEE, 1990 e NASCIMENTO & SANTOS, 1997). Ao analisar touros selecionados para colheita de sêmen ou mesmo em regime de criação extensiva, Vale Filho et al. (1975) detectaram degeneração testicular em 50% dos animais. A observação dos cortes histológicos dos testículos neste experimento mostraram poucas áreas afetadas, ou seja, com perda da linhagem germinativa nos túbulos seminíferos. Ao se comparar o parênquima testicular de taurinos com zebuínos, notou-se que os primeiros foram mais afetados entre os grupos tratados. Isto tem sido observado por diversos autores quando atribuem aos taurinos maior sensibilidade aos efeitos adversos durante a espermatogênese, tanto quanto ao estresse térmico (KUMI-DIANKA et al., 1981; FIELDS et al., 1979; WILDEUS e HAMMOND, 1993) como nutricional (BROWN, 1994 e FERNANDEZ, et al., 2004).

As funções testiculares e epididimárias têm sido afetadas pelo estresse nutricional, alterando a distribuição das reservas e proporção de espermatozóides na cauda do epidídimo (ROCHA et al., 1996). Embora nesta pesquisa não tenham sido notadas diferenças significativas entre os tratamentos, observou-se discreto aumento do epitélio colunar pseudo estratificado entre taurinos e zebuínos do grupo “choque”. Estudos mais específicos se fazem necessários para justificar esta particularidade, já que, diferenças entre a produção espermática diária por grama de parênquima testicular foram observadas entre taurinos (Charolês) e zebuínos (Australianos) (WEISGOLD & ALMQUIST, 1979 e WILDEUS & ENTWISTLE, 1982). Por outro lado, as células “claras” constituintes do epitélio pseudoestratificado da cauda do epidídimo tem sido relacionada com atividade fagocítica e dependente da concentração de sódio luminal (COOPER, 1999).

Embora a infertilidade nutricional seja uma resposta adaptativa normal para superar condições ambientais, ela tem sido considerada uma patologia. Um grande número de perturbações metabólicas podem resultar na infertilidade nutricional, mas todos compartilham de uma característica, um decréscimo na disponibilidade de nutrientes metabólicos para oxidação. Uma causa comum da

infertilidade nutricional são os elevados níveis de gasto energético não acompanhados por uma compensatória suplementação na ingestão de alimentos (Wade, 1999). A grande maioria dos exemplos de infertilidade nutricional estão associados a um balanço energético negativo uma vez que existe o direcionamento de energia para outros processos fisiológicos.

Alguns processos fisiológicos como manutenção básica das células e função cardiorespiratória não podem ser comprometidas e devem ser mantidas a todo custo, portanto, quando a energia é escassa, os mecanismos fisiológicos que distribuem energia tenderão a favor daqueles processos que asseguram a sobrevivência do indivíduo em detrimento dos processos que promovem crescimento, longevidade e reprodução (WADE, 1999).

Nesta pesquisa, era de se esperar que os animais, tanto do grupo gradual, como choque, recebendo respectivamente, 75 e 110% de proteína degradável no rúmen acima das recomendações do NRC, apresentassem alterações no quadro espermático e tivessem seus testículos afetados ao final do período experimental. Embora, como discutido acima, alterações das características seminais tenham sido observadas em diferentes graus, grande parte dos animais não tiveram sua produção de espermatozóides significativamente alteradas. Desde que a uréia pode ser transportada do sangue para o lúmen dos túbulos seminíferos (TURNER et al., 1979) atravessando com facilidade as membranas celulares (FORERO GONZALES et al., 2000) e que, um gene transportador de uréia (UT3), localizado nas células de Sertoli associada com estágios iniciais de desenvolvimento de espermatócitos, sugerem que a uréia pode desempenhar importante papel na espermatogênese (TSUKAGUCHI et al., 1997).

Tem sido observado (ESPER<sup>1</sup>, comunicação pessoal), embora empiricamente, que touros ingerindo altas quantidades de proteína bruta passam por alterações da espermatogênese, podendo levar à degeneração testicular. CASTRO (2002a) ao comparar três grupos de touros que receberam dietas distintas (alta proteína, alta energia e controle), verificou alterações qualitativas e quantitativas no primeiro grupo, ao passo que, no segundo e terceiro, o quadro espermático não foi alterado.

