

UREA PLASMÁTICA: RELACIÓN CON EL EQUILIBRIO ENERGÉTICO Y PARÁMETROS REPRODUCTIVOS EN VACUNO LECHERO

PLASMA UREA CONCENTRATIONS: RELATIONSHIP WITH ENERGY BALANCE AND POSTPARTUM INTERVALS IN DAIRY COWS

Deiros, J.*, L.A. Quintela, A.I. Peña, J.J. Becerra, M. Barrio, G. Alonso, B. Varela y P.G. Herradón

Departamento de Patología Animal. Reproducción y Obstetricia. Facultad de Veterinaria. Universidad de Santiago de Compostela. 27002 Lugo. España. Tel.: +34-982285900 Ext. 22605; Fax: +34-982285940.

*Correspondencia: jdeiros@lugo.usc.es

PALABRAS CLAVE ADICIONALES

Fertilidad.

ADDITIONAL KEYWORDS

Fertility.

RESUMEN

En un total de 64 vacas de raza Frisona, se determinaron las concentraciones plasmáticas de urea a los 21 días de la fecha de parto prevista, el día del parto (0+24 h) y el día de la primera inseminación (0+24 h). Este seguimiento se complementó con la determinación de las concentraciones de NEFA (ácidos grasos no esterificados) en plasma los días del parto y la primera IA y el control de la condición corporal junto con la detección de cuerpos cetónicos en orina en cada visita.

Tras el análisis estadístico de los datos obtenidos, se comprobó que las concentraciones de urea en plasma a lo largo del periodo de muestreo, fueron significativamente inferiores ($p < 0,05$) en los animales que sólo necesitaron una inseminación artificial (IA) para quedar gestantes ($23,81 \pm 8,01$ mg/dl en el parto, $28,33 \pm 7,36$ mg/dl en el parto y $30,02 \pm 9,61$ mg/dl en la primera IA), frente a los que necesitaron 2 o 3 ($29,25 \pm 7,67$ mg/dl en el parto, $31,04 \pm 10,61$ mg/dl en el parto, $32,83 \pm 9,84$ mg/dl en la primera IA), independien-

temente de la condición corporal, las concentraciones de NEFA en plasma y de la presencia de cuerpos cetónicos en orina. Los animales que mostraron un equilibrio energético negativo más prolongado (evidenciado por un descenso en la condición corporal desde el parto hasta la primera IA) presentaron mayores niveles de urea plasmática ($p < 0,05$) que aquellos otros que mantuvieron o incrementaron su condición corporal. Sin embargo, no se encontraron diferencias en las concentraciones plasmáticas de urea en función de la duración de los intervalos parto-celo (< 74 días, ≥ 74 días), parto-primer inseminación (< 76 días, ≥ 76 días) y parto-gestación (< 84 días, ≥ 84 días).

SUMMARY

In 64 Holstein cows, plasma urea concentrations were determined at 21 days before calving date, at calving day (0+24 h) and at the first AI day.

Arch. Zootec. 53: 141-151. 2004.

This determination was completed with plasma NEFA concentrations (at calving and first AI), body condition score and the detection of ketone bodies in urine (in every visit).

Plasma urea concentrations were lower, $p < 0.05$, (from 21 days before calving date to first AI) in cows which only need 1 AI (23.81 ± 8.01 mg/dl 21 days before calving, 28.33 ± 7.36 mg/dl at calving and 30.02 ± 9.61 mg/dl at first AI) for conception than in cows which became pregnant at the second or third AI (29.25 ± 7.67 mg/dl 21 days before calving, 31.04 ± 10.61 mg/dl at calving and 32.83 ± 9.84 mg/dl at first AI) independently of body condition score, plasma NEFA concentrations and ketone bodies in urine. The cows that showed a more extended negative energy balance (less body condition score from calving to first AI) had higher plasma urea concentrations ($p < 0.05$) than cows that increased or kept their body condition score. However, we did not find relation between plasma urea concentrations and length of postpartum intervals calving-heat (< 74 days, ≥ 74 days), calving-first AI (< 76 days, ≥ 76 days) and calving-conception (< 84 days, ≥ 84 days).

