

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

ESCOLA DE VETERINÁRIA

Márcio Gianordoli Teixeira Gomes

**Influência do ambiente térmico e de diferentes dietas na
superovulação e nos parâmetros fisiológicos de ovelhas Santa
Inês**

Belo Horizonte

2011

Márcio Gianordoli Teixeira Gomes

**Influência do ambiente térmico e de diferentes dietas na
superovulação e nos parâmetros fisiológicos de ovelhas Santa
Inês**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Zootecnia.

Área de concentração: Produção Animal

Orientador: Prof. Dr. Iran Borges.

Belo Horizonte

2011

Gomes, Márcio Gianordoli Teixeira, 1981-

G633i Influência do ambiente térmico e de diferentes dietas na superovulação e nos parâmetros fisiológicos de ovelhas Santa Inês / Márcio Gianordoli Teixeira Gomes. – 2011.

243p. : il.

Orientador: Iran Borges

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária

Inclui bibliografia

1. Ovelha – Criação – Teses. 2. Ovelha – Alimentação e rações – Teses. 3. Dieta em veterinária – Teses. 4. Ovulação – Teses. I. Borges, Iran. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

CDD – 636.308 5

Tese defendida e aprovada no dia 11 de Março de 2011, pela Comissão Examinadora
constituída por:


Prof. Dr. Iran Borges
Orientador


Prof. Dr. Venício José Andrade


Profa. Dra. Eloísa de Oliveira Simões Saliba


Profa. Dra. Rita Flávia Miranda Oliveira


Dr. Cláudio José Borela Espescht

Aos meus pais, Tatiana e Márcio, por tudo que sou.

Sem eles nada disso seria possível.

A Deborah, minha companheira de vida, por toda dedicação.

Apoio constante e incondicional.

O ESPIRITO CAPIXABA

No principio eram os morros, o mar e a Mata Atlântica, em restingas e tabuleiros Verdejantes. No meio, os brasis, e em constante confronto os puris, tupis, tapuias. E como os portugueses chegaram no domingo do Espírito Santo, em 23 de maio de 1535, Espírito Santo a terra se chamou. E como se plantavam pequenas roças, em tupi chamadas de Capixabas, seus moradores se tornaram os capixabas. (...)

O autentico capixaba, capixaba que se preza, entanto, continua o mesmo: gozador (enxovador, como se dizia), brincalhão, amigo à primeira vista, guloso de frutos do mar, sempre em busca de “um futuro esperançoso” para citar de novo o hino. Futuro esperançoso que chegará, um dia (...)

Renato Pacheco, capixaba, escritor, jurista e professor universitário

(in memorian)

AGRADECIMENTOS

Ao professor, mestre e amigo Iran Borges, pelos ensinamentos transmitidos que ajudaram na execução deste trabalho e ajudarão por toda minha vida. Eterna gratidão!

Ao NEPPER, muito mais que um grupo de pesquisa e trabalho, um grupo de amigos! A todos que estiveram presentes neste grupo durante minha jornada do doutorado. Todos sabem o quanto me ajudaram. Sem a necessidade de citar nomes, obrigado a todos!

Ao professor Marc Henry, pela co-orientação e ajuda durante o experimento. Obrigado por abrir as portas desta Instituição de Ensino para mim.

Ao professor Helton Mattana, pela co-orientação e ajuda durante a qualificação.

Ao professor e amigo Paulo Ricardo pelo apoio, incentivo e conversas agradáveis. Por quê só aparecem fotos do Santos FC em preto e branco?

Aos professores Elias Facury e Antônio Último pelas constantes conversas. Grande apoio.

À minha mãe, Tatiana, por todo amor, colo, amizade, conversas, sugestões, ajuda e incentivo. Exemplo profissional e acadêmico. Minha profunda admiração.

Ao meu pai, Márcio, pelo amor, amizade, apoio, estrutura e exemplos. Pelo incentivo à minha profissão. Minha profunda admiração.

À Deborah Alves, minha companheira e amiga, por compartilhar toda sua vida e, portanto, este trabalho, ao meu lado. Sempre me dando força, carinho, afeto e cedendo de forma excepcional seus conhecimentos teóricos para me ajudar ainda mais. Jinha, mais uma vez, meu muito obrigado!

Aos meus irmãos que tanto amo e me fazem feliz. Obrigado por sempre compreenderem minha distância.

Aos meus avós, meus segundos pais, pelo amor, alegria, incentivo e exemplos.

A Leandro, amigo e companheiro, pela dedicação, ajuda, orientação, preocupação e amizade. Minha gratidão.

A Veridiana Basoni, “Veri”, meu muito obrigado mesmo, não há palavras para lhe agradecer. Grande amizade que construímos!

A Tassinha, braço direito e esquerdo, ajuda inestimável. Muito, muito obrigado!

A Fabiana Varago, pela amizade e ajuda incondicional na reprodução. Imensa contribuição.

Aos meus grandes amigos ao longo de toda minha vida mineira, Léo, Fernando e Jair, pelas conversas, parceria, ajuda, música e amizade a todo momento e a toda hora.

Ao Jorgito, grande pessoa, obrigado pelos aconselhamentos e apoio estatístico.

Aos amigos ao longo do doutorado: Luigi (“Preguiçólogo”), Carlinhos (Menino Carlinhos), Negão (Não nega não!), Hemilly (Parabéns, a única pessoa que consegue me deixar sem graça.), Pedro (Guerreiro!), Bellinha e Dedéia (além de competentes são um doce.), Tia Nique (Mãezona), Léo Rago (Tululu), Bel e Gilberto (Bebel e Botinho, princípio da minha vida “Galponiona”), Gustavinho (Micuim), Corneta (Presente de amigo secreto mais original que já ganhei), Prof^a. Cláudia (Muito bacana, boas conversas.), Betina (Bets) e Arashiro (Salve, salve Nação Rubro Negra!).

Aos amigos da “pelada” e trabalho, Adão, Joãozinho e Palinha, valeu!

Ao Sorín e Pitágoras de Pedro Leopoldo, apoio constante na fazenda. Obrigado.

As meninas do Laboratório de Patologia Clínica, obrigado pela ajuda.

Aos recentes membros do NEPPER que surgiram e também me ajudaram bastante, Vandeberg (Ou Eppendorf? Ou Kronenbier?), Nhayandra (“Comportamentóloga”) e Angêlica (Será que vou ter que aturar lá no Tocantins também?).

À todos os funcionários do LabNutri, em especial ao Toninho, Kelly e Marcos, obrigado.

À Neuzinha e Rodrigo, por compartilharem o Iran conosco, pela educação e simpatia.

A todas as pessoas que me ajudaram em qualquer parte deste trabalho, principalmente aos demais estagiários que contribuíram em algum momento do experimento.

A toda minha família pelo amor incondicional, apoio emocional, incentivo e admiração. Obrigado por compreenderem minha longa ausência.

Aos amigos do Xerox, pela amizade, grande atenção e presteza.

À Heloísa, do colegiado de pós-graduação, pela enorme presteza e profissionalismo.

À CAPES, pela bolsa de estudos concedida durante parte do período do curso.

Ao CNPq, pelo financiamento do projeto de pesquisa.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1

1	INTRODUÇÃO	25
2	REVISÃO DE LITERATURA	26
2.1	ANATOMIA E HISTOLOGIA DOS OVÁRIOS	26
2.2	FISIOLOGIA E ESTACIONALIDADE REPRODUTIVA DAS OVELHAS	27
2.3	ATIVAÇÃO E DESENVOLVIMENTO FOLICULAR	28
2.4	FUNÇÃO DOS FOLÍCULOS OVARIANOS	30
2.4.1	Tipos de folículos	30
2.4.2	Ativação dos folículos primordiais	31
2.4.3	Gonadotrofinas e sistema IGF atuando no desenvolvimento folicular	31
2.4.4	<i>Ativina e Folistatina</i>	34
2.5	INIBIDORES DE CRESCIMENTO.....	35
2.6	CRESCIMENTO INICIAL DOS FOLÍCULOS ANTRAIIS	35
2.7	CRESCIMENTO TERMINAL DOS FOLÍCULOS ANTRAIIS.....	36
2.8	DURAÇÃO DA FOLICULOGÊNESE	38
2.9	SUPER OVULAÇÃO (SO) EM OVELHAS.....	38
2.10	FALHAS NA RESPOSTA À SUPER OVULAÇÃO.....	39
2.10.1	<i>Falha na responsividade folicular ao FSH</i>	40
2.10.2	<i>Falhas ligadas ao Corpo Lúteo (CL)</i>	42
2.10.3	<i>Ordem de Coletas</i>	44
2.11	ESTRESSE TÉRMICO	46
2.11.1	<i>Caracterização do Estresse</i>	46

2.11.2	<i>Estresse por Calor</i>	47
2.11.3	<i>Adaptabilidade dos Ovinos ao Estresse por Calor</i>	48
2.12	EFEITOS DO ESTRESSE POR CALOR SOBRE A REPRODUÇÃO.....	49
2.13	NUTRIÇÃO E REPRODUÇÃO	51
2.13.1	<i>Influência da condição corporal e da dieta na atividade folicular</i> .	51
2.13.2	<i>Leptina</i>	53
2.13.3	<i>Grelina</i>	55
2.13.4	<i>Hormônio do crescimento</i>	57
2.13.5	<i>Insulina</i>	57
2.13.6	<i>Sistema de fatores de crescimento ligados à insulina</i>	58
2.13.7	<i>Fatores nutricionais que afetam à qualidade do oócito</i>	60
2.13.8	<i>Nutrição e sobrevivência embrionária</i>	61
2.14	INFLUÊNCIA DO ESTRESSE PELO CALOR NA NUTRIÇÃO	62
2.15	LIPÍDIOS.....	63
2.15.1	<i>Estrutura e classificação</i>	63
2.15.2	<i>Ácidos Graxos Essenciais</i>	64
2.15.3	<i>Suplementação lipídica e consumo voluntário</i>	65
2.15.4	<i>Influência dos lipídios no desempenho reprodutivo</i>	69
2.15.5	<i>Efeito energético</i>	69
2.15.6	<i>Efeito sobre a esteroidogênese</i>	70
2.15.7	<i>Efeito sobre a insulina</i>	73
2.15.8	<i>Efeito na secreção de PGF_{2α}</i>	73
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	76
4	OBJETIVO GERAL	76
5	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	77
6	REFERÊNCIAS	77

CAPÍTULO 2

1	INTRODUÇÃO	108
2	MATERIAL E MÉTODOS	110
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	116
4	CONCLUSÕES	134
5	REFERÊNCIAS.....	134

CAPÍTULO 3

1	INTRODUÇÃO	144
2	MATERIAL E MÉTODOS	145
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	153
4	CONCLUSÕES	197
5	REFERÊNCIAS.....	198

CAPÍTULO 4

1	INTRODUÇÃO	209
2	MATERIAL E MÉTODOS	210
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	217
4	CONCLUSÕES	231
5	REFERÊNCIAS.....	231

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

- TABELA 1 – MÉDIA DAS TEMPERATURAS (T°C) E UMIDADES RELATIVAS DO AR (UR%) ENCONTRADAS NOS AMBIENTES DE CONFORTO E ESTRESSE TÉRMICO DENTRO DE CÂMARA CLIMATIZADA, E ADAPTAÇÃO E PÓS ESTRESSE DENTRO DE GALPÃO EXPERIMENTAL. 111
- TABELA 2 – PESO MÉDIO DE OVELHAS NÃO GESTANTES DA RAÇA SANTA INÊS NO INÍCIO DO EXPERIMENTO E AO FINAL DE CADA TRATAMENTO TÉRMICO PROPOSTO, CONFORTO E ESTRESSE PELO CALOR. 113
- TABELA 3 – COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA DAS DIETAS E PROPORÇÃO DOS INGREDIENTES NO CONCENTRADO 113
- TABELA 4 – MÉDIA DOS PARÂMETROS FISIOLÓGICOS DE OVELHAS NÃO GESTANTES DA RAÇA SANTA INÊS OBTIDAS QUANDO EXPOSTAS A AMBIENTE DE CONFORTO (24°C E 65% UR) E ESTRESSE PELO CALOR (34°C E 50%UR) DENTRO DE CÂMARA CLIMATIZADA AMBIENTES CONFORTO E ESTRESSE TÉRMICO. 116
- TABELA 5 – COMPARAÇÃO ENTRE AS MÉDIAS DOS PARÂMETROS FISIOLÓGICOS DE OVELHAS NÃO GESTANTES DA RAÇA SANTA INÊS ALIMENTADAS COM DISTINTAS DIETAS. 122
- TABELA 6 – COMPARAÇÃO ENTRES AS MÉDIAS DOS PARÂMETROS FISIOLÓGICOS DE OVELHAS VAZIA DA RAÇA SANTA INÊS NOS PERÍODOS DO DIA MANHÃ E TARDE. 123
- TABELA 7 – MÉDIA DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS DE OVELHAS NÃO GESTANTES DA RAÇA SANTA INÊS OBTIDAS QUANDO EXPOSTAS A AMBIENTE DE CONFORTO (24°C E 65% UR) E ESTRESSE PELO CALOR (34°C E 50%UR) DENTRO DE CÂMARA CLIMATIZADA. 124

TABELA 8 – COMPARAÇÃO ENTRE AS MÉDIAS DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS DE OVELHAS NÃO GESTANTES DA RAÇA SANTA INÊS ALIMENTADAS COM DIETAS DISTINTAS.....	127
TABELA 9 – MÉDIA DA GLICEMIA DE OVELHAS NÃO GESTANTES DA RAÇA SANTA INÊS OBTIDAS QUANDO EXPOSTAS A AMBIENTE DE CONFORTO (24°C E 65% UR) E ESTRESSE PELO CALOR (34°C E 50%UR) DENTRO DE CÂMARA CLIMATIZADA.....	128
TABELA 10 – COMPARAÇÃO ENTRE AS MÉDIAS DA GLICEMIA DE OVELHAS NÃO GESTANTES DA RAÇA SANTA INÊS EM TEMPOS DISTINTOS, ALIMENTADAS COM DIFERENTES DIETAS.	129
TABELA 11 – MÉDIA DA TAXA DE SUDORESE DE OVELHAS NÃO GESTANTES DA RAÇA SANTA INÊS OBTIDAS QUANDO EXPOSTAS A AMBIENTE DE CONFORTO (24°C E 65% UR) E ESTRESSE PELO CALOR (34°C E 50%UR) DENTRO DE CÂMARA CLIMATIZADA ALIMENTADAS COM DIETAS DISTINTAS.	132

CAPÍTULO 3

TABELA. 1– MÉDIA DAS TEMPERATURAS (T°C) E UMIDADES RELATIVAS DO AR (UR%) ENCONTRADAS NOS AMBIENTES DE CONFORTO E ESTRESSE TÉRMICO DENTRO DE CÂMARA CLIMATIZADA, E ADAPTAÇÃO E PÓS ESTRESSE DENTRO DE GALPÃO EXPERIMENTAL.	146
TABELA. 2 – PESO MÉDIO DE OVELHAS NÃO GESTANTES DA RAÇA SANTA INÊS NO INÍCIO DO EXPERIMENTO E AO FINAL DE CADA TRATAMENTO TÉRMICO PROPOSTO, CONFORTO E ESTRESSE PELO CALOR.....	148
TABELA. 3 – COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA DAS DIETAS E PROPORÇÃO DOS INGREDIENTES NO CONCENTRADO	149
TABELA. 4 - CONSUMO DE NUTRIENTES DE OVELHAS NÃO GESTANTES DA RAÇA SANTA INÊS, OBTIDOS QUANDO EXPOSTAS A AMBIENTE DE CONFORTO (24°C E 65% UR) E ESTRESSE PELO CALOR (34°C E 50%UR) DENTRO DE CÂMARA CLIMATIZADA, E PÓS ESTRESSE PELO CALOR (23°C E 45%UR).....	154

TABELA. 5 – VALORES MÉDIOS DE NITROGÊNIO (N) INGERIDO, N FECAL, N URINÁRIO, BALANÇO DE N (BN) E N RETIDO DE OVELHAS NÃO GESTANTES DA RAÇA SANTA INÊS OBTIDOS QUANDO EXPOSTAS A AMBIENTE DE CONFORTO (24°C E 65% UR) E ESTRESSE PELO CALOR (34°C E 50%UR) DENTRO DE CÂMARA CLIMATIZADA, E PÓS ESTRESSE PELO CALOR (23°C E 45%UR).....	159
TABELA. 6 - CONSUMO DE ÁGUA (CH ₂ O), RELAÇÃO ENTRE CONSUMO DE ÁGUA E CONSUMO DE MATÉRIA SECA (CH ₂ O/CMS), RELAÇÃO ENTRE CONSUMO DE ÁGUA E CONSUMO DE FIBRA EM DETERGENTE NEUTRO (CH ₂ O/CFDN), VOLUME URINÁRIO, BALANÇO HÍDRICO, DENSIDADE DA URINA, CONSUMO DE SAL (CS) E RELAÇÃO ENTRE CONSUMO ÁGUA E CONSUMO DE SAL (CH ₂ O/CS) DE OVELHAS NÃO GESTANTES DA RAÇA SANTA INÊS OBTIDOS QUANDO EXPOSTAS A AMBIENTE DE CONFORTO (24°C E 65% UR) E ESTRESSE PELO CALOR (34°C E 50%UR) DENTRO DE CÂMARA CLIMATIZADA, E PÓS ESTRESSE PELO CALOR (23°C E 45%UR).....	161
TABELA. 7 - CONSUMO DE MATÉRIA SECA (CMS) E DE MATÉRIA ORGÂNICA (CMO), COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDADE DA MATÉRIA SECA (DMS) E DA MATÉRIA ORGÂNICA (DMO) E CONSUMO DE MATÉRIA SECA DIGESTÍVEL (CMSD) E DE MATÉRIA ORGÂNICA DIGESTÍVEL (CMOD) DE OVELHAS NÃO GESTANTES DA RAÇA SANTA INÊS ALIMENTADAS COM DIFERENTES DIETAS.	163
TABELA. 8 - CONSUMO DE FDN (CFDN) E DE FDA (CFDA) E COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDADE DA FDN (DFDN) E DA FDA (DFDA) DE OVELHAS NÃO GESTANTES DA RAÇA SANTA INÊS ALIMENTADAS COM DIFERENTES DIETAS.	168
TABELA. 9 - CONSUMO DE PROTEÍNA BRUTA (CPB), COEFICIENTE DE DIGESTIBILIDADE DA PROTEÍNA BRUTA (DPB) E CONSUMO DE PROTEÍNA BRUTA DIGESTÍVEL (CPBD) DE OVELHAS NÃO GESTANTES DA RAÇA SANTA INÊS ALIMENTADAS COM DIFERENTES DIETAS.....	171
TABELA. 10 - CONSUMO DE EXTRATO ETÉREO DE OVELHAS NÃO GESTANTES DA RAÇA SANTA INÊS ALIMENTADAS COM DIFERENTES DIETAS.....	174
TABELA. 11 – COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDADE DO EXTRATO ETÉREO EM OVELHAS NÃO GESTANTES DA RAÇA SANTA INÊS ALIMENTADAS COM DIFERENTES DIETAS, EM VIRTUDE DO TRATAMENTO CLIMÁTICO DE CONFORTO (24°C E 65% UR) E ESTRESSE PELO CALOR (34°C E 50%UR) DENTRO DE CÂMARA CLIMATIZADA, E PÓS ESTRESSE	

PELO CALOR (23°C E 45%UR), E EM VIRTUDE DA DIETA FORNECIDA DENTRO DE CADA TRATAMENTO CLIMÁTICO.	177
TABELA. 12 - CONSUMO DE CARBOIDRATOS TOTAIS (CCT), DE CARBOIDRATOS NÃO FIBROSOS (CCNF) E DE NUTRIENTES DIGESTÍVEIS TOTAIS (NDT) DE OVELHAS NÃO GESTANTES, DA RAÇA SANTA INÊS ALIMENTADAS COM DIFERENTES DIETAS, SUBMETIDAS A DIFERENTES AMBIENTES TÉRMICOS, CONFORTO (24°C E 65% UR) E ESTRESSE PELO CALOR (34°C E 50%UR) DENTRO DE CÂMARA CLIMATIZADA, E PÓS ESTRESSE PELO CALOR (23°C E 45%UR), E EM VIRTUDE DA DIETA FORNECIDA DENTRO DE CADA TRATAMENTO CLIMÁTICO.....	180
TABELA. 13 - NITROGÊNIO (N) INGERIDO, N FECAL, N URINÁRIO, BALANÇO DE N (BN) E N RETIDO DE OVELHAS NÃO GESTANTES DA RAÇA SANTA INÊS ALIMENTADAS COM DIFERENTES DIETAS.	183
TABELA. 14 - CONSUMO DE ÁGUA (CH ₂ O), RELAÇÃO ENTRE CONSUMO DE ÁGUA E CONSUMO DE MATÉRIA SECA (CH ₂ O/CMS), RELAÇÃO ENTRE CONSUMO DE ÁGUA E CONSUMO DE FIBRA EM DETERGENTE NEUTRO (CH ₂ O/CFDN), VOLUME URINÁRIO, BALANÇO HÍDRICO, DENSIDADE DA URINA, CONSUMO DE SAL (CS) E RELAÇÃO ENTRE CONSUMO ÁGUA E CONSUMO DE SAL (CH ₂ O/CS) DE OVELHAS NÃO GESTANTES DA RAÇA SANTA INÊS ALIMENTADAS COM DIFERENTES DIETAS.	184
TABELA. 15 - PARÂMETROS DE COMPORTAMENTO INGESTIVO DE OVELHAS NÃO GESTANTES DA RAÇA SANTA INÊS SUBMETIDAS A DIFERENTES TRATAMENTOS TÉRMICOS, CONFORTO (24°C E 65% UR) E ESTRESSE PELO CALOR (34°C E 50%UR) DENTRO DE CÂMARA CLIMATIZADA.	187
TABELA. 16 - PARÂMETROS DE COMPORTAMENTO INGESTIVO DE OVELHAS NÃO GESTANTES DA RAÇA SANTA INÊS ALIMENTADAS COM NÍVEIS DIFERENTES DIETAS.	189
TABELA. 17 - DISTRIBUIÇÃO NICTEMERAL DO COMPORTAMENTO INGESTIVO DE OVELHAS NÃO GESTANTES, DA RAÇA SANTA INÊS, DE ACORDO COM O PERÍODO DO DIA, ALOJADAS EM CÂMARA CLIMATIZADA.	192

CAPÍTULO 4

TABELA: 1 – MÉDIA DAS TEMPERATURAS (T°C) E UMIDADES RELATIVAS DO AR (UR%) ENCONTRADAS NOS AMBIENTES DE CONFORTO E ESTRESSE TÉRMICO DENTRO DE CÂMARA CLIMATIZADA, E ADAPTAÇÃO E PÓS ESTRESSE DENTRO DE GALPÃO EXPERIMENTAL.	211
TABELA: 2 – PESO MÉDIO DE OVELHAS NÃO GESTANTES DA RAÇA SANTA INÊS NO INÍCIO DO EXPERIMENTO E AO FINAL DE CADA TRATAMENTO TÉRMICO PROPOSTO, CONFORTO E ESTRESSE PELO CALOR.	212
TABELA: 3 - COMPOSIÇÃO BROMATOLÓGICA DAS DIETAS E PROPORÇÃO DOS INGREDIENTES NO CONCENTRADO.....	213
TABELA: 4 – PROTOCOLO UTILIZADO NO PROGRAMA DE SUPER OVULAÇÃO, ADAPTADO DE BALDASSARE (2008).....	215
TABELA: 5 - RESPOSTA DE OVELHAS NÃO GESTANTES DA RAÇA SANTA INÊS AO TRATAMENTO SUPEROVULATÓRIO ENTRE OS TRATAMENTOS CLIMÁTICOS, CONFORTO (24°C E 65%UR) E ESTRESSE (34°C E 50%UR).	218
TABELA: 6 – COMPARAÇÃO ENTRE MÉDIAS DO NÚMERO DE CORPOS LÚTEOS (CL), CORPOS LÚTEOS EM REGRESSÃO PREMATURA (CLREG), CISTOS FOLICULARES (CF), ESTRUTURAS EMBRIONÁRIAS RECUPERADAS (RECUP) E TAXA DE RECUPERAÇÃO (TxREC) INFLUENCIADAS PELO TIPO DE AMBIENTE, CONFORTO (24°C E 65%UR) E ESTRESSE (34°C E 50%UR), E POR NÍVEIS CRESCENTES DE LIPÍDEO NA DIETA DE OVELHAS NÃO GESTANTES DA RAÇA SANTA INÊS.	220

LISTA DE GRÁFICOS

CAPÍTULO 2

GRÁFICO 1 – CURVA GLICÊMICA MÉDIA DOS ANIMAIS ESTUDADOS.	131
---	-----

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1 – ESTATÍSTICA DESCRITIVA PARA AS VARIÁVEIS CORPO LÚTEO (CL), CORPO LÚTEO EM REGRESSÃO (CLREG), CISTO FOLICULAR (CISTO) E EMBRIÕES RECUPERADOS (RECUP) DE OVELHAS NÃO GESTANTES DA RAÇA SANTA INÊS SUBMETIDAS A DIFERENTES AMBIENTES TÉRMICOS, CONFORTO (24°C E 65% UR) E ESTRESSE PELO CALOR (34°C E 50%UR) DENTRO DE CÂMARA CLIMATIZADA.....	241
ANEXO 2 – ESTATÍSTICA DESCRITIVA PARA AS VARIÁVEIS CORPO LÚTEO (CL), CORPO LÚTEO EM REGRESSÃO (CLREG), CISTO FOLICULAR (CISTO) E EMBRIÕES RECUPERADOS (RECUP) DE OVELHAS NÃO GESTANTES DA RAÇA SANTA INÊS ALIMENTADAS COM DIFERENTES DIETAS.	242

LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH	Hormônio adrenocorticotrópico
ADH	Hormônio anti diurético
AVP	Argenina vasopressina
BH	Balanço hídrico
BN	Balanço de nitrogênio
CCK	Colecistoquinina
CCNF	Consumo de carboidratos não fibrosos
CCNFPV	Consumo de carboidratos não fibrosos em peso vivo
CCNFPM	Consumo de carboidratos não fibrosos em peso metabólico
CCT	Consumo de carboidratos totais
CCTPV	Consumo de carboidratos totais em peso vivo
CCTPM	Consumo de carboidratos totais em peso metabólico
CEE	Consumo de extrato etéreo
CEEPV	Consumo de extrato etéreo em vivo
CEEPM	Consumo de extrato etéreo em peso metabólico
CF	Cisto folicular
CFDA	Consumo de fibra em detergente ácido
CFDAPV	Consumo de fibra em detergente ácido em peso vivo
CFDAPM	Consumo de fibra em detergente ácido em peso metabólico
CFDN	Consumo de fibra em detergente neutro
CFDNPV	Consumo de fibra em detergente neutro em peso vivo
CFDNPM	Consumo de fibra em detergente neutro em peso metabólico

CH ₂ O	Consumo de água
CH ₂ OPV	Consumo de água em peso vivo
CH ₂ OPM	Consumo de água em peso metabólico
CL	Corpo lúteo
CLreg	Corpo lúteo em regressão
CMM	Consumo de matéria mineral
CMMPV	Consumo de matéria mineral em peso vivo
CMMPM	Consumo de matéria mineral em peso metabólico
CMO	Consumo de matéria orgânica
CMOPV	Consumo de matéria orgânica em peso vivo
CMOPM	Consumo de matéria orgânica em peso metabólico
CMS	Consumo de matéria seca
CMSPV	Consumo de matéria seca em peso vivo
CMSPM	Consumo de matéria seca em peso metabólico
CNDT	Consumo de nutrientes digestíveis totais
CNDTPV	Consumo de nutrientes digestíveis totais em peso vivo
CNDTPM	Consumo de nutrientes digestíveis totais em peso metabólico
CPB	Consumo de proteína bruta
CPBPV	Consumo de proteína bruta em peso vivo
CPBPM	Consumo de proteína bruta em peso metabólico
CRH	Hormônio liberador de corticotropina
CS	Consumo de sal mineral
CV	Coeficiente de variação
d	Dias
DFDA	Digestibilidade da fibra em detergente ácido
DFDN	Digestibilidade da fibra em detergente neutro
DHA	Ácido docosaheptaenóico
dL	Decilitros
DM	<i>Dry matter</i>
DMM	Digestibilidade da matéria mineral
DMO	Digestibilidade da matéria orgânica

DMS	Digestibilidade da matéria seca
DPB	Digestibilidade da proteína bruta
ECC	Escore da condição corporal
eCG	Gonadotrofina coriônica eqüina
EE	Extrato etéreo
EGF	Fator de crescimento epidérmico
EPA	Ácido eicosapentaenóico
E ₂	Estradiol
FD	Folículo dominante
FDA	Fibra em detergente ácido
FDN	Fibra em detergente neutro
FR	Frequência respiratória
FSH	Hormônio folículo estimulante
g	Gramas
GABA	Ácido gabaminérgico
GH	Hormônio do crescimento
GnRH	Hormônio liberador de gonadotropinas
h	Horas
HDL	Lipoproteína de alta densidade
IGF	Fator de crescimento ligado à insulina
IGFBP	Proteína ligadora de IGF
kg	Kilograma
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LH	Hormônio luteinizante
L10	Dieta com 10% de inclusão de semente de linhaça
L15	Dieta com 15% de inclusão de semente de linhaça
L20	Dieta com 20% de inclusão de semente de linhaça
mg	Miligramas
MI	Dieta com milho predominante no concentrado
min	Minutos
mL	Mililitros
mm	Milímetros
MO	Matéria orgânica

MS	Matéria seca
MR	Movimentos ruminais
N	Nitrogênio
NDR	Nitrogênio não degradável no rúmen
NDT	Nutrientes digestíveis totais
NPY	Neuro peptídio Y
PAPP-A	Proteína plasmática associada à prenhez A
PB	Proteína bruta
PC	Dieta com polpa cítrica
PGCs	Células germinativas primordiais
PGFM	Metabólitos da prostaglandina F
PG F _{2α}	Prostaglandina F _{2α}
PGH	Prostaglandina H
P4	Progesterona
Recup	Número de embriões recuperados
SO	Superovulação
TCC	Temperatura cutânea da cernelha
TCF	Temperatura cutânea da fronte
TCJ	Temperatura cutânea do jarrete
TCV	Temperatura cutânea da virilha
TE	Transferência de embriões
TGF	Fator de crescimento transformante
TxResp	Taxa de resposta superovulatória
UI	Unidades internacionais
VG	Volume globular
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade

CAPÍTULO 1

REVISÃO DE LITERATURA

Reprodução, bioclimatologia e nutrição.

RESUMO

Esta revisão tem por objetivo estudar e revisar fatores de forte influência sobre a superovulação em ovelhas da raça Santa Inês, bem como verificar os efeitos exercidos pela suplementação com ácidos graxos polinsaturados e estresse pelo calor sobre a reprodução destes animais. Pode ser verificado que o estresse pelo calor proporciona forte impacto sobre a reprodução animal e que o uso de ácidos graxos na alimentação animal pode minimizar o efeito do estresse pelo calor sobre esta variável. Além disso, observou-se que ainda são encontrados resultados inconsistentes sobre os resultados do uso do protocolo de superovulação sobre ovelhas Santa Inês, sendo enumerados vários fatores envolvidos, tal como hormônio utilizado, momento da onda folicular no início ao protocolo, nutrição, clima, entre outros.

Palavras chave – ovelhas; Santa Inês; estresse pelo calor; linhaça; superovulação

ABSTRACT

This review aims to study and review factors of strong influence on superovulation in Santa Ines ewe, as well as to verify the effects exerted by the supplementation with polyunsaturated fatty acid and heat stress on the reproduction of these animals. It can be verified that the heat stress provides a strong impact on animal breeding and the use of fatty acids in animal feed can minimize the effect of heat stress on this variable. Moreover, it was observed that inconsistent results on the results of the use of superovulation protocol on Santa Ines ewe can still be found, being listed several factors involved, such as the hormone utilized, time of follicular wave at the beginning the protocol, nutrition, climate, among others.

Keywords – ewes; Santa Inês; heat stress; flaxseed; superovulation

1 INTRODUÇÃO

O desempenho reprodutivo animal nos trópicos pode ser basicamente determinado por quatro fatores: aspectos genéticos, ambiente, manejo e nutrição. Evidências na literatura sugerem que a nutrição seja, talvez, o fator determinante, devido a sua influência direta na reprodução, bem como o potencial para moderar alguns fatores nela envolvidos (Smith e Akinbamijo, 2000).

Já os fatores climáticos existentes dentro dos sistemas de criação atuam de forma direta ou indireta na produtividade dos ovinos. Dessa forma, o estabelecimento de um sistema de criação economicamente viável em determinada região requer o conhecimento das variáveis climáticas, sua interação com os animais e as respostas comportamentais, fisiológicas e produtivas destes às condições ambientais locais (Barbosa, 1994), adequando o sistema de produção aos objetivos da atividade (Barbosa, 1994; Neiva *et al.*, 2004).

A tolerância ao calor e a adaptabilidade a ambientes tropicais e subtropicais são fatores muito importantes na criação e produção ovina. Diferentes raças possuem diferentes características que refletem nas respostas dos animais, em particular no padrão de comportamento no pastejo, na busca de sombra, descanso, ruminação e reprodução (Barbosa *et al.*, 2001).

A eficiência reprodutiva dos ovinos, tanto em fêmeas, quanto em machos é adversamente afetada pela hipertermia (Sawyer *et al.*, 1979). Esta, nas fêmeas, implica em deficiente desenvolvimento folicular e qualidade do oócito, fixação, implantação e inadequado desenvolvimento embrionário e conseqüentemente fetal, abortos ou partições precoces e lactações incapazes de prover nutrição satisfatória para atender a demanda de seus descendentes (Pereira, 2005).

Nos últimos anos tem-se aumentado a utilização de biotecnologias da reprodução, que em atendimento às exigências nutricionais das diversas categorias dos animais do rebanho, incrementam a eficiência reprodutiva dos rebanhos. Tais técnicas baseiam-se desde o simples manejo em estações de monta, como a inseminação artificial, super ovulação e transferência de embriões.

As raças de ovinos nativos apresentam na maioria das vezes menores coeficientes de produção e reprodução quando comparadas as raças exóticas. Todavia, tal afirmativa refere-se apenas a uma habilidade inerente da raça, sem levar em consideração sua capacidade de adaptação aos ambientes inóspitos os quais são criados.

Ainda são observadas lacunas no quesito conforto térmico para raças nativas e tal característica associada à nutrição. Raças nativas apresentam apenas baixos índices produtivos e reprodutivos ou o ambiente não lhes é complacente e ainda assim estes animais conseguem se reproduzir? Será que sob influência de um estresse pelo calor seria possível levar estes animais a melhorarem seus índices reprodutivos? Tais indagações certamente são o objeto de estudo de vários pesquisadores que anseiam caracterizar ainda mais o trinômio ambiente, nutrição e reprodução.

Baseado neste panorama esta revisão tem por objetivo estudar e enumerar fatores de forte influência sobre a superovulação em ovelhas da raça Santa Inês, bem como verificar os efeitos exercidos pela suplementação com ácidos graxos polinsaturados e estresse pelo calor sobre a reprodução destes animais.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Anatomia e histologia dos ovários

Os ovários ou gônadas sexuais femininas são estruturas ovaladas, de superfície irregular, com dimensões médias de 1,5 cm de comprimento e de 1,0 a 1,8 cm de largura, que variam de acordo com a fase do ciclo estral, em ovinos. São responsáveis pela produção de hormônios e liberação de oócitos, os gametas sexuais femininos. A produção de oócitos é resultante da interação de dois fenômenos que ocorrem no ovário, isto é, a oogênese e a foliculogênese (Saumande, 1981).

Os ovários estão dorsalmente localizados na cavidade abdominal, próximos a quinta vértebra lombar, na entrada da cavidade pélvica. A fixação ocorre através das pregas do peritônio (ligamentos próprios dos ovários e mesováricos), os mantendo paralelos ao ápice dos cornos uterinos (Dyce *et al.*, 1997).

O corpo do ovário é composto externamente pelo córtex ou zona parenquimatosa. Periférico e predominante contém numerosos folículos em vários estágios de desenvolvimento, corpo lúteo e estroma composto por fibroblastos, células musculares lisas e fibras colágenas. Internamente é composto pela medula, uma zona vascular, composta de tecido conjuntivo frouxo, com fibras elásticas e reticulares, apresenta vasos sanguíneos, linfáticos e nervos. Toda esta estrutura é envolta pela túnica albugínea (Banks, 1992).

Os nervos e vasos seguem justapostos ao peritônio e em seguida atingem o hilo ovariano, adentrando-o. As artérias ovarianas são ramos da aorta abdominal, difundindo-se na região medular e, através de um plexo na região córtex medular, a região cortical, irrigando o ovário por completo. O sistema venoso é semelhante, todavia seguindo caminho inverso, até saírem pelo hilo. As veias ovarianas drenam para a veia caudal ou para a veia renal do mesmo lado ao órgão. Quanto à drenagem linfática, destinam-se aos linfonodos ilíacos e sua inervação é efetuada pelos ramos dos plexos do sistema nervoso simpático e parassimpático (Banks, 1992; Dyce *et al.*, 1997).

2.2 Fisiologia e estacionalidade reprodutiva das ovelhas

Os mamíferos domésticos que apresentam atividade sexual durante todo ano denominam-se poliéstricos contínuos, ao passo que aqueles que apresentam esta atividade somente em determinados períodos do ano são chamados de poliéstricos estacionais (Hafez, 1995).

Os ovinos são animais poliéstricos, podendo ser estacionais ou não, dependendo da raça e da latitude em que foram desenvolvidas. Quando sazonais, são consideradas espécies de fotoperíodo negativo, ou seja, sofrem marcante influência em dias curtos, ou mais especificamente, noites longas, com maior

concentração de estros no outono e inverno (Morello e Chemineau, 2008). A sazonalidade é controlada pela percepção visual da luminosidade, captada pela retina, que envia impulsos nervosos através do nervo óptico até os gânglios cervicais superiores e estes à glândula pineal que, por sua vez, secreta melatonina durante a noite. Este hormônio, em ovinos, estimula a produção pulsátil de GnRH, influenciando positivamente a atividade cíclica destes animais (Senger, 2003).

A puberdade nas ovelhas está relacionada com a idade, peso, condição corporal, fatores ambientais e nutricionais, e ocorre geralmente entre os seis e oito meses de idade (Hafez, 1995), ao atingirem entre 50 a 70% do peso adulto (McDonald, 1989).

O ciclo estral dura entre 14 e 19 dias, com média de 17 dias, sendo três dias de metaestro, sete a dez dias de diestro, dois dias de proestro e aproximadamente dois dias de estro, entre 15 e 45h de duração, período no qual ocorre a ovulação espontânea (Jainudeen *et al.*, 2000).

Diversos fatores como a espécie, a raça (Cahill *et al.*, 1979), a genética (Erickson *et al.*, 1976), a idade (Peters, 1976; Rüsse, 1983; Roy e Treacy, 1993) e o estado reprodutivo do animal (Erickson *et al.*, 1976) podem influenciar a população de folículos ovarianos. Estima-se que a população folicular ovariana ao nascimento é de aproximadamente 160.000 na ovelha (Driancourt *et al.*, 1991), 235.000 folículos na vaca, podendo variar de 0 a 720.000 folículos por ovário (Betteridge *et al.*, 1989) e aproximadamente 2.000.000 na mulher (Erickson, 1986).

2.3 Ativação e desenvolvimento folicular

O processo de formação, ativação, crescimento e maturação folicular, iniciando com a formação do folículo primordial e culminando com o estágio de folículo maduro ou de *Graaf* ou pré-ovulatório é conhecido como foliculogênese (Saumande, 1981; Picton, 2001).

A quantidade total de oócitos presentes no ovário adulto origina-se de um número definido de células germinativas primordiais (PGCs) que são derivadas da massa

celular interna do blastocisto em desenvolvimento. Uma vez estabelecidas no ovário em desenvolvimento, as PGCs começam a se diferenciar em oogônias. A população de oogônias se expande por meio de um número predeterminado de divisões mitóticas, espécie específica, até as células se tornarem oócitos por divisão meiótica (Picton, 2001).