<sup>1</sup> Prof. Dr. Cesar Roberto Esper – Professor Adjunto, Área de Reprodução Animal, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, campus de Jaboticabal-SP

Portanto, parece importante que, se a proteína degradável no rúmen ingerida, não estiver acompanhada de um aporte compatível de energia, a espermatogênese em touros poderá ficar comprometida, podendo culminar com quadros variáveis de degeneração testicular. Neste estudo, foi confirmado que a adequada formulação da ração vem a minimizar os efeitos deletérios de altos níveis de proteína degradável no rúmen na dieta, pela diminuição da produção de amônia e, conseqüentemente, por evitar o intenso gasto energético de metabolização da amônia em uréia pelo fígado através do ciclo da uréia.

## **VII. CONCLUSÕES**

**Touros destinados à reprodução necessitam de dietas formuladas adequadamente, visando atender suas exigências nutricionais, porém com especial atenção à relação proteína degradável no rúmen/energia.**

**Alterações da espermatogênese são consequência do balanço energético negativo e não somente do efeito tóxico direto dos compostos nitrogenados sobre os órgãos e tecidos reprodutivos.**

**Touros da subespécie *Bos taurus taurus* são mais susceptíveis às variações resultantes de estresse nutricional.**

**Concentrações plasmáticas de uréia e/ou amônia variam entre animais e entre subespécies, não viabilizando o estabelecimento de limites considerados “tóxicos” para a espermatogênese.**

## VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL. **Energy and protein requirements of ruminants**. Wallingford, CAB International, 1993. 159p.

ASELTINE, M.S. Interrelationship exists between nutrition, dairy low fertility. **Feedstuffs**, v.22, p.12, 1989

ALLDEN, W.G. The effects of nutritional deprivation on the subsequent productivity of sheep and cattle. **Nutrition Abstracts and Reviews**, v. 40, p. 1167-84, 1970.

ANDRIGUETTO, J.M.; PERLY, L.; MINARDI, I.; GEMAEL, A.; FLEMMING, J.S.; SOUZA, G.A.; BONA, A. **Nutrição Animal**. 4. ed. São Paulo, Nobel, 1983.

BARTLEY, E.E.; DAVIDOVICH, A.D.; BARR, G.W.; GRIFFEL, G.W.; DAYTON, A.D.; DEYOE C.W.; BECHTLE, R.M. Ammonia toxicity in cattle. I. Rumen and blood changes associated with toxicity and treatment methods. **Journal of Animal Science**. v.43, n. 4, p.835-41. 1976

BEHMER, O.A.; TOLOSA, E.M.C.; FREITAS NETO, A.G. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. São Paulo, EDART/EDUSP, 1976.

BLANCHARD, T.; FERGUNSON, J.; LOVE, L. et al. Effect of dairy crude protein type on fertilization and embryo quality in dairy cattle. **American Journal of Veterinary Research**., v.51, p.905-908, 1990.

BLAXTER, K.L. The nutritive value of feeds as sources of energy: A review. **Journal Dairy Science**., v. 39, p. 1396-424, 1956.

BLOM, E. The ultrastructure of semen characteristics, sperm defects and a proposal for a new classification of the bull spermogram. **Nordisk Veterinaer medicin**, v. 25, p. 383-91, 1973.

BOIN, C. Alguns dados sobre exigências de energia e de proteína de zebuínos. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE RUMINANTES, Viçosa, MG, 1995. **Anais...** p. 457-465.

BRANTON, C.; BRATTON, R.W.; SALISBURY, G.W. Total digestible nutrients and protein levels for dairy bulls used in artificial breeding. **Journal Dairy Science** , v. 30, p. 1003-13, 1947.

BRITO, L.A.B. **Avaliação do uso intensivo de cama de frango na alimentação de bovinos: Alguns aspectos toxicológicos e do metabolismo do nitrogênio.** São Paulo, SP. 1998, 235 p. Tese (Doutorado em Clínica Veterinária). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo.

BROWN, BW. Gonadotrophin and testosterone concentrations and testicular growth in rams supplemented with lupins from birth to puberty. **Proceedings Australian Society of Reproduction Biology**, v. 25, p. 34, 1993.

BROWN, B.W. A review of nutritional influences on reproduction in boars, bulls and rams. **Reproduction Nutrition and Development**. V. 34, p. 89-114, 1994

BUCHANAN-SMITH, J.C.; YAO, Y.T. Non-protein nitrogen in corn silage: a partial characterization in the rumen and effect upon digestibility and retention of nitrogen in lambs. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 58, p. 681-690, 1978.

BURROUGHS, W.; NELSON, D.K.; MERTENS, D.R. Protein physiology and its application in the lactating cow: the metabolizable protein feeding standard. **Journal of Animal Science**. v. 41, n. 3, p. 933-44. 1975.

BUTLER, W.R. Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 138, 1997.

BUTLER, W.R. Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n.9, p. 2533-2539, 1998.

BUTLER, W.R. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 61, p. 449-457, 2000.