INTRODUCCIÓN

Las mejoras genéticas llevadas a cabo en los últimos años sobre el ganado vacuno lechero han supuesto un incremento sustancial de la producción láctea. Aunque, se han visto acompañadas de un descenso en el rendimiento reproductivo de las explotaciones (Buttler *et al.*, 1996; O'Callaghan y Boland 1999).

Uno de los factores que se asocia con ese descenso reproductivo es el aumento del aporte proteico en las raciones de los animales. El exceso de proteína se ha demostrado que provoca un incremento en la concentración de urea en sangre y leche (Elrod y

Butler, 1993; Elrod *et al.*, 1993; Larson *et al.*, 1997). Numerosos autores relacionan concentraciones de urea en sangre superiores a 19 o 20 mg/dl con descensos en los porcentajes de gestación, menores tasas de concepción, y descensos del pH uterino durante varios días después del estro (Elrod y Butler, 1993; Elrod *et al.*, 1993; Ferguson *et al.*, 1993; Butler *et al.*, 1996). Sin embargo, otros no han podido establecer esa relación (Carroll *et al.*, 1988; Trevaskis y Fulkerson 1999). En aquellos casos en los que se ha observado la existencia de una relación entre el aporte proteico y la eficiencia reproductiva, los diferentes autores establecen diferentes niveles de proteína cruda a partir de los cuales se entraría en una situación de riesgo. Por tanto, el efecto negativo sobre la reproducción probablemente no se deba sólo a un exceso proteico en la ración, sino también a la acción de otros factores como la producción de leche, el estatus energético, la relación energía/proteína y/o el manejo reproductivo (Howard *et al.*, 1987; Carroll *et al.*, 1994; Canfield *et al.*, 1990; O'Callaghan y Boland, 1999; Butler, 2000).

Los objetivos de este trabajo han sido tres:

El primero fue comprobar si existía alguna diferencia en la evolución de las concentraciones de urea plasmática entre las vacas que resultaban gestantes tras la primera inseminación y las que precisaban de 2 o más inseminaciones para gestar, con independencia de su situación energética, utilizando como indicadores de ésta las concentraciones de NEFA en plasma, la presencia de cuerpos cetónicos en orina y la

condición corporal.

En el segundo se pretendía probar la existencia de alguna relación entre la evolución del equilibrio energético (evaluado mediante el control de la condición corporal, concentraciones de NEFA plasmático y la presencia de cuerpos cetónicos en orina) y las concentraciones de urea plasmática.

El tercero era comprobar la relación existente entre las concentraciones de urea plasmática y la duración de los intervalos parto-celo, parto-primer inseminación y parto-gestación.

MATERIAL Y MÉTODOS

ANIMALES

Para el presente trabajo se han utilizado 64 vacas de raza Frisona, multíparas y con edades comprendidas entre los 3 y 6 años, pertenecientes a 15 explotaciones situadas en los ayuntamientos de O Corgo, Guntín, Guitiriz, Lugo, Pol, Vilalba y Xermade, todos ellos en la provincia de Lugo (Galicia, España). La totalidad de las ganaderías contaba con calificación sanitaria, control lechero y programas de control de la reproducción. La producción media de leche durante el periodo de estudio fue de 7661,6 litros por lactación.

ALIMENTACIÓN

En todas las explotaciones se utilizaba una única ración con las siguientes características: materia seca (MS) variable según producción, forraje 35-40 p.100 de la MS, fibra bruta (FB) 16-18 p.100 de la MS, unidades forrajeras leche (UFL) 09-1 UFL/kg MS, PDIN-PDIE < 10, proteína bruta (PB) 16-18

p.100 de la MS, almidón 20-23 p.100 de la MS, grasa bruta 7 p.100 de la MS, fibra neutro detergente (FND) 26-30 p.100 de la MS, FND del forraje 75 p.100 de la FND, fibra ácido detergente (FAD) 18-20 p.100 de la MS y relación FND forraje/Almidón 1.