Após o início da meiose, as células germinativas, agora chamadas de oócitos primários, continuam a fase de divisão passando pelas fases de leptóteno, zigóteno e paquíteno da prófase I da meiose antes de atingirem a fase de diplóteno. O tamanho das células germinativas aumenta com o desenvolvimento do oócito, passando para a fase de diplóteno. Depois de passarem por uma reorganização citoplasmática, os oócitos primários permanecem em um estado inativo até a puberdade quando os folículos (os selecionados) estão aptos a ovular. O início da meiose nos oócitos coincide com o início da foliculogênese. Antes da formação do folículo, há uma grande colonização do ovário fetal por células mesonéfricas, que podem tornar-se fontes precursoras de células foliculares (Picton, 2001).

Dentro da região medular do ovário fetal, cordões de células somáticas se ramificam no córtex e invadem os “ninhos” das oogônias e oócitos. Durante este processo, os oócitos perdem qualquer relação intercelular e são envolvidos por uma única camada plana ou poliédrica de células pré-granulosas derivadas dos cordões celulares, enquanto formam os primeiros estágios dos folículos primordiais. As células pré-granulosas permanecem em uma fina membrana opostas às células do estroma, algumas das quais vão se diferenciar em uma camada de células da teca após o início do crescimento folicular. Uma vez estabelecida, a unidade folicular, esta irá ajudar a manter o oócito em um ambiente controlado e isolado de qualquer substância que possa prejudicá-lo (Picton, 2001).

Todos os oócitos que não forem incorporados aos folículos primordiais serão degenerados. Os folículos primordiais constituem o banco de células germinativas no ovário pós-natal e o seu tamanho e número varia de acordo com a espécie e a idade (Gosden e Telfer, 1987). Assim que o banco de folículo primordial é estabelecido, inicia-se a fase de recrutamento do folículo continuando pelo resto

da vida ou até o final da atividade ovariana. O crescimento do folículo é contínuo, podendo terminar com a ovulação de um oócito maduro ou a degeneração (atresia) do folículo e seu oócito.

2.4 Função dos folículos ovarianos

O folículo é a unidade funcional do ovário mamífero (Gore-Langton e Armstrong, 1994). Cada folículo apresenta basicamente duas funções: 1) proporcionar um ambiente ideal para o crescimento e maturação do oócito (Gordon, 1994) para que o mesmo atinja seu potencial máximo que é a fusão com a célula germinativa do macho (espermatozóide) para produzir um embrião capaz de conduzir o seu desenvolvimento até o nascimento de um indivíduo normalmente viável (Gore-Langton e Armstrong, 1994); 2) produção de hormônios esteróides (Gordon, 1994).

2.4.1 Tipos de folículos

A população folicular ovariana é bastante heterogênea (Saumande, 1981). Um sistema atual de classificação dos folículos (tanto para a espécie bovina quanto para a ovina) foi descrito por Braw-Tal e Yossefi (1997). Nesse sistema de classificação os folículos pré-antrais e folículos antrais jovens são classificados como:

- a) tipo 1 – folículos primordiais (uma camada achatada de células da granulosa).
- b) tipo 1a – folículos transitórios (uma mistura de camada achatada e células da granulosa do tipo cubóide).
- c) tipo 2 – folículos primários (1-2 camadas de células da granulosa cubóide).
- d) tipo 3 – folículos pré-antrais pequenos (2-4 camadas de células da granulosa).
- e) tipo 4 - folículos pré-antrais grandes (4-6 camadas de células da granulosa).

f) tipo 5 - folículos antrais pequenos (presença de antro e mais de cinco camadas de células da granulosa).

2.4.2 Ativação dos folículos primordiais

Os folículos primordiais *in vivo* são rodeados por um ambiente extra-folicular complexo, incluindo o estroma ovariano, células da teca em várias fases de diferenciação, ramos do sistema circulatório, sistema nervoso e outros tipos celulares (e.g., macrófagos). A influência que estes diferentes tipos celulares exercem nos eventos intrafoliculares ao longo da foliculogênese está sendo estudada. Porém, os mecanismos envolvidos ainda permanecem obscuros (McNatty *et al.*, 1999).

Os folículos em crescimento encontram-se na porção córtico-medular que é ricamente vascularizada (Van Wezel e Rodgers, 1996) sugerindo que a ativação e o crescimento dos folículos primordiais depende de nutrientes, hormônios e fatores de crescimento. Porém, nem todos os folículos primordiais iniciam seu crescimento ao mesmo tempo, alguns fatores podem estar retendo alguns desses folículos na fase de quiescência para serem ativados posteriormente ao longo dos anos.

2.4.3 Gonadotrofinas e sistema IGF atuando no desenvolvimento folicular

O hipotálamo, considerado ponto chave do comando reprodutivo, produz um hormônio decaeptídeo (GnRH), liberado no sistema porta hipotalâmico-hipofisário, a fim de estimular a síntese e a liberação de gonadotropinas: hormônio folículo estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH), responsáveis pela maturação folicular, produção de estrógeno, ovulação e luteinização do corpo lúteo (CL) (Aljarrah, 2004).

A emergência de uma onda folicular ovariana é estimulada pelo pico de FSH (Dinger e Noiles, 1984) que é responsável pelo recrutamento de folículos com

diâmetro pré-antrais. Após a concentração plasmática de FSH ter atingido o seu valor máximo, os dois maiores folículos alcançam o diâmetro mínimo para estimular a seleção do folículo dominante. Neste momento, os folículos iniciam a divergência do diâmetro, caracterizando a seleção e o crescimento contínuo do maior folículo, que será considerado como dominante, enquanto os folículos remanescentes, considerados como subordinados, reduzem sua taxa de crescimento (Gastal, 1999). Aparentemente, este é o momento para que o maior folículo estabeleça o processo de dominância, antes que o segundo maior folículo alcance diâmetro similar (isto em espécies mono-ovulatórias). Neste momento, o futuro folículo dominante (FD) exerce papel primário na supressão da concentração circulante de FSH (Ginther *et al.*, 2003).

O crescimento do FD, após o processo de seleção é menos dependente de FSH, cuja concentração é mantida em níveis basais devido à produção de estrógeno (E2) e inibina, que fazem retroalimentação negativa a nível hipofisário. Contudo, a manutenção de uma concentração plasmática mínima de FSH é essencial para sua sobrevivência; e a sua supressão, abaixo do nível basal, predispõe o folículo dominante à atresia (Mihm e Bleach, 2003).

Após o processo de seleção, o crescimento e a atividade estrogênica do folículo são controlados pelos pulsos de LH. O folículo selecionado pode, ao superar a dependência de FSH, tornar-se extremamente sensível à pulsatilidade do LH, ao adquirir receptores para esse hormônio nas células da granulosa, bem como pela síntese de enzimas esteroidogênicas (Rawlings *et al.*, 2003), que são fundamentais à expressão gênica da enzima aromatase (conversora de androstenediona em estradiol) nas células da granulosa (Mihm e Bleach, 2003).

A dependência de menores concentrações de FSH para a manutenção do crescimento do FD coincide com a elevação do estradiol e de fatores de crescimento locais (Ginther, 2000), bem como as menores concentrações de proteínas ligadoras de fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGFBP-2, 4 e 5). As baixas concentrações de IGFBPs disponibilizam maiores concentrações intrafoliculares de fatores de crescimento semelhantes à insulina livres (IGF) (Granger *et al.*, 1989), induzindo à expressão dos receptores de LH e regulando a atividade da aromatase (Fortune, 2003).

Os IGFs, tipo- 1 e 2, estimulam a atividade mitogênica e a esteroidogênica das células da teca e da granulosa, por meio de mecanismos endócrinos, autócrinos e parácrinos (Voge *et al.*, 2004), amplificando os efeitos endócrinos do FSH e permitindo, ao futuro FD, a rápida regulação da produção de estradiol. Desta maneira, a supressão do FSH circulante, por meio da elevação da concentração de estradiol, previne os folículos subordinados de adquirirem a dominância, sem que haja interferência do desenvolvimento do folículo selecionado para ovular (Fortune, 2003).

Associado ao IGF, os folículos dominantes apresentam aumento na concentração da proteína plasmática associada à prenhez (PAPP-A), uma enzima que promove rápida mudança nas concentrações intrafoliculares de IGFBP, ao degradar dois subtipos de proteínas ligadoras (IGFBP-4 e 5) e, conseqüentemente, levam ao aumento dos níveis intrafoliculares de IGF-1 (Fortune *et al.*, 2004). As concentrações intrafoliculares de IGF-1 e de IGFBP-3 permanecem relativamente constantes durante o crescimento folicular. Todavia, os níveis de IGFBP-2, 4 e 5 variam bastante, indicando que a biodisponibilidade de IGF-1 no folículo é ditada por mudanças nos níveis das IGFBPs (Voge *et al.*, 2004).

A avaliação das mudanças temporais nas concentrações do E2, IGF, IGFBP e PAPP-A do fluido folicular sugere que o aumento desta última proteína é a diferença bioquímica mais precocemente detectável, no futuro folículo dominante; e que a seleção folicular é resultante de uma série de mudanças iniciando-se com a expressão da PAPP-A (Fortune, 2003).

Tem sido postulado que a seleção do FD é dependente da associação das mudanças na concentração de FSH e do crescimento e desenvolvimento folicular. A elevação nas concentrações de LH circulantes foi determinada próximo à divergência, e pode exercer papel no crescimento contínuo do maior folículo (Ginther *et al.*, 2003). No entanto, não é conhecido se o LH começa a ser utilizado pelo maior folículo antes, durante ou após o início da divergência folicular. Alguns estudos sugerem que o LH não influencia o crescimento do FD até que se inicie a divergência (Ginther, 2000). Contudo, estes dados demonstram a intrigada relação entre as gonadotropinas e o sistema IGF no desenvolvimento e maturação do folículo ovariano.

2.4.4 Ativina e folistatina

A foliculogênese em mamíferos envolve a progressão do desenvolvimento de um folículo primordial, contendo uma simples camada de células da granulosa envolta do oócito, para um folículo pré-ovulatório, consistindo de múltiplas camadas das células murais da granulosa cercando o complexo cumulus-oócito. Durante este processo, o oócito e as células da granulosa crescem e diferenciam-se, enquanto as células da teca são recrutadas do tecido do estroma ovariano. Após a ovulação, as células da teca e da granulosa diferenciam-se em células luteais. Este processo inteiro é regulado e coordenado por hormônios endócrinos tais como as gonadotropinas e por fatores de crescimento locais de maneira autócrina e parácrina (Richards *et al.*, 2002). Dentre estes fatores de crescimento encontra-se a ativina que foi originalmente identificada no fluido folicular ovariano tendo ação estimulante quanto a secreção de FSH em cultura de células da hipófise anterior (Vale *et al.*, 1986).

A ativina é composta por dímeros β - β , tendo variações na formas de combinação das subunidades- β que levam a formação da ativina-A (β A- β A), da ativina-B (β B- β B) e da ativina-AB (β A- β B). Quatro tipos de receptores de ativina têm sido identificados, sendo denominados de receptores de ativina tipo IA, IB, IIA e IIB. A ativina-A primeiro liga-se ao ActR-IIA ou ActR-IIB e então, preferencialmente, ao ActR-IB. O complexo ativado da ativina e seus receptores estimulam as moléculas de sinalização intracelular que são translocadas para o núcleo de regulação da transcrição gênica (Pangas e Woodruff, 2000). O ActR-IB é o receptor predominante para ativina, enquanto o ActR-IA pode ter especificidade para outras ativinas ou sinais de proteína morfogenética óssea (Massagué e Chen, 2000). A folistatina não é relacionada estruturalmente a ativina e inibina, mas liga-se com alta afinidade a subunidade- β e, então é capaz de neutralizar a atividade da inibina, e mais particularmente, as formas da ativina. Existem duas formas de folistatina (folistatina-315 e folistatina-288), e a única diferença na estrutura é o aminoácido 27 adicional na extremidade terminal carboxila da folistatina-315 (Lin *et al.*, 2003).

Vários estudos têm demonstrado a importância do sistema ativina-folistatina no controle da função ovariana (Van den Hurk e Zhao, 2005). *In vitro*, a ativina-A estimula a proliferação das células da granulosa nos folículos pré-antrais e início do antro nestes folículos, além de regular os receptores de FSH e atividade da aromatase induzida por este hormônio (Xiao *et al.*, 1992). Em adição, a ativina-A atrasa a luteinização e atresia nos grandes folículos antrais e eleva a maturação do oócito. Por outro lado, a folistatina atenua as ações da ativina-A e pode promover a luteinização e atresia dos grandes folículos antrais. A expressão da ativina-A e folistatina é, dependente da espécie, sendo encontrada em oócitos, nas células da granulosa e/ou teca (Knight e Glister, 2003).

2.5 Inibidores de crescimento

A inibina é composta por dímeros α - β de inibina conhecidas que são compostas por diferentes subunidades- β , levando a formação da inibina-A (α - β A) e inibina B (α - β B) (Pangas e Woodruff, 2000).

O folículo dominante produz a inibina ou foliculostatina na granulosa que interrompe o crescimento folicular, devido a progressiva inibição da síntese e liberação do FSH provocando *feedback* negativo na hipófise, juntamente com estradiol no hipotálamo a impedir o desenvolvimento de novos folículos. Todavia, o folículo dominante só se tornará ovulatório se os níveis de progesterona (P4), estiverem baixos, pois a progesterona bloqueia a liberação de LH e a ovulação (Stabenfeldt e Edqvist, 1996).

2.6 Crescimento inicial dos folículos antrais

Em ovelhas, esta fase tem início quando o folículo atinge um diâmetro de 0,216mm a 0,220mm e termina quando mede acima de dois milímetros de diâmetro (Dufour *et al.*, 1979). O crescimento dos folículos antrais nesta fase pode ser atribuído a um aumento no tamanho do oócito e no número de células da

granulosa e, conseqüentemente, a um aumento no número de camadas de células e um pequeno aumento do antro. O crescimento dos folículos ovarianos medindo até dois milímetros de diâmetro é pouco sensível às variações de gonadotrofinas cíclicas. Suas necessidades em FSH e LH são baixas (Driancourt *et al.*, 1991), significando que os hormônios gonadotróficos não são absolutamente necessários para a proliferação das células da granulosa e da teca (Hirshfield, 1991). As células da teca parecem secretar fatores (TGF- β e EGF) que influenciam a taxa de proliferação das células da granulosa. A administração de estrógeno também pode estimular a proliferação das células da granulosa. Fatores extra-ovarianos, a exemplo do hormônio de crescimento (GH), também podem alterar a taxa de crescimento folicular. A administração desse hormônio em ratas hipofisectomizadas imaturas proporcionou o aumento da atividade mitótica (Hirshfield, 1991).

Em ruminantes e outras espécies, o fator de crescimento semelhante à insulina do tipo I, IGF-I estimula tanto a proliferação quanto à diferenciação de células da granulosa *in vitro*. Em ovinos, o IGF-I primeiramente estimula a proliferação das células da granulosa de pequenos folículos (1-3 mm), mas não de folículos grandes (maiores que cinco milímetros). Por outro lado, o IGF-I estimula a secreção de progesterona das células da granulosa apenas de folículos grandes (Monniaux *et al.*, 1997; Monget e Bondy, 2000).

2.7 Crescimento terminal dos folículos antrais

Na ovelha, o crescimento terminal dos folículos ovarianos tem início quando o folículo atinge um diâmetro superior à dois milímetros. Ao contrário, nos folículos acima de dois milímetros de diâmetro, o crescimento folicular parece resultar do desenvolvimento do antro (Lussier *et al.*, 1987), sendo essencialmente dependente de gonadotrofinas hipofisárias (Monniaux *et al.*, 1997). Por essa razão, essa fase do crescimento folicular é conhecida como foliculogênese tônica (Driancourt *et al.*, 1991).

As gonadotrofinas aumentam a atividade esteroidogênica nas células da granulosa e células da teca. Isso resulta em aumento na síntese e acúmulo de esteróides, especialmente o estradiol; na circulação geral e no fluido folicular onde o estradiol é um elemento essencial à foliculogênese e aos eventos fisiológicos necessários para a reprodução (Ireland, 1987).

Neste período do crescimento folicular, mudanças funcionais podem ser observadas, como por exemplo: a) aumento da sensibilidade das células da granulosa ao FSH; b) aparecimento dos receptores de LH nas células da granulosa nos folículos acima de três milímetros (ovelha) e cinco milímetros (vaca) e c) aumento da atividade da aromatase nas células da granulosa (Monniaux *et al.*, 1997).

O avanço na endocrinologia reprodutiva demonstrou que o FSH tem relação temporal com os eventos reprodutivos e está associado ao padrão de crescimento folicular em ondas. Na espécie ovina, a secreção pulsátil de FSH ocorre a cada cinco a seis dias, o que resulta em três pulsos da gonadotrofina durante o ciclo estral de 17 dias (Bister e Paquay, 1983). Estes autores propuseram que os pulsos de FSH a cada cinco a seis dias estão relacionados à emergência folicular, resultando em três ondas de crescimento folicular na maioria das ovelhas. De fato, aproximadamente 80% das ovelhas apresentam três ondas de emergência folicular em um ciclo estral normal de 17 dias, com a última onda resultando em ovulação (Noel *et al.*, 1993; Leyva *et al.*, 1998).

O crescimento folicular tem início com o recrutamento de um grupo de folículos responsivos ao FSH, que crescem até um determinado momento, quando um ou dois destes folículos são selecionados e continuam seu desenvolvimento até tornarem-se dominantes (Driancout *et al.*, 1991). Durante seu crescimento, os folículos dominantes inibem o desenvolvimento dos demais folículos do mesmo grupo por um mecanismo que se baseia, principalmente, na supressão da liberação de FSH pela hipófise. Essa supressão está associada à produção de estrógeno e inibina pelo folículo dominante (Gil, 2003). Caso o corpo lúteo proveniente da ovulação anterior ainda não tenha regredido, o folículo dominante entra em atresia e uma nova onda de crescimento folicular tem início. Caso não exista corpo lúteo funcional presente no ovário, ocorre ovulação do folículo

dominante, sob ação do LH, e a formação do novo corpo lúteo (Sirois e Fortune, 1988; Gil, 2003).

No entanto, os mecanismos exatos que regulam a fisiologia reprodutiva e a resposta hormonal dos animais nos trópicos não estão bem conhecidos e pouca informação está disponível sobre o assunto (Santos *et al.*, 2009). Uma vez que as raças nativas do Brasil ditas tropicais ou poliéstricas contínuas, não sofrem influência do fotoperíodo, acredita-se que sob estas condições, outros fatores que não a duração do dia apresentam influência direta na reprodução, como por exemplo, a temperatura ambiente e a nutrição (Mori *et al.*, 2006)

2.8 Duração da foliculogênese

Estima-se que na ovelha, ao deixar o *pool* de reserva, o folículo levaria aproximadamente 180 dias para atingir o estágio pré-ovulatório, sendo 135 dias até o aparecimento do antro e mais 45 dias até a ovulação (Cahill *et al.*, 1979). Por outro lado, pouco se conhece sobre a duração do crescimento folicular em outros ruminantes como a vaca e a cabra. Segundo as observações de Lussier *et al.* (1987), na vaca, um folículo de 0,13mm de diâmetro levaria 42 dias, ou seja, aproximadamente dois ciclos estrais para atingir o tamanho pré-ovulatório. Na rata, o período que compreende desde a saída de um folículo primordial do *pool* de reserva até a ovulação é de aproximadamente 21 dias (Hirshfield, 1991).

2.9 Super Ovulação (SO) em Ovelhas

Os protocolos de superovulação (SO) na espécie ovina têm sido utilizados para aumentar o número de crias de fêmeas geneticamente superiores há mais de 50 anos (Cassida *et al.*, 1994). A superovulação em ovelhas tem princípios semelhantes ao da cabra, quando em um ciclo estral normal, de um a quatro folículos podem alcançar o diâmetro ovulatório (Evans, 2003). Estes folículos exercem sua dominância sobre os demais (subordinados), simplificada-

pela privação ao hormônio folículo estimulante, o FSH (Ghinter *et al.*, 1996). Com base neste conceito, um protocolo para a super ovulação atua fornecendo grandes quantidades de FSH, levando assim a múltiplas ovulações .

Os primeiros tratamentos superovulatórios tinham como base o uso de Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG). Porém, a aplicação de altas dose de eCG resulta em respostas ovulatórias baixas e extremamente variáveis, além de induzir grande formação de cistos foliculares. Por esta razão, o eCG foi sendo substituído por extrato hipofisário, geralmente da espécie suína, que contém FSH (Armstrong e Evans, 1983). A desvantagem é que esta preparação também contém LH, além de outras substâncias não identificadas, que podem prejudicar a resposta ovulatória e a produção de embriões (Murphy *et al.*, 1984).

O eCG apresenta meia vida plasmática mais longa, cerca de 72h, está associado a super estimulação dos ovários, resultando na liberação de grande quantidade de oócitos e com maior taxa de embriões degenerados ou de baixa qualidade. Este é administrado em dose única, geralmente entre 1.000 a 1.500UI, 48h antes da remoção da fonte de progesterona (Husein *et al.*, 1998). O FSH possuiu meia vida plasmática mais curta, próxima às 6h e, em decorrência disso, requer duas aplicações diárias, a partir de 48h antes da retirada do implante de progesterona, ocasionando maiores taxas de ovulação e fertilização, com melhor qualidade dos embriões recuperados frente ao eCG (Mobini *et al.*, 2004).

2.10 Falhas na resposta à super ovulação

Infelizmente, hoje ainda há grande variação na taxa de ovulação e no número de embriões viáveis recuperados entre os tratamentos e entre os animais dentro de um mesmo tratamento de super ovulação, sendo este um fator limitante na utilização destes programas e coleta de embriões em ovinos (Driancourt, 1991; Cognié, 1999; Baldassare, 2008). Gonzales-Bulnes *et al.* (2000) mencionaram que este é um problema pertinente a ordem de 20 a 30% das fêmeas tratadas.

Esta variabilidade tem sido associada a fatores extrínsecos e intrínsecos (González-Bulnes *et al.*, 2003). Dentre os fatores extrínsecos que têm maior

influência na resposta superovulatória encontram-se: a origem e pureza da gonadotrofina utilizada e o protocolo de administração desta gonadotrofina, (Baril *et al.*, 1996), bem como a possibilidade do binômio aumento da temperatura ambiente e da umidade relativa do ar (Varago, 2009). Com relação aos fatores intrínsecos, destacam-se: raça, idade, nutrição, status reprodutivo das doadoras (Santos *et al.*, 2009), deficiência ou inexistência do pico de LH (González-Bulnes *et al.*, 2003) ou a presença de folículos não responsivos, durante a regulação dos receptores de LH nas células da teca e granulosa (Boland *et al.*, 1991; González-Bulnes *et al.*, 2003), ficando constatado que a população folicular presente nos ovários no início do tratamento hormonal é um fator que tem grande participação na resposta à superovulação (González-Bulnes *et al.*, 2005; Veiga-Lopes *et al.*, 2005).

2.10.1 Falha na responsividade folicular ao FSH

Os protocolos atuais de super ovulação baseiam-se na reposição do FSH endógeno por FSH exógeno. No entanto, o FSH exógeno atua apenas nos folículos que já iniciaram o seu desenvolvimento, ou seja, folículos responsivos a gonadotrofinas ou folículos antrais com diâmetros entre dois e três mm. Existe, ainda, a possibilidade do número, bem como da viabilidade dos embriões, estar diretamente relacionada a uma categoria ainda mais limitada de folículos de três mm de diâmetro, enquanto folículos de dois mm de diâmetro estariam relacionados à alta taxa de degeneração, o que pode indicar competência oocitária comprometida (Veiga-Lopes *et al.*, 2005).

Por outro lado, a presença de grandes folículos dominantes (\geq seis mm de diâmetro) diminui tanto o número quanto a viabilidade dos embriões obtidos (González-Bulnes *et al.*, 2002). Estudos realizados evidenciam que o sucesso na recuperação embrionária, após o processo de super ovulação em ovelhas, está diretamente ligado ao status ovariano no início do tratamento com FSH (González-Bulnes *et al.*, 2000, 2004, 2005). Ou seja, a quantidade de folículos que podem ser estimulados pelo FSH depende da quantidade de folículos presentes no ovário no momento do início da superovulação. No entanto, com a

utilização dos protocolos convencionais, a população folicular existente no início do tratamento com gonadotrofina é desconhecida. Por esta razão, o resultado para um mesmo tratamento pode variar entre zero e 30 embriões transferíveis (Baldassare, 2008).

Outro entrave presente nos protocolos de superovulação é que a ação do FSH não faz diferenciação entre os folículos saudáveis e aqueles que já entraram em regressão, estimulando o crescimento dos dois tipos de folículos. Como consequência, o folículo em atresia retoma seu crescimento e pode chegar à ovulação. Porém, o ócito deste folículo não é mais viável, pois já iniciou o processo de apoptose (Rubianes *et al.*, 1997). Neste caso, após a ovulação, o ócito não será fertilizado ou, caso seja, resultará num embrião não viável, com degeneração precoce (Baldassare, 2008). Este problema pode ser minimizado com a utilização de protocolos “Dia 0” (Fonseca, 2006; Rubianes e Menchaca, 2006).

Dessa forma, o ideal seria iniciar as aplicações de FSH concomitantemente ao surgimento da onda folicular. Assim sendo, se considerarmos que em cada ciclo podem ocorrer várias ondas e as intermediárias apresentam surgimentos irregulares, sobrepondo a anterior, poderíamos aproveitar apenas a primeira onda de crescimento folicular. Nesse sentido, o acompanhamento ultrassonográfico para determinar a emergência da primeira onda folicular e, portanto o dia “0” da onda, tem sido associado ao primeiro dia de aplicação de FSH (Fonseca, 2006; Rubianes e Menchaca, 2006), enquanto os protocolos convencionais utilizam como base apenas a sincronização de cio e duração do ciclo estral (Fonseca *et al.*, 2007).

A sincronização de cio é mais recomendada que a simples observação do estro quando há interesse na utilização do protocolo de super ovulação, com melhores resultados na colheita de embriões. Normalmente utilizam-se progesterona exógena ou mais ainda, progestágenos impregnados em dispositivos vaginais ou implantes auriculares (Fonseca *et al.*, 2007), por um período compreendido entre sete a 15 dias, com média entre 10 e 12 dias. Quanto maior a permanência de um dispositivo vaginal, maior a incidência de vaginites e perdas embrionárias,

desejando-se hoje menor tempo possível de permanência do implante (Rubianes e Menchaca, 2006; Arashiro *et al.*, 2009).

2.10.2 Falhas ligadas ao corpo lúteo (CL)

Além do efeito da presença de folículos grandes, há também interferência pela presença ou ausência de corpo lúteo no início do tratamento com FSH (González-Bulnes *et al.*, 2002). A ausência de corpo lúteo exerce efeito negativo sobre a viabilidade dos embriões por aumentar a taxa de degeneração. Existe ainda uma interação entre a ausência de corpo lúteo e a presença de grandes folículos no ovário, sendo maior o efeito negativo da dominância sobre a taxa de recuperação e a viabilidade embrionária na ausência de corpo lúteo (Greve *et al.*, 1995).

Os efeitos relacionados à presença do corpo lúteo podem ser relacionados a alterações na competência de desenvolvimento dos oócitos, no processo de fecundação e no desenvolvimento inicial do embrião (Greve *et al.*, 1995) ou a mudanças no ambiente uterino, o que expõe os embriões a ambiente hostil e sem capacidade para recebê-los (Barnes, 2000). No entanto, Veiga-Lopes *et al.* (2005) demonstraram que a influência do corpo lúteo é principalmente relacionada às questões de ambiente uterino e à população folicular, portanto, os oócitos também são diretamente afetados.

2.10.2.1 Luteólise

O principal mecanismo no processo para que ocorra a luteólise é a emissão de secreções pulsáteis de prostaglandina F-2 α (PGF-2 α) pelo endométrio que provocam a regressão de CL. Nos ovinos há um feedback positivo que estimula a secreção pulsátil de PGF2 α , tendo a ocitocina como mediador central nesse processo (McCracken *et al.*, 1984). A ocitocina, proveniente da neuro-hipófise, estimula a secreção de PGF2 α no endométrio. A PGF2 α estimula a secreção de ocitocina no CL, e a ocitocina luteínica, por sua vez, estimula ainda mais a

produção de PGF2 α no útero, caracterizando o processo de feedback positivo. Esta luteólise se inicia como resultado da elevação e ativação de receptores de estradiol (E2), que induzem um aumento no número de receptores de ocitocina no endométrio desencadeando todo mecanismo.

McCracken *et al.* (1984) propuseram uma série de eventos que tem sido responsáveis pela luteólise:

1. a diminuição inicial de progesterona permitira que o 17-b-estradiol estimulasse a formação de receptores uterinos para a ocitocina;
2. os níveis de ocitocina, oriundos do ovário, interagiriam com esses receptores, resultando na síntese e secreção de PGF2 α ;
3. essa prostaglandina atuaria no CL, reduzindo os níveis de progesterona e liberando quantidades crescentes de ocitocina ovariana;
4. a ocitocina por sua vez, reforçaria a liberação de PGF2 α pelo útero, em um mecanismo de feedback positivo;
5. a concentração plasmática de progesterona cairia e a ocitocina lútea diminuiria como resultado da ação da PGF2 α pelo útero.

2.10.2.2 Regressão luteal prematura

Gordon, em 1997, percebeu que a regressão luteal precoce é muito comum em ovelhas, todavia, até hoje, este fato parece ser ignorado pelos pesquisadores e principalmente pelos técnicos, uma vez que os protocolos mais utilizados para super ovulação não recomendam a utilização de agentes anti luteolíticos (antiinflamatórios) ou luteotróficos (Fonseca *et al.*, 2007), como a prolactina ou, segundo Sales *et al.* (2002), progestágenos exógenos. Este fenômeno parece estar associado a elevadas concentrações de estrógenos circulantes durante a fase luteal inicial (Fonseca *et al.*, 2007).

O aumento dos níveis de secreção de progesterona produzido pelo corpo lúteo promove a inibição dos níveis de receptores de ocitocina pouco antes da luteólise.

Este processo se inicia durante a fase lútea com a diminuição de receptores de ocitocina que não estimula ação da PGF2 α luteolítica (Vallet *et al.*, 1990).

O ciclo normal das ovelhas é caracterizado por altos níveis préovulatórios de secreção de estradiol (E2) resultando na “down regulation” dos receptores de ocitocina pelo útero, revelando a associação entre altas concentrações de estradiol e a luteólise prematura, levando à perda dos embriões (Vallet *et al.*, 1990).

A regressão luteal precoce é evidente em aproximadamente quatro dias após o estro, mas a concentração circulante de progesterona já se apresenta abaixo do desejável desde o terceiro dia. Este tipo precoce de regressão pode variar entre seis a 75% dos animais tratados e como principal consequência é observada diminuição na taxa de recuperação e qualidade dos embriões recuperados (Lopes Júnior *et al.*, 2006).

Protocolos de superovulação que utilizam o eCG em substituição ao FSH têm apresentado maior ocorrência de regressão luteal prematura (Armstrong *et al.*, 1983, 1987; Pendleton *et al.*, 1992). Tratamentos superovulatórios utilizando ECG, na maioria das vezes estão associados com a presença de um grande número de folículos anovulatórios no momento da coleta de embriões (Gonzales *et al.*, 1994), devido a longa meia vida do eCG que provoca o desenvolvimento de uma nova onda folicular (Murphy e Martinuk, 1991). Essa segunda onda provoca um aumento nos níveis de estrógeno que afeta a qualidade dos embriões colhidos (Schiewe *et al.*, 1991). Ao passo que tratamentos superovulatórios com gonadotrofina da menopausa humana (hMG) devido sua meia vida curta leva a um rápido e homogêneo aumento de progesterona durante a fase lútea concomitante ao decréscimo do estradiol plasmático, produzindo maior efeito sincronizador sobre a manutenção folicular (Lauria *et al.*, 1982; Traldi *et al.*, 1996).

2.10.3 Ordem de coletas

Além destes fatores, o sucesso de procedimentos repetidos de superovulação e coleta de embriões não dependem apenas da taxa de ovulação alcançada, mas

também da taxa de recuperação após sucessivas coletas. A maioria dos estudos é realizada pelo método cirúrgico de coleta, o que resulta em declínio significativo da taxa de recuperação embrionária e também do número de ovelhas possíveis de serem submetidas à coleta, devido à formação de tecido de cicatrização e adesões pós-cirúrgicas (Torres e Sevelle, 1987; Bari *et al.*, 2001).

Varago em 2009 observou que ovelhas em repetidos protocolos superovulatórios apresentaram diminuição do número de embriões coletados a partir da segunda coleta, sugerindo à formação de aderências como uma das possibilidades dessa redução.

Na espécie ovina, existe um crescimento contínuo de folículos primordiais durante cada ciclo estral e aproximadamente 40 dias são necessários para que os folículos evoluam do momento em que formam o antro até o estado ovulatório (Bari *et al.*, 2001). Outro fator de relevância demonstrado, revela que existem entre 20 e 30 folículos responsivos à gonadotrofina em cada ovário durante um ciclo estral normal na ovelha (Webb *et al.*, 1998).

Considerando estes fatos, tratamentos super ovulatórios repetidos em intervalos curtos de dois meses, teoricamente, não resultariam em resposta reduzida e poderiam ser aplicados sem queda na eficiência dos programas de TE. A menor taxa de recuperação embrionária nas segundas e terceiras já foi reportada na literatura (Torres e Sevelle, 1987, Bari *et al.*, 2000). Em estudos nos quais dois, três ou até cinco protocolos foram induzidos em uma mesma estação reprodutiva, foi observada redução significativa na taxa de recuperação embrionária (Torres e Sevelle, 1987, Andrioli *et al.*, 1999). Estes autores acreditaram que este fato estivesse ligado à grande formação de aderências que as técnicas de laparotomia ou hemilaparoscopia induzem no aparelho reprodutivo das fêmeas, o que pode levar a diminuição de captação e transporte dos oócitos.

Além disso, foi reportado na literatura que, conforme aumenta a resposta ao protocolo superovulatório, ocorre uma diminuição na recuperação embrionária, sendo que esta fica bastante prejudicada quando existem mais de 10 corpos lúteos por ovário (Andrioli *et al.*, 1999). No entanto, para Varago (2009), a resposta superovulatória não foi diferente entre as três coletas consecutivas realizadas, atribuindo menor recuperação embrionária ao fato do surgimento de

aderências. Este fato pode estar relacionado à menor recuperação de embriões viáveis e maior recuperação de oócitos na terceira coleta, uma vez que a existência de aderências poderia comprometer o transporte dos oócitos e dos espermatozóides pelo aparelho genital feminino.

2.11 Estresse térmico

2.11.1 Caracterização do estresse

A palavra estresse foi utilizada pela primeira vez por Hans Selye, em 1936 (citado por Pereira, 2005), para definir o estado geral do organismo, o qual, após a ação de estímulos externos e ou internos, responde com uma série de reações sistêmicas de adaptação.

Stott (1981) dissertou que o estresse pode ser definido como uma reação do organismo a forças deletérias, tal qual um agente agressor que, geralmente manifesta-se por alterações neuro-endócrinas ou adreno-corticais, e pode ser considerado de dois tipos: o estresse mental, o qual pode ser desencadeado por um meio ambiente hostil ou não familiar, e o estresse físico ou participatório, que pode ser causado por técnicas de contenção, anestesia ou cirurgia, por exemplo.

Frente ao agente estressor (calor, frio, medo, dor, sede, doenças, etc...), que pode ser de origem interna ou externa, o organismo desenvolve um processo fisiológico dado ao somatório de todas as reações sistêmicas, conhecido como síndrome geral de adaptação (“general adaptation syndrome” – GAS) (Pereira, 2005).

O mesmo Hans Selye (1936) citado por Pereira (2005), expôs que diante a um ou mais estímulos estressores, os indivíduos reagem sob três diferentes formas de respostas: a de mobilização (alarme), que envolve reações imediatas, com mudanças fisiológicas que visam reestruturar os sistemas de controle corporais; a de resistência ou adaptação, que envolve a capacidade do indivíduo em conviver com o agente agressor e, mesmo assim, restabelecer seu equilíbrio interno, a

homeostase; e a última resposta, a de exaustão, onde sob prolongada ação do agente agressor, a habilidade compensatória do corpo é superada e a GAS desencadeia queda na imunidade, com possível surgimento de doenças, incapacidade de manutenção da homeostase e, por fim, podendo estabelecer a morte do indivíduo .

No contexto veterinário, a terminologia estresse não se refere a um simples parâmetro ou conjunto de reações corporais, mas sim a uma classificação heterogênea de um fenômeno, usualmente, vinculado a uma intensa alteração fisiológica, podendo ou não estar associado a uma doença. Todavia, há também controvérsias quando consideradas algumas posições de pesquisadores sobre o assunto, visto que, para alguns, estresse é uma situação extrema e indesejável, enquanto para outros, trata-se de um parâmetro normal e desejável para uma reação de adaptação do indivíduo (Fraser *et al.*, 1975).

2.11.2 Estresse por calor

O aumento da temperatura do ambiente induz o animal a uma diminuição do ritmo de produção de calor, pois os limites de termorregulação são atingidos mais rapidamente em meios quentes (temperatura crítica máxima) do que em meios frios. Em curtos períodos de estresse, os grandes animais levam vantagem sobre os pequenos, uma vez que sua maior capacidade de isolamento permite que sejam esquentados mais lentamente. Entretanto, por longos períodos isto não mais ocorrerá, pois ambos necessitarão de perda de calor por meio da evaporação e, nestes casos, levam vantagem os animais que suam sobre aqueles que perdem calor pela respiração (Silanikove, 2000).

Quando a temperatura do meio ambiente sobe acima do limite superior da zona de conforto térmico, os mecanismos de dissipação, para evitar o super aquecimento, são acionados, iniciando com a vasodilatação generalizada, sudorese e aumento do ritmo respiratório (taquipnéia). Ao elevar-se a temperatura, há um incremento na sudorese e posteriormente taquipnéia para que haja diminuição compensatória de calor, entretanto, frente a um grande

aumento térmico estes recursos são insuficientes para abaixar a temperatura do corpo, que começa a elevar. À medida que a temperatura do meio se eleva mais, os processos de refrigeração perdem a eficácia e o animal morre devido ao calor acumulado (Pereira, 2005).

Na maioria das espécies domésticas está comprovado que a temperatura corporal começa a subir como resposta à ação da temperatura do meio quando esta sobe de 28 para 32°C. Esta hipertermia se acentua quando a elevação acima dos 32°C está associada a uma umidade elevada, radiação solar intensa e produção metabólica elevada. À medida que a hipertermia se acentua ainda mais, a atividade respiratória e a sudorese diminuem, o que provoca um desajuste ainda maior na termorregulação, podendo chegar à morte (Silanikove, 2000).

O estresse climático, especificamente é a reação fisiológica proporcional à intensidade de força exercida pelos componentes térmicos sobre o organismo e, tanto no estresse pelo calor como pelo frio, o tempo e intensidade de exposição são de vital importância, pois serão estes a determinar os efeitos dos elementos do meio sobre os animais (Pereira, 2005).

2.11.3 Adaptabilidade dos ovinos ao estresse por calor

Adaptabilidade é a capacidade do organismo em compensar os desvios causados pelas forças exercidas pelos componentes térmicos. Assim sendo, a viabilidade da existência de um animal depende de sua adaptabilidade, que também pode ser entendida como sua habilidade em reagir a uma variedade de desafios e fatores estressantes com respostas adequadas a cada situação particular (Harbuz e Lightman, 1992).

As condições ambientais exercem forte influência nos seres vivos, afetando diretamente suas funções orgânicas envolvidas na manutenção do equilíbrio interno do organismo (homeostasia). Dentre os principais fatores ambientais climáticos que afetam os animais estão a temperatura do ar, umidade relativa do ar, radiação solar e ventos (Moberg, 1987).

Em condições de estresse, os animais acionam mecanismos adaptativos que implicam em mudanças na taxa metabólica, temperatura corporal, frequências cardíacas e respiratórias, alterações hormonais e metabólitos sanguíneos (Moberg, 2000).

Visando não alterar seu metabolismo e, conseqüentemente ainda manter sua homeostasia, os animais lançam mão de dispositivos anátomos-fisiológicos para manutenção da termorregulação, importantes para dissipação e proteção do excesso de calor advindo de altas temperaturas e radiação solar. A cor da pele e da pelagem, espessura da pele, medulação dos pêlos e glândulas sudoríparas são os dispositivos mais importantes (Pereira, 2005).