CASTILHO, E., ALVAREZ, J.L., TAMAYO, A., BETANCOURT, A., FERRER, E., RIVEIRO, M. Study on protein source in concentrates for sires. Effect on semen quality. **Cuban Journal of Agricultural Science**, v. 24, p.281, 1990.

CASTRO, E.L.C. **Efeito da suplementação protéica e energética sobre as características seminais de touros zebuínos (*Bos taurus indicus*).** Jaboticabal, SP. 2002. 56 p. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.

CASTRO, A.C.S., BERNDTSON, W.E., CARDOSO, F.M. Plasma and testicular testosterone levels, Leydig cell parameters and spermatogenic yield of rabbits. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v. 35, n. 4, p. 493-498, 2002b.

CHOUNG, J.; CHAMBERLAIN, D.G.; Effects of intraruminal infusion of propionate on the concentrations of ammonia and insulin in peripheral blood of cows receiving a intraruminal infusion of urea. **Journal of Dairy Research**, v.62, p.549-57, 1995.

COOPER, T.G. Epididymis, In: *ENCYCLOPEDIA OF REPRODUCTION*. KNOBIL, E.; NEILL, J.. Boston: Academic press.1999. v. 2, p,1-17

COTO, G.; GARCIA-TRUJILLO, R. **Composición de aminoácidos de las principales fuentes de proteína natural**. La Habana: Instituto de Ciência Animal,1987. (Informe técnico).

COULTER, G.H.; KOZUB, G.C. Testicular development, epididimal sperm reserves and seminal quality in two-years-old Hereford and Angus Bulls: effects of two levels of dietary energy. **Journal of Animal Science**, v. 59, p. 432-40, 1984.

COULTER, G.H.; CARRUTHERS, T.D.; AMANN, R.P.; KOZUB, G.C. Testicular development, daily sperm production and epididimal sperm reserves in 15-month-old Angus and Hereford bulls: effects of bull strain plus dietary energy. **Journal of Animal Science**, v.64, p. 254-60, 1987.

DAVIS, G.V.; STALLCUP, O.T. Effect of soybean meal, raw soybeans, corn gluten feed, and urea on the concentration of rumen fluid components at intervals after feeding. **Journal of Dairy Science**, v.50, p.1638-44, 1967.

DAWUDA, P.M.; SCARAMUZZI, R.J.; DREW,S.B.; BIGGADIKE,H.J.; LAVEN R.A.; ALLISON R.; COLLINS, C.F.; WATHES, D.C. The effect of a diet containing excess quickly degradable nitrogen (QDN) on reproductive and metabolic hormonal profiles of lactating dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v.81, p. 195-208, 2004.

DUKES, H.H. **Fisiologia dos animais domésticos**. 11.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1996. 856p.

DZIUK, P.J.; BELLOWS, R.A. Management of reproduction of beef cattle, sheep and pigs. **Journal of Animal Science**, v. 57, suppl 2, p. 355-79, 1983.

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

ELROD, C.C.; Van AMBURG, M.; BUTLER, W.R. Alterations of pH in response to increase dietary protein in cattle are unique to the uterus. **Journal of Animal Science**, v.71, p.702-706, 1993.

FERGUSON, J.D.; CHALUPA, W. Symposium: interactions of nutrition and reproduction. **Journal of Dairy Science**., v.73, p.746-766, 1989.

FERGUSON, J.D.; CHALUPA, W. Impact of protein on reproduction in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 72, p. 746, 1989.

FERGUSON, J.D.; GALLIGAN, D.T.; BLANCHARD, T. Serum urea nitrogen and conception rate: The usefulness of test information. **Journal of Dairy Science**. v.76, p. 3742, 1993.

FERNÁNDEZ, M.; GIRÁLDEZ, F.J.; FRUTOS, P.; LAVÍN, P. MANTECÓN, A.R. Effect of undegradable protein supply on testicular size, spermiogram parameters and sexual behavior of mature Assaf rams. **Theriogenology**, v. 62, p.299-310, 2004.

FERNANDEZ, J.M.; CROOM, W.J; JOHNSON,A.D. Subclinical ammonia toxicity in steers: effects on blood metabolite and regulatory hormone concentrations. **Journal of Animal Science**, v. 66, p. 3259-3266, 1988.

FIELDS, M.J.; BURNS, W.C.; WARNICK, A.C. Age, season and breed effects on testicular volume and semen traits in young beef bulls. **Journal of Animal Science**, v. 48, n.6, p. 1299-1304, 1979.

FLIPSE, R.J., ALMQUIST, J.D. Effect of quality of protein in the concentrate mixture on the growth, reproduction, development and semen production of dairy bull. **Journal of Dairy Science**, v. 46, p. 1416, 1963.