DATOS REPRODUCTIVOS

Tomando como fuente los datos aportados por las fichas del programa de control de reproducción se fueron recogiendo las incidencias reproductivas conforme se iba desarrollando el estudio (fechas de parto, fechas de celo e inseminación y patologías posparto como la retención de placenta y la metritis). Del mismo modo también se tomaron datos referidos a otras alteraciones no reproductivas ocurridas durante el posparto (hipocalcemia, desplazamiento de abomaso, mamitis y problemas podales). No obstante, la presentación de todas estas patologías posparto fue relativamente baja tanto en los animales gestantes en la primera IA (4 retenciones de placenta, 1 metritis, 1 desplazamiento de abomaso, 1 hipocalcemia y 1 cojera) como en los gestantes en segunda o tercera IA (3 retenciones de placenta, 1 metritis, 2 mamitis, 1 hipocalcemia y 1 cojera) por lo que consideramos que apenas influyó en los resultados.

Con los datos referidos a las fechas (partos, celos, inseminaciones y repeticiones) se calcularon los intervalos parto-celo, parto-primer inseminación, e intervalo parto-gestación.

Todas las explotaciones contaban con un programa de control reproductivo con visitas quincenales. La detección de celo fue en todos los casos visual y realizada por el ganadero,

mientras que la inseminación y el diagnóstico de gestación se realizó por el veterinario encargado del control reproductivo. El periodo de espera voluntario era variable según la explotación aunque nunca inferior a los 45 días.

DISEÑO EXPERIMENTAL

Los 64 animales fueron muestreados con la siguiente pauta:

- 21 días antes de la fecha de parto prevista.
- el día del parto 0+24 h.
- el día de la primera inseminación 0+24 h.

Los muestreos se realizaron entre las 9:00 y las 12:00 h, para minimizar las posibles variaciones en los niveles plasmáticos de urea debidos al ritmo circadiano. Los animales fueron divididos en dos grupos gestantes en primera IA (G 1) (n = 45) y gestantes en segunda o tercera IA (G 2-3) (n = 19).

1.- Recogida de muestras

1.1.- Sangre

Las muestras de sangre se recogieron mediante punción en los vasos coccigeos, empleando tubos de vacío con EDTA (Venoject-Terumo, Leuven, Bélgica) y agujas estériles, las muestras así obtenidas fueron convenientemente identificadas y transportadas en refrigeración hasta el laboratorio, donde se centrifugaron durante 20 min a 450 g. El plasma obtenido de cada muestra de sangre se dividió en tres alícuotas, que fueron congeladas y almacenadas a -20 °C hasta el momento de su análisis. El tiempo transcurrido desde la extracción de sangre hasta la congelación del plasma nunca superó las 2 h.

Todas las muestras de plasma se analizaron para la determinación de la concentración de urea y las muestras tomadas el día del parto y de la primera inseminación, fueron además analizadas para determinar la concentración de NEFA.

1.2.- Orina

Las muestras de orina se obtuvieron mediante cateterización vesical utilizando una sonda metálica rígida y una jeringuilla, o bien por recogida directa cuando se producía la salida de orina de forma espontánea. La muestra fue analizada para la detección de cuerpos cetónicos en la propia explotación y en todas las visitas.

2.- Condición corporal

Para su calificación se asignaron los valores numéricos que se estimaron más ajustados a la situación de cada animal, tomando como referencia la escala de graduación descrita por Edmonson *et al.* (1989). La valoración fue realizada siempre por el mismo observador y en cada visita.

3.- Metodología analítica

Para la determinación de la concentración de urea en plasma se utilizó una prueba enzimático-cinética de absorción ultravioleta (Gernon, Barcelona, España), según el procedimiento descrito por Talke y Schuber (1965). Las concentraciones de NEFA plasmático se determinaron empleando un método enzimático-colorimétrico (Randox, Barcelona, España), según el procedimiento descrito por Shimizu *et al.* (1980). La presencia de cuerpos cetónicos en orina se detectó mediante el uso de tiras reactivas Ketostix®