2.12 Efeitos do estresse por calor sobre a reprodução

As respostas ao estresse iniciam-se no hipotálamo. Este, por sua vez, produz hormônios que regulam a atividade da adeno-hipófise, como o hormônio liberador de corticotropinas (CRH) e arginina vasopressina (AVP), também conhecido como hormônio anti diurético (ADH). Uma vez na hipófise, estes hormônios estimulam a secreção do hormônio adeno corticotrópico (ACTH), que atuam nas adrenais liberando cortisol. A elevação do cortisol plasmático inibe a atividade hipotalâmica e hipofisária, produzindo um efeito negativo sobre a liberação de hormônios reprodutivos (Alexander e Irvine, 1998).

Elevadas concentrações de corticosteróides produzidos durante o estresse influenciam diretamente a síntese e a secreção de esteróides gonadais, podendo interromper o desenvolvimento dos gametas, nas distintas espécies de animais domésticos. No ovário, há evidências *in vitro* que tanto os corticosteróides naturais quanto os sintéticos são significativamente capazes de alterar o estímulo de FSH na diferenciação das células da granulosa. De forma que esteróides da adrenal suprimam a expressão dos receptores de LH nas células da granulosa e diminuam a secreção de estrógeno pela inibição da atividade da aromataze (Moberg, 1987).

Animais submetidos a condições estressantes durante o período de desenvolvimento folicular, como transporte (Dobson e Smith, 1995), temperatura e umidade elevadas (Wilson *et al.*, 1998), podem apresentar comprometimento na formação do CL, levando à disfunção luteal. Como consequência, uma produção anormal de P4 e vida média anormal do CL são manifestadas, resultando em infertilidade, em função das consideráveis taxas de perda embrionária precoce (Foley, 1996). Em ovelhas, o diâmetro máximo do CL é alcançado de seis a nove dias após a ovulação, e a regressão tem início entre 13 e 16 dias (Jablonka-Shariff *et al.*, 1993).

Trabalhando com ovelhas estressadas pelo calor (câmara climática a 40°C das 10 às 16 horas, todos os dias, durante quatro semanas) ou não (condições ambientais de conforto), Naqui *et al.* (2004) verificaram duração de estro menor (31,7 horas) para as ovelhas estressadas, quando comparadas com a duração de estro do grupo controle (37,7 horas). Neste mesmo trabalho, os efeitos sobre a ovulação e a resposta ovariana das ovelhas submetidas a estresse térmico foram mínimos. Já a influencia do estresse térmico sobre a qualidade dos embriões produzido por essas ovelhas foi evidente; as incidências de anormalidades embrionárias apresentadas pelas ovelhas estressadas caloricamente foram muito altas, em comparação com as ovelhas mantidas na câmara climatizada.

Falhas na ovulação e anestro têm se mostrado obstáculo para produção de animais em regiões com temperaturas elevadas. A redução no consumo de matéria seca é uma estratégia do organismo, de reduzir a taxa metabólica e manter o equilíbrio entre o calor interno e ambiente externo. Essa alteração alimentar pode conduzir à condição de balanço energético negativo que tem como efeito o decréscimo nas concentrações de insulina, glicose, IGF-1 e aumento nas concentrações de GH e ácidos graxos não esterificados (Lucy *et al.*, 1992).

Algumas respostas metabólicas atuam no eixo hipotálamo-hipófise-gônada mediando os efeitos inibitórios sobre a dinâmica ovariana e, conseqüentemente, sobre a competência oocitária (Wiltbank *et al.*, 2006). A insulina, a glicose e o IGF-1 são estimuladores do crescimento folicular e têm efeitos benéficos sobre a qualidade oocitária, além de estarem envolvidos tanto no metabolismo intra-

ovariano como na regulação hormonal, principalmente na modulação dos pulsos de LH e ovulação (Rabiee *et al.*, 1997).

Em outras espécies, efeitos semelhantes são observados, mesmo em animais mais adaptados a regiões tropicais. Gama Filho *et al.* (2007), utilizando o protocolo de superovulação, em vacas Guzerá em condições de estresse pelo calor, observaram que os intervalos estrais e ovulatórios foram de maior duração durante o período de temperaturas mais elevadas, possivelmente por comprometimento do desenvolvimento folicular. A taxa e a duração do crescimento folicular mostraram-se sensíveis às variações sazonais, influenciando o desenvolvimento da dominância folicular durante o período pré-ovulatório. Ambientes com temperatura e umidade elevadas comprometem a viabilidade dos embriões e aumentam o número de oócitos não fertilizados.

2.13 Nutrição e reprodução

2.13.1 Influência da condição corporal e da dieta na atividade folicular

A condição corporal é avaliada pelo escore da condição corporal (ECC), melhor indicador para o desempenho reprodutivo de qualquer animal. Com base no valor obtido pela avaliação do ECC pode-se prever balanço energético do animal, ou seja, se este encontra-se em condição nutricional adequada, o que lhe permite expressar melhor sua capacidade reprodutiva. O declínio do ECC é o principal fator da inibição da atividade ovariana. Para manter saudável e eficiente a capacidade reprodutiva, as fêmeas necessitam possuir adequada quantidade de reserva corporal, tecido adiposo e muscular (Zurek *et al.*, 1995).

A secreção hipotalâmica de GnRH, bem como o controle ovariano sobre o *feedback* hormonal e a secreção de gonadotrofinas, podem ser alterados diante da influência nutricional, podendo alterar o nível e o tempo de duração da exposição do folículo gonadotrofina dependente ao FSH (Scaramuzzi, 1988). Além disso, pode resultar também em inadequada frequência dos pulsos de LH, resultando em alterações no crescimento das ondas foliculares e tamanho dos

folículos dominantes, bem como em baixas taxas de ovulação (Yaakub *et al.*, 1997). Sugere-se que tais fatos sejam influenciados especificamente por alguns nutrientes, tais como a glicose, e aminoácidos, e alguns metabólitos, como insulina, GH e IGFs (Scaramuzzi, 1988).

Ovelhas em restrição alimentar imediatamente anterior ao período ovulatório, ou por seis meses antes da ovulação, apresentaram menor taxa de ovulação e menor tamanho de folículos ovulatórios (Nottle *et al.*, 1997). No entanto, ovelhas em restrição alimentar suplementadas com dietas energéticas e protéicas em curto período antes da ovulação, responderam com melhor taxa de ovulação em relação às não suplementadas (Abecia *et al.*, 1997; Nottle *et al.*, 1997).

Estudos mostraram que a redução na taxa de ovulação pode ser prevenida pela suplementação nutricional (*flushing*) no período de 10 dias antes da monta (Robinson *et al.*, 2006). Segundo Gil (2003), o efeito benéfico do *flushing* pode ser observado em períodos curtos de fornecimento da suplementação, período este que vai de oito a quatro dias antes da ovulação, coincidindo com a emergência da onda folicular ovulatória.

Ovelhas em moderada condição corporal, recebendo *flushing* durante algumas semanas antes da ovulação e monta, apresentaram maiores taxas de ovulação e gestação do que ovelhas em mesma condição corporal, alimentadas com níveis energéticos de manutenção. Ressalta-se ainda que ovelhas em condição corporal superior apresentaram maior número de folículos dominantes em comparação a animais em inferior condição corporal e recebendo a mesma dieta (Rhind e McNeilly, 1986).

Rhind e McNeilly (1998) estudando dois grupos de ovelhas da raça Scottish Blackface em moderada condição corporal, porém com uma diferença no escore corporal de 0,5, em escala de zero a cinco, observaram que os animais com menor escore corporal, recebendo, no entanto, *flushing*, três semanas antes do período ovulatório, apresentaram maior número de folículos no ovário e mesmo número de folículos dominantes (> 2,5 mm) em relação aos animais do outro grupo. Todavia, os animais com escore superior apresentaram folículos dominantes com maior capacidade esteroidogênica, ou seja, maior produção de estrógeno.

Boukhliq *et al.* (1996) afirmaram que a nutrição induzindo o aumento de peso em ovelhas refletiu no aumento do volume do fluido folicular e na concentração ovariana de estradiol e inibina. Posteriormente, Rae *et al.* (2002) relataram que ovelhas com maior escore corporal apresentam maior taxa de ovulação que animais com menor valor.

A relação entre a nutrição e a reprodução em ruminantes é complexa e os resultados observados na bibliografia são muito variáveis. A condição corporal, o nível de alimentação e o estado fisiológico (gestação e lactação) do animal podem influenciar a eficácia do sistema reprodutivo (Jimeno *et al.*, 2004).

Os fatores nutricionais afetam, indiretamente, a reprodução por influenciar o hipotálamo, a hipófise, o ovário e o útero, regulando a interação entre a secreção hipofisária de hormônio luteinizante (LH), hormônio folículo estimulante (FSH) e hormônios de origem ovariana, tais como: estradiol (E2), progesterona (P4), inibina, fatores de crescimento semelhantes à insulina do tipo I e II (IGF – I e II) e PF2 α de origem uterina (O'Callaghan e Boland, 1999).

Em ruminantes, a restrição alimentar tem efeito principal sobre as concentrações circulantes e as reservas hipofisárias de gonadotropinas, possivelmente mudando a atividade ovariana por causar mudanças no perfil dos hormônios luteinizante e folículo estimulante. Como consequência, interferindo na dinâmica folicular (Dawuda *et al.*, 2002).

Além da dinâmica folicular, a nutrição causa influência direta sobre o crescimento fetal. Os efeitos diretos da nutrição tanto no período pré quanto pós-natal, já foi relatado por Gunn e colaboradores desde 1972. Adicionalmente, Borwick *et al.* (1997) observaram, inclusive, que a nutrição pode afetar o desenvolvimento ovariano fetal e comprometer toda a vida reprodutiva desta fêmea.

2.13.2 Leptina

O tecido adiposo é o local de maior síntese e liberação sistêmica de leptina, uma proteína contendo 21 aminoácidos. Esta, por sua vez, implica na regulação da

ingestão de alimentos, no balanço energético e no eixo neuro-endócrino (Barb e Kraeling, 2004).

Os receptores de leptina estão localizados no hipotálamo e hipófise. Propõe-se que a leptina aja diretamente na regulação da liberação de GnRH e LH. Sugere-se que outros neuropeptídios mediem sua ação, tais como o neuropeptídeo Y (NPY) e o ácido gabaminérgico (GABA) (Barb e Kraeling, 2004).

Mudanças no peso e escore corporal são caracterizadas por alterações nas concentrações séricas de vários hormônios e fatores de crescimento que regulam a função e o desenvolvimento do tecido adiposo, tais como a insulina, glicocorticóides, GH e fatores de crescimentos ligados à insulina, como o IGF-I (Barb e Kraeling, 2004).

O possível mecanismo pelo qual a leptina controla os processos reprodutivos envolve sua ligação aos neurônios β -endorfina que, por sua vez, influenciam os neurônios produtores de GnRH. Os neurônios β -endorfina também influenciam o NPY que está envolvido no processo de saciedade. Assim, uma longa restrição alimentar, levando à redução do ECC e, conseqüentemente, das concentrações de leptina, promovem a elevação dos valores do NPY, que induzem a diminuição na secreção de GnRH hipotalâmico (O'Callaghan e Boland, 1999).

Bister *et al.* (2004) observaram alta correlação entre a leptina e a fertilidade ($R^2 = 0,99$), onde quanto maior a concentração sérica de leptina na circulação sistêmica, maior a fertilidade das ovelhas estudadas.

Diversos autores relataram que há um aumento na concentração sérica de leptina durante a gestação. Como exemplo mais interessante, Ehrhardt *et al.* (2001) observaram aumento gradativo de 5,3 para 9,5 ng/ml de leptina entre o período pré monta até a metade da gestação em ovelhas alimentadas adequadamente. Tal aumento não foi observado em ovelhas não gestantes e alimentadas com a mesma dieta, criadas no mesmo ambiente, excluindo possível interferência da sazonalidade ou luminosidade e concentrando o achado na fase gestacional. Em seguida, também observaram de forma gradativa, declínio sérico da leptina às mesmas concentrações do período anterior a monta no período de início da lactação.

Os mesmos autores mensuraram mRNA da leptina no tecido adiposo, principal sítio de produção da mesma, e constataram aumento de 2,3 vezes na metade da gestação, quando comparado, nas mesmas ovelhas, aos períodos pré monta e início da lactação. Com base nestes resultados concluíram existência de uma maior síntese de leptina durante o terço médio de gestação.

2.13.3 Grelina

Outro importante peptídeo que tem demonstrado ação na reprodução é a grelina, produzida no estômago, hipotálamo e adeno hipófise. Esta possui ação orexigênica e lipogênica, favorecendo o ganho de peso e a adiposidade (Uenoa *et al.*, 2005).

A grelina é negativamente correlacionada com o peso. Altos níveis de grelina são encontrados em pacientes mantidos consumindo dietas de baixa caloria, em pacientes que sofrem de anorexia devido ao câncer, a doenças cardíacas ou devido à anorexia nervosa. O jejum aumenta as concentrações de grelina, bem como a expressão da proteína e do RNAm da grelina estomacal. Acredita-se que a elevação do GH relacionado ao jejum pode ser consequência da elevação das concentrações de grelina (Korbonits *et al.*, 2004).

A grelina em ovelhas, estimula a secreção de GH, assim como controla o comportamento e a ingestão de alimentos, por atuar diretamente nos receptores de liberação de GH na hipófise e hipotálamo (Anderson *et al.*, 2005). A inibição da expressão dos receptores de grelina no hipotálamo diminui a secreção do hormônio GH, a ingestão de alimentos e o acúmulo de tecido adiposo (Uenoa *et al.*, 2005).

Levando-se em consideração que o eixo reprodutivo é altamente dependente do estado nutricional, a grelina pode ser considerada um dos mediadores do estado nutricional no eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal (Korbonits *et al.*, 2004).

No entanto, alguns estudos já têm demonstrado a ação da grelina não apenas mais como um mediador, mas com atuação direta na reprodução. A administração intracerebroventricular de grelina em ratos suprimiu a secreção

pulsátil de LH. Ainda de forma desconhecida a ação da grelina diminui a responsividade do LH ao GnRH in vitro. Diferente de sua ação sobre o LH, a grelina parece não interferir nas concentrações plasmáticas de FSH (Tena-Sempere, 2005).

Outros trabalhos demonstraram ação da grelina no eixo lactotrópico e gonadotrópico de humanos, além de expressão de seus receptores no endométrio de úteros não grávidos. Além disso, estudos já demonstraram a presença de receptores para o fator estimulatório de GH (GHS), expressos somente pela ação da grelina, em oócitos, células luteínicas e superfície do epitélio ovariano humano. Desta forma, sugere-se uma possível relação entre o desenvolvimento folicular ovariano e a grelina, que, no entanto, necessita de mais estudos (Tena-Sempere, 2005).

Há relatos de que a ingestão de lipídios, glicose ou ambos resultam no decréscimo das concentrações plasmáticas de grelina. A ingestão de alimentos promove o aumento de insulina e esta, conseqüentemente, leva a redução da concentração de grelina. O mecanismo pelo qual o aumento de insulina leva ao decréscimo dos valores plasmáticos de grelina permanece desconhecido. No entanto, especula-se que a liberação de grelina regula a ativação do sistema parassimpático e, devido a hiperinsulinemia ter ação oposta, acredita-se que, em última ação, o decréscimo observado da grelina plasmática pode ser em decorrência do menor estímulo do sistema parassimpático induzido pela insulina (Yanga *et al.*, 2005).

Melendez *et al.* (2006) testaram a aplicação intramuscular em ovelhas a 15 dias do parto, com 3µg/kg de grelina uma hora após as refeições, com base em dietas completas peletizadas. O grupo tratado respondeu positivamente, apresentando maior ingestão de matéria seca e maior liberação do hormônio GH. De forma contrária, apresentaram menores concentrações circulantes de insulina.

2.13.4 Hormônio do crescimento

Tratamento com o hormônio do crescimento (GH) tem mostrado efeitos significativos nos ovários e crescimento folicular. No entanto, seus efeitos diretos nos folículos ainda são questionados, atribuídos apenas por mediação nutricional. Em contrapartida, já foi observada a expressão de receptores para GH nas células luteais grandes e, inclusive, respondendo ao tratamento com o próprio GH (Lucy *et al.*, 1999).

Em novilhas, Gong *et al.* (1997) demonstraram que o GH age aumentando a concentração periférica de insulina e/ou IGF-I, e assim, alterando o desenvolvimento folicular. Tal situação foi corroborada por Bruce *et al.* (1998) ao observarem que o GH atua sinergicamente à insulina, influenciando a ação mitogênica e esteroidogênica do IGF-I sobre as células da teca interna e da granulosa. Esta ação foi comprovada observando que a alta ingestão protéica eleva os níveis sanguíneos de GH e insulina, levando ao aumento significativo das concentrações plasmáticas e intrafolicular de IGF-I.

Uma vez que o GH não é um hormônio essencial para a reprodução é possível apresentar-se apenas como um modulador, pois animais com mutações genéticas que apresentam poucos receptores para GH podem reproduzir, no entanto com baixa eficiência reprodutiva (Bach, 2004).

2.13.5 Insulina

A insulina é um hormônio metabólico que interfere na reprodução por regular a síntese de neurotransmissores de GnRH e, conseqüentemente, controlar a secreção das gonadotropinas, principalmente na liberação de LH pela pituitária (Webb e Armstrong, 1998). Adicionalmente, a insulina regula a utilização da glicose pelas células e estimula a produção de esteróides pelas células ovarianas (Wettmann *et al.*, 2003). Em muitas espécies, incluindo ovelhas, a insulina é um regulador positivo da síntese de leptina.

A capacidade da insulina em promover a captação de glicose depende em parte da sensibilidade do tecido, tal como o tecido adiposo branco e isso pode variar de acordo com o estado fisiológico do animal (Chilliard *et al.*, 1999).

Ruminantes submetidos à restrição alimentar prolongada apresentam redução no tempo médio de vida do folículo dominante, pois ocorre um decréscimo nas concentrações sanguíneas e intrafoliculares de insulina e IGF-I, respectivamente. Isto se deve a dependência das células da teca interna pela insulina e IGF-I, que, em baixas concentrações, induzem falha na produção de andrógeno, precursor do estradiol e responsável pelo prolongamento do tempo médio de vida do folículo dominante, dependente de insulina (Diskin *et al.*, 2003).

2.13.6 Sistema de fatores de crescimento ligados à insulina

Assim como ocorre com a insulina, existem inúmeras evidências ligando mudanças nutricionais com o sistema de fatores de crescimento ligados à insulina (IGFs) e atividade ovariana (Webb e Armstrong, 1998). O fígado e outros tecidos produzem a IGF-I, que atua em muitos tipos celulares, de forma autócrina e parácrina, regulando o metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídios (Wettmann *et al.*, 2003).

Tem sido relatada a produção de algumas IGFs no útero e placenta da ovelha (Stevenson *et al.*, 1996; Reynolds *et al.*, 1997). Foram identificados mRNAs para ambos os IGF-1 e IGF-2 nos embriões de ovinos em todo desenvolvimento e pré-implantação de zigoto a blastocisto eclodido.

Da mesma forma, mRNAs para estes dois IGFs também foram expressas tanto em mucosa como em camadas musculares do oviduto (Stevenson e Wathes, 1996) no período precoce do desenvolvimento embrionário. A expressão na mucosa de mRNA do IGF-1 foi máxima, mas as concentrações de mRNA de IGF-2 foram muito mais baixas.

Assim, especula-se que a produção local e influência do IGF-1 sejam mais prováveis na fase inicial do desenvolvimento embrionário que a de IGF-2. Depois da implantação, a expressão de mRNA de IGF-1 no útero se manifestou baixa

(Reynolds *et al.*, 1997). Em contrapartida, expressão de mRNA de IGF-2 na carúncula materna, cápsula, placentoma e estroma endometrial foi elevada e assim continuou até o segundo terço de gestação, ao contrário do mRNA de IGF-1. Já no mesoderma fetal, a expressão de mRNA de IGF-2 aumentou entre os dias 14 e 35 de gestação, mantendo-se elevada até o parto (Wathes *et al.*, 1998).

Além dessas produções locais dos IGFs, o útero também é exposto as IGFs maternas circulantes. Os níveis plasmáticos de IGF-2 são cerca de cinco vezes superiores aos de IGF-1 em ovinos (Gallaher *et al.*, 1995). Da mesma forma, as concentrações plasmáticas de IGF-2 na circulação fetal ovino foram de três a 10 vezes superior as de IGF-1 durante o terço final de gestação (Owens *et al.*, 1994). Tem sido sugerido que a placenta dos ruminantes é tanto a fonte de IGF-2 para o plasma fetal IGF-2, quanto um local de clearance do IGF-1 (Bassett *et al.*, 1990; Holland *et al.*, 1997).

Acredita-se que IGF-1 e IGF-2, proteínas sensitivas nutricionais, possam modular o crescimento fetal e placentário (Baker *et al.*, 1993; Liu *et al.*, 1994). Elas atuam através do receptor do fator de crescimento semelhante à insulina do tipo-1 (IGF-1R) para instigar a proliferação celular, diferenciação e metabolismo (Jones e Clemmons, 1995).

O receptor do fator de crescimento semelhante à insulina do tipo-2 (IGF-2R) também foi identificado, mas ele age como uma via de degradação, a partir da retirada do excesso de IGF-2 da circulação (Braulke, 1999). A atuação das IGFs como fatores de progressão no ciclo celular, aumentando a síntese de DNA e da diferenciação de células, tem sido observada em cultura de embriões e várias linhas de células fetais *in vitro* (Gardner *et al.*, 1999).

As IGFs, assim como a insulina, podem influenciar no crescimento fetal por regular a mediação de nutrientes maternos e metabolismo placentário, bem como a transferência transplacentária de nutrientes (Vernon *et al.*, 1981; Liu *et al.*, 1994; Kniss *et al.*, 1994). O IGF-I influencia o metabolismo de aminoácidos e carboidratos, além da passagem transplacentária de aminoácidos e de glicose da mãe para o feto (Kniss *et al.*, 1994; Harding *et al.*, 1994; Liu *et al.*, 1994).

No entanto, a síntese das IGFs, seus receptores ou suas proteínas de ligação, podem ser afetados pela desnutrição. A desnutrição materna durante o período

peri concepção e gestação pode causar significativa queda da insulina fetal, IGFs e IGFBP-3 em ovinos (Gallaher *et al.*, 1995; Osgerby *et al.*, 2002). Além disso, restrição materna a nutrientes no início ou metade da gestação, com realimentação em seguida, resulta em alterações na expressão hepática e musculatura esquelética de mRNA de IGF-I, IGF-II e / ou receptor do hormônio do crescimento (GHR) no feto que pode, posteriormente, se relacionar com alterações na função dos órgãos e tecidos (Brameld *et al.*, 2000).

2.13.7 Fatores nutricionais que afetam à qualidade do oócito

A qualidade do oócito pode ser mensurada pelos técnicos, por meio de sua morfologia. A literatura relaciona oócitos de melhor viabilidade em animais recebendo dietas de melhor qualidade. Alterações morfológicas, granulações no núcleo e, inclusive, rupturas são comumente encontradas em oócitos coletados de animais em restrição alimentar (Yaakub *et al.*, 1997)

Ainda nesse sentido, destacam-se os relatos de McEvoy *et al.* (1995), segundo os quais a qualidade e os nutrientes presentes em uma dieta têm demonstrado efeito não somente na atividade folicular, mas também em oócitos, alterando não só a morfologia, como também seu desenvolvimento.

Estudos sugerem possíveis efeitos de um aumento na concentração sanguínea de amônia, dada à elevação do nitrogênio degradável no rúmen (NDR), que aumenta a concentração de amônia circulante no fluido folicular, de forma a causar efeito tóxico direto sobre o oócito quando ainda presente no folículo (Elrod e Butler, 1993), ou após sua ovulação, reduzindo o número de oócitos clivados e blastocistos expandidos (Papadopoulos *et al.*, 2001).

Isto pode ocorrer quando o NDR ingerido excede 50% do requisito máximo para a síntese protéica microbiana, reduzindo a sobrevivência embrionária, possivelmente por exacerbada redução do pH uterino; todo o micro ambiente necessário para maturação e fertilização do oócito, bem como o desenvolvimento embrionário são influenciados pela ingestão de N na dieta (Elrod e Butler, 1993). Todavia, Dawuda *et al.* (2004) apesar de terem detectado um aumento na

concentração sanguínea de uréia após ingestão de elevada concentração de NDR, não observaram influência do fato sobre a taxa de gestação das vacas analisadas.

Aparentemente, o valor nutricional afeta a qualidade do oócito por alterar as concentrações circulantes de insulina e IGF-I, importantes para o recrutamento folicular influenciado pelo sistema de IGFs ovariano. Todavia, o efeito também tem sido expresso diretamente no desenvolvimento do oócito, por influenciar a não expressividade de receptores para IGF-I no próprio oócito.

2.13.8 Nutrição e sobrevivência embrionária

Entre os fatores que alteram o ambiente intra-uterino, a nutrição parece desempenhar a influência mais importante ao crescimento placentário e fetal (Barker e Clark, 1997; Igwebuike, 2010). Estudos têm mostrado que a alocação de células para a diferenciação embrionária e placentária durante o desenvolvimento embrionário é diretamente influenciada pela nutrição e os hormônios por ela influenciados (Kleeman *et al.*, 1994). Alterações nesta fase da vida do indivíduo podem causar falhas tanto no embrião e feto, quanto no animal após o nascimento (Godfrey e Robinson, 1998).

Níveis extremos de determinados nutrientes (vitaminas, micro minerais e proteína) e seus metabólitos na alimentação podem colocar em detrimento a sobrevivência embrionária (Robinson, 1996).

Uma dieta de má qualidade pode suprimir a circulação de progesterona durante a maturação do oócito em ovelhas superovuladas e que apresentem implante de P₄, podendo retardar o crescimento e prejudicar a qualidade do embrião (McEvoy *et al.*, 1995). De forma contrária, especula-se que uma dieta de excessiva qualidade, com alto plano nutricional e energético, aumenta muito o aporte e fluxo sanguíneo hepático, aumentando o clearance da progesterona e concomitantemente reduzindo sua concentração circulante (Parr *et al.*, 1993).

Sosa *et al.* (2007) observaram menor expressividade de receptores para estradiol e progesterona entre quatro e cinco dias pós-ovulação na tuba uterina de ovelhas

recebendo dieta com restrição alimentar. Considerando que neste período o embrião ainda se encontra na tuba uterina, mudanças no ambiente inerentes a responsividade da tuba aos hormônios esteróides podem ocorrer, revelando um ponto chave na explicação para o retardo no desenvolvimento de embriões coletados de ovelhas em restrição alimentar.

Assim como ocorre com os oócitos, dietas ricas em uréia podem prejudicar a qualidade de um embrião. Papadopoulos *et al.* (2001) observaram que o simples fato de acrescentar uréia na dieta de ovelhas doadoras de embrião foi suficiente para diminuir a qualidade dos mesmos, atribuindo o fato por encontrar elevadas concentrações de amônia e uréia no plasma sanguíneo e fluido útero tubárico. A mesma situação também foi observada por Alves *et al.* (2004), no entanto com embriões caprinos.

2.14 Influência do estresse pelo calor na nutrição

Visto que a nutrição é o mais importante fator permissivo à expressão de todo potencial reprodutivo do animal, e também influencia diretamente na temperatura corporal, faz-se importante a elaboração de dietas que proporcionem menores impactos na temperatura corporal e, conseqüentemente, na reprodução, em especial, para animais de rebanhos sujeitos a maiores desafios (produtivos e reprodutivos).

Como resposta ao estresse por calor, os animais apresentam redução da taxa metabólica e redução do consumo de matéria seca e de nutrientes. Uma estratégia nutricional para aumentar a densidade energética da dieta é o uso de suplementação lipídica. Além de contribuir com o aumento da densidade energética, os lipídios têm potencial de reduzir o incremento pelo calor (West, 1999). A adição de 3 a 5% de lipídio na dieta pode ser utilizada sem efeitos tóxicos sobre a microflora ruminal (Palmquist e Jenkins, 1980).

2.15 Lipídios

2.15.1 Estrutura e classificação

Os lipídios são um grupo de compostos quimicamente diversificado, caracterizados por serem insolúveis em água. Apresentam funções biológicas variadas: reserva energética corporal estrutura das membranas celulares, cofatores enzimáticos, carreadores de elétrons, agentes emulsificantes no trato digestivo, hormônios e mensageiros intracelulares (Lehninger *et al.*, 2005).

Normalmente, a dieta de animais herbívoros possui baixo teor de lipídios (1 a 4%) devido à pequena quantidade deste nutriente presente na maioria dos alimentos vegetais (Van Soest, 1994). Entretanto, a suplementação com lipídios é utilizada quando se objetiva aumentar a densidade energética da dieta ou fornecer nutrientes específicos, como os ácidos graxos essenciais, com benefícios para a saúde dos animais e produtividade do rebanho.

Nas forragens, os principais lipídios encontrados são os galactolipídios e fosfolipídios, enquanto que nos alimentos concentrados, principalmente nas sementes de oleaginosas, há predomínio dos triglicerídeos. A unidade funcional destes lipídios são os ácidos graxos.

Ácidos graxos são ácidos carboxílicos com cadeias hidrocarbonadas, contendo de quatro a 36 carbonos (Lehninger *et al.*, 2005). Diferenciam-se entre si de acordo com o comprimento da cadeia, presença ou não de ramificações na cadeia (*iso* e *ante iso*), número de insaturações (duplas ligações entre carbonos), geometria da insaturação (*cis* ou *trans*), presença de duplas ligações adjacentes sem ligação metilênica (dieno conjugado) e a classificação ômega (fator chave para determinação da essencialidade) (Palmquist e Mattos, 2006).

Os triglicerídeos são formados por três ácidos graxos ligados a uma molécula de glicerol, através de uma ligação tipo éster, e representam a principal forma de armazenamento de energia, tanto nos animais como os vegetais. Os triglicerídeos podem ser simples, contendo somente um tipo de ácido graxo, ou misto, contendo dois ou três ácidos graxos diferentes em sua composição (Lehninger *et al.*, 2005).

Em geral, nos vegetais há predomínio de ácidos graxos insaturados, contendo uma ou mais duplas ligações, e o principal ácido graxo insaturado presente, depende da espécie da planta. Nos tecidos animais, há predomínio de ácidos graxos saturados, aqueles que não apresentam ligações duplas na cadeia.

Galactolipídios e fosfolipídios são lipídios que compõem a bicamada lipídica das membranas biológicas. Nos galactolipídios, dois ácidos graxos estão unidos a um glicerol, nos carbonos 1 e 2, e no carbono 3 um ou dois resíduos de galactose estão ligados através de uma ligação glicosídica. Nos fosfolipídios, dois ácidos graxos estão unidos a um glicerol, nos carbonos 1 e 2, e no carbono 3 um grupamento altamente polar liga-se através de uma ligação fosfodiéster. Nestes lipídios, o grupamento polar, também chamado de grupo cabeça, pode ser colina, serina, glicerol, etanolamina, inositol ou fosfatidilglicerol, formando diferentes fosfolípidos (Lehninger *et al.*, 2005).

2.15.2 Ácidos graxos essenciais

Burr e Burr (1929) apresentaram o primeiro estudo mostrando que a ingestão de lipídio proporcionaram efeitos benéficos aos animais e que este nutriente é constituinte essencial das dietas. Em ratos recebendo dietas purificadas sem lipídios, os autores observaram um quadro de ressecamento, descamação e necrose de cauda, ressecamento, descamação, alopecia e lesões hemorrágicas na pele da face e do pescoço, lesões renais, crescimento retardado e morte.

Existem ácidos graxos que o organismo animal não pode sintetizar, mas que são indispensáveis, e devem, portanto, estar contidos nos alimentos (Andrighetto *et al.*, 2002). Estes ácidos graxos são o ácido linoleico (C18:2 $\Delta^{9, 12}$), pertencente à família dos ácidos graxos com duas duplas ligações, família ômega-6 (ω -6), e o ácido linolênico (C18:3 $\Delta^{9, 12, 15}$), pertencente à família dos ácidos graxos com três duplas ligações, família ômega-3 (ω -3). A partir destes ácidos graxos essenciais, ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa, como o ácido araquidônico (C20:4 $\Delta^{5, 8, 11, 14}$, família ω -6), o ácido eicosapentaenóico (C20:5 $\Delta^{5, 8, 11, 14, 17}$, família ω -3) e o ácido docosahexaenóico (C22:6 $\Delta^{4, 7, 10, 13, 16, 19}$, família ω -3), compostos com

funções fisiológicas e regulatórias importantes, são sintetizados por enzimas do sistema microssomal hepático, por meio de alongamentos e dessaturações. Os membros das duas famílias não se interconvertem e competem pelo mesmo sistema enzimático (Haag, 2003).

Na membrana celular há um constante fluxo de ácidos graxos a partir da ação da fosfolipase A₂, que libera ácido araquidônico, ácido dihomogamalinolênico e ácido eicosapentaenóico, precursores das prostaglandinas e tromboxanas de ações proinflamatórias, intermediárias e antiinflamatórias (Haag, 2003).

O ácido linoleico é o ácido graxo predominante nos cereais e na maioria das sementes oleaginosas, enquanto em forragens, a presença do ácido linolênico é mais comum. Algumas exceções importantes incluem o óleo de palma, com alto teor de ácido palmítico (C16:0), óleo de canola, com alto teor de ácido oléico (C18:1) e o óleo de linhaça, com alto teor de ácido linolênico (C18:3) (Palmquist e Mattos, 2006).

2.15.3 Suplementação lipídica e consumo voluntário

Em nutrição animal, o consumo de alimentos é fundamental, pois determina o nível de nutrientes ingeridos e, por conseguinte, o desempenho animal (Van Soest, 1994). O consumo voluntário de alimentos é a quantidade de alimentos ingerida por um animal ou um grupo de animais durante um período de tempo no qual eles têm livre acesso ao alimento (Forbes, 2007).

O hipotálamo é a área do cérebro associada ao consumo de alimentos. Estímulos na área lateral do hipotálamo são responsáveis pelo início da alimentação, já a área ventromedial inibe o consumo. Outras áreas do cérebro também parecem estar relacionadas à ingestão de alimentos, e o controle central do consumo deve ser regulado pela interação entre as diferentes áreas (Forbes, 2007).

Algumas teorias têm sido propostas a fim de explicar o controle do consumo em mamíferos. Hipóteses simples foram postuladas, nas quais somente um único fator (distensão estomacal, temperatura hipotalâmica, concentração sanguínea de glicose ou reserva de lipídios, entre outras) é responsável pelo controle do

consumo, entretanto não são satisfatórias. Desta forma se faz necessário combinar fatores metabólicos e físicos, que interagem para o controle do consumo de alimentos (Forbes, 2007).

Os animais se alimentam a fim de satisfazer suas exigências de energia, a não ser que fatores limitantes impeçam que isto ocorra, sendo que o ambiente é o fator mais comumente considerado (Forbes, 2007).

Nos mamíferos, os lipídios dietéticos são absorvidos preferencialmente pelo sistema linfático e, por isso, sobrepassam o fígado. Infusões intravenosas de emulsões lipídicas deprimem o consumo e este efeito não é acompanhado pelo aumento da concentração de glicose ou insulina (Forbes, 2007).

A colecistoquinina (CCK) é um hormônio intestinal secretado durante a alimentação e passagem da digesta pelo duodeno. Fortes evidências revelam que a CCK é um importante limitante do consumo. Os receptores envolvidos na resposta à CCK estão presentes no cérebro, mas também no estômago, estimulando sua contração e, por meio disso, ativando mecanorreceptores que enviam a informação ao sistema nervoso central, via nervo vago (Forbes, 2007).

Em ruminantes, existe um atraso entre a alimentação e a chegada do alimento ao duodeno, local de produção da CCK. Desta forma, a CCK poderia ser menos importante nestes animais do que em animais monogástricos. Entretanto, o aumento dose-dependente de CCK ao fornecer diferentes quantidades de lipídios na dieta de vacas tem sido observada três horas após a alimentação, dando suporte para o envolvimento deste hormônio no controle do consumo em ruminantes (Forbes, 2007), principalmente em dietas ricas em lipídios (Choi et al., 2000).

O aumento no teor energético das dietas pode ser obtido pela inclusão de lipídios, com a vantagem de reduzir os efeitos negativos de altas quantidades de concentrados, ricos em amido, sobre o ambiente ruminal. Porém, o uso de suplementos de lipídios pode diminuir a ingestão de alimentos e reduzir a digestibilidade dos outros ingredientes da dieta, devido à modificações na digestão ruminal e hidrogenação de ácidos graxos no rúmen (Doreau e Chilliard, 1997).

Maia *et al.* (2008) avaliaram a inclusão de 3 e 5% de óleo de licuri ou óleo de mamona na dieta de cabras mestiças Moxotó em lactação, recebendo feno de capim Buffel e palma forrageira como volumosos (57% da MS da dieta). O teor de extrato etéreo foi de 3,17% na dieta controle, 5,8% nas dietas contendo 3% de suplemento lipídico e 7,56% nas dietas contendo 5% de suplemento lipídico. O consumo de matéria seca (CMS) (kg/dia) foi de 2,26 na dieta controle, 2,03 na dieta contendo 3% de óleo de licuri, 1,73 na dieta contendo 5% de óleo de licuri, 2,13 na dieta contendo 3% de óleo de mamona e de 1,95 na dieta contendo 5% de óleo de mamona. A inclusão de óleo de licuri reduziu o CMS nos dois níveis de inclusão avaliados ($P < 0,05$). Já a inclusão de óleo de mamona reduziu o CMS somente na dieta contendo cinco% de inclusão do suplemento ($P < 0,05$).

Neste mesmo estudo, os pesquisadores relacionaram as possíveis causas da redução do consumo. Primeiramente pelo efeito do lipídio de reduzir a digestibilidade da fibra e em reduzir a taxa de passagem gastrointestinal da digesta, como consequência de seus efeitos negativos sobre o crescimento microbiano, principalmente de bactérias celulolíticas, podendo estar relacionado ao aumento da secreção de colecistoquinina decorrente da presença de ácidos graxos insaturados na digesta. E, por último, o efeito do tamanho da cadeia de ácidos graxos, uma vez que o óleo de licuri possui, predominantemente, ácidos graxos de cadeia curta e média, até 12 carbonos (caprílico, láurico e mirístico), que podem ter efeito mais significativo sobre a fermentação ruminal do que aqueles de cadeia longa presentes no óleo de mamona (predominantemente ricinoleico e linoleico).

Oliveira *et al.* (2007) estudaram o efeito da inclusão de óleo de soja ou de soja grão integral na dieta de novilhos bubalinos Murrah. As dietas suplementadas continham 5,54% (soja grão integral) e 6,21% (óleo de soja) de extrato etéreo. Os CMS (kg/dia) foram de 8,62, 8,30 e 7,64 para as dietas controle, contendo grão de soja integral e óleo de soja, respectivamente. Houve redução do CMS nas dietas suplementadas com lipídios.

A suplementação com lipídio protegida (sabão cálcico de óleo de palma), semente de linhaça inteira ou semente de girassol inteira na dieta de vacas em lactação foi avaliada por Petit *et al.* (2004). As dietas suplementadas continham de 6,2 a 6,7%

de extrato etéreo enquanto a dieta controle somente 3,6%. O uso de lipídio na dieta não afetou o CMS dos animais, apresentando média de 21,7 kg/dia.

Em condições de temperatura efetiva elevada, acima da zona termoneutra, ocorre redução do consumo de alimentos com o objetivo de reduzir a produção de calor associada à alimentação, digestão, absorção e metabolismo, a fim de prevenir o aumento excessivo da temperatura corporal (Forbes, 2007). Nessas condições, a suplementação da dieta com lipídios pode ser utilizada, desde que o incremento pelo calor de lipídios é mais baixo e a densidade energética mais alta, comparado a carboidratos e proteínas. Desta forma é possível aumentar a ingestão de energia em ambientes quentes (West, 1999; Palmquist e Mattos, 2006).

Knapp e Grummer (1991) avaliaram o efeito da inclusão de 5% (MS) de um suplemento lipídico composto de 60% de ácidos graxos de cadeia longa e 40% de sebo para vacas em lactação, com produção entre 31 e 45 kg de leite/dia, em câmaras climatizadas mantidas em termoneutralidade (20,5°C, 38% de umidade relativa do ar) ou estresse pelo calor (31,8°C, 56% de umidade relativa do ar). A dieta em avaliação continha 6,8% de ácidos graxos e a dieta controle somente 2,8%. Os pesquisadores verificaram que o CMS foi superior para os animais mantidos em ambiente termoneutro em relação àqueles em condições de estresse pelo calor (20,1 x 14,6 kg/dia). Houve uma redução de 27,4% no CMS dos animais devido ao estresse pelo calor. Entretanto, não houve diferença no CMS devido à inclusão de lipídio na dieta, tanto em ambiente termoneutro como de estresse pelo calor.