FOLMAN, Y.; NEUMARK, H; KAIM, M. Performance, rumen and metabolites in high-yelding cows fed varyng protein percents and protected soybean. **Journal of Dairy Science**. v.64, p. 759-768, 1981.

FOLMAN, Y.; KAIM, M.; HERZ, Z.ROSENBERG,M. Reproductive management of dairy cattle based on synchronization of estrous cycles. **Journal of Dairy Science**. v.67, p. 481, 1984.

FORERO GONZALEZ, R.A.; LUCCI, C.S.; CORTADA, C.N.M.; RODRIGUES, P.H.M.; RODRIGUES, R.R. Efeitos do nível de nitrogênio na dieta sobre características do sêmen de ovinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 37, n. 5, 2000.

FRISH, S.E.; VERCOCOE, J.E. Food intake, eating rate, weight gains, metabolic rate and efficiency of feed utilization in Bos taurus and Bos indicus crossbred cattle. **Animal Production**, Edimburgh, UK, v. 25, n.3, p.343-358,1977.

FUCK, E.J.; MORAES, G.V.; SANTOS, G.T. Fatores nutricionais na reprodução de vacas leiteiras: I. Energia e proteína. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.24, p.147-161, 2000

GARCIA-BOJALIL C.M.; STAPLES, C.R.; THATCHER, W.W.; DROST, M. Protein intake and development ovarian follicles and embryos of superovulated non-lactating dairy cows. **Journal Dairy Science**, v.77, p.2537-48, 1994.

GARCIA-BOJALIL C.M.; STAPLES, C.R.; RISCO, A.A. Protein degradability and calcium salts of long-chain fatty acids in the diets of lactanting dairy cows: reproductive responses. **Journal of Dairy Science**, v.81, p. 1385-1395, 1998.

GEAY, Y. Energy and protein utilization in growing cattle. **Journal Animal Science**, v. 58, n.3, p. 766-778, 1984.

GREENHALF, J.O. Induction of therapeutic abortion with urea. **British Medical Journal**, v.2, p. 107. 1971.

HAMMOND, J. **Avances en fisiologia zootecnia**. Zaragoza, Acribia, 1959. p. 225.

HANCOCK, J.L. The morphology of boar spermatozoa. **Journal of the Royal Microscopical Society**, v. 76, p. 84, 1957.

HARESIGN, W.; COLE, D.J.A.; **Recent developments in ruminant nutrition**. London, Butterworths, 1988. 407p.

HUSSAIN, I.; CHEEKE, P.R. Effect of dietary Yucca shidigera extract on rumen and blood profiles of steers fed concentrate or roughage-based diets. **Animal Feed Science and Technology**, v.51, p. 231-42, 1995.

JAMES, J.P. The effect of level of nutrition on the sexual capacity of dairy bulls. **Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production**, v.10, p. 84-88, 1950.

JOHNSON, L.A.; GERRITS, R.J.; BOND, J.; OLTJEN, R.R. Growth and reproductive performance of bulls and heifers fed purified and natural diets. IV. Semen characteristics, body measurements and fertility of bulls (22 to 156 weeks of age). **Journal of Animal Science**, v. 33, p. 808-13, 1971.

JORDAN, E.R.; CHAPMAN, T.E.; HOLTAN, D.W. Relationship of dietary crude protein to composition of uterine secretions and blood in high-producing postpartum dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.66, n.9, p.1854-1862, 1983.

JORDAN, E.R.; SWANSON, L.V. Effect of crude protein on reproductive efficiency, serum total protein and albumin in the high-producing dairy cow. **Journal of Dairy Science**, v. 62, n.1, p. 58-63, 1979.

KARG, H. Fütterung-Besamung-Fruchtbarkeit. **Tierzuchter**, v.16, p.349-353, 1964.

KEMP, B., DEN HARTOG, L.A. The influence of energy and protein intake on the reproductive performance of the breeding boar: a review. **Animal Reproduction Science**, v. 20, p. 103-15, 1989.

KITAMURA, S. S. **Intoxicação por amônia em bovinos e ratos: o desempenho renal na desintoxicação e o emprego de tratamentos alternativos**. São Paulo, SP. 2002, 92 p. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo.

KOLB, E. **Fisiologia Veterinária**. 4.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1987. 612p.

KUMI-DIANKA, J.; NAGARATNAM, V.; RWUAAN, J.S. Seasonal and age-related changes in semen quality and testicular morphology of bulls in tropical environment. **The Veterinary Record**, v.3, p.13-15, 1981

LAMMING, G.E. Nutritional and reproduction. In: CUTHBERTSON, D. **The science of nutrition of farm livestock**. London, Pergamon Press, 1969, p.411-53.