(Bayer, Barcelona, España). Las claves empleadas para la valoración fueron las siguientes 0 = negativo, 1 = trazas, 2 = moderado, 3 = intensa.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos relativos a las concentraciones de urea en plasma fueron analizados utilizando un GLM (Modelo Lineal General) de medidas repetidas doblemente multivariado (Visauta Vinacua, 1998) con el programa estadístico SPSS 10.1 (SPSS Inc, Chicago, Illinois, USA). La variable dependiente introducida fue la concentración de urea en plasma sanguíneo durante el periodo de muestreo. El factor intra-sujetos fue el tiempo y los factores inter-sujetos los intervalos posparto (parto-celo, parto-primera inseminación y parto gestación), la condición corporal y si repite celo tras la primera inseminación. Los factores inter-sujetos cuantitativos (intervalos posparto)

fueron transformados en variables cualitativas dicotómicas (**tabla I**), para lo cual, se realizó una frecuencia de distribución de forma que los dos niveles de las variables estuviesen compuestos por un número similar de animales. Por último se han introducido como covariables los niveles de cuerpos cetónicos en orina y las concentraciones de NEFA en plasma sanguíneo en el momento del parto y de la primera IA.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

RELACIÓN UREA PLASMÁTICA Y EQUILIBRIO ENERGÉTICO

Los valores de cuerpos cetónicos en la primera IA mostraron una relación significativa ($p < 0,05$) con las concentraciones plasmáticas de urea, de modo que si los primeros se incrementaban, también lo hacía la urea. De

Tabla I. Distribución de los animales en función de los factores inter-sujetos incluidos en el análisis estadístico. (Animal distribution according to the Inter-subject factors included in statistical analysis).

Parámetro	Valor	n
Repite	No	45
	Si	19
Condición corporal	Disminuye	26
	Aumenta o se mantiene	38
Intervalo parto-celo	<74 días	32
	≥74 días	32
Intervalo parto-primera inseminación	<76 días	28
	≥76 días	36
Intervalo parto-gestación	<84 días	31
	≥84 días	33
Intervalo entre repeticiones	18-24	8
	<18;>24	11

Tabla II. Concentraciones plasmáticas (media \pm SD) de urea (mg/dl) en función de la condición corporal (C.C.) y del momento del muestreo. (Plasma urea concentratios (average \pm SD) according to body condition score and the moment of sampling).

C.C.	n	21 días preparto	Parto	primera IA
Vacas que disminuyen su C.C.	26	27,69 \pm 8,03 ^a	30,21 \pm 9,53 ^a	32,02 \pm 10,43 ^a
mantiene o incrementan su C.C.	38	23,88 \pm 8,13 ^b	28,41 \pm 7,69 ^b	30,05 \pm 9,20 ^b

^{ab}Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

igual forma, aquellos animales en los que la condición corporal disminuyó desde el parto hasta la primera IA mostraron valores significativamente más elevados de urea plasmática que aquellas vacas que mantuvieron o incrementaron sus reservas (**tabla II**).

Todos estos parámetros (condición corporal, niveles de cuerpos cetónicos y valores de NEFA) son de un modo indirecto indicadores del estatus energético del animal. Esto nos confirma la existencia de una relación entre el equilibrio energético y los valores plasmáticos de urea, que conllevaría la elevación de estos últimos cuando la situación energética del animal empeora (puesto de manifiesto con un descenso de la condición corporal y un incremento en los valores plasmáticos de NEFA). Como ya hemos mencionado, existe una relación entre energía y proteína. Por una parte, las elevadas concentraciones de urea debidas a aportes excesivos de proteína bruta en la ración tienden a incrementar el equilibrio energético negativo como consecuencia del elevado coste energético de la eliminación de la urea (Canfield *et al.*, 1990; Calsamiglia, 1998). Ade-

más del gasto energético asociado a su eliminación, el proceso de ureogénesis que se lleva a cabo en el hígado supone también un gasto energético importante ya que la transformación de 1 g de nitrógeno en urea requiere 7,3 kcal. A esto debemos sumar que la ureogénesis compete con la gluconeogénesis por el oxalato, lo que incrementa el estrés metabólico de los animales de alta producción (Bach, 2002). Por otra parte, raciones con deficiencias en energía impiden la síntesis de proteína microbiana en rumen incrementando los niveles de amoníaco y urea en sangre, a pesar de que el aporte proteico de la ración sea el adecuado (Calsamiglia, 1998).

RELACIÓN ENTRE UREA PLASMÁTICA Y NÚMERO DE INSEMINACIONES POR GESTACIÓN

Nuestros resultados muestran que independientemente de la situación energética del animal (expresada a través de su condición corporal, niveles de NEFA y valores de cuerpos cetónicos), las vacas que sólo necesitaron de una IA por concepción, mostraron concentraciones de urea plasmá-

ticas significativamente menores (desde el parto hasta la primera IA) a las que precisaron dos o tres IA (**figura 1, tabla II**).