Moallem *et al.* (2010) estudaram o efeito da suplementação com grãos ou com lipídio sobre o desempenho de vacas leiteiras em condições de estresse pelo calor durante 11 semanas. Neste período, a temperatura máxima e mínima foi de 31,5 e 22,9 °C, respectivamente, e a umidade relativa do ar máxima e mínima de 86,6 e 50,4%. O CMS foi menor ($P < 0,001$) para os animais que receberam qualquer uma das suplementações em relação à dieta controle. Segundo os autores, a maior densidade energética das dietas suplementadas, acima de 1,78 Mcal/kg de MS, deve ter sido responsável pelo menor consumo dos animais. Neste mesmo estudo, devido à redução de CMS, houve redução do consumo de energia metabolizável e energia líquida para lactação (Mcal/dia) para os animais

que receberam grãos ou lipídios como suplemento da dieta. Entretanto, os animais que receberam lipídios canalizaram a energia para produção de gordura do leite e alcançaram a maior produção de leite corrigida para 4% de lipídio entre os tratamentos.

2.15.4 Influência dos lipídios no desempenho reprodutivo

A suplementação da dieta com lipídios melhora o balanço energético dos animais que, por sua vez, apresentam aumento do crescimento e desenvolvimento folicular (Grummer e Carroll, 1991). Entretanto, Lucy *et al.* (1992) sugeriram que os ácidos graxos, e não a energia adicional oriunda dos lipídios, estimularia a função ovariana, desde que estes nutrientes sejam precursores das prostaglandinas e, via colesterol, dos hormônios esteróides (Petit, 2003).

Algumas hipóteses têm sido propostas para explicar o mecanismo através do qual os lipídios melhoram o desempenho reprodutivo: 1) atenuação do balanço energético negativo; 2) aumento da esteroidogênese; 3) manipulação da insulina, estimulando o desenvolvimento folicular; e 4) estimulação ou inibição da produção e liberação de $PGF2\alpha$, influenciando a persistência do corpo lúteo (Staples *et al.*, 1998).

2.15.5 Efeito energético

Uma das reações fisiológicas ao estresse pelo calor é a redução no consumo de alimentos, estratégia para diminuir o metabolismo basal e manter a temperatura constante. A redução da ingestão de matéria seca e, conseqüentemente, de energia, pode levar a um balanço energético negativo.

Segundo Stockdale (2001), o ótimo desempenho reprodutivo é dependente de diferentes funções fisiológicas operando adequadamente. Um oócito de alta qualidade deve ser ovulado e fertilizado. O embrião resultante deve produzir proteínas sinalizadoras suficientes para alertar a fêmea da sua presença e evitar

o aumento de prostaglandinas que finalizariam a gestação. Adicionalmente, o ambiente uterino deve estar receptivo à implantação e esta ocorrer com sucesso. Todos esses fatores podem ser influenciados pelo balanço energético pregresso e atual do animal. De acordo com Lucy *et al.* (1992), o balanço energético negativo tem como efeito o decréscimo nas concentrações de insulina, glicose, IGF-1 e aumento nas concentrações de GH e ácidos graxos não esterificados.

Ao substituir parte dos grãos ou do volumoso por suplementos lipídicos, ocorre aumento da densidade energética da dieta. Entretanto, o consumo diário de energia permanece inalterado. Estudos que utilizaram o escore de condição corporal para medirem o balanço energético a partir da suplementação lipídica mostraram nenhuma alteração negativa sobre este parâmetro (Staples *et al.*, 1998). Desta forma, os resultados ainda são inconsistentes para afirmar que a alteração do balanço energético dos animais poderia ser a forma pela qual as lipídios interferem positivamente no desempenho reprodutivo de animais ruminantes.

2.15.6 Efeito sobre a esteroidogênese

O aumento das concentrações plasmáticas de progesterona tem sido associado ao aumento da taxa de concepção de fêmeas ruminantes em lactação. A secreção de progesterona é a principal função do corpo lúteo e este hormônio não somente prepara o útero para a implantação do embrião, bem como contribui para a manutenção da gestação (Staples *et al.*, 1998).

O colesterol serve como precursor para a síntese de progesterona pelas células luteais ovarianas e é oriundo da síntese de novo a partir do acetato ou captado a partir de lipoproteínas plasmáticas. O colesterol plasmático está associado, principalmente, à lipoproteína de alta densidade (HDL – *High Density Lipoprotein*) e à lipoproteína de baixa densidade (LDL – *Low Density Lipoprotein*) (Grummer e Carroll, 1988).

O colesterol oriundo do LDL é captado pelas células através da internalização da lipoproteína. O LDL contém uma proteína específica (apoproteína B-100) que se

liga ao receptor de alta afinidade na membrana das células alvo. Após a ligação, o LDL é internalizado e se funde aos lisossomos que contêm enzimas que liberam o colesterol livre (lipase ácida). Células do tecido ovariano vascularizado (teca interna e corpo lúteo) possuem receptores para apoproteína B-100 (Grummer e Carroll, 1988).

Já o colesterol oriundo do HDL pode ser captado pelas células ovarianas de diferentes formas. HDL que contém apoproteína-E (apo-E) podem ligar-se aos receptores de LDL, também chamados de receptores B, E, e serem internalizados através de endocitose. Entretanto, apo-E não está presente em todos os HDLs. O HDL que não possui apo-E entrega o colesterol às células ovarianas através de uma interação de baixa afinidade, interações hidrofóbicas entre apolipoproteínas (apo-A e apo-C) e a superfície celular, sem a participação de lisossomos e, por esta razão, um colesterol esterase deve estar envolvido, diferentemente da lipase ácida que atua sobre os ésteres de colesterol oriundos do LDL (Grummer e Carroll, 1988).

A concentração plasmática de colesterol aumenta quando dietas ricas em lipídio são oferecidas a animais ruminantes (Grummer e Carroll, 1988), provavelmente devido à necessidade de “empacotamento” dos lipídios absorvidos no intestino delgado sob a forma de Lipoproteínas de Muito Baixa Densidade (VLDL - *Low Density Lipoprotein*) e quilomícrons (Grummer e Carroll, 1988). Kassa *et al.* (2002) avaliaram a concentração plasmática de HDL de vacas leiteiras a partir de 24 horas até 11 semanas pós parto, recebendo ou não caroço de algodão (15% da MS) e recebendo ou não bST (somatotropina recombinante bovina) a cada duas semanas, a partir da primeira semana pós parto. Os pesquisadores verificaram aumento da concentração de HDL plasmático com o avanço da lactação e que os animais que recebiam caroço de algodão na dieta apresentaram maiores concentrações de HDL plasmático (89,7 mg/dl) em relação aos que não recebiam (70,5 mg/dl). Não houve interação entre fornecimento de caroço de algodão e aplicação de bST.

Segundo Staples *et al.* (1998), dietas ricas em lipídios aumentam, não somente a concentração de colesterol no plasma, mas também no fluido folicular. No fluido folicular de bovinos, o colesterol é encontrado somente na forma de HDL

(Brantmeier *et al.*, 1987). A concentração de colesterol plasmático e colesterol-HDL no fluido folicular de novilhas de corte recebendo 5,3% de óleo de soja na dieta (%MS), durante 35 dias, foi avaliada por Ryan *et al.* (1992). Os resultados mostraram maiores concentrações de colesterol plasmático (248 x 150 mg/dl) e colesterol-HDL no fluido folicular (100 x 50 mg/dl) nos animais que receberam óleo de soja ($P < 0,05$). Neste estudo, os níveis de progesterona no fluido folicular foram superiores ($P < 0,05$) para os animais que recebem dieta rica em lipídio (340 x 220 ng/ml) e que apresentaram maiores teores de colesterol plasmático e folicular.

Moallen *et al.* (1999) estudaram o efeito da inclusão de 550 g/dia de sal cálcico de ácido graxo na dieta de vacas leiteiras durante 150 dias após o parto sobre os hormônios foliculares. Os pesquisadores observaram maiores concentrações de progesterona no fluido folicular (folículos estrógeno-ativos) dos animais que receberam a suplementação lipídica na dieta (55,4 x 33,0 ng/ml).

Estudos *in vitro* desenvolvidos por Carroll *et al.* (1992) mostraram que a síntese máxima de progesterona ocorre em concentrações muito menores às encontradas no plasma e que, então, a quantidade de lipoproteína não é limitante da síntese. O perfil de ácidos graxos do lipídio da dieta pode influenciar a concentração de progesterona no plasma (Staples *et al.*, 1998).

Burke *et al.* (1996) avaliaram o efeito da infusão intravenosa de solução salina (controle) ou de emulsão lipídica a base de óleo de soja ou óleo de oliva sobre a concentração plasmática de colesterol e progesterona em ovelhas, durante o dia nove a 14 do ciclo estral (estro = dia zero), por cinco horas diárias. A concentração de colesterol total foi maior nos animais que receberam infusão lipídica em relação à infusão de solução salina. Entretanto, os animais que receberam infusão com óleo de oliva apresentaram maiores teores de colesterol total após cinco horas de infusão do que aqueles que receberam infusão com óleo de soja, a partir do dia 11 do ciclo estral. A concentração de progesterona no plasma foi maior nos animais que receberam infusão lipídica e, dentre eles, naqueles que receberam infusão com óleo de soja. O percentual dos principais ácidos graxos das emulsões lipídicas foram: 26% de ácido oléico, 50% de ácido

linoleico e 9% de ácido linolênico na emulsão de soja e 72% de ácido oléico, 8% de ácido linoleico e 1% de ácido linolênico na emulsão de oliva.

2.15.7 Efeito sobre a insulina

A insulina é um hormônio polipeptídico produzido pelas células β do pâncreas quando há aumento dos níveis sanguíneos de glicose e tem como função promover o ingresso de glicose para o interior das células (Eiler, 2006).

A insulina é um potente estimulador do funcionamento das células foliculares ovarianas, proporcionando maior proliferação celular e produção de progesterona. Entretanto, o efeito da suplementação lipídica sobre as concentrações plasmáticas de insulina é inconsistente. Quando se avalia o efeito dos lipídios sobre o balanço energético pode-se fazer melhor correlação com a insulina (Staples *et al.*, 1998). Spicer *et al.* (1993) relataram que células da granulosa de bovinos tenderam a produzir menos IGF-1 (Fator de Crescimento Semelhante à Insulina-1) quando cultivadas com insulina e hormônio do crescimento (GH). Segundo os pesquisadores, o IGF-1 é um potente estimulador das células da granulosa bovina e que a supressão da insulina devido à suplementação lipídica poderia permitir que o IGF-1 atuasse sobre o desenvolvimento do folículo positivamente.

2.15.8 Efeito na secreção de $\text{PGF}_{2\alpha}$.

A prostaglandina $\text{F}_{2\alpha}$ é secretada pelo útero, promove crescimento folicular, aceleração da involução uterina (Grummer e Carroll, 1991) e causa regressão do corpo lúteo (luteólise), levando ao início de um novo ciclo estral (Mattos *et al.*, 2000). A síntese de prostaglandinas da série dois é feita a partir do ácido araquidônico que, por sua vez, pode ser obtido diretamente da dieta ou sintetizado a partir do ácido linoleico (Lehninger *et al.*, 2005).

O ácido araquidônico está presente nos fosfolípidios da membrana celular e sua liberação ocorre pela ação da enzima fosfolipase A₂. Em seguida, o ácido araquidônico é convertido em prostaglandina H (PGH) pela via da prostaglandina H sintase, que consiste de duas enzimas, ciclooxygenase e peroxidase. A PGH pode então ser convertida em um dos prostanóides: prostaglandinas D, E e F, tromboxanas ou prostaciclina. Cada tipo celular produz somente um tipo de prostanóide (Lehninger *et al.*, 2005).

Apesar dos ácidos graxos essenciais das famílias ω-3 e ω-6 serem substrato para síntese de prostaglandinas, eles inibem a secreção de eicosanóides, *in vitro*, em diferentes tipos celulares (Achard *et al.*, 1997) e *in vivo* (Staples *et al.*, 1998). Dietas ricas em ácido linoleico podem aumentar a concentração de ácido araquidônico nos tecidos, mas dietas ricas em ácido linolênico aumentam a concentração do ácido eicosapentaenóico (EPA), potencialmente reduzindo a síntese de PGF_{2α} (Béréziat, 1978 citado por Petit, 2003). Altas concentrações de EPA podem competir com o ácido araquidônico pelo sítio ativo endoperóxido do complexo da PGH sintase, reduzindo a conversão do ácido araquidônico em prostaglandinas da série dois (Weber e Sellmayer, 1990).

Segundo Leat e Northrop (1979), o ácido linolênico poderia inibir competitivamente a síntese de ácido araquidônico a partir do ácido linoleico. Alguns ácidos graxos de cadeia longa poliinsaturados podem servir como substrato para biossíntese das prostaglandinas e como inibidores das prostaglandinas (Staples *et al.*, 1998). Oldick *et al.* (1997) avaliaram os níveis de metabólitos da prostaglandina F (PGFM) na circulação de vacas leiteiras recebendo infusão abomasal de um suplemento lipídico contendo 17% de ácido linoleico, após injeção de ocitocina. Os pesquisadores verificaram que a infusão lipídica inibiu o aumento da concentração de PGFM detectado após a aplicação de ocitocina nos animais infundidos somente com água (controle).

De acordo com Kaduce *et al.* (1982), o ácido linoleico pode ser convertido em um metabólico alternativo, o ácido eicosadienóico (C20:2), preferivelmente ao ácido araquidônico quando o ácido linoleico está em excesso, reduzindo assim a síntese de prostaglandinas. O ácido linoleico pode inibir a síntese de prostaglandinas por competição com o ácido araquidônico pela ligação com a

enzima chave, a ciclooxigenase. O ácido araquidônico, o EPA e o ácido decosaheptaenóico (DHA) têm mostrado efeito inibitório sobre a atividade da ciclooxigenase (Smith e Marnett, 1991). Entretanto, a quantidade de um ácido graxo em particular que alcança o tecido alvo provavelmente influencia se a síntese de prostaglandina será estimulada ou inibida (Staples *et al.*, 1998).

Burke *et al.* (1996) avaliaram o efeito da infusão intravenosa de solução salina (controle) ou de emulsão lipídica a base de óleo de soja ou óleo de oliva sobre a concentração plasmática do metabólito da $\text{PGF}_{2\alpha}$ (15-ceto-13,14 dihidroprostaglandina $\text{F}_{2\alpha}$ - PGFM) em ovelhas, durante o dia nove a 14 do ciclo estral (estro = dia zero), por cinco horas diárias. A concentração plasmática de PGFM foi maior nos animais que receberam a infusão lipídica comparada ao tratamento controle. A infusão com óleo de oliva resultou em maiores níveis plasmáticos de PGFM do que a infusão com óleo de soja, embora este apresente conteúdo de ácido linoleico seis vezes maior do que aquele. Segundo os pesquisadores, o menor efeito do óleo de soja em relação ao de oliva pode ser atribuído ao seu maior conteúdo de ácido linolênico (nove vezes), desde que este ácido graxo possa inibir a síntese de ácido araquidônico e seus metabólitos, competir com o ácido araquidônico na incorporação aos fosfolipídios da membrana plasmática, ou ambos. Neste estudo, os animais que receberam a infusão com óleo de oliva apresentam ciclo estral subsequente mais curto (menos 1 a 1,8 dias), provavelmente devido à maior concentração circulante de $\text{PGF}_{2\alpha}$.

Em vacas leiteiras, Lucy *et al.* (1992) verificaram aumento da secreção de $\text{PGF}_{2\alpha}$, aumento do número de folículos ovarianos (2,0 x 6,0) e aumento do tamanho do folículo dominante (10,2 x 7,0 mm) após a infusão venosa de uma emulsão de soja contendo 50% de ácido linoleico.

Em vacas de corte de primeira cria, Filley *et al.* (2000) verificaram aumento da concentração de PGFM a partir da suplementação com 230g de sal cálcico de ácido graxo durante os primeiros 30 dias pós-parto.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Fica evidente que é indispensável o estudo e acompanhamento do desenvolvimento da biologia molecular no campo científico para atualização e melhor compreensão da regulação endócrina na reprodução. Atenção especial deve ser dada ao estudo dos fatores estimuladores e inibidores do crescimento folicular como alternativa para modulação na foliculogênese.

As reações bioquímicas que envolvem o metabolismo intermediário dos nutrientes determina a eficiência de utilização destes compostos e, portanto, o desempenho animal. Através do conhecimento destes mecanismos, pode-se tomar decisões nos sistemas de produção objetivando maior produtividade e eficiência do sistema.

Animais sob estresse pelo calor apresentam alterações metabólicas e gonadais, mas ambas podem ser revertidas dependendo de algumas circunstâncias, como tempo e intensidade de exposição ao estresse, ou idade e adaptabilidade particulares.

Dietas lipídicas apresentam baixo incremento pelo calor, e conseqüentemente elevam menos a temperatura corporal, surgindo como estratégia alimentar para minimizar o impacto do estresse pelo calor e possibilitar a manutenção da homeostasia, bem-estar e saúde dos animais.

Mais estudos são necessários sobre a técnica de superovulação na espécie ovina, em particular, na raça Santa Inês.

4 OBJETIVO GERAL

Conhecer as respostas fisiológicas de ovelhas da Raça Santa Inês frente ao estresse por calor em condição de câmara climatizada, bem como avaliar a eficiência reprodutiva de ovelhas Santa Inês alimentadas com dietas com diferentes composições (polpa cítrica, milho e crescentes níveis de de semente de linhaça marrom 10, 15 e 20% na dieta, expostas ao estresse pelo calor.

5 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os efeitos de diferentes dietas e ambiente térmico na eficiência reprodutiva de ovelhas Santa Inês.
- Comparar os efeitos da interação entre alimentação e o ambiente térmico no desempenho reprodutivo das ovelhas.
- Avaliar o efeito da suplementação dietética com semente de linhaça marrom, rica em ácidos graxos ômega 3 no desempenho reprodutivo de ovelhas Santa Inês sob condição de estresse pelo calor.

6 REFERÊNCIAS

ABECIA, J. A.; LOZANO, J. M.; FORCADA, F. *et al.* Effect of level of dietary energy and protein on embryo survival and progesterone production on day eight of pregnancy in Rasa Aragonesa ewes. *Anim. Reprod. Sci.*, v.48, n.2-4, p.209-218, 1997.

ACHARD, D.; GILBERT, M.; BENISTANT, C. *et al.* Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids reduce PGH synthase 1 expression in bovine aortic endothelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v. 241, n.2, p. 513–518, 1997.

ALEXANDER, S. L.; IRVINE, C. H. The effect of social stress on adrenal axis activity in horses: the importance of monitoring corticosteroid-binding globulin capacity. *J. Endocrinol.*, v.157, n.3, p. 425-432, 1998.

ALJARRAH, A. H. *Methods to induce earlier onset of cyclicity in transitional mares*. 2004. 65f. (Dissertation) - Graduate Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College, Louisiana, USA.

ALVES, N. G.; TORRES, C. A. A.; SANTOS, A. D. F. Effect of urea supplementation in the diet on goat embryo quality. . In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION, 15., 2004, Porto Seguro, BA. *Proceedings...* Porto Seguro: CBRA, 2004. v.2, p.319.

ANDERSON, L. L.; JEFTINIJA, S. B, SCANES, C.G. *et al.* Physiology of ghrelin and related peptides. *Dom. Anim. Endoc.*, v. 29, p.111–144, 2005.

ANDRIOLI, A.; SIMPLÍCIO, A. A.; SOARES, A. T. *et al.* Eficiência da recuperação de embriões e os efeitos de consecutivas colheitas sobre o aparelho reprodutor de doadoras da espécie caprina. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v.36, n.3, p.136-143, 1999.

ARASHIRO, E.K.N.; FONSECA, J.F.; HENRY, M. *et al.* Efeito do protocolo de sincronização da primeira onda folicular sobre a resposta a superovulação em ovelhas da raça Santa Inês. IN: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 18., 2009. Belo Horizonte, MG. *Anais...* Belo Horizonte: CBRA, 2009.

ARMSTRONG, D. T.; EVANS, G. M. Factors influencing success of embryo transfer in sheep and goats. *Theriogenology*, v.19, n.1, p.31-42, 1983.

ARMSTRONG, D. T.; KIEHM, D. J.; WARNES, G. M. *et al.* Corpus Luteum (C.L.) failure and embryonic loss in superovulated goats. *Theriogenology*, v.27, n.1, p.207, 1987. (Abstract).

BACH, A. *La reproducción del vacuno lechero: nutrición y fisiología*. Madrid: FEDNA, 2004. (Curso de Especialización, 17).

BAKER, J.; LIU, J. P.; ROBERTSON, E. J., EFSTRATIADIS, A. Role of insulin-like growth factors in embryonic and post-natal growth. *Cell*, v.75, p.73–82, 1993.

BALDASSARE, H. Coleta, conservação e transferência de embrião. In: AISEN, E.G. *Reprodução caprina e ovina*. São Paulo: MedVet, 2008, 203p.

BANKS, W J. Sistema reprodutor feminina. In: ____ *Histologia veterinária aplicada*. 2. ed. São Paulo: Manole, 1992. p. 565-576.

BARB, C. R.; KRAELING, R. R. Role of leptin in the regulation of gonadotropin secretion in farm animals. *Anim. Reprod. Sci.*, v.82-83, p.155-167, 2004.

BARBOSA, O. R. *Utilização do índice de conforto térmico em zoneamento bioclimático da ovinocultura*. 1994. 76f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

BARBOSA, O. R., MACEDO, F. A. F., GROES, R. V., GUEDES, J. M. F. Zoneamento bioclimático da ovinocultura no estado do Paraná. *Rev. Bras. Zootec.*, v.30, n.2, p.454-460, 2001.

BARI, F.; KHALID, M.; HARESIGN, W. *et al.* Effect of mating system, flushing procedure, progesterone dose and donor ewe age on the yield and quality of embryos within a moet programme in sheep. *Theriogenology*, v.53, n. 3, p.727-742, 2000.

BARI, F.; KHALID, M.; WOLF, B. *et al.* The repeatability of superovulatory response and embryo recovery in sheep. *Theriogenology*, v.56, n.1, p.147-155, 2001.

BARIL, G.; POUGNARD, J. L.; FREITAS, V. J. F. *et al.* A new method for controlling the precise time of occurrence of the preovulatory gonadotrophin surge in superovulated goats. *Theriogenology*, v.45, n.3, p.697-706, 1996.

BARKER, D. J. P.; CLARK, P. M. Fetal undernutrition and disease in later life. *Rev. Reprod.*, v.2, p.105–112, 1997.

BARNES, F. L. The effects of early uterine environment on the subsequent development of embryos and fetus. *Theriogenology*, v.53, n.2, p.649-658, 2000.

BARUT, F.; BARUT, A.; GUN, B. D. *et al.* Expression of heat shock protein 70 and endothelial nitric oxide synthase in placental tissue of preeclamptic and intrauterine growth-restricted pregnancies. *Pathol. Res. Prac.*, v.206, n.9, p.651-656, 2010.

BASSETT, N. S.; BRIER, B. H.; HODGKINSON, S. C. *et al.* Plasma clearance of radiolabelled IGF-I in the late gestation ovine fetus. *J. Dev. Physiol.*, v.14, p.73–79, 1990.

BETTERIDGE, K. J.; SMITH, C.; STUBBINGS, R. B. *et al.* Potential genetic improvement of cattle by fertilization of fetal oocytes in vitro. *J. Reprod. Fertil.*, v.38, p.87-98, 1989.

BISTER, J. L.; PAQUAY, R. Fluctuations in the plasma levels of follicle-stimulating hormone during estrous cycle, anestrus gestation and lactation: evidence for an endogenous rhythm of FSH release. *Theriogenology*, v.19, n.4, p.565-582, 1983.

BISTER, J. L.; WERGIFOSSE, F.; PIROTTE, C. Leptin and fecundity in the ewe. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION, 15. 2004, Porto Seguro, Brasil. *Proceedings...* Porto Seguro: CBRA, 2004. v.2, p.316.

BOLAND, M. P.; GOULDING, D.; ROCHE, J. F. Alternative gonadotrophins for superovulation in cattle. *Theriogenology*, v.35, n.1, p.5-17, 1991.

BORWICK, S. C.; RHIND, S. M.; MCMILLEN, S. R.; RACEY, P. A. Effect of undernutrition of ewes from the time of mating on fetal development in mid gestation. *Reprod. Fertil. Dev.*, v.9, p.711–715, 1997.

BOUKHLIQ, R.; ADAMS, N. R.; MARTIN, G. B. *et al.* Effect of nutrition on the balance of production of ovarian and pituitary hormones in ewes. *Anim. Reprod. Sci.*, v.45, n.1-2, p.59-70, 1996.

BRAMELD, J. M.; MOSTYN, A.; DANDREA, J. *et al.* Maternal nutrition alters the expression of insulin-like growth factors in fetal sheep liver and skeletal muscle. *J. Endocrinol.*, v.167, p.429–437, 2000.

BRANTMEIER, S. A.; GRUMMER, R. R.; AX, R. L. Concentrations of high density lipoproteins vary among follicular sizes in the bovine. *J. Dairy Sci.*, v.70, n.10, p. 2145-2149, 1987.

BRAULKE, T. Type-2 IGF receptor: a multi-ligand binding protein. *Horm. Metab. Res.*, v.31, p.242–246, 1999.

BRAW-TAL, R., YOSSEFI, S. Studies in vivo and in vitro on the initiation of follicle growth in the bovine ovary. *J. Reprod. Fertil.*, v.109, p.165-71, 1997.

BRUCE, R. M.; LEVY, M. N.; ROPPEN, B. M. *et al. Physiology*. St. Louis: Mosby, 1998. p.8822-8857.

BURKE, J.M.; CARROLL, D.J.; ROWE, K.E. *et al.* Intravascular infusion of lipid into ewes development in Booroola sheep fetuse that are homozogous carriers or non-carriers of the FecB gene. *J. Reprod. Fertil.*, v.98, p.41-54. 1994.

BURKE, J.M.; CARROLL, D.J.; ROWE, K.E. *et al.* Intravascular infusion of lipid into ewes stimulates production of progesterone and prostaglandin. *Biol. Reprod.*, v.55, n.1, p.169-175, 1996.

BURR, G. O.; BURR, M. M. A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet. *J. Biol. Chem.*, v. 82, n. 2, p. 345-367, 1929.

CAHILL, L. P.; MARIANA, J. C.; MAULÉON, P. Total follicular populations in ewes of high and low ovulation rates. *J. Reprod. Fertil.*, v.55, p.27-36, 1979.

CARROLL, D. J.; GRUMMER, R. R.; CLAYTON, M. K. Stimulation of luteal cell progesterone production by lipoproteins from cows fed control or fat-supplemented diets. *J. Dairy Sci.*, v.75, p.2205-2214, 1992.

CASSIDA, L. E.; WARWICK, E. J.; MEYER, R. A. Survival of multiple pregnancies induced in the ewe following treatment with pituitary gonadotrophins. *J. Anim. Sci.*, v.3, n.1, p.22-28, 1944.

CHILLIARD, Y.; BOCQUIER, F.; DELAVAUD, C. *et al.* La leptine chez le ruminant. Facteurs de variation physiologiques et nutritionnels. *INRA Prod Anim.*, v.12, p.225–37, 1999.

CHOI, B. R.; PALMQUIST, D. L.; ALLEN, M. S. Cholecystokinin mediates depression of feed intake in dairy cattle fed high fat diets. *Domestic Anim. Endocrinol.*, v. 19, n. 3, p. 159-175, 2000.

COGNIÉ, Y. State of Art in Sheep-goat embryo transfer. *Theriogenology*, v.51, p.105-116, 1999.

DOREAU, M.; CHILLIARD, Y. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. *Br. J. Nutr.*, v.78, p.S15-S35, 1997.

DRIANCOURT, M.A.; WEBB, R.; FRY, R.C. Does follicular dominance occur in ewes? *J. Reprod. Fertil.*, v.93, p.63-70, 1991.

DAWUDA, P. M.; SCAIFE, J. R.; HUTCHINSON, J. S. M. *et al.* Mechanisms linking under-nutrition and ovarian function in beef heifers. *Anim. Reprod. Sci.*, v.74, n.1-2, p.11-26. 2002.

DAWUDA, P. M.; SCAIFE, J. R.; HUTCHINSON, J. S. M. *et al.* The effect excess of quickly digestive nitrogen (QDN) dietary on the metabolics hormones in the lactating dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.*, v.81, n.3-4, p.195-208, 2004.

DINGER, J. E.; NOILES, E. E. Ovarian activity in synchronized mares following administration of follicles stimulating hormone. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 7, n.6, p.511-516, 1984.

DISKIN, M. G.; MACHEY, D. R.; ROCHIE, J. F. *et al.* Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, v.78, n.3-4, p.345-370, 2003.

DOBSON, H.; SMITH, R. F. Stress and reproduction in farm animals. *J. Reprod. Fertil.*, suppl.49, p.451-461, 1995.

DRIANCOURT, M. A.; WEBB, R.; FRY, R. C. Does follicular dominance occur in ewes? *J. Reprod. Fertil.*, v.93, p.63-70, 1991.

DUFOUR, J. J., CAHILL, L. P., MÁULEON, P. Short and long term effects of hypofisectomy and unilateral ovariectomy on ovarian follicular populations in sheep. *J. Reprod. Fertil.*, v.57, p.301-309, 1979.

DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. A pelve e órgãos genitais femininos de ruminantes. In:_____. *Anatomia veterinária aplicada*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. p.456-466.

EHRHARDT, R. A.; SLEPETIS, R. M.; BELL, A. W.; BOISCLAIR, Y. R. Maternal leptin is elevated during pregnancy in sheep. *Domest. Anim. Endocrinol.*, v.21, p.85-96, 2001.

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

ERICKSON, B. H.; REYNOLDS, R. A.; MURPHREE, R. L. Ovarian characteristics and reproductive performance of the aged cow. *Biol. Reprod.*, v.15, p.555-560, 1976.

ERICKSON, G.F. An analysis of follicle development and ovum maturation. *Sem. Reprod. Endocrinol.*,v.4, p. 233-254, 1986.

EVANS, A. C. O. Ovarian follicle growth and consequences for fertility in sheep. *Anim. Reprod. Sci.*, v.78, n.3-4, p.289-306. 2003.

FILLEY, S.J.; TURNER, H.A.; STORMSHAK, F. Plasma fatty acids, prostaglandin F_{2α} metabolite, and reproductive response in postpartum heifers fed rumen bypass fat. *J. Anim. Sci.*, v.78, n.1, p.139-144, 2000.

FOLEY, G. L. Pathology of the bovine corpus luteum of cows. *Theriogenology*, v.46, n.8, p.1413-1428, 1996.

FONSECA, J. F. *Bioteχνologias da reprodução em ovinos e caprinos*. Sobral: Embrapa Caprinos, 2006. (Documentos 64).

FONSECA, J. F.; SOUZA, J. M. G.; BRUSCHI, J. H. Sincronização de estro e superovulação em ovinos e caprinos. In: SIMPÓSIO DE CAPRINOS E OVINOS, 2., 2007, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: Escola de Veterinária/UFMG, 2007.

FORBES, J. M. *Voluntary food intake and diet selection in farm animals*. 2.ed. Oxford: CABI, 2007. 453p.

FORTUNE, J. E. The early stages of follicular development: activation of primordial follicles and growth of preantral follicles. *Anim. Reprod. Sci.*, v.78, n.3-4, p.135-163, 2003.

FORTUNE, J. E.; RIVERS, G. M.; YANG, M. Y. Follicular development: The role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. *Anim. Reprod. Sci.*, v.82-83, 2004.

FRASER, D.; RITCHIE, J. S. D.; FRASER, A. F. The term “stress” in a veterinary context. *Br. Vet. J.*, v.131, p.653-662, 1975.

GALLAHER, B. W.; BREIER, B. H.; BLUM, W. F. *et al.* A homologous radioimmunoassay for ovine insulin-like growth factor-binding protein-2: ontogenesis and the response to growth hormone, placental lactogen and insulin-like growth factor-1 treatment in sheep. *J. Endocrinol.*, v.144, p.75–82, 1995.

GAMA FILHO, R. V.; FONSECA, F. A.; UENO, V. G. *et al.* *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v.44, n.6, p.422-427, 2007

GARDNER, R. L., SQUIRE, S., ZAINAN, S. *et al.* Insulinlike growth factor-2 regulation of conceptus composition: effects of the trophectoderm and inner cell mass genotypes in the mouse. *Biol. Reprod.*, v.60, p.190–195, 1999.

GASTAL, E. L. *Selection of the dominant follicle in mares: role of follicle – diameter differences, gonadotropins, and estradiol.* 1999. 258f. (Doctor in Philosophy) - University of Wisconsin – Madison.

GIL, C.V. *Effect of nutrition on follicle development and ovulation rate in the ewe.* 2003. 55f. Tese (Veterinary Medicine Doctoral) – Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Suécia.

GINTHER O. J.; WILTBANK, M. C.; FRICHE, P. M. *et al.* Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol. Reprod.*, v.55, p.187-1194. 1996.

GINTHER, O. J. Selection of the dominant follicle in cattle and horses. *Anim. Reprod. Sci.*, v.60-61, n.2, p.61-79, 2000.

GINTHER, O. J.; BEG, M. A.; DONADEU, F. X. *et al.* Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. *Anim. Reprod. Sci.*, v.78, n.3-4, p.239-257, 2003.

GODFREY, K., ROBINSON, S. Maternal nutrition, placental growth and fetal programming. *Proc. Nutr. Soc.*, v.57, n.1, p.105–111, 1998.

GONG, J. G.; BAXTER, G.; BRAMLEY, T. A. *et al.* Enhancement of ovarian follicle development in heifers by treatment with recombinant bovine somatotrophin: A dose response study. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, v.110, p.91-97, 1997.

GONZALES, A., WANG, H., CARRUTHERS, T. D. Increased ovulations rates in PMSG-stimulated beef heifers treated with a monoclonal PMSG antibody. *Theriogenology*, v.41, n.8, p.1631-1642, 1994.

GONZÁLES-BULNES, A.; BAIRD, D.T; CAMPBELL, B.K. *et al.* Multiple factors affecting the efficiency of multiple ovulation and embryo transfer in sheep and goats. *Reprod. Fertil. Dev.*, v.16, p.421-435, 2004.

GONZÁLES-BULNES, A.; BERLINGUER, F.; COCERO, M.J. *et al.* Induction of the presence of corpus luteum during superovulatory treatments enhances in vivo and in vitro blastocysts output in sheep. *Theriogenology*, v.64, n.6, p.1392-1403, 2005.

GONZÁLES-BULNES, A.; GARCIAGARCIA, R.M.; SANTIAGO-MORENO, J. *et al.* Reproductive Season affects inhibitory effects from large follicles on the response to superovulatory FSH treatment in ewes. *Theriogenology*, v.60, n.2, p.281-288, 2003.

GONZÁLES-BULNES, A.; SANTIAGOMORENO, J.; GOMEZ-BRUNET, A. *et al.* Relationship between ultrasonographic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration during the oestrous cycle in monovular ewes. *Reprod. Dom. Anim.*, v.35, p.65-68, 2000.

GONZALEZ-BULNES, A.; GARCIAGARCIA, R.M.; SANTIAGO-MORENO, J. *et al.* Effects of follicular status on superovulatory response in ewes is influenced by the presence of corpus luteum at the first FSH dosage. *Theriogenology*, v.58, n.8, p.1607-1614, 2002.

GORDON, I. *Oocyte recovery and maturation*. Wallingford: Cab International, 1994. p.30-142.

GORE-LANGTON, R. E.; ARMSTRONG, D. T. Follicular steroidogenesis and its control. In: KNOBIL, E.; NEIL, J.D. (Eds.). *Physiology of reproduction*. New York: USA Raven Press, 1994, p.571-628.

GOSDEN, R. G., TELFER, E. Numbers of follicles and oocytes in mammalian ovaries and their allometric relationships. *J. Zool.*, v.2, p.169-175, 1987.

GRANGER, A. L.; WYATT, W. E.; CRAIG, W. N. *et al.* Effects of breed wintering diet on growth, puberty and plasma concentrations of growth hormone and insulin-like growth factor-1 in heifers. *Domest. Anim. Endocrinol.*, v.6, n.3, p.253-262. 1989.

GREVE, T.; CALLESEN, H.; HYTELL, P. *et al.* The effects of exogenous gonadotrophins on oocyte and embryo quality in cattle. *Theriogenology*, v.43,n.1, p.41-50, 1995.

GRUMMER, R. R.; CARROLL, D. J. A review of lipoprotein cholesterol metabolism: importance to ovarian function. *J. Anim. Sci.*, v.66, n.12, p.3160-3173, 1988.

GRUMMER, R. R.; CARROLL, D. J. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. *J. Anim. Sci.*, v.69, n.9, p.3838-3852, 1991.

HAAG, M. Essential fatty acids and the brain. *Can. J. Psych.*, v.48, n.3, p.195-203, 2003.

HAFEZ, E. S. E. *Reprodução animal*. 6.ed. São Paulo: Manole, 1995. 582 p.

HARBUZ, M. S.; LIGHTMAN, S. L. Stress and the hypothalamo-pituitary-adrenal axis: acute, chronic and immunological activation. *J. Endocrinol.*, v.134, p.327-339, 1992.

HARDING, J. E.; LIU, L.; EVANS, P. C.; GLUCKMAN, P. D. Insulin-like growth factor 1 alters feto-placental protein and carbohydrate metabolism in fetal sheep. *Endocrinology*, v.134, p.1509–1514, 1994.

HIRSHFIELD, A. N. Development of follicles in the mammalian ovary. *Inter. Rev. Citol.*, v.124, p.43-101, 1991.

HOLLAND, M. D.; HOSSNER, M. D.; WILLIAMS, S. E. *et al.* Serum concentrations of insulin-like growth factors and placental lactogen during gestation in cattle: fetal profiles. *Domest. Anim. Endocrinol.*, v.14, p.231–239, 1997.

HUSEIN M. Q.; BAILEY M. T.; ABABNEH M. M. *et al.* Effect of eCG on the pregnancy rate of ewes transcervically inseminated with frozen-thawed semen outside the breeding season *Theriogenology*, v.49, n.5, p.997-1005, 1998.

IGWEBUIKE, U. M. Impact of maternal nutrition on ovine foetoplacental development: a review of the role of insulin-like growth factors. *Anim. Reprod. Sci.*, v.121, n.3-4, p.189-196, 2010.

IRELAND, J. J. Control of follicular growth and development. *J. Reprod. Fertil.*, v.34, p.39-54, 1987.

JABLONKA-SHARIFF, A.; GRAZUL-BILSKA, A. T.; REDMER, D. A. *et al.* Growth and cellular proliferation of ovine corpora lutea throughout the estrous cycle. *Endocrinology*, v.133, p.1871, 1993.

JAINUDEEN, M. R.; WAHID, H.; HAFEZ, E. S. E. Sheep and goats. In: HAFEZ, E.S.E.; In: HAFEZ, B. *Reproduction in farm animals*. 7.ed. Philadelphia: Lippincot Williams & Wilkins, 2000. p.171-181.

JIMENO, V.; CASTRO, T.; REBOLLAR, P. G. *Interacción nutrición-reproducción en ovino de leche*. Madrid: FEDNA, 2004. (Curso de Especialización, 17).

JONES, J. I.; CLEMMONS, D. R. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr. Rev.*, v.16, p.3–34, 1995.

KADUCE, T. L.; SPECTOR, A.A., BAR, R.S. Linoleic acid metabolism and prostaglandin production by cultured bovine pulmonary artery endothelial cells. *Arteriosclerosis*, v.2, p.380-389, 1982.

KASSA, T.; AMBROSE, J. D.; ADAMS, A. L. *et al.* Effects of whole cottonseed diet and recombinant bovine somatotropin on ovarian follicles in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v.85, n.11, p.2823-2830, 2002.

KLEEMAN, D. O.; WALKER, S. K.; SEAMARK, R. F. Enhanced fetal growth in sheep administered progesterone during the first three days of pregnancy. *J. Reprod. Fertil.*, v.102, p.411–417, 1994.