LAVEN, R.A., DREW, S.B. Dietary protein and the reproductive performance of cows. **The Veterinary Records**. v. 145, p. 687-695, 1999.

LEATHEM, J.H. Nutrition. In: JOHNSON, A.D.; GOMES, W.R.; VANDEMARK, N.L. **The Testis**. New York, Academic Press, 1970. p.169-205

LIMA, M.L. **Digestão total e parcial de energia e proteína em taurinos, zebuínos, seus mestiços e em bubalinos**. Viçosa, MG. 1986, 120p. Tese (Doutorado em Zootecnia) Universidade Federal de Viçosa.

LINSLEY, D.R.; MARTIN, G.B.; WILLIAMS, I.H. Nutrition and reproduction. In: KING, G. **Animal Reproduction**. Elsevier, 1990. p. 1-31. (World animal sciences series).

LUCCI, C.S. **Nutrição e manejo de bovinos leiteiros**. São Paulo, Manole, 1997. 169 p.

MAHADEVAN, S.; SAUER, F.D.; ERFLE, J.D.; TEACHER, R.M.; MORSE, P.M. Changes in ammonia concentration, bacterial counts, pH and volatile fatty acid concentration in rumen of cows fed alfalfa hay or concentrate: Urea-corn or silage. **Canadian Journal of Animal Science**, v.62, p.249-58, 1982.

MANN T.; WALTON A. The effect of underfeeding on the genital functions of a bull. **Journal of Agricultural Science**, v. 43, p. 343-47, 1953.

MATSUMOTO, A.M.; BREMNE, W.J. Endocrine control of human spermatogenesis. **Journal of Steroid Biochemistry**, v.33, p. 789-790, 1989.

McENTEE, K. **Reproductive pathology of domestic mammals**. San Diego: Academic Press, 1990.

MEACHAM, T.N.; CUNHA, T.J.; WARNICK, A.C.; HENTGES, J.F.Jr.; HARGROVE, D.D. Influence of low protein rations on growth and semen characteristics of young beef bulls. **Journal of Animal Science**, v. 22, p. 115-120, 1963.

MEYER, H. Fütterung und reproduktionsleistung von Jung und Deckbullen. **Bayerisches Landwirtschaftliches Jahrbuch**, v. 49, p. 357-78, 1972.

MOULE, G.R. BRADEN, A.W.H., MATTNER, P.E. Effects of season, nutrition and hormone treatment on the fructose content of ram semen. **Australian Journal of Agricultural Research**. v. 17, p. 923-31. 1966.

MWANSA, P.B.; MAKARECHIAN. The effect of postweaning level of dietary energy on Sex drive and semen quality of young beef bulls. **Theriogenology**, v. 35, p.1169-78, 1991.

NASCIMENTO, E.F.; SANTOS, R.L. **Patologia da reprodução dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1997. 108 f.

N.R.C. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**, National Research Council. Washington D.C., 1989.

O'CALLAHAN, D.O.; BOLAND, M.P. Nutritional effects on ovulation, embryo development and the establishment of pregnancy in ruminants. **Animal Science**, v.68, p. 299-314, 1999.

OHASHI, O.M. Inseminação artificial em bubalinos. In: GONSALVES, P.B.D.; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V.J.F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. cap. 6, 2002. p. 97-110.

OLIVEIRA, M.M.N.F; TORRES, C.A.A; FILHO, S.C.V; SANTOS, A.D.F.; PROPERI, C.P. U. Uréia para vacas leiteiras no pós-parto: desempenhos produtivo e reprodutivo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33,n.6, p.2266-2273, 2004.

ORTOLANI, E.L.; MORI, C.S.; FILHO, J.A.R. Ammonia toxicity from urea in a brazilian dairy goat flock. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 42, n. 2, p. 87-89, 2000.

PANDE, M.B; SHUKLA, P.C. Effect of feeding digestible crude protein levels and urea of semen liquor nitrogen fractions and volatile fatty acids. **Indian Veterinary Journal**, v.58, p. 894-900, 1981.

PARR, R.A. TILBROOK A.J. The influence of nutrition on circulating levels of testosterone in rams and testosterone treated wethers. **Proceedings of Australian Society of Animal Production**. v. 18, p. 328-31. 1990.

PEDRITO, D. Não erre na compra de touros. **Revista DBO Rural**, (anuário). p.134-135, 2002

PRUITT, R.J.; CORAH, L.R. Effect of energy intake after weaning on the sexual development of beef bulls. Semen characteristics and serving capacity. **Journal of Animal Science**, v. 61, p. 1186-93, 1985.