Estos resultados se aproximan mucho a los descritos por Sierra *et al.* (1997), quienes observan que las vacas que resultaron preñadas en primera inseminación presentaron un valor medio de urea de $26,40 \pm 2,44$ mg/dl, frente a los $30,17 \pm 1,43$ mg/dl de las que no resultaron preñadas.

No obstante, Butler *et al.* (1996), observaron que concentraciones de urea plasmática superiores a 19 mg/dl se asocian con un descenso de aproximadamente un 20 p.100 en el porcen-

taje de concepciones tras la inseminación artificial. Ferguson *et al.* (1988, 1993) afirman también que concentraciones de urea que exceden de 20 mg/dl se asocian con reducciones del porcentaje de concepciones en vacas lactantes. En el presente estudio, sin embargo, el valor medio de urea plasmática en la primera IA en ambos grupos fue bastante superior a estas cifras (30 mg/dl) y la fertilidad no se vio disminuida ya que un 70 p.100 de las vacas quedaron gestantes tras la primera inseminación.

Aquellos autores que relacionan las elevadas concentraciones de urea en sangre con menores rendimientos

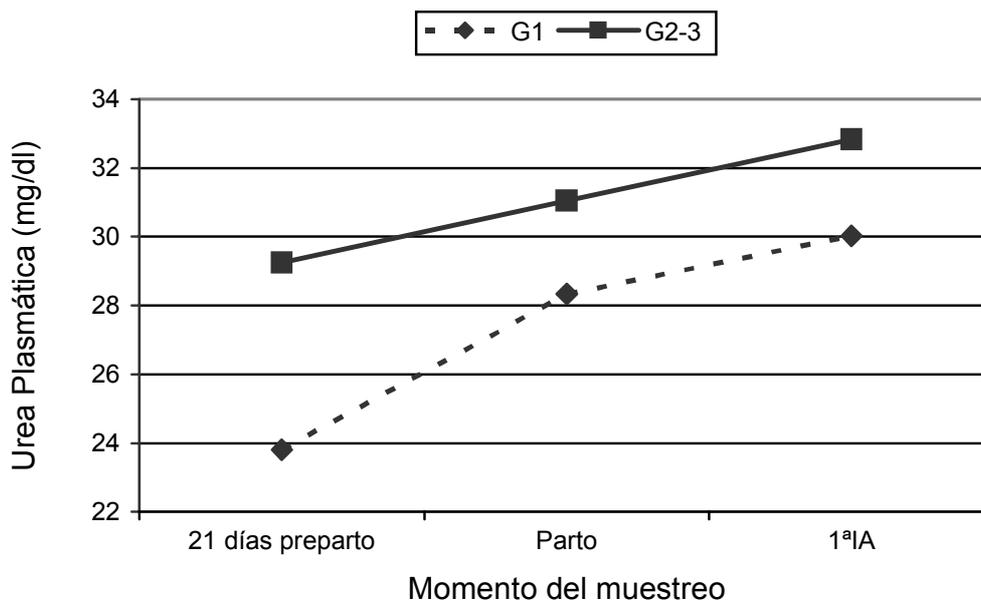


Figura 1. Evolución de las concentraciones plasmáticas de urea en diferentes momentos del estudio en función de la gestación en la primera IA (G 1) o en la segunda o tercera IA (G 2-3). (Evolution of plasma urea concentrations in different moments of the study depends on gestation at first AI (G1) or at second or third AI).

reproductivos entienden que esa mayor concentración de urea deriva de un desequilibrio energía/proteína en la ración (incrementos en proteína bruta sin aumento paralelo de la energía). La ingesta excesiva de proteína puede generar alcalosis ruminal que sumada al déficit de energía supondría descensos de peso en el animal, sobrecarga hepática, descenso en el porcentaje de gestación y alargamiento de los intervalos posparto.