KNAPP, D. M.; GRUMMER, R. R. Response of lactating dairy cows to fat supplementation during heat stress. *J. Dairy Sci.*, v.74, n.8, p.2573-2579, 1991.

KNIGHT, P. G.; GLISTER, C. Local roles of TGF-B superfamily members in the control of ovarian follicle development. *Anim. Reprod. Sci.*, v.78, n.3-4, p.165-183, 2003.

KNISS, D. A.; SHUBERT, P. J.; ZIMMERMAN, P. D. *et al.* Insulin-like growth factors: their regulation of glucose and amino acid transport in placental trophoblasts isolated from first trimester chorionic villi. *J. Reprod. Med.*, v.39, p.249–256, 1994.

KORBONITS, M.; GOLDSTONE, A. P.; GUEORGUIEV, M. *et al.* Ghrelin - a hormone with multiple functions. *Front. Neuroendoc.*, v.25, p.27-68, 2004.

LAURIA, A.; GENAZZANI, A. R.; OLIVA, O. Clinical and endocrinological investigation on superovulation induced in heifers by human menopausal gonadotropin (hMG). *Theriogenology*, v.18, n.3, p.357-64, 1982.

LEAT, W.M.F.; NORTHROP, C.A. Supplementation with linolenic acid of a diet deficient in essential fatty acids results in impaired parturition in rats. *J. Physiol.*, v.290, p.17p-53p, 1979.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. *Lehninger principles of biochemistry*. 4.ed. New York: W.H.Freeman, 2005. 1119p.

LEYVA, V.; BUCKRELL, B. C.; WALTON, J. S. Regulation of follicular activity and ovulation in ewes by exogenous progestagen. *Theriogenology*, v.50, n.3, p.395-416, 1998.

LIU, L.; HARDING, J. E. EVANS, P. C. GLUCKMAN, P. D. Maternal insulinlike growth factor-I infusion alters fetoplacental carbohydrate and protein metabolism in pregnant sheep. *Endocrinology*, v.135, p.895–900, 1994.

LOPES JÚNIOR, E. S.; MAIA, E. L. M. M.; ALMEIDA, K. C. *et al.* Influência dos níveis plasmáticos de progesterona sobre a resposta ovariana e produção embrionária de ovelhas Morada Nova. *Acta Vet. Sci.*, v.34, p.510, 2006.

LUCY, M. C.; BILBY, C. R.; KIRBY, C. J. *et al.* Role of growth hormone in the maintenance of follicles and corpora lutea. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* v.54, p.49-59, 1999.

LUCY, M. C.; SAVIO, J. D.; BADINGA, L. *et al.* Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J. Anim. Sci.*, v.70, n.1, p.3615– 3626, 1992.

LUSSIER, J. G.; MATTON, P.; DUFOUR, J. J. Growth rates of follicles in the ovary of the cow. *J. Reprod. Fertil.*, v.81, p.301-307, 1987.

MAIA, M. O. *Inclusão de óleos de licuri ou mamona na dieta de cabras leiteiras*. 2008. 63f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Areia, PB.

MASSAGUÉ, J.; CHEN, Y. G. Controlling TGF- β signaling. *Genes Dev.*, v.14, p.627-644, 2000.

MATTOS, R.; STAPLES, C. R.; THATCHER, W. W. Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants. *Rev. Reprod.*, v.5, n.1, p.38-45, 2000.

McCRACKEN, J. A.; SCHAMS, W.; OKULICZ, W. C. Hormone receptor control of pulsatile secretion of PGF-2 α from the ovine uterus during luteolysis and its abrogation during early pregnancy. *Anim. Reprod. Sci.* v.7, n.1-3, p.31-55, 1984.

MCDONALD, L. E. Patterns of reproduction. In: MCDONALD, L. E.; PINEDA, M. H. *Veterinary endocrinology and reproduction*. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1989. p.428-447.

MCEVOY, T. G.; ROBINSON, J. J.; AITKEN, R. P. *et al.* Dietary-induced suppression of pre-ovulatory progesterone concentrations in superovulatory ewes impairs the subsequent in vivo and in vitro development of their ova. *Anim. Reprod. Sci.*, v.39, n.2, p.89-107, 1995.

MCNATTY, K. P.; HEATH, D. A.; LUNDY, T. *et al.* Control of early ovarian follicular development. *J. Reprod. Fertil.*, v.54, p.3-16, 1999.

MELENDEZ, P.; KRUEGER, T.; WHITE, J. *et al.* Effect of ghrelin in dry matter intake and energy metabolism in prepartum sheep: a preliminary study. *Theriogenology*, v.66, n.8, p.1961–1968, 2006.

MIHM, M.; BLEACH, E. C. L. Endocrine regulation of ovarian antral follicle development in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, v.78, n.3-4, p.217-237, 2003.

MOALLEM, U.; ALTMARK, G.; LEHRER, H. et al. Performance of high-yielding dairy cows supplemented with fat or concentrate under hot and humid climates. *J. Dairy Sci.*, v.93, n.7, p.3192-3202, 2010.

MOALLEM, U.; FOLMAN, Y.; BOR, A. et al. Effect of calcium soaps of fatty acids and administration of somatotropin on milk production, preovulatory follicular development, and plasma and follicular fluid lipid composition in high yielding dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v.82, n.11, p.2358-2368, 1999.

MOBERG, G. P. A model for assessing the impact of behavioral stress on domestic animals. *J. Anim. Sci.*, v.65, n.4, p.1228-1235, 1987.

MOBERG, G. P. Biological response to stress: implications for animal welfare. In: MOBERG, G.; MENCH, J. A. *The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare*. Davis: University of California, 2000. p.1-22.

MOBINI S.; HEATH A. M.; PUGH D. G. Teriogenologia de ovinos e caprinos. In: CLÍNICA de ovinos e caprinos. São Paulo: Roca, 2004. 513p.

MONGET, P.; BONDY, C. Importance of the IGF system in early folliculogenesis. *Mol. Cel. Endocrinol.*, v.163, p.89-93, 2000.

MONNIAUX, D.; HUET, C.; BESNARD, N. et al. Follicular growth and ovarian dynamics in mammals. *J. Reprod. Fertil.*, v.51, p.3-23, 1997.

MORELLO, H. H.; CHEMINEAU, P. Características anatômicas e funcionais do sistema reprodutor da fêmea. In: AISEN, E. G. *Reprodução ovina e caprina*. São Paulo: MedVet, 2008. 203p.

MORI, R. M.; RIBEIRO, E. L. A.; MIZUBUTI, I. Y. *et al.* Desempenho reprodutivo de ovelhas submetidas a diferentes formas de suplementação alimentar antes e depois da estação de monta. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.35, p.1122-1128, 2006.

MURPHY, B. D.; MARTINUK, S. D. Equine chorionic gonadotropin. *Endocrinol. Rev.*, v.12, p.27-44, 1991.

MURPHY, B. D.; MAPLETOFT, R. J.; MANNS, J. *et al.* Variability in gonadotrophin preparation as a factor in superovulatory response. *Theriogenology*, v.21, n.1, p.117-125, 1984.

NAQUI, S. M. K.; MAURYA, V. P.; GULYANI, R. *et al.* The Effect of thermal stress on superovulatory response and embryo production in Bharat Merino ewes. *Small Ruminant Res.*, v.55, n.2, p.57-63, 2004.

NEIVA, J. N. M., TEIXEIRA, M., TURCO, S. H. N. *et al.* Efeito do estresse climático sobre os parâmetros produtivos e fisiológicos de ovinos Santa Inês mantidos em confinamento na região litorânea do nordeste do Brasil. *Rev. Bras. Zootec.*, v.33, n.3, p.668-678, 2004.

NOEL, B.; BISTER, J. L.; PAQUAY, R. Ovarian follicular dynamics in Suffolk ewes at different periods of the year. *J. Reprod. Fertil.*, v.99, p.695-700, 1993.

NOTTLE, M. B.; KLEEMAN, D. O.; SEAMARK, R. F. Effect of previous undernutrition on the ovulation rate of Merino ewes supplemented with lupin grain. *Anim. Reprod. Sci.*, v.49, n.1, p.29-36, 1997.

O'CALLAGHAN, P. L. D.; BOLAND, M. P. Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development. *Theriogenology*, v.55, n.6, p.1323-1340, 1999.

OLDICK, B.S.; STAPLES, C.R.; THATCHER, W.W. *et al.* Abomasal infusion of glucose and fat. effect on digestion, production, and ovarian and uterine function of cows. *J. Dairy Sci.*, v.80, n.7, p.1315-1328, 1997.

OLIVEIRA, R. L.; ASSUNÇÃO, D. M. P.; BARBOSA, M. A. A .F. *et al.* Efeito do fornecimento de diferentes fontes de lipídios na dieta sobre o consumo, a digestibilidade e o N-uréico plasmático de novilhos bubalinos em confinamento. *Rev. Bras. Zootec.*, v.36, n.3, p.733-738, 2007.

OSGERBY, J. C., WATHES, D. C., HOWARD, D., GADD, T. S. The effect of maternal undernutrition on ovine fetal growth. *J. Endocrinol.*, v.173, p.131–141, 2002.

OWENS, J. A.; KIND, K. L.; CARBONE, F. *et al.* Circulating insulin-like growth factor-I and II and substrate in fetal sheep following restriction of placental growth. *J. Endocrinol.*, v.140, p.5–13, 1994.

PALMQUIST, D. L.; JENKINS, T. C. Fats in lactation ration: *Rev. J. Dairy Sci.*, v.63, n.1, p.1-14, 1980.

PALMQUIST, D.L.; MATTOS, W. R.S. Metabolismo de lipídeos. In: BERCHIELLI, T.T., PIRES, A.V., OLIVEIRA, S.G. (Eds.) *Nutrição de ruminantes*. Jaboticabal: Funep, 2006. Cap. 10, p.287-309.

PANGAS, S. A.; WOODRUFF, T. K. Activin signal transduction pathways. *Trends Endocrinol. Metabol*, v.11, p.309-314, 2000.

PAPADOPOULOS, S.; LONERGAN, P.; GATH, V. *et al.* Effect of diet quantity and urea supplementation on oocyte and embryo quality in sheep. *Theriogenology*. v. 55, n.5, p. 1059-1069, 2001.

PARR, R. A.; DAVIS, I. F.; MILES, M. A. *et al.* Feed intake affects metabolic clearance rate of progesterone in sheep. *Res. Vet. Sci.*, v.55, p.306-310,1993.

PENDLETON, R. J.; YOUNGS, C. R.; RORIE, R. W. *et al.* Follicle stimulating hormone versus pregnant mare serum gonadotropin for superovulation of dairy goats. *Small Ruminant Res.*, v.86, p.303-308, 1992.

PEREIRA, J. C. C. *Fundamentos de bioclimatologia aplicados à produção animal*. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2005.

PETERS, H. The development and maturation of the ovary. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, v.16, p.271-278, 1976.

PETIT, H.V. Effects of dietary fat on reproduction. In: ANNUAL TRI-STATE DAIRY NUTRITION CONFERENCE, 2003, Fort Wayne. *Proceedings...* Fort Wayne, 2003. p. 35-48.

PETIT, H. V.; GERMIQUET, C.; LEBEL, D. Effect of feeding whole, unprocessed sunflower seeds and flaxseed on milk production, milk composition, and prostaglandin secretion in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v.87, n.11, p.3889-3898, 2004.

PICTON, H.M. Activation of follicle development: the primordial follicle. *Theriogenology*, v.55, n.6, p.1193-210, 2001.

RABIEE, A. R.; LEAN, I. J.; GOODEN, J. M. *et al.* An evaluation of transovarian uptake of metabolites using arterio-venous difference methods in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, v.48, n.1, p.9-25, 1997.

RAE, M. T.; KYLE, C. E.; MILLER, D. W. *et al.* The effects of undernutrition, in utero, on reproductive function in adult male and sheep. *Anim. Reprod. Sci.*, v.72, n.1-2, p.63-71, 2002.

RAWLINGS, N. C.; EVANS, A. C. O.; HONARAMOOZ, A. *et al.* Antral follicle growth and endocrine changes in prepubertal cattle, sheep and goats. *Anim. Reprod. Sci.*, v.78, n.3-4, p.259-270. 2003.

REYNOLDS, T. S., STEVENSON, K. R., WATHES, D. C. Pregnancy-specific alterations in the expression of the insulin-like growth factor system during early placental development in the ewe. *Endocrinology*, v.138, p.886–897, 1997.

RHIND, S. M.; MCNEILLY, A. S. Effects of level of food intake on ovarian follicle number, size and steroidogenic capacity in the ewe. *Anim. Reprod. Sci.*, v.52, n.2, p.131-138, 1998.

RICHARDS, J. S.; RUSSEL, D. L.; OCHSNER, S. *et al.* Novel signaling pathways that control ovarian follicular development, ovulation, and luteinization. *Rec. Progr. Horm. Res.*, v.57, p.195-220, 2002.

ROBINSON, J. J. Nutrition and reproduction. *Anim. Reprod. Sci.*, v.42, n.1-4, p.25-34, 1996.

ROY, S. K.; TREACY, B. J. Isolation and long-term culture of human preantral follicles. *Fert. Ster.*, v.59, p.783-790, 1993.

RUBIANES, E.; MENCHACA, A. Dinâmica folicular, sincronização de estro e superovulação em ovinos. *Acta Vet. Scient.*, v.34, p.251-261. 2006.

RUBIANES, E.; UNGERFELD, R.; VINÓLES, C. *et al.* Ovarian response to gonadotropin treatment initiated relative to wave emergence in ultrasonographically monitored ewes. *Theriogenology*, v.47, n.8, p.1479-1488, 1997.

RÜSSE, I. Oogenesis in cattle and sheep. *Bibl. Anat.*, v.24, p.77-92, 1983.

RYAN, D. P.; SPOON, R. A.; WILLIAMS, G. L. Ovarian follicular characteristics, embryo recovery, and embryo viability in heifers fed high-fat diets and treated with follicle-stimulating hormone. *J. Anim. Sci.*, v.70, n.11 , p.3505-3513, 1992.

SALES, H. O.; ANDRIOLI, A.; SIMPLÍCIO, A. A. *et al.* *Manual de transferência de embriões em caprinos*. Sobral: Embrapa Caprinos, 2002. (Documento 40).

SANTOS, G. M. C.; SILVA, K. C. F.; CASIMIRO, T. R. *et al.* Reproductive performance of ewes mated in the spring when given nutritional supplements to enhance energy levels. *Anim. Reprod.*, v.6, p.422-427, 2009.

SAUMANDE, J. Ovogenèse et folliculogenèse. *Rec. Méd. Vét.*, v.157, p.29-38. 1981.

SAWYER, G. J. The influence to radiant heat load in Merino ewes. II. The relative effects of heating before and after insemination. *Aust. J. Agric. Res.*, v.30, p.1143–1149. 1979.

SCARAMUZZI, R. J. Reproduction research in perspective. *Proc. Aust So.c Anim. Prod.*, v. 17, p.57-73, 1988.

SCHIEWE, M. C., FITZ, T. A ., BROWN, J. L. Relationship of oestrus synchronization method, circulating hormones , luteinizing hormone and prostaglandin F2-a receptors and luteal progesterone concentration to premature luteal regression in superovulated sheep. *J. Reprod. Fertil.*, v.93, p.19-30, 1991.

SENGER, P. L. *Pathways to pregnancy and parturition*. 2.ed. Washington: Current Conceptions, 2003.

SILANIKOVE, N. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. *Livest. Prod. Sci.*, v.67, p.1-18, 2000.

SIROIS, J.; FORTUNE, J.E. Ovarian follicular dynamics during estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biol. Reprod.*, v.39, p.308-317, 1988.

SMITH, O. B.; AKINBAMIJO, O. O. Micronutrientes and reproduction in farm animals. *Anim. Reprod. Sci.*, v.60-61, p.549-560, 2000.

SMITH, W. L.; MARNETT, L. J. Prostaglandin endoperoxide synthase: structure and catalysis. *Bioch. Bioph. Acta*, v.1083. n.1, p.1-17, 1991.

SOSA, C.; ABECIA, J. A.; FORCADA, F. *et al.* Undernutrition reduces the oviductal mRNA expression of progesterone and oestrogen receptors in sheep. *Vet. J.*, 2007. (short communication).

SPICER, L. J.; ALPIZAR, E.; ECHTERNKAMP, S. E. Effects of insulin, insulin-like growth factor I, and gonadotropins on bovine granulosa. *J. Anim. Sci.*, v.71, n.5 , p.1232-1241, 1993.

STABENFELDT, G. H.; EDQVIST, L. E. Processos reprodutivos da fêmea. In: SWENSON, M. J.; REECE, W. *Duckes fisiologia dos animais domésticos*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p.615-644.

STAPLES, C. R.; BURKE, J. M.; THATCHER, W. W. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. *J Dairy Sci.*, v.81, n.3, p.856-871, 1998.

STEVENSON, K. R.; WATHES, D. C. Insulin-like growth factors and their binding proteins in the ovine oviduct during the oestrous cycle. *J. Reprod. Fertil.*, v.108, p.31–40, 1996.

STOCKDALE, C. R. Body condition at calving and the performance of dairy cows in early lactation under Australian conditions: a review. *Aust. J. Exp. Agric.*, v.41, p.823–829, 2001.

TENA-SEMPERE, M. Exploring the role of ghrelin as novel regulator of gonadal function. *Growth Hormone IGF Res.*, v.15, p.83-88, 2005.

STOTT, G.H. What is animal stress and how is it measured? *J. Anim. Sci.*, v. 52, n.1, p. 150-153, 1981.

TORRES, S.; SEVELLE, C. Repeated superovulation and surgical recovery of embryos in the ewe. *Reprod. Nutr. Develop.*, v.27, p.859-863, 1987.

TRALDI, S. A ;VISINTIN, V. A; MIZUTA, K. *et al.* Resposta superovulatória de caprinos à gonadotrofina da menopausa humana (hMG). *Arq. Fac. Vet. UFRGS*, v.24, supl., p.218, 1996.

UENOA, H.; YAMAGKANGAWAB, K. *et al.* Ghrelin: a gastric peptide that regulates food intake and energy homeostasis. *Regul. Pept.*, v.126, p.11-19, 2005.

VALE, W.; RIVIER, J. VAUGHAN, J. *et al.* Purification and characterization of an FSH releasing protein from porcine ovarian follicular fluid. *Nature*, v.321, p.776-779, 1986.

VALLET, J. L. LAMMING, G. E., BATTEN, M. Control of endometrial oxytocin receptor and uterine response to oxytocin by progesterone and estradiol in the ewes. *J. Reprod. Fertil.*, v.90; p.625-634, 1990.

VAN DEN HURK, R.; ZHAO, J. Formation of mammalian oocytes and their growth, differentiation and maturation within ovarian follicles. *Theriogenology*, v.63, n.6, p.1717-1751, 2005.

VAN SOEST, P. J. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.

VAN WEZEL, I. L., RODGERS, R. J. Morphological characterisation of bovine follicles and their environment in vivo. *Biol. Reprod.*, v.55, p.1003-1011, 1996.

VARAGO, F. C. *Superovulação em ovelhas da raça Santa Inês e criopreservação de embriões*. 2009. 80f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Belo Horizonte, MG.

VEIGA-LOPEZ, A.; GONZALEZBULNES, A.; GARCIA-GARCIA, R. M. *et al.* Effects of previous ovarian status in ovulation rate and early embryo development in response to superovulatory FSH treatments in sheep. *Theriogenology*, v.63, n.7, p.1973-1983, 2005.

VERNON, R. G.; CLEGG, R. A.; FLINT, D. J. Metabolism of sheep adipose tissue during pregnancy and lactation. *Biochem. J.*, v.200, p.307–314, 1981.

VOGE, J. L.; AAD, P. Y.; SANTIAGO, C. A. T. *et al.* Effect of insulin-like growth factors (IGFs), FSH, and leptin on IGF-binding-protein mRNA expression in bovine granulosa and theca cells: quantitative detection by real-time PCR. *Peptides*, v.25, n.12, p.2195-2203. 2004.

WATHES, D. C.; REYNOLDS, T. S.; ROBINSON, R. S.; STEVENSON, K. R. Role of the insulin-like growth factor system in uterine function and placental development in ruminants. *J. Dairy Sci.*, v.81, n.6, p.1778–1789, 1998.

WEBB, R.; ARMNSTRONG, D. G. Control of ovarian function: effect of local interactions and environmental influences on follicular turnover in cattle: a review. *Livest. Prod. Sci.*, v.53, p.95-112, 1998.

WEBER, P.C.; SELLMAYER, A. Modification of the eicosanoid system and cell signaling by precursor fatty acids. *Adv. Prostaglandin, Thromboxane Leukotriene Res.*, v. 21, p. 217-224, 1990.

WEST, J.W. Nutritional strategies for managing the heat-stressed dairy cow. *J. Anim. Sci.*, v.77, n.2, p.21-35, 1999.

WETTMANN, R. P.; LENTS, C. A.; CICCIOLO, N. H. *et al.* Nutritional and suckling-mediated anovulation in beef coes. *J. Anim. Sci., Suppl.*, v.81, p.48-49, 2003.

WILSON, S. J.; KIRBY, C. J.; KOENIGSFELD, A. T. *et al.* Effects of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle. 2. Heifers. *J. Dairy Sci.*, v.81, n.8, p.2132-2138, 1998.

WILTBANK, M. C.; LOPEZ, H.; SARTORI, R.; SANGSRITAVONG, S.; GUMEN. A. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology*, v.65, n.1, p.17-29, 2006.

XIAO, S.; ROBERTSON, D. M.; FINDLAY, J. K. Effects of activin and follicle-stimulating hormone (FSH) – suppressing protein/follistatin on FSH receptors and differentiation of cultured rat granulose cells. *Endocrinology*, v.131, p.1009-1016, 1992.

YAAKUB, H.; O'CALLAGHAN, P.L.D.; DUFFY, P. *et al.* Effect of dietary intake on follicle numbers and oocyte morphology in unsuperovulated and superovulated ewes. *Theriogenology*, v.47, n.1, p.182, 1997.

YANGA, G.; LIB, T. L.; FANG, C. Effects of free fatty acids on plasma resistin and insulin resistance in awake rats. *Metab. Clin. and Experim.*,v.54, n.9, p.1142-1146, 2005.

ZUREK, E.; FOXCROFT, O. R.; KENNELLY, J. J. Metabolic status and interval in postpartum dairy cows to first ovulation. *J. Dairy Sci.*, v.78, n.9, p.1909-1920, 1995.

CAPÍTULO 2

Efeito de diferentes dietas e ambientes térmicos sobre os parâmetros fisiológicos, hematológicos, glicemia e taxa de sudção de ovelhas Santa Inês

RESUMO

O experimento foi realizado para avaliar parâmetros fisiológicos, hematológicos e adaptativos sob diferentes ambientes térmicos e dietas. Trinta ovelhas adultas não gestantes da raça Santa Inês, entre dois e cinco anos de idade, seguindo um delineamento experimental inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2x5 (duas temperaturas e cinco dietas) foram alimentadas com dietas a base de feno de tifton 85 picado e concentrados que variavam entre polpa cítrica, milho e níveis crescentes de inclusão de semente de linhaça, submetidas a duas temperaturas em câmara climatizada, uma a 24°C e 65% de umidade relativa do ar e outra a 34°C e 50% de umidade relativa do ar, tendo alguns parâmetros fisiológicos, hematológicos e adaptativos mensurados. Foi observada grande elevação da frequência respiratória sob a condição de estresse pelo calor, 72,46 mov/min, em relação ao conforto, 32,95 mov/min., bem como maior taxa de sudção, 125,38 g.m⁻².h⁻¹ sob estresse pelo calor e 52,43 g.m⁻².h⁻¹ no conforto. As dietas não influenciaram os parâmetros fisiológicos, exceto na glicemia, onde maiores valores glicêmicos foram observados para as dietas com 15 e 20% de inclusão de semente de linhaça marrom, 61,25 mg/dl e 63,02 mg/dl respectivamente.

Palavras chave – hematócrito; proteínas plasmáticas; fibrinogênio; estresse pelo calor.

ABSTRACT

The experiment was developed to evaluate physiological, hematological and adaptive parameters under different thermal environments and diets. Thirty non-pregnant Santa Ines ewes, between two and five years old, following a completely randomized experimental design in a factorial 2x5 (two temperatures and five diets) arrangement were fed with diets based on tifton 85 hay and concentrated from citrus pulp, corn and increasing levels of inclusion of brown flaxseed, subjected to two temperatures in climatic chamber, one at 24°C and 65% relative humidity and another at 34°C and 50% relative humidity air, having some physiological, hematological and adaptive parameters being measured. A high increase in respiratory rate was observed under the condition of heat stress, 72.46 mov/min in relation to comfort, 32.95 mov/min., as well as higher rates of sweating, 125.38 g.m⁻².h⁻¹ under heat stress and 52.43 gm⁻².h⁻¹ in comfort. Diets did not influence physiological parameters, except blood glucose, where elevated blood glucose levels were observed for diets with 15 and 20% inclusion of brown flaxseed, 61.25 mg/dl and 63.02 mg/dl respectively.

Keywords – haematocrit; plasma protein; fibrinogen; heat stress.

1 INTRODUÇÃO

Os ovinos são relativamente bem adaptados a diferentes temperaturas ambiente. Por meio de mecanismos anatomofisiológicos a espécie tem sobrevivência confortável entre quatro e 30°C. Fora destes limites, entretanto, os animais passam por mudanças fisiológicas, as quais podem trazer resultados indesejados para o sistema produtivo (Naas, 1989).

Quando a temperatura ambiente encontra-se acima da zona de conforto térmico (ZCT), ou seja, superior ao limite máximo para manutenção da homeostasia perdas produtivas serão observadas. Isto porque a condição de estresse pelo calor altera o metabolismo dos animais, podendo levá-los a um gasto excessivo de nutrientes, na tentativa de manter a homeotermia, quando, em condições normais, poderiam utilizá-los exclusivamente para o crescimento e/ou reprodução (Dwyer, 2009).

Alterações em parâmetros fisiológicos podem ser observadas em animais sob condição de estresse pelo calor. Estes parâmetros têm sido utilizados mundialmente para avaliar o estado de saúde dos animais e também como indicadores de resistência ao estresse térmico (Baêta e Souza, 1997).

A detecção dos fatores que interferem na produtividade do animal faz-se necessária para que sejam empregadas técnicas de manejo específicas, com a finalidade de minimizar os prejuízos causados por fatores ambientais adversos e, com isso, maximizar a produção. Para isso, hoje em dia, as instalações devem ser projetadas preocupando-se com o microclima e com o bem estar dos animais (Caroprese, 2008).

Um parâmetro fisiológico que pode ser utilizado para avaliação da condição de conforto climático do animal é a temperatura retal (TR), resultado do equilíbrio entre energia térmica produzida e energia térmica dissipada (Legates *et al.*, 1991). Um aumento na TR pode significar que o animal está estocando calor, e, se este não for dissipado, o estresse pelo calor pode se manifestar (McDowell, 1974).

Outro parâmetro muito utilizado para o balizamento do conforto térmico é a frequência respiratória (FR). Quando elevada, pode indicar influência do estresse pelo calor sobre o animal, pois através da respiração há um eficiente mecanismo de perda de vapor de água aquecido, e esta exacerbação refletirá na tentativa de perda de calor (Hafez, 1973).

Além de exames físicos, ainda pode-se utilizar exames laboratoriais e testes de adaptabilidade ao ambiente para balizar nossa interpretação acerca da fisiologia, aclimatação e bem estar animal.

O volume globular deve ser a escolha clínica pragmática para uma análise inicial da condição clínica do animal, pois o número de hemácias e a concentração de hemoglobina geralmente se mantêm paralelas a este parâmetro. Além disso, reflete diretamente o volume de células vermelhas no sangue, sendo um indicador chave do grau de hidratação ou de anemia, bem como da capacidade de transporte de O₂ (Radostits *et al.*, 2002).

A desidratação é a principal causa de aumento no valor do volume globular, enquanto as anemias provocam redução do valor deste parâmetro (Thrall, 2004). Os valores normais de volume globular variam de 27 a 45% nos ovinos (Diffay *et al.*, 2004). Uma informação complementar, que pode auxiliar na interpretação do tema, pode ser obtida por meio da análise da relação entre o valor do volume globular com a concentração de proteínas plasmáticas, podendo revelar uma gama de alterações clínicas, conforme proposto por Meyer *et al.* (1995).

Outro parâmetro hematológico que pode ser influenciado pelo estresse pelo calor refere-se a glicemia. O calor como fonte de estresse ativa o eixo hipotálamo-hipófise-adrenais, o qual lança glicocorticóides na circulação sanguínea, aumentando a concentração circulante de glicose (Caroprese, 2008), a despeito do fato de que em ruminantes a maior parte da glicose sanguínea não é obtida dos alimentos e sim sintetizada no fígado (VanSoest, 1994).

Diante do exposto, este experimento foi realizado para avaliar o efeito de dois ambientes térmicos e diferentes dietas contendo polpa cítrica, milho, e três níveis de inclusão de semente de linhaça sobre os parâmetros fisiológicos, hematológicos e adaptativos de ovelhas Santa Inês.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido sob aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFMG (CETEA), protocolo: 77/2006 (Avaliação do estresse pelo calor e seus efeitos nas respostas fisiológicas de ovinos da raça Santa Inês).

O trabalho foi realizado no Laboratório de Calorimetria e Metabolismo Animal do Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, localizada em Belo Horizonte, Minas Gerais. O experimento apresentou um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial de 2x5 (dois tratamentos térmicos e cinco dietas) com parcelas subdivididas (dois tratamentos climáticos nas parcelas e cinco dietas nas subparcelas).

Foram utilizadas 30 ovelhas adultas não gestantes da raça Santa Inês, entre 2 e 5 cinco anos de idade, distribuídas em cinco grupos de manejo alimentar, todas passando por dois tratamentos térmicos em câmara climatizada (Tabela1). O monitoramento da temperatura e umidade relativa do ar no interior da câmara climatizada ocorreu por meio da média entre os valores obtidos na leitura entre dois termohigrômetros digitais de máxima e mínima (Equitherm®) dispostos em extremidades opostas do recinto, ao passo que a temperatura externa, ou seja, no interior do galpão experimental ocorreu por leitura em termohigrômetro idêntico aos colocados no interior da câmara. Para título de averiguação destes aparelhos, cada ambiente experimental era guarnecido com um termo higrômetro analógico de bulbo seco e úmido (5203.03.0.00 - Incoterm®) para comparação entre as aferições.

Tabela 1 – Média das temperaturas (T°C) e umidades relativas do ar (UR%) encontradas nos ambientes de conforto e estresse térmico dentro de câmara climatizada, e adaptação e pós estresse dentro de galpão experimental.

Adaptação						
	T (°C)	Tmín (°C)	Tmax (°C)	UR (%)	URmín (%)	URmax (%)
Manhã	23,0	22,64	23,36	50,97	43,47	58,30
Tarde	22,9	22,62	23,37	50,95	43,51	58,27
Geral	23,0	22,63	23,37	50,96	43,50	58,29
Conforto Térmico						
	T (°C)	Tmín (°C)	Tmax (°C)	UR (%)	URmín (%)	URmax (%)
Manhã	24,35	23,57	25,29	64,63	56,84	69,98
Tarde	24,40	23,63	25,33	64,91	57,08	70,42
Geral	24,40	23,61	25,33	64,50	56,74	69,87
Estresse pelo Calor						
	T (°C)	Tmín (°C)	Tmax (°C)	UR (%)	URmín (%)	URmax (%)
Manhã	33,89	32,57	35,21	49,47	38,47	61,50
Tarde	33,83	32,51	35,14	49,49	38,53	61,48
Geral	33,86	32,54	35,17	49,48	38,50	61,49

T (°C) temperatura do ar; Tmín (°C) temperatura mínima do ar; Tmax (°C) temperatura máxima do ar; UR (%) umidade relativa do ar; URmín (%) umidade relativa mínima do ar; URmax (%) umidade relativa máxima do ar.

As ovelhas permaneceram alojadas em gaiolas metabólicas durante todo o período experimental. Inicialmente passaram por um período de adaptação a gaiola e a dieta por 21 dias, em galpão experimental, quando, em seguida, passaram para exposição aos tratamentos térmicos na câmara climatizada, isolada por material adiabático onde as temperaturas do ambiente e a umidade

relativa do ar podiam ser controladas, por 15 dias em cada ambiente. A luminosidade dentro da câmara climatizada foi controlada por um temporizador digital, tendo as luzes acesas diariamente às seis horas e desligada às 19h e 30 min., totalizando 13h e 30 min. de luz diárias. Entre cada um dos tratamentos térmicos, as ovelhas permaneceram alojadas em gaiolas metabólicas, porém fora da câmara climatizada, em um galpão coberto, durante 15 dias, submetidas a semelhante período de luminosidade e temperatura iguais a do período de adaptação.

Ao serem acomodados nas gaiolas de metabolismos, os animais foram vacinados contra as principais espécies de *Clostridium sp* e desverminados. Após 21 dias da everminação, realizou-se exame de OPG para verificar a infestação de verminoses e eiméria, e proceder a desverminação caso houvesse necessidade. No momento em que foram colocadas nas gaiolas, as ovelhas foram pesadas antes da primeira refeição do dia em balança móvel para ovinos (602-SM, Açôres®), com escala de 100g, e avaliado o escore de condição corporal (apalpação da região dorso lombar e dado um valor que variava de zero a cinco (Tabela 2). A cada 15 dias esse processo foi repetido. Os animais receberam brincos para identificação, a fim de que pudessem ser distribuídos nos tratamentos corretamente.

Tabela 2 – Peso médio de ovelhas não gestantes da raça Santa Inês no início do experimento e ao final de cada tratamento térmico proposto, conforto e estresse pelo calor.

	Peso (kg)	Escore Corporal
Inicial	42,50	2,40
Conforto	43,95	2,45
Estresse por calor	41,74	2,38

O fornecimento das dietas baseou-se em 3% do peso vivo dos animais, de acordo com o Nutrients... (1985), calculadas para condições isoprotéicas e isoenergéticas, com aproximadamente 14% de proteína bruta e 65% de NDT, sendo compostas, uma com predomínio de polpa cítrica, outra de milho moído e, as demais com crescentes níveis de inclusão de semente de linhaça marrom na dieta (10%, 15%, 20% de inclusão) (Tabela 3). O volumoso fornecido foi feno de Tifton 85, picado a cinco centímetros aproximadamente.

Tabela 3 – Composição bromatológica das dietas e proporção dos ingredientes no concentrado

	Dietas				
	Polpa Cítrica	Milho	Linhaça 10%	Linhaça 15%	Linhaça 20%
Concentrado	26,8	25,79	29,3	28,04	37,82
Feno	73,2	74,21	70,7	71,96	62,18
Composição bromatológica na dieta					
MS	87,72	87,66	87,87	88,48	88,46
MO	93,56	95,16	94,82	94,84	93,62
MM	6,44	4,84	5,18	5,17	6,37
FDN	62,65	64,30	61,12	62,73	59,33

Composição bromatológica na dieta					
FDA	25,64	24,56	24,56	24,55	21,93
PB	13,62	13,86	13,57	13,51	13,89
EE	1,53	1,87	5,28	6,85	8,67
NDT	65	65	65	65	65
Concentrado					
Proporção dos ingredientes (% na MS)					
Polpa cítrica	57,0	-	-	-	-
Farelo de soja	28,3	30,1	9,92	2,1	-
Milho	11,3	68,3	55,63	43,6	43,3
Linhaça	-	-	33,74	53,0	52,6
Calcário	1,9	1,6	-	-	0,17
Fosfato bicálcico	1,6	-	0,71	1,31	3,9

A alimentação era fornecida pela manhã e à tarde. O arraçoamento consistia no fornecimento do feno e concentrado em duas refeições, as oito e 16h. A água e o sal mineralizado específico para ovinos (Vacci-pHós, Vaccinar®) eram ofertados, diariamente na refeição matutina, sendo cinco litros de água e 100 gramas de sal, quantidades suficientes para disponibilidade *ad libitum* e possibilitar a mensuração dos consumos. Antes da primeira oferta de alimentos do dia, todas as sobras eram retiradas para determinação do consumo dos alimentos, sendo esta calculada pela diferença entre o que foi ofertado e a sobra.

Os exames físicos foram realizados dois dias consecutivos por semana, duas vezes ao dia, as nove e 15h. As freqüências respiratória, cardíaca e os movimentos ruminais foram aferidos usando-se estetoscópio (BD DUO® – Sonic MDF 747) e um cronômetro, de acordo com a método descrito por Baccari Júnior (1990). A temperatura retal (TR) foi obtida com um termômetro clínico digital (Thermomete®) inserido em contato direto com a mucosa retal. As temperaturas

cutâneas foram aferidas por meio de um termômetro infravermelho digital portátil, com mira a laser e precisão de 99% (MT-350, MINIPA®). As medidas foram tomadas a, aproximadamente, 50 centímetros de distância do animal em quatro pontos distintos: fronte (TCF), cernelha (TCC), virilha (TCV) e jarrete (TCJ), obtendo-se, ao final, a média dos quatro pontos por animal.

Para avaliação dos parâmetros sanguíneos foram coletadas, semanalmente, amostras de sangue de cada animal através de punção da veia jugular, diretamente em tubos a vácuo de cinco mililitros com o anticoagulante EDTA. As amostras foram encaminhadas ao laboratório de Patologia Clínica da Escola de Veterinária da UFMG, onde foram realizadas as análises de volume globular (VG), através da microcentrifugação e posterior leitura em cartão de hematócrito, proteínas plasmáticas totais (PPT) por meio da refratometria e fibrinogênio plasmático, pelo método de precipitação de proteínas.

Além disso, também foi avaliada, quinzenalmente, a taxa de glicemia desses animais, através de punção da veia jugular e promovida a análise da alimentação matinal em glicosímetro digital (ACCU-CHEK® - Active), antes e 3, 6 e 9 horas após a primeira alimentação do dia.

Para a realização do teste de sudação preparou-se discos de 0,5 cm de diâmetro, através de furos com furador de papel de cromatografia, tipo Whatman, no 1, embebidos em solução de cloreto de cobalto hexa-hidratado (CoCl_2 a 10%) e secos ao ar livre, em seguida fixava-se três discos com fita adesiva transparente em uma lâmina de microscopia de vidro e acondicionadas em estufa entre 80°C e 90°C até atingir a cor azul violácea. Após a secagem, mantinham-se conservadas em dessecador contendo sílica. Todos os discos foram preparados, no mínimo duas horas antes de sua utilização.

No momento da realização do teste, retirava-se a fita adesiva da lâmina de vidro e a fixava com os discos voltados para a pele do animal, sempre previamente tricotomizada, limpa e seca. Após a fixação da fita, cronometrava-se o tempo gasto, em segundos, para cada disco mudar toda a sua área da cor azul violácea para rosa claro, por ação da infiltração de suor. Os valores registrados representaram as médias dos tempos registrados nos três discos, sendo, em seguida, aplicados na seguinte fórmula de acordo com Silva (2000):

$$TS = 38446,6019 / t$$

Sendo:

TS é a taxa de sudação em g/m²/hora;

25 t é o tempo médio, em segundos, para mudança de cor dos três discos de papel.

A análise de variância foi utilizada (ANOVA), considerando-se a ocorrência dos erros (a) e (b), referentes à parcela e subparcela, respectivamente. O teste estatístico, para comparação das médias, foi o SNK (Student-Newman Keuls) com nível de significância de 95% (P<0,05). Todos os dados foram tabulados em planilhas do programa Microsoft Excel (versão 2007) e analisados pelo *software* SAEG (Sistema..., 2007) para permitir a estimativa dos consumos e coeficientes de digestibilidade em níveis das diferentes inclusões, compreendidos no intervalo estudado.

Foram testados diferentes modelos matemáticos, a partir do procedimento Modelos Pré-definidos, usando o procedimento de MARQUAT do SAEG 9.1, para escolha daquele que apresentasse maior significância e maiores coeficientes de regressão.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve interação nas respostas entre os ambientes térmicos e dietas testadas, portanto tais resultados serão apresentados separadamente.

A tabela 4 apresenta as comparações entre as médias dos parâmetros fisiológicos nos ambientes conforto e estresse térmico.

Tabela 4 – Média dos parâmetros fisiológicos de ovelhas não gestantes da raça Santa Inês obtidas quando expostas a ambiente de conforto (24°C e 65% UR) e

estresse pelo calor (34°C e 50%UR) dentro de câmara climatizada ambientes conforto e estresse térmico.