PUTRINO, S.M. **Exigências de proteína e energia líquidas para o ganho de peso de tourinhos da raça nelore e brangus alimentados com dietas com diferentes proporções de concentrado.** Pirassununga, SP. 2002. 75 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade São Paulo.

RERÁT, A.; CARRING, T.; LAPLACE, J.P. **Protein digestion and absorption.** London, Butterworths, 1976. 136 p.

ROCHA, A.; CARPENA, M.; TRIPLETT, B.; NEUENDORFF, D.A.; FORREST, D.W.; RANDEL, R.D. Testicular and epididymal function during the peripuberal period in Brahman bulls receiving various amounts of protein degradable in the rumen. **Theriogenology**, v. 45, p. 477-488, 1996.

ROHR, K.; DAENICKE, R. Nutritional effects on the distribution of live weight as gastrointestinal fill and tissue components in growing cattle. **Journal of Animal Science**. v. 58, n.3, p.753-765, 1984.

RUSSEL, J.B.; O'CONNOR, J.D.; FOX, D.G.; SNIFFEN, C.J.; VAN SOEST, P.J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3551-3561, 1992.

SANTOS, G.T.; CAVALIERI, F.L.B.; MODESTO, E.C. Recentes avanços em nitrogênio não protéico na nutrição de vacas leiteiras. IN: Simpósio internacional em bovinocultura de leite: Novos conceitos em nutrição, 2º., Lavras, MG, 2001. **Anais...**p.199-228.

SANTOS, G.T.; PETIT, H.V.; PRADO, I.N. Alguns aspectos do novo sistema de arraçãoamento protéico da vaca leiteira. **Revista Unimar**, v.16, p.89-110, 1994.

SANTOS, J.E.; AMSTALDEN, M. Effects of nutrition on bovine reproduction. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**, v.26, p.19-89, 1998.

SAS INSTITUTE INCORPORATION. The SAS-System for Windows release 8.2 (software). Cary, 1999-2001.

SCHILLING, E., KRAJNC, A. Intensive feeding of young bulls and its effect on ejaculate and testes., **Animal Breeding Abstracts**., v. 33, n. 2317, 1964.

SCHILO, K.K.; Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. **Journal of Animal Science**, v.70, p. 1271-1282, 1992.

SENEDA, M.M. **Aspiração folicular transvaginal guiada pela ultra-sonografia. Efeito do diâmetro do folículo sobre a recuperação, qualidade e competência do oócito para o desenvolvimento in vitro.** Jaboticabal, SP. 1999. 57 p. Dissertação (Mestrado em Patologia Animal). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.

SHORT, R.E.; ADAMS, D.C. Nutritional and hormonal interrelationships in beef cattle reproduction. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 68, p. 29-39, 1988.

SHIRLEY, R.L.; MEACHAM, T.N.; WARNICK, A.C.; HENTGES, J.F. Jr; CUNHA, T.J. Effect of dietary protein on fructose, citric acid and 5-nucleotidase activity in the semen of bulls. **Journal of Animal Science**, v. 22, p. 14-8, 1963.

SILVA, D.J. **Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)** Viçosa: Imprensa Universitária, 1990. 165p.

SKINNER, J.D. Nutrition, fertility in pedigree bulls. In: GILMORE, D.; COOK, B.; **Environmental Factors in Mammalian Reproduction**. London, MacMillan Publisher. 1981. p. 160-68.

STAHL, J. Studies of the blood ammonia in liver disease. Its diagnostic, prognostic and therapeutic significance. **Annals of Internal Medicine**. v.58, p.1, 1963.

STILES, D.A.; BARTLEY E.E.; MEYER, R.M.; DEYOE C.W.; PFOST, H.B. Effect of na expansion-processed mixture of grain and urea (starea) on rumen metabolism in cattle and on urea toxicity. **Journal of Dairy Science**. v. 53, p. 1436. 1970.

SYMONDS, H.W.; MATHER, D.L.; COLLIS K.A. The maximum capacity of the liver of the adult dairy cow to metabolize ammonia. **British Journal of Nutrition**. v. 46, p. 481-6, 1981.

TAYLOR, S.C.S.; THIESSEN, R.B.; MURRAY, J. Interbred relationship of maintenance efficiency to milk yield in cattle. **Animal Production**. v. 43, n.1, p. 37-61, 1986.

TSUKAGUCHI, H.; SHAVAKUL, C.; BERGER, U.V.; TOKUI, T.; BROWN, D.; HEDIGER, M.A. Cloning and characterization of the urea transporter UT3: localization in rat kidney and testis. **Journal of Clinical Investigation**, v.99, p. 1506-15, 1997.