Los mecanismos a través de los cuales las excesivas concentraciones de urea podrían interferir con la función reproductiva son:

- Disminución de los niveles de progesterona durante la fase luteínica (Sonderman y Larson, 1989; Butler *et al.*, 1996; Westwood *et al.*, 1998)
- Modificación de las condiciones

del tracto genital del hembra (Jordan *et al.*, 1983; Canfield *et al.*, 1990; Elrod y Butler, 1993; McEvoy *et al.*, 1997).

- Disminución en la viabilidad y desarrollo de ovocitos y embriones (Gardner y Lane, 1993; Hammon *et al.*, 1997; Sinclair *et al.*, 1998; Hammon *et al.*, 2000).

- Potenciación de las situaciones de equilibrio energético negativo (Calsamiglia, 1998).

- Inhibición del sistema inmune (Young, 2000).

Sin embargo, otros autores sugieren que esos descensos de fertilidad pueden ser debidos a diferencias en el manejo reproductivo de los animales y a la producción de leche más que a las elevadas concentraciones de urea (Howard *et al.*, 1987; Carroll *et al.*,

Tabla III. Concentraciones plasmáticas (medias \pm SD) de urea (mg/dl) en función del momento de muestreo, gestación o no a la primera IA y de la duración de los intervalos parto-celo, parto-primera inseminación y parto gestación. (Plasma urea concentrations (average \pm SD) depends on the moment of sampling, gestation or not at first AI and the length of postpartum intervals).

Parámetros	n	21 días preparto	Parto	primera IA
Gestante en primera IA				
Si	45	23,81 \pm 8,01 ^a	28,33 \pm 7,36 ^a	30,02 \pm 9,61 ^a
No	19	29,25 \pm 7,67 ^b	31,04 \pm 10,61 ^b	32,83 \pm 9,84 ^b
Parto-celo				
<74	32	25,55 \pm 8,97	28,3 \pm 7,99	30,59 \pm 10,54
\geq 74	32	25,31 \pm 7,58	29,28 \pm 9,03	31,12 \pm 8,91
Parto-primera inseminación				
<76	28	25,46 \pm 9,04	29,67 \pm 8,32	30,44 \pm 11,22
\geq 76	36	25,4 \pm 7,7	28,72 \pm 8,67	31,17 \pm 8,46
Parto-gestación				
<84	31	23,92 \pm 9,32	29,41 \pm 8,75	31,45 \pm 10,27
\geq 84	33	26,85 \pm 6,94	28,88 \pm 8,31	30,29 \pm 9,22

^{ab}Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

1988) o bien no encuentran evidencias para relacionar elevados niveles de urea con pobres rendimientos reproductivos (Trevaskis y Fulkerson, 1999).

En la línea de estos últimos estudios se encuentra el realizado por Shingfield *et al.* (1999), en este estudio se examinó la relación existente entre los niveles de proteína en la ración y la eficacia reproductiva de más de 16000 explotaciones finlandesas, y no pudo encontrar ningún efecto evidente del nivel de proteína sobre el intervalo parto primera inseminación, días abiertos, número de inseminaciones por gestación o con el intervalo entre partos.

RELACIÓN UREA PLASMÁTICA Y DURACIÓN DE LOS INTERVALOS PARTO-CELO, PARTO-PRIMERA INSEMINACIÓN Y PARTO-GESTACIÓN

No observamos relación significativa entre la duración de estos índices reproductivos y los valores plasmáticos de urea en ninguno de los muestreos (**tabla III**), coincidimos así con lo observado anteriormente por Shingfield *et al.* (1999) y Bach (2002), quienes tampoco encontraron ningún tipo de relación entre los aportes proteicos de la ración con la duración del intervalo parto-primera inseminación, el periodo voluntario de espera o con el intervalo entre partos.

Sin embargo, McCormick *et al.*, (1999) afirman que aquellos animales que consumen dietas con un elevado porcentaje en proteína cruda (23,1 p.100) y que presentaron valores elevados de urea plasmática (25 mg/dl) en su primera inseminación, incrementan el intervalo parto-concepción

un promedio de 15,1 días con respecto a aquellos otros que consumían raciones con un menor contenido en proteína cruda (17,7 p.100, 17,2 p.100) y que mostraron valores de urea plasmática menores (20,1 mg/dl, 18,5 mg/dl). Observaciones similares fueron realizadas por Jordan y Swanson (1979) quienes describen un incremento lineal en el intervalo parto-concepción de 69 a 106 días cuando el porcentaje en proteína cruda de las raciones de vacas lactantes se incrementaba de un 12,7 p.100 a un 19,3 p.100. En ambos casos se achacaron esos incrementos a un probable efecto negativo de las elevadas concentraciones sanguíneas de urea, derivadas del consumo de raciones altas en proteína, sobre la fertilidad de los animales.