Parâmetros Fisiológicos	Ambiente		CV (%)
	Conforto	Estresse	
Frequência Cardíaca (bat/min)	80,81 a	76,86 b	13,84
Frequência Respiratória (mov/min)	32,95 b	72,46 a	36,39
Movimentos Ruminais (mov/min)	2,76	2,78	19,73
Temperatura Retal (°C)	38,70 b	38,85 a	0,70
Temperatura Cutânea Fronte (°C)	30,11 b	35,72 a	5,31
Temperatura Cutânea Cernelha (°C)	30,11 b	35,69 a	4,68
Temperatura Cutânea Virilha (°C)	33,49 b	37,02 a	4,16
Temperatura Cutânea Jarrete (°C)	31,09 b	36,21 a	5,00

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística no teste SNK a 5%. Aferição dos parâmetros, manhã = 9h e tarde = 15h.

Com relação aos parâmetros fisiológicos constatou-se q pelos movimentos ruminais, todos os outros valores encontrados não apresentaram diferença significativa (Tabela 4) entre os ambientes de conforto e de estresse térmico. Os valores das médias dos movimentos ruminais (MR) encontrados foram 2,76 mov/min e 2,78 mov/min, respectivamente para os ambientes conforto e estresse pelo calor, estando estes valores dentro da normalidade da espécie (Swenson e Reece, 1996; Diffay *et al.*, 2004).

Assim sendo, observou-se aumento da frequência cardíaca e respiratória, além das temperaturas corporais (TR, TCF, TCC, TCV, TCJ) na condição de estresse térmico, em relação ao conforto térmico ($p < 0,05$).

A média da frequência cardíaca (FC) no conforto foi de 80,81 bat/min, enquanto no ambiente de estresse a média foi de 76,86 bat./min. Ambos os valores encontram-se dentro da normalidade da espécie, compreendidos entre 70-90 bat/min (Radostits *et al.*, 2002; Diffay *et al.*, 2004). No entanto, a diferença entre as médias encontradas pode ser explicada diante do exposto por Kadzere *et al.* (2002), em que uma frequência cardíaca reduzida é mais típica em animais sob estresse térmico e está associada a uma taxa reduzida de produção de calor em resposta a temperatura ambiental, e, conseqüentemente a temperatura corporal, ambas elevadas.

Segundo Hans Selye (1936) citado por Pereira (2005), a frequência cardíaca primeiramente se eleva diante de uma situação estressante, todavia, após a aclimatação, o indivíduo tenta restabelecer sua homeostasia, podendo entrar numa fase chamada de estresse crônico, quando o animal convive com o agente agressor, mesmo que, desconfortavelmente, mas sem alterações dos batimentos cardíacos.

Tanto Andrade (2011), trabalhando com ovelhas Santa Inês em câmara climatizada, quanto Faria (2010), estudando a mesma raça, porém a campo, ambos sob condição de estresse pelo calor observaram aumento na frequência cardíaca dos animais, ambos atribuindo ser isso possível devido e à redução do volume sanguíneo circulante com conseqüente compensação cardíaca para manutenção da homeostasia.

O aumento da frequência respiratória (FR) foi observado na condição climática de estresse pelo calor frente ao conforto térmico, independentemente da dieta ofertada. Os valores médios obtidos foram de 72,46 mov/min no estresse, enquanto que no conforto, esses valores médios foram de 32,95 mov/min. Tal resultado corrobora os obtidos por Faria (2010) e Andrade (2011) estudando ovelhas Santa Inês sob as mesmas condições climáticas.

O valor da FR obtido no ambiente de estresse está acima da normalidade para a espécie que, segundo Swenson e Reece (1996) é cerca de 20 a 34 mov/min, podendo aumentar quando os animais são submetidos a elevadas temperaturas.

A FR é um excelente indicador do estado de saúde ou de conforto térmico dos animais, uma vez que o seu aumento caracteriza-se como um mecanismo eficiente para perda de calor. A frequência respiratória é regulada pelo hipotálamo, constituindo – se em um parâmetro muito sensível ao calor ambiental, sendo a primeira resposta, visível ao aumento da temperatura ambiente, acontecendo após os mecanismos de vasodilatação e sudação, elevando-se antes da temperatura retal (Baccari Júnior, 1990).

É provável que esse aumento na frequência respiratória se deva a um mecanismo de compensação na tentativa de aumentar a dissipação de calor através da eliminação de vapor de água aquecido e, conseqüentemente, diminuir a temperatura corporal. Tal explicação é corroborada por vários autores (Hafez, 1973; McDowell, 1974; Silva, 2000; Pereira, 2005; Souza *et al.*; 2005; Dwyer, 2009).

Este mecanismo de perda de calor é sabidamente utilizado pelos mamíferos terrestres e seu conceito utilizado em larga escala na literatura como fonte de afirmação da existência da condição de estresse pelo calor nos animais estudados (Silva, 2000).

Segundo Silanikove (2000), através da FR pode-se quantificar a severidade do estresse pelo calor. Para o autor, uma frequência de 40-60 mov./min caracteriza um estresse baixo, 60-80 de médio a alto e 80-120 mov/min alto para os ruminantes. Para Terril e Slee (1991), apenas quando chegar a 300 mov/min em ovinos, seria considerado como estresse severo. Neste trabalho observou-se que a 34°C e 50% UR os valores chegaram a 72,46 mov/min, podendo então ser caracterizado como estresse de médio a alto por Silanikove (2000).

A temperatura retal também apresentou média mais elevada ($p < 0,05$) no ambiente de estresse. No conforto, a média foi de 38,7°C, enquanto no estresse foi de 38,85°C. A TR, segundo Berman (1971) é influenciada principalmente pela atividade ruminal e pelo ambiente. Como não foi observado aumento dos movimentos ruminais entre os animais nos distintos ambientes térmicos, sugere-

se que o aumento da temperatura retal tenha sido ocasionado em virtude à temperatura do ambiente.

Essa manutenção da temperatura dentro de determinados limites é uma adaptação evolucionista que permite aos homeotermos desempenhar suas funções apesar de extremos na temperatura ambiente (Bitman *et al.*, 1984), pois as reações químicas do corpo, como o metabolismo, dependem da temperatura corpórea. De acordo com McDowell (1974), uma elevação de 1°C na temperatura retal já é o bastante para reduzir o desempenho produtivo na maioria das espécies de animais domésticos.

Partes distintas do corpo do animal podem ter diferentes temperaturas devido a diferenças na taxa metabólica do tecido presente, além do fluxo sanguíneo e da exposição da superfície corporal. Assim, a temperatura corpórea interna é maior do que a temperatura dos membros ou até mesmo da observada por via retal (Bianca, 1965). Entretanto, a temperatura retal representa um estado verdadeiro de temperatura, por responder em um curto espaço de tempo a mudanças internas e em função à temperatura ambiente. Dessa forma é usada freqüentemente como parâmetro de adaptabilidade fisiológica aos ambientes quentes (Motta, 1997).

Quanto às temperaturas corporais, a tabela 4 apresenta no ambiente conforto e estresse por calor os valores de 30,11 e 35,72 para TCF; 30,11 e 35,69 para TCC; 33,49 e 37,02 para TCV; e 31,09 e 36,21 para TCJ respectivamente.

Todas as temperaturas cutâneas medidas apresentaram-se superiores ($P < 0,05$) nos animais submetidos ao estresse térmico. A temperatura corporal é o resultado da diferença entre energia térmica produzida mais a recebida pelo organismo animal e a energia térmica dissipada para o meio (Brosh *et al.*, 1998). Como o aumento da temperatura dificulta a dissipação de calor, nota-se o aumento também das temperaturas cutâneas tal como observado neste experimento.

Em geral, as temperaturas cutâneas diferem conforme as variações de temperatura e umidade relativa do ar, na tentativa de aumentar ou diminuir a dissipação de calor, visando a manutenção da homeotermia. O aumento das temperaturas corporais deve-se ao fato de que a temperatura do ambiente pode influenciar a temperatura corporal dos animais quando esses não são capazes de

desencadear mecanismos fisiológicos suficientes para manter a homeotermia (Pereira, 2005).

Andrade (2011), assim como este experimento, encontrou maiores temperaturas cutâneas para animais em condição de estresse pelo calor. Andrade *et al.* (2007) e Faria (2010), trabalhando com animais a campo, encontraram, em seus ensaios, temperaturas de superfície cutânea menores nos ambientes com disponibilidade de sombra natural e durante a manhã, do que no ambiente sem disponibilidade de sombra e a tarde.

A elevação das médias dos parâmetros clínicos no ambiente estresse térmico, tendo, inclusive, de forma marcante, a elevação da frequência respiratória bem acima da normalidade da espécie, sugere que a temperatura de 34°C associada a umidade relativa do ar de 50% foi capaz de provocar estresse pelo calor nos animais estudados, suplantando a ótima capacidade adaptativa de ovinos nativos deslanados, como citada por Nããs (1989), Oliveira (2005) e Ribeiro *et al.* (2009).

Nas tabelas 5 e 6 são apresentadas as médias dos parâmetros fisiológicos estudados diante aos grupos de dietas estudadas e os períodos do dia, respectivamente.

Tabela 5 – Comparação entre as médias dos parâmetros fisiológicos de ovelhas não gestantes da raça Santa Inês alimentadas com distintas dietas.

Parâmetros Fisiológicos	Dietas					
	PC	MI	L 10	L 15	L 20	CV
FC (bat/min)	83,06	75,47	80,93	79,55	75,15	13,84
FR (mov/min)	58,56	53,53	53,20	46,31	51,93	36,39
MR (mov/min)	2,97	2,88	2,68	2,55	2,79	19,73
TR (°C)	38,80	38,76	38,86	38,75	38,72	0,70
TCF (°C)	33,17	33,21	33,17	32,83	32,89	5,31
TCC (°C)	33,40	33,12	32,73	32,61	32,66	4,68
TCV (°C)	35,55	35,32	35,69	34,93	34,82	4,16
TCJ (°C)	34,04	33,68	33,93	33,14	33,50	5,00

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística no teste SNK a 5%. FC – frequência cardíaca; FR – frequência respiratória; MR – movimentos ruminais; TR – temperatura retal; TCF – temperatura cutânea de frente; TCC - temperatura cutânea de cernelha; TCV – temperatura cutânea de virilha; TCJ – temperatura cutânea de jarrete.

Como apresentado na tabela 5, as dietas não influenciaram ($P > 0,05$) os parâmetros fisiológicos avaliados.

A tabela 6 apresenta os valores médios dos parâmetros fisiológicos dos animais estudados em função do período do dia.

Tabela 6 – Comparação entre as médias dos parâmetros fisiológicos de ovelhas vazias da raça Santa Inês nos períodos do dia manhã e tarde.

Parâmetros Fisiológicos	Ambiente		
	Manhã	Tarde	CV
Frequência Cardíaca (bat/min)	78,52	79,14	13,84
Frequência Respiratória (mov/min)	49,94	55,47	36,39
Movimentos Ruminais (mov/min)	2,81	2,74	19,73
Temperatura Retal (°C)	38,76	38,79	0,70
Temperatura Cutânea Fronte (°C)	32,67	33,43	5,31
Temperatura Cutânea Cernelha (°C)	32,75	33,05	4,68
Temperatura Cutânea Virilha (°C)	35,06	35,45	4,16
Temperatura Cutânea Jarrete (°C)	33,55	33,75	5,00

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística no teste SNK a 5%. Aferição dos parâmetros manhã = 9h e tarde = 15h.

A comparação das médias dos parâmetros avaliados entre os períodos do dia, manhã e tarde, não revelou diferença estatística ao teste SNK a 5% (Tabela 6).

Andrade (2011) também trabalhando com ovelhas Santa Inês em câmara climatizada nas mesmas temperaturas deste experimento, não observou alteração nos mesmos parâmetros clínicos avaliados em função do período do dia, independentemente da temperatura.

Em trabalhos a campo, maiores valores para FC têm sido encontrado. Cesar *et al.* (2004) e Faria (2010), em ensaios com ovinos Santa Inês, encontraram batimentos menores durante o período da manhã em comparação com o período

vespertino.

Cesar *et al.* (2004); Neiva *et al.* (2004); Andrade *et.al* (2007) e Faria (2010) conduzindo trabalhos com ovinos, submetidos ao estresse pelo calor a campo, evidenciaram que o período da tarde em relação ao da manhã, apresentaram temperatura retal superior. O trabalho corrobora com os resultados encontrados por Andrade (2011), também estudando ovelhas mantidas em câmara climatizada, ao atribuir a constância da temperatura na câmara climática e ausência da radiação solar sobre os animais como fatores preponderantes para o resultado mais homogêneo da temperatura retal na comparação entre os turnos.

Nas tabelas 7 e 8 são apresentadas as médias do volume globular, proteínas plasmáticas totais e fibrinogênio plasmático entre os ambientes térmicos e as dietas testadas.

Tabela 7 – Média dos parâmetros hematológicos de ovelhas não gestantes da raça Santa Inês obtidas quando expostas a ambiente de conforto (24°C e 65% UR) e estresse pelo calor (34°C e 50%UR) dentro de câmara climatizada.

Parâmetros hematológicos	Ambiente		
	Conforto	Estresse	CV%
Volume Globular (%)	32,7	32,3	11,197
Proteínas Totais (g/dl)	7,12b	7,41a	71,374
Fibrinogênio (mg/dl)	280,0a	163,3b	88,057

Médias seguidas de letras distintas na mesma linha indicam diferença estatística no teste SNK 5%

Os valores das médias do volume globular (VG) entre os animais submetidos aos diferentes ambientes térmicos não diferiram estatisticamente (Tabela 7). No conforto, observou-se o valor de 32,7, ao passo que no estresse observou-se 32,3. Estes valores encontram-se dentro da normalidade para a espécie segundo (Diffay *et al.*, 2004), que varia entre 27 a 45%.

O estresse pelo calor pode levar a desidratação dos animais em virtude as perdas de água e, conseqüentemente, elevar o volume globular, pois diminui a volemia e propicia maior concentração de células sanguíneas, ou seja, hemoconcentração (Dukes e Swenson, 1996). Nos animais expostos ao estresse pelo calor poderia ser esperado um maior valor do volume globular no grupo estresse deste experimento, devido a maior perda de água pela respiração (elevada freqüência respiratória nos animais no grupo estresse) e sudação (maior taxa de sudação dos animais no grupo estresse), como podemos foi verificado nas tabelas 4 e 11 deste capítulo.

Todavia, a não observação de diferença verificada no valor médio do volume globular dos animais sob estresse, comparado ao grupo conforto, pode ser explicada pelo maior consumo de água verificado nos animais no grupo estresse, como apresentado na tabela 6 do capítulo 3, compensando assim a perda de água e não permitindo decréscimo acentuado na volemia.

O volume globular e proteínas plasmáticas totais são influenciados, entre outros fatores, pela hidratação. Em animais desidratados pode ocorrer elevação dos dois parâmetros (Meyer, 1995). No presente experimento ocorreu elevação da concentração plasmática de proteínas totais no grupo estresse, embora dentro dos limites de referência para a espécie, mas não do VG.

Outra possibilidade seria uma diminuição no número de hemácias devido à desidratação, levando a hemoconcentração, perda de hemácias por destruição em função da maior atividade que é submetida no processo de estresse térmico cutâneo e aumento da freqüência respiratória. Lee *et al.* (1974) ,estudando o efeito de estresse em bovinos, observaram que os animais apresentaram uma redução do número de hemácias, hemoglobina e do volume globular, em virtude da hemoconcentração decorrente da redução da ingestão de alimentos, água e maior destruição.

Ainda na tabela 7, observa-se que houve significância estatística ($P < 0,05$) entre diferença nos valores de proteínas plasmática total nos ambientes térmicos. No conforto, a média foi de 7,12 g/dl, enquanto o valor foi superior no estresse, 7,41 g/dl. Apesar da diferença entre ambientes, ambos os valores encontram-se dentro da normalidade da espécie, entre 6 a 7,5 g/dl.

As proteínas totais do plasma são compostas por albumina e globulinas. As globulinas são compostas por dezenas de diferentes proteínas, como a haptoglobina, ceruloplasmina, proteína C reativa, ferritina, fibrinogênio e imunoglobulinas (Swenson e Reece, 1996).

Casamassima *et al.* (2008) e Caldeira *et al.* (2007) observaram que valores mais elevados de proteínas plasmáticas são encontrados em animais sob melhor condição alimentar e, conseqüentemente, melhor condição corporal. Além disso, estes autores verificaram que a concentração sérica de proteínas plasmáticas estão mais ligadas a variações da albumina, a mais instável das proteínas.

Também Antunović *et al.* (2003) e Baumgartner e Pernthaner (1994), observaram que os valores de proteínas plasmáticas total estiveram mais elevados nas ovelhas durante o verão quando comparado ao inverno. Resultados semelhantes foram obtidos neste estudo.

Essa maior estabilidade de globulinas em relação à albumina, mesmo em animais sob variação nutricional, ressalta o importante papel que estas proteínas desempenham na defesa imunológica do organismo (Lynch e Jackson, 1983; Shetaewi e Ross, 1991). Braun *et al.* (2010) afirmou haver elevação das proteínas totais devido a um processo inflamatório crônico. Este mecanismo talvez tenha ocorrido neste experimento em ocasião da presença do estresse pelo calor.

A média encontrada para os valores de fibrinogênio plasmático foram respectivamente de 280,0 e 163,3 para conforto e estresse, tendo apresentado diferença estatística ($P < 0,05$). Mesmo apresentando esta diferença, ambos os valores encontram-se bem próximo a mensuração mínima aceita para a espécie, em torno de 100 e 500 mg/dL (Diffay *et al.*, 2004; Viana, 2007).

Faria (2010) encontrou em ovelhas Santa Inês valores de fibrinogênio variando entre 204 e 307 mg/dl. Tais valores são superiores aos encontrados neste trabalho, todavia, também mais próximos ao limite inferior da normalidade da espécie reportado na literatura.

Em ruminantes, o fibrinogênio é frequentemente utilizado como indicador de processo inflamatório, já que atua como proteína de fase aguda positiva, isto é, tem sua concentração aumentada nos processos inflamatórios (Lopes e Cunha

2002). Isso é possível devido ao aumento da síntese de fibrinogênio pelos hepatócitos, que é resultante do estímulo de Interleucina-1 e 6, os quais são liberados durante os eventos estressores (Jain, 1993).

No presente experimento a concentração de fibrinogênio não acompanhou a elevação de proteínas totais nos animais do estresse térmico. Ao contrário, observou-se menor concentração do fibrinogênio nestes animais. Estes resultados associados indicam a não ocorrência de processo inflamatório nos animais estressados e sugerem que o aumento de proteínas totais ocorreu devido à desidratação, embora a ausência da determinação da concentração sérica de albumina, um melhor marcador de desidratação, dificulte a interpretação.

Tabela 8 – Comparação entre as médias dos parâmetros hematológicos de ovelhas não gestantes da raça Santa Inês alimentadas com dietas distintas.

Parâmetros hematológicos	Dietas					CV%
	PC	MI	L10	L15	L20	
Volume globular (%)	31,75	31,66	33,92	33,50	31,75	11,20
Proteínas Totais (g/dl)	7,25	7,03	7,43	7,16	7,48	71,37
Fibrinogênio (mg/dl)	183,3	258,3	225,0	233,3	208,3	88,06

Médias seguidas de letras distintas na mesma linha indicam diferença estatística no teste SNK 5%

Não houve efeito ($P > 0,05$) das dietas sobre os valores médios do volume globular, das proteínas plasmáticas e do fibrinogênio plasmático comparados pelas dietas estudadas (Tabela 8). Caballero *et al.* (1992), estudando ovelhas da raça Manchega, encontraram variação entre 25,5 a 28,3% para ovelhas alimentadas com farelo de trigo, 26,6 a 33% para as alimentadas com cevada e 30,7 a 32,6% para ovelhas alimentadas com farelo de ervilhaça.

Quanto às proteínas plasmáticas, sugere-se que, pelo fato das dietas fornecidas serem isoproteicas não tenham influenciado os valores obtidos dos animais, independentemente de sua alimentação.

Para ovelhas da raça Manchega alimentadas com farelo de trigo, Caballero *et al.* (1992) encontraram variação nas proteínas plasmáticas totais entre 6,9 e 7,1 mg/ml para as alimentadas com cevada e 30,7 a 32,6% para ovelhas alimentadas com farelo de ervilhaça.

Nas tabelas 9 e 10 são apresentadas as médias do valor de glicemia encontrado nos animais submetidos aos ambientes conforto e estresse, bem como entre as dietas e tempos de coleta sanguínea estudados.

Tabela 9 – Média da glicemia de ovelhas não gestantes da raça Santa Inês obtidas quando expostas a ambiente de conforto (24°C e 65% UR) e estresse pelo calor (34°C e 50%UR) dentro de câmara climatizada.

Ambiente	Glicemia (mg/dl)
Conforto	55,66b
Estresse	59,64a

Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem entre si no teste SNK e Tukey a 5%. CV = 13,08%.

Foi observado efeito do ambiente térmico sobre a glicemia das ovelhas, sendo que as mantidas em conforto apresentaram os valores de 55,66 e às submetidas ao estresse pelo calor de 59,64 mg/dl. Macedo Júnior (2008), estudando ovelhas da raça Santa Inês em temperatura ambiente de conforto térmico, observou uma média da glicemia de 50,54 mg/dl.

Nos ruminantes, pouca glicose proveniente do trato digestivo entra na corrente sanguínea. O fígado é o órgão responsável por sua síntese, a partir de moléculas precursoras (ácido propiônico, aminoácidos gliconeogênicos e glicerol) na via da gliconeogênese (VanSoest, 1994).

O teor de glicose sanguínea tem poucas variações em função dos mecanismos homeostáticos bastante eficientes do organismo, os quais envolvem o controle endócrino por parte da insulina e do glucagon sobre o glicogênio e dos glicocorticóides sobre a gliconeogênese (Mayes e Bender, 2003).

Isso se explica pelo fato de que os animais submetidos a qualquer agente estressor, sendo nesse caso, a temperatura, o eixo hipotálamo-hipófise-adrenais é ativado, culminando com o lançamento de hormônios glicocorticóides na circulação sanguínea, como o cortisol (Caroprese, 2008), que tem a capacidade de aumentar a taxa de glicose sanguínea pela neoglicogênese (Swenson e Reece, 1996).

Tabela 10 – Comparação entre as médias da glicemia de ovelhas não gestantes da raça Santa Inês em tempos distintos, alimentadas com diferentes dietas.

Glicemia (mg/dl)				
Dieta				
PC	MI	L10	L15	L20
52,63b	55,92b	55,45b	61,25a	63,02a
Tempo				
0	3	6	9	
56,51	57,61	59,03	57,46	

CV = 14,19%

O grupo L20 apresentou o valor mais elevado, 63,02 mg/dl, seguido pelo grupo L15, 61,25 mg/dl, ao passo que o grupo MI apresentou 55,92 mg/dl, o L10 55,45 mg/dl e o PC 52,63 mg/dl (Tabela 10).

Os valores glicêmicos mais baixos encontram-se próximos aos encontrados por Macedo Júnior (2008), trabalhando com ovelhas Santa Inês gestantes, que variaram entre 46,74 e 57,1 mg/dl, com média de 50,54 mg/dl. Sabe-se que a

alimentação destes animais era feno de *tifton* e concentrado a base de milho e soja.

Estes valores encontram-se próximos aos encontrados por Andrade (2011), testando diferentes níveis de inclusão de milho expandido na dieta total, que variaram entre 65,4 a 67,8 mg/dl, ou seja, que utilizaram como fonte alimentar o amido.

Os ruminantes dependem da gliconeogênese para manter concentrações plasmáticas de glicose, não sendo um eficiente utilizador de glicose exógena. O fígado de animais ruminantes, apesar de apresentar grande capacidade de produzir glicose por intermédio de outros intermediários, tal qual o glicerol, tem o ácido propiônico como seu principal precursor Ørskov (1986).

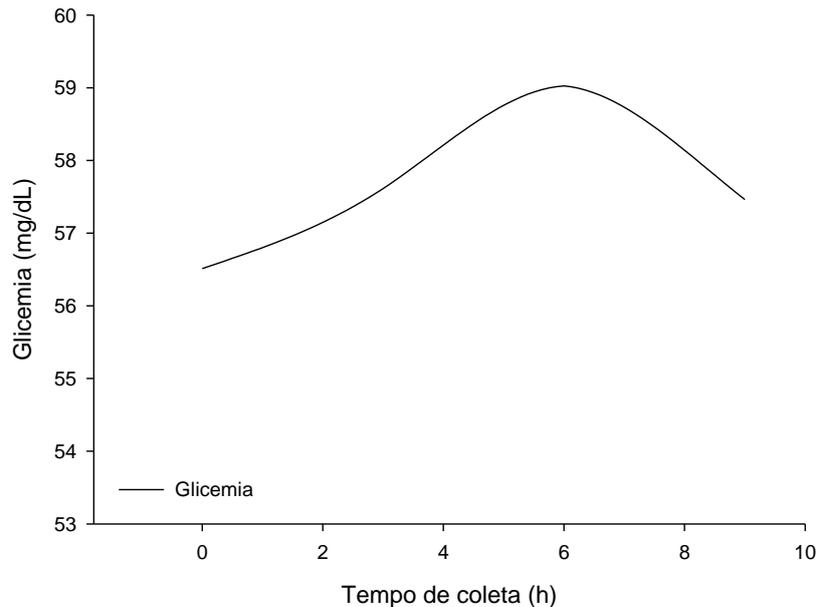
No ruminante, o amido passa primeiro por fermentação microbiana no rúmen, com conseqüente produção de células microbianas e ácidos graxos voláteis (AGV), sendo a principal fonte de alimento precursora do ácido propiônico, e o que não é transformado sofre, posteriormente, digestão enzimática no intestino delgado com liberação de glicose (VanSoest, 1994).

A presença de lipídeo no rúmen tem sido associada à diminuição na digestibilidade da fibra neste compartimento gástrico. Em excesso pode diminuir a formação de metano, o que leva ao excesso de hidrogênio no rúmen, resultando no aumento da produção de ácido propiônico (Van Soest, 1994).

O excesso de ácido propiônico leva à redução no crescimento das bactérias celulolíticas, além de ocorrer significativa redução de protozoários no rúmen, diminuindo, desta forma, a digestibilidade da fibra (Van Soest, 1994). Esta diminuição dos protozoários poderia também resultar numa maior disponibilidade de amido no rúmen, uma vez que menos amido seria engolfado, tornando assim uma maior concentração de amido disponível de forma mais rápida.

Vale ressaltar que o concentrado da dieta L20 apresenta 43,3% de milho e sua proporção na dieta total é a maior, 37,8% na dieta total. O concentrado da dieta L15 acompanha em parte este comportamento, apresenta 43,6% de milho e representa 28% da dieta total.

Observou-se que o pico de glicose ocorreu as 6h pós alimentação (Gráfico 1 e Tabela 10), independente da dieta fornecida, obtendo média geral de 59,03. Este tempo do pico também foi observado por Macedo Júnior (2008), em ovelhas Santa Inês gestantes, no entanto, obtendo valor de 52,6 mg/dl nos respectivos tempos.



Tempos: 0 – jejum; 3 – 3h horas após alimentação; 6 – 6h após alimentação; 9 – 9h após a alimentação.

Gráfico 1 – Curva glicêmica média dos animais estudados.

Faria (2010), estudando ovelhas Santa Inês, também observou o pico no período entre 4 e 6h, com os valores variando entre 57,28 e 64,36 mg/dl. Lopéz e Stumpf Júnior em 2000, verificaram que em carneiros alimentados com dietas ricas em grãos de sorgo, predomínio de aminoácidos, apresentaram o pico de glicose entre 4 e 6h após a alimentação, variando o valor no pico entre 60,9 e 83,9 mg/dl dentro dos tratamentos propostos.

Os valores glicêmicos são influenciados pela taxa de degradabilidade e fermentação ruminal do alimento. Dietas com predomínio de carboidratos tendem a alcançar valores mais elevados no pico, bem como em períodos mais próximos

à alimentação (Berchielli, 2006), conforme observado comparando dados da literatura.

Na tabela 11 estão apresentados os valores médios da taxa de sudorese para os animais diante dos tratamentos térmicos e dietéticos

Tabela 11 – Média da taxa de sudorese de ovelhas não gestantes da raça Santa Inês obtidas quando expostas a ambiente de conforto (24°C e 65% UR) e estresse pelo calor (34°C e 50%UR) dentro de câmara climatizada alimentadas com dietas distintas.

Variáveis	Taxa Sudorese (g.m ⁻² .h ⁻¹)
Conforto	52,43b
Estresse	125,38a
Polpa	85,42
Milho	102,20
Linhaça 10%	96,13
Linhaça 15%	97,45
Linhaça 20%	63,32
Média	88,90
Manhã	92,88
Tarde	84,93

Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna indicam diferença estatística no teste SNK 5%. CV = 47,54% para tratamento térmico e 64,8% para dietas e ambientes testados.

Como observado na tabela 11, houve aumento da taxa de sudação nos animais quando comparado o ambiente estresse em relação ao conforto, apresentando valores de 125,38 e 52,43 g.m⁻².h⁻¹ respectivamente. Não sendo observada

diferença ($P>0,05$) entre as dietas testadas, bem como período do dia, manhã e tarde.

Todas as ovelhas, independente da dieta consumida, apresentaram maior taxa de sudação e, como pode ser observado na tabela 6 do capítulo 3, ingestão hídrica, quando submetidas ao estresse pelo calor.

A sudorese é uma estratégia para manutenção da temperatura corporal controlada pelo hipotálamo. O suor, nada mais é que a perda de água e sais minerais que, quando evapora na superfície da pele, promove um efeito de perda de calor. Como essa perda excessiva de água causa uma desidratação no animal, o mesmo é estimulado a repô-la, tendo assim um aumento compensatório no consumo hídrico (Pereira, 2005).

Andrade (2011) não observou diferença na taxa de sudorese quando comparados os grupos conforto e estresse em sua pesquisa, obtendo valores entre 174,6 e 133,5 respectivamente. Silva *et al.* (1990), trabalhando com ovinos deslançados em temperaturas de 25 e 35°C encontrou maiores valores da taxa de sudorese na temperatura mais elevada, tendo, no entanto, atribuído, essa diferença aos maiores valores de umidade relativa do ar encontrados junto a esta temperatura. Staling *et al.* (2002) reportou taxas de sudação bem variáveis, como exemplo, Nogueira *et al.* (1987) reportaram taxas de 35 a 265 g.m⁻²h⁻¹ em ovelhas Suffolk, Silva *et al.* (1990) 90,6 g.m²h⁻¹ em ovelhas Ideal e Rai *et al.* (1979) citado por Silva *et al.* (1990) de 145,2 a 270,7g.m⁻²h⁻¹ em ovelhas Rambouillet.

Poderiam ser esperadas maiores taxas de sudorese para animais consumindo dietas ricas em carboidratos, devido sua maior fermentação no rúmen, aproximadamente de 3 a 4 horas após a alimentação, e maior incremento calórico, havendo uma maior elevação da temperatura corporal, justificando, assim, a maior taxa de sudação. Além disso, a semente de linhaça apresenta grande quantidade de lipídios, sofrendo pouca fermentação no rúmen e, por esta razão, não há uma produção de energia e calor tão grande como acontece nas dietas com maiores proporções de carboidratos (Berchielli *et al.*, 2006).

Segundo Silva (2000), este teste pode de fato apresentar algumas variações, pois o suor não é secretado continua e ininterruptamente, as glândulas sudoríparas

secretam maiores ou menores volumes em virtude da necessidade, todavia de forma pulsátil.

4 CONCLUSÕES

A elevação das médias dos parâmetros clínicos no ambiente submetido a temperatura de 34°C e 50% de umidade relativa do ar foi capaz de provocar estresse pelo calor nos animais estudados, suplantando a ótima capacidade adaptativa de ovinos nativos deslanados.

As dietas testadas não influenciaram os parâmetros clínicos, hemtológicos e taxa de sudação, independente do tratamento térmico.

5 REFERÊNCIAS

ANDRADE, P. *Efeito do estresse calórico e do milho expandido em parâmetros digestivos e fisiológicos em ovinos*. 2011. 68f. Dissertação (mestrado) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

ANDRADE, I. S.; SOUZA, B. B.; PEREIRA FILHO, J. M. *et al.* Parâmetros fisiológicos e desempenho de ovinos santa inês submetidos a diferentes tipos de sombreamento e a Suplementação em pastejo¹. *Ciênc. Agrotec.*, v.31, n.2, p.540-547, 2007.

ANTUNOVIĆ, Z., SENČIĆ, D., ŠPERANDA M., LIKER, B. Influence of the season and the reproductive status of ewes on blood parameters. *Small Ruminant Res.*, v.45, n.1, p.39-44, 2003.

BACCARI JUNIOR, F. Métodos e técnicas de avaliação da adaptabilidade dos animais às condições tropicais. In: SIMPOSIO INTERNACIONAL DE BIOCLIMATOLOGIA ANIMAL NOS TRÓPICOS: PEQUENOS E GRANDES RUMINANTES, 1., 1990, Sobral, CE. *Anais...* Sobral: Embrapa-CNPC, 1990. p.9-17

BAÊTA, F. C.; SOUZA, C. F. *Ambiência em edificações rurais: conforto animal*. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1997. 246p.

BAUMGARTNER, W.; PERNTHANER, A. Influence of age, season, and pregnancy upon blood parameters in Austrian Karakul sheep. *Small Ruminant Res.*, v.13, n.2, p.147–151, 1994.

BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. *Nutrição de ruminantes*. Jaboticabal: Funep, 2006. p.151-182.

BERMAN, A. Thermoregulation in intensely lactating cows in near-natural conditions. *J. Physiol.*, v.215, n.2, p.477–481, 1971.

BIANCA, W. Reviews of the progress of dairy science. Section A. Physiology. Cattle in a hot environmental. *J. Dairy Res.*, v.32, n.3, p.291-345, 1965.

BITMAN, J.; LEFCOURT, A.; WOOD, D.L. *et al.* Circadian and ultradian temperature rhythms of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v.67, n.5 p 1014-1023, 1984.

BRAUN, J. P.; TRUMEL, C.; BÉZILLE, P. Clinical biochemistry in sheep: a selected review. *Small Ruminat Res.*, v.92, n.1-3, p.10-18, 2010.

BROSH, A.; AHARONI, Y.; DEGEN, A. A. *et al.* Effects of solar radiation, dietary energy, and time of de feeding on thermoregulatory responses and energy balance in cattle in a hot environment. *J. Anim. Sci.*, v.76, n.6, p.2671-2677, 1998.

CABALLERO, E; FERNANDEZ, E.; RIOPEREZ, J. Some blood and rúmen constituents in Manchega ewes grazing cereal stubbles and cultivated pastures. *Small Ruminant Res.*, v.7, n.4,p.331-345, 1992.

CALDEIRA, R. M. ;BELO, A. T.: SANTOS, C. C. *et al.*The effect of long-term feed restriction and over-nutrition on body condition score, blood metabolites and hormonal profiles in ewes. *Small Ruminant Res.*, v.68, n.3, p.242-255, 2007.

CAROPRESE, M. Sheep housing and welfare. *Small Ruminant Res.*, v.76, n.1-2, p.21-25, 2008.

CASAMASSIMA, D.; PIZZO, R. R.; PALAZZO, M. *et al.* Effect of water restriction on productive performance and blood parameters in comisana sheep reared under intensive conditions. *Small Ruminant Res.*, v.78, n.1-3, p.169–175, 2008.

CESAR, M. F.; SOUZA, B. B.; SOUZA, W. H. Avaliação de parâmetros fisiológicos de ovinos Dorper, Santa inês e seus mestiços perante condições climáticas do trópico semi-árido nordestino. *Ciênc. Agrotec.*, v.28, n.3, p.614-620, 2004.

DIFFAY, B. C.; McKENZIE, D.; WOLF, C.; PUGH D. G. Abordagem e exame de ovinos e caprinos. In: CLÍNICA de ovinos e caprinos. São Paulo: Roca, 2004. 513p.

DUKES, H. H.; SWENSON, H. J. *Fisiologia dos animais domésticos*. 11.ed. Rio de Janeiro: [s.n.], 1996. 856p.

DWYER, C. M. Welfare of sheep: providing for welfare in an extensive environment. *Small Ruminant Res.*, v.86, n.1-3, p.14–21, 2009.

FARIA, W.G. *Aspectos fisiológicos de ovelhas Santa Inês alimentadas com distintas dietas durante dois períodos climáticos em Pedro Leopoldo-MG*. 2010. 84f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG.

HAFEZ, E. S. S. *Adaptación de los animales domésticos*. Barcelona: Labor, 1973. 563p.

JAIN, N.C. *Essentials of veterinary hematology* .4.ed. Philadelphia: Lea e Fediger, 1993. 417p. Cap.2: Comparative hematology of domestic animals, p.19-53.

KADZERE, M. R.; MURPHY, N.; SILANIKOVE, E. Heat stress in lactating dairy cows: a review. *Livest. Prod. Sci.*, v.77, n.1, p.59-91, 2002.

LEE, J. A.; ROUSSEL, J. D.; BEATTY, J. F. Effect of temperature season on bovine adrenal cortical function, blood cell profile, and milk production. *J Dairy Sci.*, v.59, n.1, p.104-108, 1974.

LEGATES, J. E.; FARTHING, R. B.; CASADY, M. S.; BARRADA, M. S. Body temperature and respiratory rate of lactating dairy cattle under field and chamber conditions. *J. Dairy Sci.*, v.74, n.8, p.2491-2500, 1991.

LÓPEZ. J.; STUMPF JUNIOR, W. Influência do grão de sorgo como fonte de amido em ovinos alimentados com feno: parâmetros plasmáticos. *Rev. Bras. Zootec.*, v.29, n.4, p.1183-1190, 2000.

LYNCH, G. P.; JACKSON JR., C. Metabolic responses of ewes to different protein intakes during late gestation. *Can. J. Anim. Sci.*, v.63, p.595–601, 1983.

MACEDO JUNIOR, G. L. *Exigências nutricionais de ovelhas gestantes da raça Santa*. 2008. 291f. Tese (Doutorado) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

MAYES, P. A.; BENDER, D. A. Gluconeogenesis & control of the blood glucose. In: MURRAY, R. K.; GRANER, D. K.; MAYES, P.A. *et al.* (Eds.). *Harper's illustrated biochemistry*. New York: McGraw-Hill, 2003. p.153-162.

MEYER, D. J.; COLES, E. H.; RICH, L. J. *Medicina de laboratório veterinária: interpretação e diagnóstico*. São Paulo: Roca LTDA, 1995. 308p.

McDOWELL, R. E. *Bases biológicas de la producción animal em zonas tropicales*. Zaragoza: Acribia, 1974, 692p.

MOTA, L. S. *Adaptação e interação genótipo-ambiente em vacas leiteiras*. 1997. 69f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP.

NAAS, I. A. *Princípios de conforto térmico na produção animal*. São Paulo: Ícone, 1989. 183p.

NUTRIENTS requirements of small ruminants. 6 ed. Washington, DC: National Research Council, 1985. 99p.

NEIVA, J. N. M.; TEIXEIRA, M.; TURCO, S. H. N. *et al.* Efeito do estresse climático sobre os parâmetros produtivos e fisiológicos de ovinos Santa Inês mantidos em confinamento na região litorânea do nordeste do Brasil. *Rev. Bras. Zootec.*, v.33, n.3, p.668-78, 2004.

OLIVEIRA, F. M. M.; DANTAS, R. T.; FURTADO, D. A. *et al.* Parâmetros de conforto térmico e fisiológicos de ovinos Santa Inês, sob diferentes sistema de acondicionamento. *Rev. Bras. Eng. Agríc. Amb.*, v.9, n.4, p631-635, 2005.

ØRSKOV, E. R., Starch digestion and utilization in ruminants. *J. Anim. Sci.*, v.63, n.5, p.1624-1633, 1986.

PEREIRA, J. C. C. *Fundamentos de bioclimatologia aplicados à produção animal.* Belo Horizonte: FEPMVZ, 2005.

RADOSTITTS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C. *et al.* *Medicina veterinária: tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos.* 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002, 1737p. p. 1132-1136.

RIBEIRO, G. C.; GOMES, M. G. T.; SILVA, V. *et al.* Influencia de dietas com diferentes fontes de carboidratos e estresse térmico na taxa de sudação. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE CAPRINOS E OVINOS DE CORTE, 4., 2009, João Pessoa - PB. *Anais...* João Pessoa: [s.n.], 2009.