TURNER, T.T.; HARTMANN, P.K.; HOWARDS, S.S. Urea in the seminiferous tubule: Evidence for active transport. **Biology of Reproduction**, v. 20, p. 511-515, 1979.

VALADARES FILHO, S.C. Digestão pós ruminal de proteínas e exigências de aminoácidos para ruminantes. In: TEIXEIRA, J.C.(ed) **Simpósio internacional de digestibilidade em ruminantes**, Lavras, MG, 1997. **Anais...** FAEPE, p.87-113.

VALE FILHO, V.R.; PINTO, P.A.; FONSECA, J.; SOARES, L.C. **Diagnóstico andrológico e classificação de Bos taurus e Bos indicus quanto a fertilidade, para uso como reprodutores, em condições de Brasil - De um estudo em 1.088 touros**. Belo Horizonte, 1975. 54. p.

VAN KESSEL, J.S.; RUSSEL, J.B. The effect of amino nitrogen on the energetics of ruminal bacteria and its impact on energy spilling. **Journal of Dairy Science**, v. 79, p 1237-1243, 1996.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminants**. 2. ed. London, Constock Publishing Associates, USA.. 1994. 476p.

VANDEMARK, N.L.; MAUGER, R.E. Effect of energy intake on reproductive performance of dairy bulls. I. growth, reproductive organs, and puberty. **Journal of Dairy Science**, v. 47, p. 798, 1964.

WISEK, W.J. Some aspects of ammonia toxicity in animal cells. **Journal of Dairy Science**. v. 51, p. 286, 1968.

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

WADE, G.N. **Energy balance, Effects on reproduction** In: **ENCYCLOPEDIA OF REPRODUCTION**. KNOBIL, E.; NEILL, J.. Boston: Academic press.1999. v.1, p.1091-1099.

WALDO, D.R.; GLEN, B.P. Foreign systems for meeting the protein requirements of ruminants. II. Meeting protein requirements of cattle. In: OWENS, F.N. (Ed). **Proc. Protein requirements for cattle: Symposium**, 109, 1981, p. 269-309.

WATANABE, S.; DHARIWAL, A.P.S.; McCann, S.M. Effect of inhibitors of protein synthesis on the FSH-releasing action on the hypothalamic extracts in vitro. **Endocrinology**, v. 82, p. 674-84, 1968.

WEISGOLD, A.D.; ALMQUIST, J.O. Reproductive capacity of beef bulls. VI. Daily spermatozoal production, spermatozoal reserves and dimensions and weight of reproductive organs. **Journal of Animal Science**, v. 48, p. 351-358, 1979.

WILDEUS, S.; ENTWISTLE, K.W. Postpuberal changes in gonadal and extragonadal sperm reserves in Bos indicus strain bulls. **Theriogenology**. v.17; p. 655-667, 1982.

WILDEUS, S.; HAMMOND, A.C. Testicular, semen and blood parameters in adapted and nonadapted Bos taurus bulls in the semi-arid tropics. **Theriogenology**, v. 40, p. 345-355, 1993

WILLIAMS, G. An abnormality of the spermatozoa of some Hereford bulls. **The Veterinary Record**, v. 77, p. 1204-6, 1965.

WINNICKA, A.; KLUCINSCK, W.; OSTASZAWSKI, P.; MIERNIK-DEGÓRSKI, A. Effect of subclinical hyporhammonaemia on phagocytic activity of polymorphonuclear leukocytes isolated from peripheral blood of sheep. **Small Ruminant Research**, v.7, p.253-264, 1992.

WOHLT, J.E.; CLARK, J.H. Nutritional value of Urea versus preformed protein for ruminants. I. Lactation of dairy cows fed corn based diets containing supplemental nitrogen from urea and/or soybean meal. **Journal of Dairy Science**. v.61, p. 902. 1978.

YOUNG, J.S. Reproduction and nutrition in the beef herd. **Proceedings of the Australian Society of Animal Production**, v.10, p. 45-54, 1974.

## IX. APÊNDICE

Composição químico-bromatológica dos alimentos utilizados na formulação das dietas experimentais.

| Alimentos          | % MS  | % Matéria Seca |                  |       |       |       |       |      | PDR (% PB) |
|--------------------|-------|----------------|------------------|-------|-------|-------|-------|------|------------|
|                    |       | PB             | NDT <sup>1</sup> | FDN   | FDA   | N-FDN | N-FDA | EE   |            |
| Feno de Tifton 85  | 92,29 | 8,94           | 54,00            | 75,24 | 37,52 | 0,86  | 0,16  | 1,3  | 5,36       |
| Milho moído        | 86,91 | 9,93           | 84,00            | 22,67 | 3,64  | 0,25  | 0,35  | 9,48 | 4,77       |
| Farelo de Soja     | 89,31 | 50,30          | 82,00            | 14,52 | 10,23 | 0,29  | 0,2   | 2,21 | 32,70      |
| Uréia              | 98,00 | 278,13         |                  |       |       |       |       |      |            |
| Suplemento Mineral | 99,00 |                |                  |       |       |       |       |      |            |