El hecho de no haber encontrado relación, en nuestro trabajo, entre la duración de estos parámetros con los valores plasmáticos de urea puede deberse a que como hemos visto anteriormente la fertilidad de los animales no se ha visto deteriorada por unos valores de urea relativamente elevados.

A la vista de los resultados obtenidos podemos concluir que aquellos animales que precisan de dos o tres IA para gestar muestran desde el parto hasta la primera IA niveles de urea superiores a los de las vacas gestantes en primera IA, así concentraciones de urea en plasma 32 mg/dl pueden relacionarse con fallos en la concepción a la primera IA. Así mismo, aquellas vacas que muestran un equilibrio energético negativo más prolongado tienen también valores de urea superiores a aquellas que compensan antes el equilibrio energético. No obstante, a pesar de haber encontrado en ambos

grupos de animales valores de urea plasmático medios superiores a los 30 mg/dl en primera IA, no hemos observado un descenso en su fertilidad ni un incremento en los intervalos posparto. Sería por tanto muy recomendable que

a la hora de formular raciones para ganado vacuno lechero se eviten los desequilibrios energía/proteína. Así, un aumento en proteína bruta debe acompañarse siempre de un aumento paralelo en energía.

BIBLIOGRAFÍA

- Bach, A. 2002. La reproducción del vacuno lechero: nutrición y fisiología. *Producción animal*, 175: 13-41.
- Butler, R.W. 2000. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim. Rep. Sci.*, 60-61: 449-457.
- Butler, W.R., J.J. Calaman and S.W. Beam. 1996. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. *J. Anim. Sci.*, 74: 858-865.
- Calsamiglia, S. 1998. Valoración de los niveles de urea en leche: Interpretación e implicaciones prácticas sobre la producción y la reproducción. *Producción Animal*, 132: 71-85.
- Canfield, R.W., C.J. Sniffen and R.W. Butler. 1990. Effects of excess degradable protein on postpartum reproduction and energy balance on dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 73: 2342-2349.
- Carroll, D.J., B.A. Barton, G.W. Anderson and R.D. Smith. 1988. Influence of protein intake and feeding strategy on reproductive performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 71: 3470-3481.
- Carroll, D.J., F.R. Hossain and M.R. Keller. 1994. Effect of supplemental fish meal on the lactation and reproductive performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 77: 3058-3072.
- Edmonson, A.J., I.J. Lean, D. Weaver, T. Farver and G. Webstel. 1989. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 72: 68-78.
- Elrod, C.C. and W.R. Butler. 1993. Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein. *J. Anim. Sci.*, 71: 694-701.
- Elrod, C.C., M. Van Amburgh and W.R. Butler. 1993. Alterations of pH in response to increased dietary protein in cattle are unique to the uterus. *J. Anim. Sci.*, 71: 702-706.
- Ferguson, J., T. Galligan, T. Blanchard and M. Reeves. 1993. Serum urea nitrogen and conception rate: The usefulness of test information. *J. Dairy Sci.*, 76: 3742-3746.
- Gardner, D.K. and M. Lane. 1993. Amino acids and ammonia regulate mouse embryo development in culture. *Biol. Reprod.*, 48: 377-385.
- Hammon, D.S., S. Wang and G.R. Holyoak. 2000b. Effects of ammonia during different stages of culture on development of *in vitro* produced bovine embryos. *Anim. Rep. Sci.*, 59: 23-30.
- Hammon, D.S., S. Wang, G. Liu, R.D. Wiedmeier and R.G. Holyoak. 1997. Effects of ammonia on *in vitro* development of bovine embryos. *Theriogenology*, 47: 132.
- Howard, H.J., E.P. Aalseth, G.D. Adams, R.W. Bush, R.W. McNew and L.J. Dawson. 1987. Influence of dietary protein on reproductive performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 70: 1563-1571.
- Jordan, E.R. and L.V. Swanson. 1979. Serum progesterone and luteinizing hormone in dairy cattle fed varying levels of crude protein. *J. Anim. Sci.*, 48: 1154-1158.
- Jordan, E.R., T.E. Chapman, D.W. Holtan and L.V. Swanson. 1983. Relationship of dietary crude protein to composition of uterine secretions and blood in high-producing