SHETAEWI, M. M.; ROSS, T. T. Effects of concentrate supplementation and lasalocid on serum chemistry and hormone profiles in Rambouillet ewes. *Small Ruminant Res.* v.4, n.4, p.365-377, 1991.

SISTEMA de análises estatísticas e genéticas. Versão 9.0 Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2007

SILANIKOVE, N. Effects of water scarcity and hot environment on appetite and digestion in ruminants: a review. *Livest. Prod. Sci.*, v.30, n.3, p.175-194, 1992.

SILVA, R. G. *Introdução à bioclimatologia animal*. São Paulo: NOBEL/FAPESP, 2000. 286p.

SILVA, R. G.; COSTA, M. J. R. P.; NOGUEIRA, O. R. Sweating rate of heat stressed sheep. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF BIOMETEOROLOGY, 12., 1990, Viena. *Proceedings...* Viena: International Society of Biometeorology, 1990. p.64.

SOUZA, D. E.; SOUZA, B. B.; SOUZA, W.H. *et al.* Determinação dos parâmetros fisiológicos e gradiente térmico de diferentes grupos genéticos de caprinos no semi-árido. *Ciênc. Agrotéc.*, v.29, n.1, p.177-184. 2005.

STARLING, J. M. C.; SILVA, R. G.; CERÓN-MuÑOZ, M. *et. al.* Análise de algumas variáveis fisiológicas para avaliação do grau de adaptação de ovinos submetidos ao estresse por calor. *Rev. Bras. Zootec.*, v.31, n.5, p.2070-2077,2002.

SWENSON, M. J.; REECE, W. *Duckes fisiologia dos animais domésticos*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p.615-644.

THRALLL, A. M. *Veterinary hematology and chemical chemistry*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004, 518p., p.301- 328.

VAN SOEST, P.J. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2.ed. Ithaca: Cornell University, 1994. 476 p.

VERÍSSIMO, C. J.; TITTO, C. G.; KATIKI, L. M. *et al.* Tolerância ao calor em ovelhas Santa Inês de pelagem clara e escura. *Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.*, v.10, n.1, p.159-167, 2009

CAPÍTULO 3

Consumo, digestibilidade e comportamento ingestivo de ovelhas Santa Inês alimentadas com diferentes dietas submetidas à ambiente de conforto e de estresse por calor

RESUMO

Este estudo foi conduzido para avaliar o efeito do ambiente térmico (conforto e estresse por calor) e diferentes dietas no consumo, digestibilidade e comportamento ingestivo de ovelhas Santa Inês. Trinta ovelhas adultas não gestantes da raça Santa Inês, entre dois e cinco anos de idade, seguindo um delineamento experimental inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2x5 (duas temperaturas e cinco dietas) foram alimentadas com dietas a base de feno de tifton 85 picado e concentrados que variavam entre polpa cítrica, milho e níveis crescentes de inclusão de semente de linhaça, submetidas a duas temperaturas em câmara climatizada, uma a 24°C e 65% de umidade relativa do ar e outra a 34°C e 50% de umidade relativa do ar, sendo avaliado seus respectivos consumos e digestibilidade dos alimentos. De modo geral, foi observada redução do consumo de matéria seca, 959,28Kg/MS no ambiente conforto, 800,06Kg/MS no estresse por calor e 1046,99Kg/MS no período após o estresse, bem como de alguns nutrientes durante o ambiente de estresse, seguido por aumento compensatório após saírem desta condição. Houve aumento do consumo de água no estresse, 3,85L, 2,36L no conforto e 2,46L no período pós estresse. Mesmo em câmara climatizada os animais mantiveram seu hábito de alimentação diurna, com descanso e ruminação noturna. As dietas a base de lipídios não interferiram positivamente no consumo.

Palavras chave – balanço de nitrogênio; balanço hídrico; linhaça marrom; polpa cítrica; milho.

ABSTRACT

This study was developed to evaluate the effect of thermal environment (comfort and heat stress) and different diets on intake, digestibility and feeding behavior of Santa Inês ewes. Thirty non-pregnant Santa Inês ewes, between two and five years old, following a completely randomized experimental design in a factorial 2x5 (two temperatures and five diets) arrangement were fed with diets based on tifton 85 hay and concentrated from citrus pulp, corn and increasing levels of inclusion of brown flaxseed, subjected to two temperatures in climatic chamber, one at 24°C and 65% relative humidity and another at 34°C and 50% relative humidity air, being evaluated their respective intake and digestibility of food. Overall, there was a decrease of dry matter intake, 959.28 kg/DM under environmental comfort, 800.06 kg/DM under stress and 1046.99 kg/DM in the period after stress, as well as of some nutrients under the environment stress, followed by a compensatory increase after leaving this condition. There was increased intake of water under stress, 3.85L; 2.36L in comfort and 2.46L in the post stress. Even being in climatic chamber the animals maintained their habit of feeding during daytime, with rest and rumination nighttime. The lipid based diets did not affect positively on intake.

Keywords – nitrogen balance; water balance; brown flaxseed; citric pulp; corn.

1 INTRODUÇÃO

Um dos pontos importantes que pode limitar o nível de produtividade na ovinocultura, isto é, maiores ganhos de peso em um intervalo mais curto de consumo voluntário (Macedo Júnior, 2008). A capacidade dos animais de consumir alimentos em quantidades suficientes para alcançar suas exigências de manutenção e produção é um dos fatores mais importantes em sistemas de produção, principalmente se esses forem em grande parte dependentes de volumosos (Sniffen *et al.*, 1993).

Mertens (1994) e Sniffen *et al.* (1993) dividem em três os mecanismos capazes de interferir no consumo de alimentos pelos animais: o psicogênico, que envolve a resposta animal a fatores inibidores ou estimuladores relacionados ao alimento e ao ambiente; o fisiológico, no qual o controle é feito pelo balanço nutricional da ração, relacionado à manutenção do equilíbrio energético; e o físico, associado à capacidade de distensão do rúmen e ao teor de FDN da ração.

Constantemente, os animais estão expostos e são afetados por diferentes componentes climáticos. Para manter a temperatura corporal relativamente constante, os animais homeotérmicos devem balancear o calor produzido no seu metabolismo e aquele absorvido do ambiente. Este balanço pelo calor é alcançado através de ajustes dos mecanismos termorregulatórios fisiológicos, morfológicos e comportamentais. Durante o estresse pelo calor, os ovinos apresentam redução do consumo de matéria seca e, principalmente em dietas a base de forragens, ocorre o aumento na digestibilidade dos nutrientes devido à redução da taxa de passagem. Esta redução da taxa de passagem ocorre não somente pela redução do consumo, mas também pode ser efeito da menor produção de hormônios tireoidianos que ocorre durante o estresse por calor e, que, por conseguinte reduz a motilidade do trato gastrointestinal (Nutrient ..., 1981).

Durante o estresse pelo calor há um aumento das exigências nutricionais dos animais. Associado à redução de consumo, este fato pode gerar um déficit nutricional com interferências significativas no desempenho dos animais. Assim, aumentar a densidade nutricional da dieta torna-se uma ferramenta importante (West, 2003). A alta eficiência do metabolismo e o menor incremento pelo calor

sugerem que os lipídios são subvalorizados pelos sistemas de avaliação de alimentos quando são fornecidos em ambientes acima da zona termoneutra dos animais (Coppock, 1985).

Alguns ingredientes dietéticos apresentam características peculiares que permitam ao nutricionista utilizá-los em situações distintas. O milho, por exemplo é a principal fonte de energia utilizada atualmente na formulação de dietas para os animais, pois possui alta concentração de amido, além de proteínas, óleos e vitaminas. Por sua vez, a polpa cítrica tem sido escolhida para alimentação dos animais sendo utilizada na ração quando apresenta vantagem econômica em relação ao milho. A semente de linhaça é um alimento rico em lipídios, os quais são fontes nutricionais interessantes por possuírem cerca de 2,25 vezes mais energia bruta do que carboidratos e proteínas e menor incremento pelo calor, podendo ser utilizados em momentos de baixa ingestão e estresse térmico como forma de atingir a demanda nutricional.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o consumo e digestibilidade de dietas com diferentes composições em função do ambiente térmico, temperatura (conforto e estresse por calor), bem como o comportamento ingestivo dos animais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido sob aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFMG (CETEA), protocolo: 77/2006 (Avaliação do estresse pelo calor e seus efeitos nas respostas fisiológicas de ovinos da raça Santa Inês).

O trabalho foi realizado no Laboratório de Calorimetria e Metabolismo Animal do Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, localizada em Belo Horizonte, Minas Gerais. O experimento apresentou um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial de 2x5 (dois tratamentos térmicos e cinco dietas) com parcelas subdivididas (dois tratamentos climáticos nas parcelas e cinco dietas nas subparcelas).

Foram utilizadas 30 ovelhas adultas não gestantes da raça Santa Inês, entre 2 e 5 cinco anos de idade, distribuídas em cinco grupos de manejo alimentar, todas passando por dois tratamentos térmicos em câmara climatizada (Tabela1). O monitoramento da temperatura e umidade relativa do ar no interior da câmara climatizada ocorreu por meio da média entre os valores obtidos na leitura entre dois termohigrômetros digitais de máxima e mínima (Equitherm®) dispostos em extremidades opostas do recinto, ao passo que a temperatura externa, ou seja, no interior do galpão experimental ocorreu por leitura em termohigrômetro idêntico aos colocados no interior da câmara. Para título de averiguação destes aparelhos, cada ambiente experimental era guarnecido com um termo higrômetro analógico de bulbo seco e úmido (5203.03.0.00 - Incoterm®) para comparação entre as aferições.

Tabela. 1– Média das temperaturas (T°C) e umidades relativas do ar (UR%) encontradas nos ambientes de conforto e estresse térmico dentro de câmara climatizada, e adaptação e pós estresse dentro de galpão experimental.

	Adaptação					
	T (°C)	Tmín (°C)	Tmax (°C)	UR (%)	URmín (%)	URmax (%)
Manhã	23,0	22,64	23,36	50,97	43,47	58,30
Tarde	22,9	22,62	23,37	50,95	43,51	58,27
Geral	23,0	22,63	23,37	50,96	43,50	58,29
	Conforto Térmico					
	T (°C)	Tmín (°C)	Tmax (°C)	UR (%)	URmín (%)	URmax (%)
Manhã	24,35	23,57	25,29	64,63	56,84	69,98
Tarde	24,40	23,63	25,33	64,91	57,08	70,42
Geral	24,40	23,61	25,33	64,50	56,74	69,87

Estresse pelo Calor						
	T (°C)	Tmín (°C)	Tmax (°C)	UR (%)	URmín (%)	URmax (%)
Manhã	33,89	32,57	35,21	49,47	38,47	61,50
Tarde	33,83	32,51	35,14	49,49	38,53	61,48
Geral	33,86	32,54	35,17	49,48	38,50	61,49

Pós Estresse pelo Calor						
	T (°C)	Tmín (°C)	Tmax (°C)	UR (%)	URmín (%)	URmax (%)
Manhã	22,86	20,90	24,71	46,40	34,50	61,20
Tarde	23,13	21,10	24,79	45,16	33,97	59,26
Geral	23,15	21,13	24,86	45,34	34,13	59,66

T (°C) temperatura do ar; Tmín (°C) temperatura mínima do ar; Tmax (°C) temperatura máxima do ar; UR (%) umidade relativa do ar; URmín (%) umidade relativa mínima do ar; URmax (%) umidade relativa máxima do ar.

As ovelhas permaneceram alojadas em gaiolas metabólicas durante todo o período experimental.

Inicialmente passaram por um período de adaptação a gaiola e a dieta por 21 dias, em galpão experimental, quando, em seguida, passaram para exposição aos tratamentos térmicos na câmara climatizada, isolada por material adiabático onde as temperaturas do ambiente e a umidade relativa do ar podiam ser controladas, por 15 dias em cada ambiente. A luminosidade dentro da câmara climatizada foi controlada por um temporizador digital, tendo as luzes acesas diariamente às seis horas e desligada às 19h e 30 min., totalizando 13h e 30 min. de luz diárias. Entre cada um dos tratamentos térmicos, as ovelhas permaneceram alojadas em gaiolas metabólicas, porém fora da câmara climatizada, em um galpão coberto, durante 15 dias, submetidas à semelhante período de luminosidade e temperatura iguais a do período de adaptação.

Ao serem acomodados nas gaiolas de metabolismos, os animais foram vacinados contra as principais espécies de *Clostridium sp* e desverminados. Após 21 dias da everminação, realizou-se exame de OPG para verificar a infestação de verminoses e eiméria, e proceder a desverminação caso houvesse necessidade. No momento em que foram colocadas nas gaiolas, as ovelhas foram pesadas em balança móvel para ovinos (602-SM, Açôres®), com escala de 100g e avaliado o escore de condição corporal (apalpação da região dorso lombar e dado um valor que variava de zero a cinco (Tabela 2). A cada 15 dias esse processo foi repetido. Os animais receberam brincos para identificação, a fim de que pudessem ser distribuídos nos tratamentos corretamente.

Tabela. 2 – Peso médio de ovelhas não gestantes da raça Santa Inês no início do experimento e ao final de cada tratamento térmico proposto, conforto e estresse pelo calor.

	Peso (kg)	Escore Corporal
Inicial	42,50	2,40
Conforto	43,95	2,45
Estresse por calor	41,74	2,38

O fornecimento das dietas baseou-se em 3% do peso vivo dos animais, de acordo com o Nutrient... (1985), calculadas para condições isoprotéicas e isoenergéticas, com aproximadamente 14% de proteína bruta e 65% de NDT, sendo compostas, uma com predomínio de polpa cítrica, outra de milho moído e, as demais com crescentes níveis de inclusão de semente de linhaça marrom na dieta (10%, 15%, 20% de inclusão) (Tabela 3). O volumoso fornecido foi feno de Tifton 85, picado a cinco centímetros aproximadamente.

Tabela. 3 – Composição bromatológica das dietas e proporção dos ingredientes no concentrado

Dietas					
	Polpa Cítrica	Milho	Linhaça 10%	Linhaça 15%	Linhaça 20%
Concentrado	26,8	25,79	29,3	28,04	37,82
Feno	73,2	74,21	70,7	71,96	62,18
Composição bromatológica na dieta					
MS	87,72	87,66	87,87	88,48	88,46
MO	93,56	95,16	94,82	94,84	93,62
MM	6,44	4,84	5,18	5,17	6,37
FDN	62,65	64,30	61,12	62,73	59,33
FDA	25,64	24,56	24,56	24,55	21,93
PB	13,62	13,86	13,57	13,51	13,89
EE	1,53	1,87	5,28	6,85	8,67
	65	65	65	65	65
Concentrado					
Proporção dos ingredientes (% na MS)					
Polpa cítrica	57,0	-	-	-	-
Farelo de soja	28,3	30,1	9,92	2,1	-
Milho	11,3	68,3	55,63	43,6	43,3
Linhaça	-	-	33,74	53,0	52,6
Calcário	1,9	1,6	-	-	0,17
Fosfato bicálcico	1,6	-	0,71	1,31	3,9

Alimentação era fornecida pela manhã e tarde. O arraçoamento consistia no fornecimento do feno e concentrado em duas refeições, às oito e 16h. A água e o sal mineralizado específico para ovinos (Vacci-pHós, Vaccinar®) eram ofertados diariamente na refeição matutina, sendo cinco litros de água e 100 gramas de sal, quantidades suficientes para a disponibilidade *ad libitum* e possibilitar a mensuração dos consumos. Antes da primeira oferta de alimentos do dia, todas as sobras eram retiradas para determinação do consumo dos alimentos, sendo esta calculada pela diferença entre o que foi ofertado e a sobra.

Os ensaios de digestibilidade aparente tiveram duração de três dias, durante os quais foram coletadas as sobras de alimentos e medidas as produções totais de fezes e urina. Amostras das sobras foram retiradas e pesadas diariamente, obtendo-se uma amostra composta por animal para as sobras ao final do período de coleta e sendo estocadas a -16°C . Para execução das análises laboratoriais, as amostras de sobras foram descongeladas, pré secas em estufa de ventilação forçada a 60°C , moídas em moinhos de facas tipo Wiley com peneira de malha de 1 mm e estocadas para futuras análises laboratoriais.

A coleta total de fezes também foi diária. A produção total teve o peso registrado e fez-se a reserva de uma alíquota de 20 % deste peso. Ao final do experimento também foi preparada uma amostra composta por animal que foi embalada em sacos plásticos individuais e armazenada a -16°C . No final do ensaio foram descongeladas à temperatura ambiente por 12 horas, passadas em peneira de malha grossa, homogeneizadas e pesadas. Após isto, foram acondicionadas em bandejas de alumínio e levadas à estufa de ventilação forçada a 60°C por 72 horas, para a determinação da matéria pré-seca. Foram então moídas em moinho tipo Wiley com peneira de 1 mm e acondicionadas em recipientes plásticos para futuras análises.

Nos baldes coletores de urina foram adicionados 100 mL de ácido clorídrico (HCl 2N) na véspera de cada colheita, evitando-se assim perdas de nitrogênio por volatilização. O volume total de líquido foi mensurado em proveta graduada de vidro para 2L, descontava-se 100ml e retirava-se para cada ovelha uma alíquota de 20% do volume total colhido a cada dia, acondicionada em frascos plásticos (uma amostra composta por animal) e imediatamente congelada a -16°C .

As análises laboratoriais foram realizadas nas dependências do Laboratório de Nutrição Animal da Escola de Veterinária da UFMG. Para as determinações de matéria seca, cinzas, extrato etéreo, proteína bruta, do material analisado seguiu-se a metodologia proposta por Oficial ... (1980). Já para a quantificação da FDN e FDA Van Soest e ROBERTSON (1991). Para estimativa dos carboidratos totais (CHT) usou-se a equação proposta por Sniffen *et al.* (1992), segundo a qual $CHT = 100 - (\%PB + \%EE + \%MM)$ e, para estimativa dos carboidratos não fibrosos (CNF), foi usada a equação preconizada por Hall (2000), qual seja, $CNF = \%CHT - \%FDNCcp$, sendo FDNcp a porção de FDN corrigida para cinza e proteína. Para o cálculo dos nutrientes digestíveis totais no ensaio de digestibilidade (NDT), utilizou-se equação proposta por Weiss (1999): $NDT = [PBD + CNFD + FDNcpD + (EED * 2,25)]$, onde PBD; CNFD; FDNcpD e EED significam, respectivamente, consumos de PB, CNF, FDN e EE digestíveis, com a FDN corrigida para cinza e proteína.

A determinação dos coeficientes de digestibilidade de matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, extrato etéreo, fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido, celulose, hemiceluloses e energia bruta foi feita a partir da seguinte fórmula: $[(\text{Consumo do nutriente em gramas} - \text{quantidade em gramas do nutriente nas fezes}) / \text{Consumo do nutriente em gramas}] / 100$ (Silva e Leão, 1979).

Também calculou-se o balanço de nitrogênio, segundo a fórmula: $[N \text{ ingerido} - (N \text{ fecal} + N \text{ urinário})]$, nitrogênio ingerido (N fornecido - N das sobras).

O comportamento ingestivo foi realizado durante o período de 24 horas, com observações de cinco em cinco minutos sendo as variáveis comportamentais: alimentação, ruminação, ingestão de água, ingestão de sal e ócio. O tempo de mastigação total foi determinado pelo somatório dos tempos despendidos em alimentação e ruminação. A observação noturna dos animais foi realizada mediante o uso de iluminação artificial de lâmpadas fluorescentes. Excepcionalmente neste dia as luzes foram mantidas acesas durante todo o período de avaliação.

Os resultados referentes aos fatores do comportamento ingestivo foram obtidos pelas relações:

Eficiência de alimentação MS (min/kg MS)= consumo de matéria seca / tempo total de alimentação

Eficiência de alimentação de FDN (min/kg FDN) = consumo de FDN / tempo total de alimentação

Eficiência de ruminação MS (min/kg MS) = ruminação de matéria seca / tempo total de ruminação

Eficiência de ruminação FDN (min/kg FDN) = ruminação de FDN / tempo total de alimentação em que:

CMS (Kg) = consumo diário de matéria seca;

CFDN (Kg) = consumo diário de FDN;

Para a análise de variância foi utilizada (ANOVA), considerando-se a ocorrência dos erros (a) e (b), referentes à parcela e subparcela, respectivamente. O teste estatístico, para comparação das médias, foi o SNK (Student-Newman Keuls) com nível de significância de 95% ($P < 0,05$). Todos os dados foram tabulados em planilhas do programa Microsoft Excel (versão 2007) e analisados pelo *software* SAEG (Sistema..., 2007) para permitir a estimativa dos consumos e coeficientes de digestibilidade em níveis das diferentes inclusões, compreendidos no intervalo estudado. A exceção são os resultados apresentados nas tabelas 15, 16 e 17, referentes às observações de etologia, que foram analisados pelo *software* SISVAR (Ferreira, 2000), sendo realizada a transformação logarítima nas médias de consumo de água e sal mineral para atender a curva de normalidade.

O experimento foi conduzido sob aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFMG (CETEA), protocolo: 77/2006 (Avaliação do estresse pelo calor e seus efeitos nas respostas fisiológicas de ovinos da raça Santa Inês).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve interação nas respostas entre os ambientes térmicos e dietas testadas apenas para a variável consumo de extrato etéreo, portanto para as demais variáveis os resultados serão apresentados separadamente.

A tabela 4 apresenta os consumos de nutrientes das ovelhas nos diferentes tratamentos térmicos. Observou-se que o consumo de matéria seca (CMS) e de matéria orgânica (CMO) foi inferior ($P < 0,05$) durante o tratamento de estresse por calor em relação aos períodos de conforto e pós-estresse.

A redução do CMS é uma resposta comum observada em animais sob estresse por calor (Nutrient..., 2001). A termorregulação, definida de forma simples é a forma pela qual os animais mantêm sua temperatura corporal. Este processo envolve o balanço entre o ganho e a perda de calor. O calor metabólico inclui aquele produzido para manutenção mais o incremento para exercícios, crescimento, lactação, gestação e alimentação. Quanto maior a taxa destas atividades, maior será o ganho de calor a partir do metabolismo (Fuquay, 1981). A redução do CMS em ambientes quentes é uma estratégia do animal para reduzir a produção de calor oriundo da fermentação ruminal (Robinson, 1998). Se comparada a recomendação do Nutrient... (1985, 2007) para CMS por ovelhas com 50 kg de PV, de 1,0 kg/d, os animais do presente estudo, durante o estresse, não tiveram sua exigência atendida.

Tabela. 4 - Consumo de nutrientes de ovelhas não gestantes da raça Santa Inês, obtidos quando expostas a ambiente de conforto (24°C e 65% UR) e estresse pelo calor (34°C e 50%UR) dentro de câmara climatizada, e pós estresse pelo calor (23°C e 45%UR).

	Ambiente			
	Conforto	Estresse	Pós-estresse	CV (%)
CMS (g/d)	959,28 a	800,06 b	1046,99 a	23,60
CMSPV (%)	2,21 b	1,88 c	2,52 a	24,42
CMSPM (g/kg ^{0,75})	56,65 b	47,82 c	63,83 a	23,20
CMO (g/d)	903,99 a	752,25 b	986,11 a	23,76
CMOPV (%)	2,09 b	1,76 c	2,37 a	24,53
CMOPM (g/kg ^{0,75})	20,85 b	17,62 c	23,74 a	24,53
CFDN (kg/d)	582,21 b	500,59 b	720,38 a	29,55
CFDNPV (%)	1,35 b	1,17 b	1,73 a	30,69
CFDNPM (g/kg ^{0,75})	34,36 b	29,88 b	43,88 a	29,62
CFDA (kg/d)	193,48	184,41	222,02	39,25
CFDAPV (%)	0,44	0,43	0,53	39,63
CFDAPM (g/kg ^{0,75})	11,39	11,00	13,41	38,91
CPB (g/d)	140,48 b	127,70 b	155,79 a	18,83
CPBPV (%)	0,33 b	0,30 b	0,38 a	22,18
CPBPM (g/kg ^{0,75})	8,32 b	7,68 b	9,54 a	20,22
CMM (g/d)	53,70 a	46,86 b	59,35 a	23,02
CMMPV (%)	0,12 b	0,11 b	0,14 a	22,89
CMMPM (g/kg ^{0,75})	1,23 b	1,09 b	1,43 a	22,89

	Ambiente			
	Conforto	Estresse	Pós-estresse	CV (%)
CEE(g/d)	62,12 a	47,04 b	62,33 a	20,27
CEEPV (%)	0,15 a	0,12 b	0,16 a	27,33
CEEPM (g/kg ^{0,75})	3,73 a	2,90 b	3,94 a	24,64
CCT (g/d)	702,07 a	580,94 b	767,73 a	26,48
CCTPV (%)	1,62 b	1,36 c	1,84 a	26,73
CCTPM (g/kg ^{0,75})	41,38 a	34,61 b	46,62 a	25,71
CCNF (g/d)	240,07 a	201,86 b	248,92 a	20,99
CCNFPV (%)	0,56 a	0,48 b	0,60 a	23,56
CCNFPM (g/kg ^{0,75})	14,20 a	12,12 b	15,22 a	21,69
CNDT (g/d)	697,74 a	567,55 b	786,32 a	25,72
CNDTPV (%)	1,63 b	1,34 c	1,90 a	26,87
CNDTPM (g/kg ^{0,75})	41,46 b	34,02 c	48,05 a	25,67

Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem entre si no teste SNK 5%.

Os CMS e CMO, em %PV e g/kg^{0,75}, foram superiores no período pós-estresse, intermediários no conforto e inferiores no estresse (P<0,05). Segundo Mertens (1994), não há uma base única de peso vivo que possa ser usada para uma ampla variação de qualidade dietética e que remova variações de peso animal, pois ambos os sistemas de controle do consumo, físico e fisiológico, não são influenciados pela mesma relação com o peso vivo do animal. Para dietas ricas em energia, variações na ingestão entre animais podem ser minimizadas pela expressão da ingestão em termos de peso metabólico (PM), a qual provavelmente é limitada pela demanda energética e, esta é geralmente relacionada ao tamanho do corpo metabólico. De forma contrária, em dietas de baixa energia o potencial

de ingestão poderá refletir o seu efeito de repleção mais do que a demanda energética do animal. Assim sendo, acredita-se que no pós estresse os animais apresentaram uma demanda metabólica extra a fim de compensar perdas ocorridas durante o ambiente de estresse, que se refletiram em maior CMS e CMO em %PV e g/PM.

O consumo de fibra em detergente neutro (CFDN), independente da unidade em que foi mensurada, apresentou-se superior ($P < 0,05$) para os animais no ambiente de pós-estresse. Sob condição de estresse pelo calor, a redução do CMS deve-se em grande parte a redução do consumo de fibra, pois geralmente a fermentação deste componente da dieta produz grande quantidade de calor e os ácidos graxos voláteis são utilizados de forma relativamente ineficiente, gerando muito calor durante seu metabolismo. (Robinson, 1998; Forbes, 2007). Apesar disso, no presente estudo, não foi verificada diferença no CFDN das ovelhas entre o conforto e o estresse e acredita-se que esteja vinculado à palatabilidade, em função da seleção pelo feno em detrimento principalmente das dietas contendo semente de linhaça.

O consumo de fibra em detergente ácido (CFDA) das ovelhas foi semelhante nos diferentes ambientes avaliados ($P > 0,05$). Embora o CMS tenha sido superior no pós estresse, sugere-se que a seleção por partes da dieta, mais especificamente por partes do feno com maior valor nutritivo, seja responsável por esse resultado de CFDA, visto que estes animais estavam em fase de recuperação, pois durante o ambiente de estresse apresentaram diminuição do consumo e perda de peso. Forbes e Provenza (2000) afirmam que os animais adaptam-se a escolher os alimentos para adequar o consumo de nutrientes essenciais e que alterações em suas exigências provocam o reaprendizado na seleção, na escolha dos alimentos mais apropriados para a nova realidade.

O consumo de proteína bruta (CPB) foi superior durante o pós estresse em relação aos outros ambientes avaliados ($P < 0,05$). Em relação ao estresse, acredita-se que este comportamento esteja diretamente relacionado com o maior CMS e CMO. Entretanto, em comparação ao conforto acredita-se que seja reflexo do efeito seletivo pelo alimento ou partes do alimento com maior valor nutritivo. A exigência de PB para ovelhas em manutenção, com 50kg de PV, segundo o

Nutrient... (1985) é de 95g/d. Em todos os ambientes avaliados no presente estudo, inclusive durante o estresse, as ovelhas apresentaram um CPB superior ao recomendado, entre 127,70 e 155,79g/d.

O consumo de matéria mineral (CMM), em g/d, foi superior ($P < 0,05$) nos ambientes de conforto e pós estresse em relação ao estresse. Já em %PV e PM, o CMM foi superior somente para os animais durante o pós estresse. Possivelmente, este resultado refletiu a alteração de PV pela qual os animais passaram durante o ambiente de estresse e o aumento da demanda metabólica por nutrientes no período seguinte, por efeito compensatório. Acredita-se também que elevado CMS associado ao efeito de seleção por partes mais nutritivas da dieta estejam envolvidos nesta resposta de CMM, mesmo que a seleção dos alimentos possa ter sido em decorrência do maior teor de energia e/ou proteína.

Houve redução do consumo de extrato etéreo (CEE) das ovelhas durante o ambiente de estresse pelo calor ($P < 0,05$). É provável que um dos fatores envolvidos seja o menor CMS apresentado neste ambiente. O CEE, %PV e PM, foi semelhante entre os períodos de conforto e pós estresse, embora o CMS tenha sido maior durante o pós estresse. Este resultado pode ter ocorrido devido a uma seleção pelos alimentos de menor teor de EE durante o pós estresse, apesar de ser a fração dos nutrientes com maior densidade energética e o período corresponder a um momento de recuperação das perdas ocorridas durante o estresse. Uma possibilidade a ser considerada é a palatabilidade da fonte de lipídio utilizada em três das cinco dietas avaliadas neste experimento, a linhaça. Os animais podem ter apresentado aversão a altas quantidades deste alimento durante o estresse e perdurou no período seguinte.

Quantitativamente, os carboidratos representam a fração que mais contribui energeticamente na dieta dos animais ruminantes. O consumo de carboidratos totais (CCT), em g/d, foi menor durante o período de estresse pelo calor em relação ao conforto e ao pós estresse ($P < 0,05$), que foram estatisticamente iguais ($P > 0,05$). Houve menor CMS e CMO neste período e o CCT pode ter sido uma das causas. Os carboidratos totais envolvem os carboidratos fibrosos (FDN) e não fibrosos (CNF). Uma vez que o CFDN foi semelhante entre o conforto e o estresse, o CCNF apresenta-se como um dos responsáveis pela redução do CMS

e CMO, juntamente com a redução do CEE. Os dados corroboram esta afirmação, já que houve redução significativa no CCNF no estresse em relação ao conforto. Os resultados até o momento apresentados não revelam claramente por que durante o estresse os animais optaram por uma dieta mais fibrosa. Se considerarmos a baixa palatabilidade da linhaça, pode-se inferir que o CCNF tenha sido reduzido por que a linhaça era misturada junto ao concentrado a base de milho e farelo de soja, que representam a fração da dieta com maior CNF.

Como resultado da interferência do estresse pelo calor principalmente sobre o CEE, CCT, CCNF e, conseqüentemente, CMS, verifica-se menor consumo de NDT (CNDT) durante o ambiente de estresse pelo calor, independente da forma em que foi mensurada. Por meio deste resultado fica evidenciado que o EE e o CNF correspondem à uma fração dos nutrientes da dieta com alta densidade energética. O CNDT, %PV e PM, foi maior no pós estresse do que no conforto. Assim, como discutido anteriormente, sugere-se que a perda de peso durante o estresse e o aumento da demanda metabólica no pós estresse sejam responsáveis por estes resultados.

O Nutrient... (1985) recomenda o consumo de 550g/d de NDT para ovelhas em manutenção. O resultado observado no presente estudo parece atender essa demanda, mesmo diante de um gradiente térmico sob calor. Entretanto, vale ressaltar que, segundo Brody (1945) o estresse por calor aumenta as exigências de energia em relação à termoneutralidade. Segundo o Effects... (1981), o estresse pelo calor pode aumentar as exigências energéticas para manutenção em 7 a 25%. O Nutrient... (1981) descreve que o aumento das exigências energéticas dos ovinos durante o estresse pelo calor ocorre devido aos gastos energéticos com o ofego, atividade das glândulas sudoríparas e efeito calorigênico dos hormônios.

O consumo de nitrogênio (N) e o balanço de N das ovelhas nos diferentes ambientes estão apresentados na tabela 5.

Tabela. 5 – Valores médios de Nitrogênio (N) ingerido, N fecal, N urinário, balanço de N (BN) e N retido de ovelhas não gestantes da raça Santa Inês obtidos quando expostas a ambiente de conforto (24°C e 65% UR) e estresse pelo calor (34°C e 50%UR) dentro de câmara climatizada, e pós estresse pelo calor (23°C e 45%UR)

	Ambiente			
	Conforto	Estresse	Pós-estresse	CV (%)
N ingerido (g/d)	22,88 ab	20,74 b	24,73 a	18,56
N fecal (g/d)	6,97 a	5,74 b	6,50 ab	25,41
N urinário (g/d)	5,33 a	3,52 b	4,27 b	46,39
BN	10,58 b	11,48 b	13,96 a	28,70
N retido (% N ingerido)	46,50 b	53,86 a	56,33 a	20,43

Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem entre si no teste SNK 5%

Durante o pós estresse o N ingerido foi maior do que no estresse ($P < 0,05$), provavelmente devido ao maior CMS. Já durante o conforto, o N ingerido foi semelhante aos demais ambientes. Embora o N ingerido tenha sido semelhante, o N fecal durante o estresse foi menor do que no conforto. Pode-se sugerir que o menor consumo e, conseqüentemente, menor taxa de passagem, possa ter aumentado a digestibilidade do N.

O N urinário foi superior no tratamento de conforto em relação aos demais. As perdas de N através da urina são relevantes, no entanto são menores do que as perdas fecais. O N urinário é oriundo da oxidação obrigatória dos aminoácidos e os custos de manutenção resultantes do processo de reciclagem das proteínas (Nutrient..., 2007). Em todos os ambientes os animais apresentaram N urinário baixo, o que pode indicar que os animais estavam reciclando N para atender suas exigências (Macedo Júnior, 2008), entretanto durante o estresse e no pós estresse esse metabolismo foi mais intenso. Macedo Júnior (2008) verificou valores de N fecal e urinário médios de 6,47 e 2,81, respectivamente.

Durante o estresse agudo, além do aumento das exigências nutricionais, os animais apresentam baixo CMS e, em consequência, de N. Já no pós estresse, acredita-se que o metabolismo compensatório, de reposição de perdas ocorridas durante o estresse, pode ter intensificado essa reciclagem. Andrade (2011) também verificou menor N ingerido, N fecal e N urinário ($P < 0,05$) em ovelhas não gestantes da raça Santa Inês quando submetidas a estresse pelo calor, em relação à condição de conforto térmico.

O balanço de N (BN) foi positivo em todos os ambientes avaliados, entretanto foi superior durante pós estresse em relação ao conforto e ao estresse ($P < 0,05$), provavelmente devido a combinação de maior N ingerido e menor N fecal e urinário. A relação entre o nitrogênio retido e o ingerido foi menor durante o conforto. Essa relação indica quanto do nitrogênio retido foi proveniente do ingerido, e durante o estresse e o pós estresse houve maior eficiência de utilização do N ingerido. Isto pode ter ocorrido devido a um provável aumento da exigência de proteína durante o estresse, conforme sugerido por Ames e Brink (1977).

Ames e Brink (1977) avaliaram o BN em cordeiros com quatro meses de idade, sob diferentes temperaturas (de -5 a 35°C) e verificaram que aos 30°C , os animais apresentaram menor N urinário e maior N retido, em relação as demais temperaturas, podendo estar relacionado ao aumento das exigências protéicas no estresse. Aos 35°C , assim como em temperaturas inferiores a 15°C , os animais perderam essa capacidade de retenção. No estresse térmico, os autores sugerem que os animais tiveram que utilizar a proteína como fonte de energia para atender a demanda de manutenção elevada e, dessa forma, o N é excretado na urina em maior quantidade. Os animais do presente estudo foram mantidos a 35°C durante o tratamento térmico de estresse e mesmo assim apresentaram resultados de retenção de N maiores em relação ao conforto, diferentemente dos animais do trabalho de Ames e Brink (1977). Isto provavelmente deve-se a questões de adaptabilidade racial dos animais utilizados nos dois estudos.

Na tabela 6 são apresentados os dados do consumo médio de água (CH_2O) e suas inter-relações e o consumo de sal (CS) e sua inter-relação com o CH_2O ($\text{CS}/\text{CH}_2\text{O}$)

Tabela. 6 - Consumo de água (CH₂O), relação entre consumo de água e consumo de matéria seca (CH₂O/CMS), relação entre consumo de água e consumo de fibra em detergente neutro (CH₂O/CFDN), volume urinário, balanço hídrico, densidade da urina, consumo de sal (CS) e relação entre consumo água e consumo de sal (CH₂O/CS) de ovelhas não gestantes da raça Santa Inês obtidos quando expostas a ambiente de conforto (24°C e 65% UR) e estresse pelo calor (34°C e 50%UR) dentro de câmara climatizada, e pós estresse pelo calor (23°C e 45%UR)

	Ambiente			
	Conforto	Estresse	Pós-estresse	CV (%)
CH ₂ O (L)	2,36 b	3,85a	2,46b	23,46
CH ₂ OPV (%)	5,42 b	8,95a	6,02b	28,54
CH ₂ OPM (g/kg ^{0,75})	0,14 b	0,23a	0,15b	26,16
CH ₂ O/CMS (L/kg)	2,69 b	5,10a	2,50b	33,59
CH ₂ O/CFDN (L/kg)	4,93 b	8,50a	3,50c	43,17
Volume urinário (L)	0,77	0,66	0,55	61,69
Balanço hídrico	1,81 b	3,49a	2,13b	31,59
Densidade urinária	1,025	1,049	0,997	12,27
CS (kg)	0,027	0,027	0,034	49,29
CH ₂ O/CS	0,13b	0,22a	0,10b	100,92

Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem entre si no teste SNK 5%

Verificou-se que o CH₂O foi (P<0,05) no período de calor em relação aos períodos de conforto e pós estresse. Este resultado está de acordo com a resposta fisiológica dos animais sob condição de estresse pelo calor, que aumentam as perdas de água corporal através do aumento da sudorese e da frequência respiratória, como forma de perder água aquecida para o meio (McDowell, 1974). Segundo o Nutrient... (2001), a água é especificamente importante durante o ambiente de estresse pelo calor, aja visto suas propriedades físicas, tais como

condutividade térmica e calor latente de vaporização, que são importantes para a transferência de calor do corpo para o ambiente.

A relação $\text{CH}_2\text{O}/\text{CMS}$ foi maior ($P < 0,05$) no estresse, uma vez que os animais neste ambiente apresentam maior consumo de água e menor CMS, conforme discutido anteriormente. A relação $\text{CH}_2\text{O}/\text{CFDN}$ foi superior ($P < 0,05$) no estresse, intermediária no conforto e inferior no pós estresse ($P < 0,05$). A maior relação verificada no estresse deve-se ao maior consumo de água neste ambiente. Já a diferença entre conforto e pós estresse foi verificada devido ao maior CFDN verificado no pós estresse. Estes fatores estão envolvidos no CH_2O : CMS, %MS da dieta, temperatura ambiente e consumo de sódio (Nutrient..., 2001).

O volume urinário foi semelhante nos diferentes tratamentos ambientais ($P > 0,05$). Segundo Murphy (1992), a excreção urinária de água é positivamente relacionada com a disponibilidade de água, quantidade de água absorvida a partir do sistema digestivo (consumo total menos as perdas fecais), nitrogênio urinário e excreção de potássio urinário e negativamente relacionada com o teor de MS da dieta. No presente estudo, apesar do maior CH_2O durante o estresse, o volume urinário permaneceu constante, provavelmente pelo fato dos animais neste ambiente perderem água em maior quantidade por outras vias, que melhor contribuem para a perda de calor, conforme discutido anteriormente.

O balanço hídrico (BH) foi maior durante o estresse em relação aos demais ambientes. Este resultado provavelmente não condiz com a realidade, pois não foram contabilizadas a perda de água em forma de vapor pela respiração e em forma de suor. Tanto a frequência respiratória como a taxa de sudorese apresentaram-se mais elevadas nos animais expostos à condição de estresse pelo calor, como pode ser verificado na tabelas 4 e 11 do capítulo 2 ($P < 0,05$).