<sup>1</sup> Estimado pelo programa R.L.M 2.0

### Níveis de Garantia = Matéria Reprodução

| Níveis de Garantia por Surrogado do Produto |         |
|---------------------------------------------|---------|
| Cálcio                                      | 160g    |
| Cobalto                                     | 200mg   |
| Cobre                                       | 1600mg  |
| Enxofre                                     | 12 g    |
| Ferro                                       | 1000mg  |
| Fluor (Máx)                                 | 800 mg  |
| Fósforo                                     | 80 g    |
| Iodo                                        | 190 mg  |
| Magnésio                                    | 10 g    |
| Manganês                                    | 1400 mg |
| Níquel                                      | 35 mg   |
| Selênio                                     | 32 mg   |
| Sódio                                       | 112 g   |
| Sauui. COPENAC                              |         |
| Cítrico 2% (Mín.)                           | 95%     |
| Zinco                                       | 6000 mg |

| Fonte: CIIAGRO                                                    |      |                                 |                                    |                                               |                                               |
|-------------------------------------------------------------------|------|---------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| Temperatura Máxima Mensal no período de 01/01/2005 até 31/12/2005 |      |                                 |                                    |                                               |                                               |
| CIIAGRO - Dados Mensais no período de 01/01/2005 até 31/12/2005   |      |                                 |                                    |                                               |                                               |
| Local: Jaboticabal                                                |      |                                 |                                    |                                               |                                               |
| Mês                                                               | Dias | Temperatura Máxima Média Diária | Temperatura Máxima Absoluta Diária | Dias com Temperatura Máxima de 32° C ou maior | Dias com Temperatura Máxima de 34° C ou maior |
| janeiro                                                           | 31   | 29,6                            | 33,6                               | 6                                             | 0                                             |
| fevereiro                                                         | 28   | 31,8                            | 36,3                               | 11                                            | 5                                             |
| março                                                             | 31   | 31,0                            | 34,3                               | 13                                            | 3                                             |
| abril                                                             | 30   | 30,9                            | 33,6                               | 16                                            | 0                                             |
| maio                                                              | 31   | 27,9                            | 31,8                               | 0                                             | 0                                             |
| junho                                                             | 30   | 27,0                            | 29,9                               | 0                                             | 0                                             |
| julho                                                             | 31   | 25,7                            | 29,6                               | 0                                             | 0                                             |
| agosto                                                            | 31   | 30,0                            | 34,8                               | 6                                             | 3                                             |
| setembro                                                          | 30   | 29,1                            | 33,7                               | 6                                             | 0                                             |
| outubro                                                           | 31   | 32,6                            | 37,6                               | 20                                            | 16                                            |
| novembro                                                          | 30   | 31,4                            | 35,6                               | 14                                            | 4                                             |
| dezembro                                                          | 31   | 29,5                            | 33,6                               | 3                                             | 0                                             |

| Fonte: CIIAGRO                                                  |      |               |             |                             |              |              |
|-----------------------------------------------------------------|------|---------------|-------------|-----------------------------|--------------|--------------|
| Chuva Mensal no período de 01/01/2005 até 31/12/2005            |      |               |             |                             |              |              |
| CIIAGRO - Dados Mensais no período de 01/01/2005 até 31/12/2005 |      |               |             |                             |              |              |
| Local: Jaboticabal                                              |      |               |             |                             |              |              |
| Mês                                                             | Dias | Dias de Chuva | Chuva Total | Média Mensal da Chuva Total | Chuva Máxima | Chuva Mínima |
| janeiro                                                         | 31   | 24            | 366,5       | 366,5                       | 60,0         | 0,2          |
| fevereiro                                                       | 28   | 9             | 81,2        | 81,9                        | 38,4         | 0,2          |
| março                                                           | 31   | 14            | 128,0       | 128,0                       | 23,0         | 0,1          |
| abril                                                           | 30   | 5             | 59,6        | 59,6                        | 26,8         | 1,8          |
| maio                                                            | 31   | 7             | 127,4       | 127,4                       | 70,8         | 3,0          |
| junho                                                           | 30   | 4             | 30,1        | 30,1                        | 22,1         | 0,2          |
| julho                                                           | 31   | 5             | 46,5        | 46,5                        | 31,4         | 0,2          |