METABOLISMO Y PARÁMETROS REPRODUCTIVOS EN VACUNO LECHERO

- postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 66: 1854-1862.
- Larson, S.F., W.R. Butler and W.B. Curie. 1997. Reduced fertility associated with low progesterone postbreeding and increased milk urea nitrogen in lactating cows. *J. Dairy Sci.*, 62: 58-63.
- Mccormick, M.E., D.D. French, T.F. Brown, G.J. Cuomo, A.M. Chapa, J.M. Fernández, J.F. Beatty and D.C. Boulin. 1999. Crude protein and rumen undegradable protein effects on reproduction and lactation performance of holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 82: 2697-2708.
- McEvoy, T.G., J.J. Robinson, R.P. Aitken, P.A. Finlay and I.S. Robertson. 1997. Dietary excesses of urea influence the viability and metabolism of preimplantation sheep embryos and may affect fetal growth among survivors. *Anim. Rep. Sci.*, 47: 71-79.
- O'Callahand, D. and M.P. Boland. 1999. Nutritional effects on ovulation, embryo development and the establishment of pregnancy in ruminants. *Anim. Sci.*, 68: 299-314.
- Shimizu, S., Y. Tani, H. Yamada, M. Tabata and T. Murachi. 1980. Enzymic determination of serum free fatty acids: a colorimetric method. *Analytical Biochem.*, 107: 193-198.
- Shinfield, K.J., M. Jokela, K. Kaustell, P. Huhtanen and J. Nousiainen. 1999. Association between protein feeding and reproductive efficiency in the dairy cow: Specific emphasis on protein feeding in Finland. *Agricultural and food Science in Finland*, 8 (4-5): 365-392.
- Sierra Toral, A., J.C. Domínguez Fernández-Tejerina, J.M. Rodríguez Lago y T. Carbajo Rueda. 1997. Relación entre los niveles plasmáticos de urea en el momento de la I.A. de vacas de aptitud láctea y la respuesta reproductiva observada. I Congreso Ibérico de Reproducción Animal. Estoril (Portugal): 87-93.
- Sinclair, K.D., T.G. McEvoy, C. Carolan, E.K. Maxfield, C.A. Maltin, L.E. Young, I. Wilmut, J.J. Robinson and P.J. Broadbent. 1998. Conceptus growth and development following the culture of ovine embryos in media supplemented with sera. *Theriogenology*, 49: 218.
- Sonderman, J.P. and L.L. Larson. 1989. Effect of dietary protein and exogenous gonadotropin-releasing hormone on circulating progesterone concentrations and performance of holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 72: 2179-2183.
- Talke, H. and G.E. Schubert. 1965. Enzymatische harnstoffbestimmung in blut und serum im optischen test nach Warbur. *Klinische Wochenschrift*, 43: 174-175.
- Trevaskis, L.M. and W.J. Fulkerson. 1999. The relationship between various animal and management factors and milk urea, and its association with reproductive performance of dairy cows grazing pasture. *Livestock Prod. Sci.*, 57: 255-265.
- Visauta Vinacua, B. 1998. Análisis estadístico con SPSS para windows. Ed. McGraw-Hill, Madrid, España.
- Westwood, C.T., I.J. Lean and R.C. Kellaway. 1998. Indications and implications for testing milk urea in dairy cattle: a quantitative review Part 2. Effect of dietary protein on reproductive performance. *N. Z. Vet. J.*, 46: 123-140.
- Young, A. 2000. Excess dietary protein in dairy rations can impair reproduction. Disponible en URL: <http://www.ext.usu.edu/ag/dairy/newsletter/protrepr.htm>. Fecha de consulta 26/12/2000.

Recibido: 15-5-03. Aceptado: 25-5-04.