O consumo de sal (CS) foi semelhante para as ovelhas nos diferentes ambientes ($P > 0,05$). A relação $\text{CH}_2\text{O}/\text{CS}$ foi maior durante o estresse ($P < 0,05$) devido ao maior CH_2O verificado durante este tratamento. Andrade (2011) verificou maior CS para ovelhas Santa Inês mantidas em conforto ou estresse, tal como este estudo. É provável que em virtude do alto CV (49,29%) este resultado não tenha sido visualizado, uma vez que animais em estresse térmico aumentam a taxa de sudorese, através da qual ocorre a eliminação significativa de sódio e potássio.

A tabela 7 apresenta os consumos de matéria seca (CMS) e matéria orgânica (CMO) e seus respectivos coeficientes de digestibilidade (DMS e DMO), CMS digestível (CMSD) e CMO digestível (CMOD).

Tabela. 7 - Consumo de matéria seca (CMS) e de matéria orgânica (CMO), coeficiente de digestibilidade da matéria seca (DMS) e da matéria orgânica (DMO) e consumo de matéria seca digestível (CMSD) e de matéria orgânica digestível (CMOD) de ovelhas não gestantes da raça Santa Inês alimentadas com diferentes dietas.

	Dietas					
	Polpa cítrica	Milho	Linhaça 10%	Linhaça 15%	Linhaça 20%	CV (%)
	Conforto					
CMS (g/d)	1076,04	1062,11	955,90	863,09	839,28	25,16
CMSPV (%)	2,33	2,46	2,30	2,01	1,96	28,09
CMSPM (g/kg ^{0,75})	60,68	62,89	58,25	51,36	50,05	26,46
DMS (%)	61	66	65	66	62	10,90
CMSD (g/d)	673,70	698,15	626,87	584,45	522,31	30,95
CMO (g/d)	1010,04	1015,33	903,76	818,31	772,53	25,07
CMOPV (%)	2,19	2,35	2,17	1,91	1,80	28,03
CMOPM (g/kg ^{0,75})	21,86	23,55	21,75	19,06	18,04	28,03
DMO (%)	63	68	66	68	64	10,64
CMOD (g/d)	656,81	688,47	601,36	565,78	492,30	30,60
	Estresse					
CMS (g/d)	1102,29 a	833,13 ab	802,92 ab	708,96 ab	552,99 b	29,02
CMSPV (%)	2,41	1,96	2,11	1,62	1,29	31,84
CMSPM (g/kg ^{0,75})	62,48 a	49,98 ab	52,28 ab	41,45 ab	32,90 b	30,36

Estresse						
DMS (%)	64 ab	66 ab	64 ab	70 a	55 b	12,01
CMSD (g/d)	713,32 a	555,72 ab	525,68 ab	488,09 ab	315,32 b	34,55
CMO (g/d)	1043,61 a	796,39 ab	756,64 ab	670,34 ab	494,29 b	29,91
CMOPV (%)	2,28 a	1,88 ab	1,98 ab	1,53 ab	1,15 b	32,46
CMOPM (g/kg ^{0,75})	22,75 a	18,76 ab	19,83 ab	15,28 ab	11,49 b	32,46
DMO (%)	66	69	66	67	54	14,29
CMOD (g/d)	704,51 a	550,89 ab	508,44 ab	454,25 ab	281,50 b	36,49
Pós-estresse						
CMS (g/d)	1193,57 a	1104,34 ab	1072,92 ab	1045,06 ab	819,04 b	18,29
CMSPV (%)	2,76 a	2,47 ab	2,59 ab	2,70 a	2,08 b	15,07
CMSPM (g/kg ^{0,75})	70,69 a	67,13 a	65,47 a	63,79 a	52,09 b	14,39
DMS (%)	66	67	66	66	65	6,87
CMSD (g/d)	782,52 a	734,96 a	711,30 a	685,91 a	530,85 b	16,89
CMO (g/d)	1114,52 a	1050,24 a	1013,35 ab	992,11 ab	760,31 b	18,23
CMOPV (%)	2,58 a	2,35 ab	2,44 ab	2,57 a	1,93 b	15,00
CMOPM (g/kg ^{0,75})	25,79 a	23,51 ab	24,42 ab	25,65 a	19,31 b	15,00
DMO (%)	68	68	68	68	67	6,54
CMOD (g/d)	753,44 a	718,02 a	684,66 a	669,68 a	506,43 b	16,59

Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem entre si no teste SNK 5%.

Independentemente do tratamento térmico e da forma de mensuração, não foi observada diferença entre CMS, CMO, DMS, DMO, CMSD e CMOD entre as

dietas PC e MI. Estudos em vacas leiteiras mostram (Broderick *et al.*, 2002; Salvador *et al.*, 2008) que a substituição do milho por polpa cítrica reduz o CMS e CMO. Entretanto, Assis *et al.* (2004) avaliaram a substituição parcial ou total do milho por polpa cítrica na dieta de vacas em lactação com uma relação volumosos:concentrado de 55:45, e não verificaram diferença de CMS e de MO com o uso de polpa cítrica. Em dietas de ovelhas em lactação, em dietas contendo 36,7% de concentrado, Fegeros *et al.* (1995) verificaram que o uso de 10% de polpa cítrica (na dieta total) não interfere no consumo e desempenho dos animais.

A polpa cítrica apresenta alto teor de carboidratos solúveis e a sua parede celular é altamente digestível, apresentando em sua composição grande proporção de pectina, um carboidrato estrutural de alta e rápida degradação, prontamente disponível, cujo principal produto final da fermentação é o ácido acético. Entretanto, a digestão ruminal desses carboidratos difere da digestão do amido em potencial de síntese de proteína microbiana no rúmen (Dusková e Marounek, 2001).

A hidratação das partículas alimentares e aumento do volume de digesta, por aumento do seu conteúdo de água, pode ser um mecanismo pelo qual a polpa cítrica reduz o consumo, desde que diferenças no perfil de fermentação ruminal não expliquem o menor consumo nas dietas com polpa cítrica como concentrado energético único (Salvador *et al.*, 2008). No presente estudo, a polpa cítrica substituiu o milho em 83%, em dietas contendo somente 25% de concentrado, perfazendo um total de 15,3% de polpa na dieta total (em % da MS). Provavelmente, a quantidade de polpa cítrica fornecida não é o bastante para provocar o efeito de enchimento ruminal pela sua hidratação.

Embora a semente de linhaça tenha elevado os teores de extrato etéreo nas dietas L10, L15 e L20, em relação às dietas PC e MI (Tabela 3), não se verificou interferência dos lipídios sobre o CMS, CMO, DMS, DMO, CMSD e CMOD ($P > 0,05$), durante o tratamento de conforto térmico. Os animais se alimentam a fim de satisfazer suas exigências de energia, a não ser que fatores limitantes impeçam que isto ocorra, sendo que o volume do alimento é o fator mais comumente considerado (Forbes, 2007).

Infusões intravenosas de emulsões lipídicas deprimem o consumo e este efeito não é acompanhado pelo aumento da concentração de glicose ou insulina, sendo a colecistoquinina (CCK), um hormônio intestinal secretado durante a alimentação e passagem da digesta pelo duodeno, um dos possíveis responsáveis por essa ação (Forbes, 2007). Além disso, o uso de suplementos de lipídios pode diminuir a ingestão de alimentos e reduzir a digestibilidade dos outros ingredientes da dieta, devido às modificações na digestão ruminal (Doreau e Chilliard, 1997). Entretanto, estes possíveis efeitos e suas consequências não foram verificados no presente estudo.

O CMS médio das ovelhas durante o conforto foi de 959,3 g/dia ou 2,2% do peso vivo (PV). O Nutrient... (2007) recomenda um CMS de 811g/d ou 1,90% PV para ovelhas com 42,9 kg. Vale ressaltar que o CMS dos animais, como consequência de suas exigências nutricionais e capacidade do sistema digestivo, pode variar de acordo com a raça, ambiente, tipos de alimentos e densidade energética da dieta, entre outros.

No tratamento de estresse pelo calor, os animais que receberam a dieta L20 apresentaram menor CMS, em g/d e g/kg^{0,75}, em relação àqueles da dieta PC (P<0,05), sendo que esta diferença em PM sugere que houve um efeito de controle do consumo à nível metabólico e/ou fisiológico. As dietas MI, L10 e L15 foram semelhantes a PC e a L20.

O CMSD também foi superior para os animais alimentados com a dieta PC em relação à L20, embora apresentassem mesmo coeficiente de digestibilidade. O CMSD é o produto do consumo pelo seu coeficiente de digestibilidade e, neste caso, a redução do CMS foi determinante para a redução do CMSD. Provavelmente, durante o estresse, a dieta L20 foi capaz de fornecer energia (8,67% de extrato etéreo na MS total) para atender a demanda do animal em um menor consumo, devido à maior concentração energética dos lipídios presentes na linhaça. Já na dieta PC, mesmo em estresse, os animais tiveram que imprimir um maior consumo, devido à menor eficiência energética, com predominância de pectina no concentrado.

Como resposta ao estresse pelo calor, os animais apresentam redução da taxa metabólica e redução do consumo de matéria seca e de nutrientes. Uma

estratégia nutricional para aumentar a densidade energética da dieta é o uso de suplementação lipídica. Além de contribuir com o aumento da densidade energética, os lipídios apresentam baixo incremento pelo calor (West, 1999).

O CMO foi inferior para os animais alimentados com a dieta L20 em relação à PC ($P < 0,05$) e semelhante em relação às demais dietas ($P > 0,05$). Os coeficientes de digestibilidade da MO foram semelhantes entre todas as dietas ($P > 0,05$). O CMO digestível (CMOD) também foi inferior para a dieta L20 em relação à PC e semelhante às demais, mostrando o reflexo direto do nível de CMO sobre o CMOD, desde que apresentaram coeficiente de digestibilidade semelhantes. O menor CMO e CMOD provavelmente tiveram a mesma causa da redução do CMS discutido anteriormente.

No período de pós-estresse, o CMS, em g/d, também foi superior para os animais da dieta PC em relação à L20 ($P < 0,05$), e semelhante às demais ($P > 0,05$). O CMS em %PV foi superior para as dietas PC e L15 em relação à L20. Já o CMS, em $\text{g/kg}^{0,75}$ foi inferior para a dieta L20, em relação às demais. Este resultado pode ter ocorrido devido ao alto teor de lipídios da dieta L20, que ativou os mecanismos de controle da saciedade. Como durante o conforto este resultado não foi observado, pode ter ocorrido um efeito residual adicional do estresse sobre o consumo dos animais. Como não houve diferença na DMS, o CMSD seguiu o mesmo comportamento observado para CMS. O CMO, em g/d, a DMO e o CMOD seguiu o mesmo comportamento verificado para os parâmetros de MS.

Na tabela 8 estão apresentados os consumos e coeficientes de digestibilidade da FDN (CFDN e DFDN) e FDA (CFDN e CFDA).

Tabela. 8 - Consumo de FDN (CFDN) e de FDA (CFDA) e coeficiente de digestibilidade da FDN (DFDN) e da FDA (DFDA) de ovelhas não gestantes da raça Santa Inês alimentadas com diferentes dietas.

Dietas						
	Polpa cítrica	Milho moído	10% Linhaça	15% Linhaça	20% Linhaça	CV (%)
Conforto						
CFDN (kg/d)	665,34	697,76	549,35	509,27	489,32	28,94
CFDNPV (%)	1,44	1,62	1,32	1,19	1,14	31,73
CFDNPM (g/kg ^{0,75})	37,51	41,35	33,50	30,29	29,17	30,23
DFDN (%)	65	71	65	67	63	14,42
CFDA (kg/d)	247,44	244,18	182,38	148,92	144,45	41,14
CFDAPV (%)	0,53	0,56	0,44	0,35	0,34	43,13
CFDAPM (g/kg ^{0,75})	13,89	14,44	11,12	8,84	8,65	41,98
DFDA (%)	62	59	54	45	68	57,48
Estresse						
CFDN (kg/d)	688,30 a	518,79 ab	498,53 ab	448,83 ab	348,47 b	31,93
CFDNPV (%)	1,50	1,22	1,30	1,02	0,81	34,89
CFDNPM (g/kg ^{0,75})	38,97	31,16	32,42	26,11	20,72	33,43
DFDN	64	68	65	69	59	13,189
CFDA (kg/d)	283,04 a	166,43 ab	222,64ab	149,09 ab	100,84 b	41,11
CFDAPV (%)	0,62 a	0,40 ab	0,57 a	0,33 ab	0,23 b	43,71
CFDAPM (g/kg ^{0,75})	16,13 a	10,07 ab	14,30 a	8,60 ab	5,917 b	42,49
DFDA (%)	63	52	67	54	45	32,99

Pós-estresse por calor						
CFDN (kg/d)	791,73	785,03	746,93	667,47	610,72	28,16
CFDNPV (%)	1,84	1,74	1,80	1,72	1,56	27,23
CFDNPM (g/kg ^{0,75})	47,04	45,12	45,50	42,77	38,97	26,67
DFDN (%)	69	72	71	69	70	10,44
CFDA (kg/d)	283,08 a	243,60 ab	240,35 ab	220,72 ab	122,35 b	36,08
CFDAPV (%)	0,65 a	0,55 ab	0,57 ab	0,56 ab	0,31 b	33,66
CFDAPM (g/kg ^{0,75})	16,73 a	14,07 ab	14,43 ab	14,04 ab	7,77 b	33,63
DFDA (%)	61	57	49	50	15	69,69

Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem entre si no teste SNK 5%.

Durante o conforto não houve diferença significativa para o consumo e digestibilidade das frações fibrosas. Embora exista um incremento nos teores de EE das dietas com a inclusão da linhaça, em nenhum dos níveis estudados (10, 15 ou 20% na dieta total) os lipídios interferiram na digestibilidade da fibra. A partir deste resultado, pode-se inferir que o CMS semelhante entre as dietas foi, pelo menos em parte, reflexo do CFDN.

De modo geral, o fornecimento de dietas suplementadas com lipídios pode reduzir a digestibilidade dos compostos não lipídicos, principalmente dos carboidratos estruturais. Entretanto, este efeito depende do grau de insaturação dos ácidos graxos, presença do grupo carboxila dos ácidos graxos livres e da forma física do suplemento (Jenkins, 1993). No presente estudo, embora os teores de EE tenham alcançado altos valores (8,67% da MS para a dieta L20), com predominância de ácidos graxos insaturados, o fornecimento da semente de linhaça na forma inteira proporcionou a liberação lenta dos lipídios no rúmen, minimizando seus efeitos negativos sobre a fermentação. Petit *et al.* (2004) estudaram o efeito da inclusão de 9,7% de semente de linhaça inteira na dieta total, alcançando 6,6% de extrato

etéreo (%MS), para vacas Holandesas em lactação. Não houve diferença de CMS e DFDN e FDA e os autores sugeriram que esta forma de fornecimento dos lipídios da linhaça não interrompe o processo digestivo normal.

Outra possível explicação para este resultado é o efeito compensatório. Jenkins e Fotouhi (1990) verificaram que a inclusão de lecitina ou óleo de milho na dieta de carneiros com valores de ácidos graxos na dieta de somente 3,7 e 3,2% da MS, respectivamente, reduziu a digestibilidade ruminal da FDA, mas não a digestibilidade da FDA no trato digestivo total. Também não influenciaram o CMS e CFDA. Os pesquisadores concluíram que houve uma compensação no intestino grosso, desde que em animais com baixo consumo, o fluxo de nutrientes para este local não atinge a sua capacidade máxima de fermentação. As ovelhas utilizadas no presente experimento não estavam gestantes, somente em manutenção, que apresentam CMS mediano e podem ter apresentado este mesmo efeito compensatório.

Já durante o ambiente de estresse, houve maior CFDN e CFDA na dieta PC do que na L20 ($P < 0,05$). As demais dietas foram semelhantes à PC e à L20. Este resultado pode ter ocorrido devido aos efeitos dos lipídios sobre o controle do consumo de alimentos e, numa dieta com predominância de volumoso (62% - Tabela 3), o consumo de fibras é diretamente influenciado. Desde que os lipídios contribuam significativamente para o atendimento das exigências energéticas dos animais, um menor consumo de fibras seria benéfico, pois a fibra apresenta maior produção de calor durante fermentação ruminal, intensificando o estresse pelo calor.

No pós-estresse, o CFDN foi semelhante ($P > 0,05$) entre as dietas avaliadas, entretanto o CFDA na dieta PC foi maior que na dieta L20 ($P < 0,05$) e semelhante as demais ($P > 0,05$). As dietas MI, L10 e L15 apresentaram valores de CFDA também semelhante à dieta L20 ($P > 0,05$). Este resultado pode ter influenciado o CMS e CMO observado durante o pós-estresse observado na tabela 4.

A tabela 9 apresenta o consumo e o coeficiente de digestibilidade da proteína bruta (CPB e DPB) e da matéria mineral (CMM e DMM), além do consumo de PB digestível (CPBD).

Tabela. 9 - Consumo de proteína bruta (CPB), coeficiente de digestibilidade da proteína bruta (DPB) e consumo de proteína bruta digestível (CPBD) de ovelhas não gestantes da raça Santa Inês alimentadas com diferentes dietas.

Dietas						
	Polpa cítrica	Milho	Linhaça 10%	Linhaça 15%	Linhaça 20%	CV (%)
Conforto						
CPB (g/d)	151,57	147,24	144,17	128,35	131,04	22,3 4
CPBPV (%)	0,33	0,34	0,35	0,3	0,31	26,7 0
CPBPM (g/kg ^{0,75})	8,55	8,75	8,81	7,66	7,81	24,6 7
DPB (%)	62	68	71	71	69	10,8 7
CPBD (g/d)	97,56	100,88	102,78	93,12	89,87	26,2 7
CMM (g/d)	69,73 a	58,35 ab	48,55 b	47,10 b	44,75 b	24,6 7
CMMPV (%)	0,15	0,11	0,12	0,10	0,14	26,8 4
CMMPM (g/kg ^{0,75})	1,51	1,08	1,17	1,04	1,37	26,8 4
DMM (%)	32	25	35	40	37	32,2 7
Estresse pelo calor						
CPB (g/d)	159,69 a	142,43 a	133,53 ab	109,47 ab	93,38 b	21,9 6
CPBPV (%)	0,35 a	0,33 a	0,35 a	0,26 b	0,22 b	27,1 2
CPBPM (g/kg ^{0,75})	9,10 a	8,46 a	8,73 a	6,51 ab	5,60 b	25,0 3

Estresse pelo calor

CPBD (g/d)	113,49 a	107,11 a	94,57 ab	86,33 ab	63,02 b	23,3 4
CMM (g/d)	73,50 a	36,74 b	40,97 b	38,60 b	44,51 b	27,0 8
CMMPV (%)	0,16 a	0,09 b	0,11 b	0,09 b	0,10 b	27,8 5
CMMPM (g/kg ^{0,75})	1,61 a	0,87 b	1,07 b	0,87 b	1,04 b	27,8 5
DMM (%)	31 ab	22 b	31 b	51 a	45 a	30,1 2

Pós-estresse por calor

CPB (g/d)	172,96 a	165,87 a	158,34 a	152,28 a	129,47 b	12,2 5
CPBPV (%)	0,40	0,37	0,38	0,40	0,33	13,2 1
CPBPM (g/kg ^{0,75})	10,28 a	9,62 ab	9,71 ab	9,85 ab	8,25 b	10,9 2
DPB	0,73	0,74	0,73	0,75	0,75	6,37
CPBD (g/d)	124,81 a	122,58 a	114,90 a	113,69 a	97,68 b	10,0 1
CMM (g/d)	79,04 a	50,93 b	55,14 b	52,93 b	58,72 b	18,5 3
CMMPV (%)	0,18 a	0,11 c	0,13 bc	0,14 bc	0,15 b	15,1 5
CMMPM (g/kg ^{0,75})	1,83 a	1,14 c	1,33 bc	1,37 bc	1,49 b	15,1 5
DMM (%)	37	26	39	31	42	34,7 6

Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem entre si no teste SNK 5%.

Verifica-se que durante o tratamento de conforto térmico não houve diferença no CPB entre as dietas, resultado esperado, pois o CMS foi semelhante e as dietas testadas são isoproteicas (Tabela 3). A DPB não foi alterada com a inclusão de lipídios nas dietas.

Jenkins e Fotouhi (1990) mostram que a adição de lipídios (lecitina e óleo de milho) reduziu a digestibilidade do nitrogênio (N) não somente no rúmen, mas também no trato digestivo total. Entretanto, houve maior eficiência de síntese de proteína microbiana devido à redução do número de protozoários ruminais e, conseqüentemente, redução da reciclagem ruminal de N microbiano.

Estes resultados também foram verificados por Igwuegbu e Sutton (1982), ao incluírem diferentes níveis de óleo de linhaça na dieta de ovinos. Sugere-se que, no presente estudo, apesar do alto teor de EE obtido com a inclusão de linhaça nas dietas, principalmente L15 e L20, a forma física tenha evitado os efeitos deletérios do lipídio sobre a fermentação ruminal. As sementes de linhaça possuem um envoltório firme, duro e que pode ter causado a liberação muito lenta do óleo contido em seu interior. Como foram semelhantes o CMS, teor de PB das dietas e DPB, não houve diferença no CPBD entre as dietas.

Durante o estresse pelo calor, as ovelhas recebendo a dieta L20 apresentaram menor CPB do que aquelas recebendo as dietas PC e MI ($P < 0,05$), provavelmente devido ao menor CMS verificado para esta dieta durante este tratamento térmico. Verifica-se que a DPB foi menor na dieta L20, em relação à dieta MI e L15 ($P < 0,05$) e semelhante às dietas PC e L10. Conforme discutido anteriormente, a suplementação lipídica pode interferir negativamente na DPB, entretanto não ficou claro porque a dieta L15 apresentou resultado superior à L10. Como consequência entre o CPB e a DPB, o CPBD foi inferior na dieta L20 quando comparado às dietas PC e MI.

No período pós estresse, os animais apresentaram menor CPB (g/d) na dieta L20 em relação às demais ($P < 0,05$). Entretanto, o CPB ($\text{g/kg}^{0,75}$) da dieta L20 foi semelhante à MI, L10 e L15 ($P > 0,05$). Este resultado provavelmente está vinculado ao menor CMS na dieta com alto nível de inclusão de linhaça. Neste tratamento térmico a DPB não se diferenciou comparada as dos demais

tratamentos e, como resultado desses aspectos, o CPBD foi menor para os animais que receberam a dieta L20.

Quando os animais estiveram em conforto térmico, o CMM foi menor para as dietas contendo linhaça ($P < 0,05$), em relação à PC, mas estatisticamente igual à dieta MI ($P > 0,05$). Entretanto, o CMM, em %PV e $g/kg^{0,75}$, foram iguais nas diferentes dietas, assim como a DMM. Durante o estresse, houve maior CMM na dieta PC em relação às demais ($P < 0,05$) e maior DMM nas dietas L15 e L20 ($P < 0,05$). A dieta PC apresentou DMM semelhante a todas as outras. No pós estresse, o CMM, em g/d, foi superior para a dieta PC e neste período a DMM foi semelhante entre as dietas ($P > 0,05$).

A tabela 10 apresenta os consumos de extrato etéreo (CEE) das ovelhas nos diferentes tratamentos térmicos e dietas.

Tabela. 10 - Consumo de extrato etéreo de ovelhas não gestantes da raça Santa Inês alimentadas com diferentes dietas.

Tratamento climático			
	Conforto	Estresse	Pós-estresse
Dietas	Consumo de extrato etéreo (g/d) ¹		
Polpa cítrica	17,32 Ad	13,47 Ab	18,88 Ad
Milho moído	24,91 Ad	15,04 Ab	22,39 Ad
10% Linhaça	68,10 Ac	63,96 Aa	68,23 Ac
15% Linhaça	89,55 Ab	73,72 Aa	86,83 Ab
20% Linhaça	110,69 Aa	68,99 Ba	115,34 Aa
	Consumo de extrato etéreo (%PV) ²		
Polpa cítrica	0,04 Ad	0,03Ab	0,04Ad
Milho moído	0,06 Ad	0,03Ab	0,05Ad
10% Linhaça	0,17 Ac	0,17Aa	0,17Ac
15% Linhaça	0,21 Ab	0,18Aa	0,23Ab
20% Linhaça	0,26 Aa	0,17Ba	0,29Aa

Consumo de extrato etéreo (g/kg ^{0,75}) ³			
Polpa cítrica	0,98Ad	0,78Ab	1,11Ad
Milho moído	1,49Ad	0,89Ab	1,30Ad
10% Linhaça	4,18Ac	4,17Aa	4,22Ac
15% Linhaça	5,35Ab	4,47Aa	5,68Ab
20% Linhaça	6,66Aa	4,22Ba	7,36Aa

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na mesma linha diferem entre si no teste SNK 5%

Médias seguidas por letras minúsculas distintas na mesma coluna diferem entre si no teste SNK 5%

¹CV = 20,27%; ²CV = 27,33%; ³CV = 24,63%.

Em todas as unidades de medida, no conforto e no pós estresse, o CEE das dietas PC e MI foram estatisticamente iguais ($P > 0,05$) e inferiores ($P < 0,05$) em relação às dietas contendo linhaça. Entre as dietas contendo linhaça, o CEE aumentou significativamente com o aumento da inclusão de linhaça ($P < 0,05$). Este resultado apresenta-se como efeito direto dos maiores teores de EE com a suplementação lipídica. Já no tratamento com estresse por calor, o CEE foi estatisticamente igual entre as dietas PC e MI ($P > 0,05$), que foi menor em relação às dietas contendo linhaça ($P < 0,05$). Entretanto, neste período, o CEE entre as dietas contendo linhaça foi o mesmo, independente do nível de inclusão da oleaginosa. Sugere-se que durante o estresse, apesar do aumento da exigência nutricional dos animais, algum efeito metabólico limitou a ingestão da linhaça presente na dieta.

A avaliação do CEE de cada dieta nos diferentes ambientes avaliados revela que nas dietas PC, MI, L10 e L15 esta variável permaneceu constante ($P > 0,05$), entretanto na dieta L20 houve redução significativa ($P < 0,05$) do CEE durante o ambiente de estresse. No pós estresse, o CEE voltou aos patamares apresentados durante o conforto. Mais uma vez os resultados sugerem uma interação metabólica entre estresse e nível de suplementação lipídica.

Em suínos em crescimento, Kouba *et al.* (2001) estudaram o efeito do estresse pelo calor sobre o metabolismo de lipídios sob condições nutricionais semelhantes. Os pesquisadores verificaram que o estresse crônico reflete em uma realocação do tecido adiposo, com deposição predominante nos tecidos internos em relação ao tecido adiposo subcutâneo, a fim de reduzir a insulação térmica, representando uma forma de adaptação dos animais ao calor. Estas mudanças foram relacionadas com a modificação no metabolismo do tecido adiposo, principalmente através da observação de maiores valores de ácidos graxos não esterificados, triglicerídeos e VLDL (*Very Low Density Protein*) nos animais em estresse, derivados principalmente da reciclagem de ácidos graxos entre tecido adiposo e hepático.

Forbes (2007) relata que a síntese líquida de lipídios e seu armazenamento no tecido adiposo é um dreno de nutrientes do sangue, que causa um efeito compensatório de aumento de consumo. Entretanto, há um limite superior na taxa e quantidade de deposição de lipídio e, quando esse limite é alcançado, o consumo de alimentos é reduzido. Diante do exposto, pode-se especular que devido ao aumento da taxa de metabolismo dos lipídios com o calor e a dificuldade dos animais ruminantes de exportar os lipídios do fígado através do VLDL, houve uma saturação deste sistema quando a dieta atingiu níveis elevados de extrato etéreo (dieta L20) e, dessa forma, os altos níveis de lipídios circulantes atuaram como controle negativo do consumo, principalmente do alimento rico neste nutriente. Os animais são capazes de fazer um efeito associativo entre um alimento e um desconforto gerado por ele.

Os coeficientes de digestibilidade do extrato etéreo (DEE) estão apresentados na tabela 11.

Tabela. 11 – Coeficientes de digestibilidade do extrato etéreo (DEE) em ovelhas não gestantes da raça Santa Inês alimentadas com diferentes dietas, em virtude do tratamento climático de conforto (24°C e 65% UR) e estresse pelo calor (34°C e 50%UR) dentro de câmara climatizada, e pós estresse pelo calor (23°C e 45%UR), e em virtude da dieta fornecida dentro de cada tratamento climático.

Ambiente ¹			
	Conforto	Estresse	Pós-estresse
DEE (%)	80,0	72,0	76,0
Dietas	Digestibilidade do extrato etéreo (%)		
Polpa cítrica	53,7c	32,6c	49,8b
Milho moído	74,9b	59,9b	61,2b
10% Linhaça	89,2a	88,7a	85,9a
15% Linhaça	91,5a	93,3a	89,8a
20% Linhaça	90,8a	86,0a	92,8a
CV (%)	9,92	23,03	15,99

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na mesma linha diferem entre si no teste SNK 5%

Médias seguidas por letras minúsculas distintas na mesma coluna diferem entre si no teste SNK 5%

¹CV = 16,28%;

A DEE foi semelhante entre os ambientes avaliados ($P > 0,05$), sendo o valor médio calculado de 76,0%. Em cada ambiente avaliado, observa-se diferença significativa na DEE entre algumas dietas estudadas. Durante o tratamento de conforto térmico e estresse pelo calor, verifica-se que as dietas L10, L15 e L20 foram semelhantes entre si ($P > 0,05$) e apresentaram DEE superior às dietas PC e MI ($P < 0,05$). A dieta MI apresentou DEE superior à dieta PC ($P < 0,05$). Já durante o período pós-estresse pelo calor, as dietas L10, L15 e L20 apresentaram DEE

semelhantes entre si ($P>0,05$) e superiores às demais ($P<0,05$), entretanto a DEE nas dietas PC e MI foram iguais ($P>0,05$).

Kucuk *et al.* (2004) avaliaram o desaparecimento aparente dos ácidos graxos no intestino delgado de cordeiros recebendo dietas limitadas em 1,4% do peso vivo inicial em MS, 81,6% de concentrado (%MS) e níveis crescentes de óleo de soja (0,0; 3,2; 6,3 e 9,4% da MS), perfazendo de 3,9 a 12,5% de ácidos graxos totais nas dietas. Os pesquisadores observaram redução linear ($P<0,05$) do desaparecimento intestinal dos ácidos graxos totais, sendo os valores observados de 81,1%, 74,5%, 71,4% e 64,4%, e dos ácidos graxos saturados ($P<0,01$), com valores de 81,3%, 71,4%, 65,4% e 57,7%, para os níveis de inclusão de óleo de soja de 0,0; 3,2; 6,3 e 9,4% da MS, respectivamente. Entretanto, não foi verificada diferença significativa no desaparecimento intestinal dos ácidos graxos insaturados.

Pantoja *et al.* (1996) estudaram a inclusão de 5% de sebo e sebo parcialmente hidrogenado em diferentes proporções (1:0, 2:1, 1:2 e 0:1) na dieta de vacas primíparas e multíparas com 50% de forragem (50% silagem de milho e 50% de silagem de alfafa) e 50% de concentrado à base de milho e farelo de soja. A dieta controle e as dietas contendo sebo bovino apresentaram 2,9% e 6,5% de ácidos graxos na MS, respectivamente. Observou-se que a suplementação lipídica reduziu a digestibilidade aparente dos ácidos graxos da dieta em relação à dieta controle ($P<0,01$) e que o aumento da saturação, com a inclusão do sebo parcialmente hidrogenado, reduziu linearmente a digestibilidade dos ácidos graxos ($P<0,01$). Christensen *et al.* (1998) especularam que a redução da digestibilidade dos lipídeos com o aumento de sua inclusão na dieta de vacas leiteiras poderia ser devido à ineficiente formação de micelas.

A inclusão de sais cálcicos de ácidos graxos ou uma mistura de gordura animal e vegetal em dois níveis diferentes (3% ou 6%) na dieta de vacas Holandesas, no meio da lactação, produzindo, em média, 20kg de leite, foi investigada por Wu *et al.* (1991). Os resultados mostraram que houve maior biohidrogenação dos ácidos graxos com 18 carbonos (C18) nas dietas contendo a mistura de lipídeos em relação àquelas contendo sais cálcicos de ácidos graxos (72,1% x 55,7%, respectivamente). Ainda, a digestibilidade intestinal aparente dos ácidos graxos

nas dietas contendo sais cálcicos de ácidos graxos foi superior em relação às dietas contendo a mistura de lipídeos ($P < 0,08$). Segundo os autores, esta diferença ocorreu devido às diferentes proporções de ácidos graxos saturados e insaturados que chegaram ao duodeno, como consequência da biohidrogenação ruminal em diferentes proporções. Ácidos graxos insaturados são mais digestíveis do que os saturados (Sklan *et al.*, 1985), pois são mais hidrofílicos e formam micelas mais facilmente com os sais biliares e, portanto, passam mais facilmente pela camada de água estacionária adjacente às microvilosidades no intestino delgado (Friedman e Nylund, 1980). Ainda, segundo Ockner *et al.* (1972), os ácidos graxos insaturados (C18:2) foram reesterificados nos enterócitos de ratos mais rapidamente do que os saturados (C16:0). A rápida esterificação facilita a remoção dos ácidos graxos do citosol e, portanto, aumenta a taxa de absorção geral.

Considerando que nas dietas PC e MI os ácidos graxos estavam prontamente disponíveis, devido à moagem dos ingredientes, e em pequena quantidade permitiria uma extensa biohidrogenação dos ácidos graxos pelos microrganismos ruminais. Já nas dietas L10, L15 e L20, o aumento da quantidade de lipídeos e a forma de fornecimento em sementes inteiras (liberação lenta) pode ter ocasionado a biohidrogenação ruminal incompleta dos ácidos graxos provenientes desta oleaginosa. Sugere-se então que a possível maior proporção de ácidos graxos insaturados que alcançaram o intestino delgado dos animais que receberam as dietas contendo linhaça proporcionaram maior DEE.

Os consumos de carboidratos totais (CCT), de carboidratos não fibrosos (CCNF) e de nutrientes digestíveis totais (NDT) estão apresentados na tabela 12.

Tabela. 12 - Consumo de carboidratos totais (CCT), de carboidratos não fibrosos (CCNF) e de nutrientes digestíveis totais (NDT) de ovelhas não gestantes, da raça Santa Inês alimentadas com diferentes dietas, submetidas a diferentes ambientes térmicos, conforto (24°C e 65% UR) e estresse pelo calor (34°C e 50%UR) dentro de câmara climatizada, e pós estresse pelo calor (23°C e 45%UR), e em virtude da dieta fornecida dentro de cada tratamento climático.

Dietas						
	Polpa cítrica	Milho moído	Linhaça 10%	Linhaça 15%	Linhaça 20%	CV (%)
Conforto						
CCT (g/d)	837,41 a	844,16 a	692,29 b	595,63 b	541,84 c	28,19
CCTPV (%)	1,81	1,96	1,66	1,38	1,26	30,46
CCTPM (g/kg ^{0,75})	47,21	49,97	42,04	35,39	32,26	29,01
CCNF (g/d)	242,06 a	257,65 a	279,71 a	242,78 a	178,15 b	17,46
CCNFPV (%)	0,53 ab	0,60 a	0,67 a	0,57 ab	0,41 b	21,13
CCNFPM (g/kg ^{0,75})	13,70 a	15,27 a	16,96a	14,46 a	10,59 b	18,88
CNDT (g/d)	640,79	725,63	934,44	719,36	668,47	27,43
CNDTPV (%)	1,38	1,71	1,77	1,68	1,57	32,26
CNDTPM (g/kg ^{0,75})	36,09	43,43	44,71	42,97	40,10	30,32
Estresse pelo calor						
CCT (g/d)	856,51 a	638,92 ab	559,38 ab	482,85 b	367,03 b	32,33
CCTPV (%)	1,87 a	1,51 ab	1,46 ab	1,09 ab	0,85 b	34,93
CCTPM (g/kg ^{0,75})	48,48 a	38,41 ab	36,38 ab	27,96 ab	21,83 b	33,49
CCNF (g/d)	238,19	231,39	205,25	190,29	144,19	29,60
CCNFPV (%)	0,52	0,54	0,55	0,44	0,34	33,75
CCNFPM (g/kg ^{0,75})	13,53	13,80	13,41	11,17	8,69	31,90

Estresse pelo calor						
CNDT (g/d)	672,65	559,36	616,18	607,26	382,28	32,10
CNDTPV (%)	1,46	1,32	1,61	1,40	0,88	34,42
CNDTPM (g/kg ^{0,75})	37,99	33,66	39,98	35,90	22,57	33,15
Pós-estresse						
CCT (g/d)	924,23 a	864,91 a	786,98 a	747,01 a	515,52 b	20,83
CCTPV (%)	2,14 a	1,93 a	1,89 a	1,92 a	1,31 b	16,98
CCTPM (g/kg ^{0,75})	54,72 a	49,93 a	47,92 a	47,79 a	32,75 b	16,69
CCNF (g/d)	250,10 ab	277,47 a	270,25 a	255,57 ab	191,23 b	18,14
CCNFPV (%)	0,58 ab	0,62 a	0,67 a	0,66 a	0,48 b	18,35
CCNFPM (g/kg ^{0,75})	14,83 ab	16,07 a	16,76 a	16,41 a	12,04 b	16,68
CNDT (g/d)	797,88	775,62	829,68	842,66	685,74	19,95
CNDTPV (%)	1,84	1,73	2,00	2,17	1,75	15,71
CNDTPM (g/kg ^{0,75})	47,16	44,77	50,56	54,04	43,71	15,39

Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem entre si no teste SNK 5%.

Durante o conforto, o CCT em g/d foi superior nas dietas PC e MI em relação às dietas contendo linhaça. Entre as dietas com linhaça, a L20 apresentou CCT inferior às demais. Este resultado ocorreu porque que os lipídios da linhaça substituem parcialmente os carboidratos como fonte de energia das dietas e quanto maior a inclusão da linhaça, maior é essa substituição. Uma vez que o CFDN não tenha sido alterado pelas dietas, esse resultado deve-se à redução do CCNF, principalmente na dieta L20.

Diferenças no CCNF não alteraram o CNDT nas diferentes dietas avaliadas. Este resultado provavelmente ocorreu devido ao incremento energético na dieta provocado pelos lipídios da linhaça. Os lipídios apresentam 2,25 vezes mais

energia do que carboidratos e proteínas, fato este que é levado em consideração no cálculo do NDT.

No grupo submetido ao estresse, houve redução do CCT na dieta L15 e L20 em relação à dieta PC ($P < 0,05$). Neste ambiente não houve diferença ($P > 0,05$) no CCNF, entretanto foi verificada redução do CFDN, que representa parte dos CT. O CNDT foi semelhante entre as dietas pelo mesmo motivo discutido anteriormente.

No período pós estresse, as ovelhas recebendo a dieta L20 apresentaram menor CCT em relação às demais dietas ($P < 0,05$). Como o CFDN não foi diferente neste período, vincula-se este resultado, pelo menos em parte, ao menor CCNF observado também na dieta L20, mas somente em relação às dietas MI e L10. No balanço final, o CNDT também não foi influenciado pelas dietas neste período de avaliação.

A tabela 13 apresenta o balanço de N (BN) dos animais recebendo as diferentes dietas propostas.

Tabela. 13 - Nitrogênio (N) ingerido, N fecal, N urinário, balanço de N (BN) e N retido de ovelhas não gestantes da raça Santa Inês alimentadas com diferentes dietas.

	Dietas					CV (%)
	Polpa cítrica	Milho	Linhaça 10%	Linhaça 15%	Linhaça 20%	
N ingerido (g/d)	26,63a	24,53 a	23,65 a	20,12 b	18,97 b	18,56
N fecal (g/d)	7,98a	6,76 ab	6,81 b	4,93 c	5,54 bc	25,41
N urinário (g/d)	5,03	5,07	3,52	3,97	4,25	46,39
BN	13,62a	12,70 a	13,32 a	11,21 ab	9,18 b	28,70
N retido (% N ingerido)	51,31	51,56	56,02	55,13	47,12	20,43

Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem entre si no teste SNK 5%.

Verifica-se que o N ingerido foi inferior nas dietas L15 e L20 ($P < 0,05$) em relação às demais. A dieta PC apresentou maior N fecal do que as dietas L15 e L20 ($P < 0,05$). Em geral, as dietas de maior N ingerido apresentaram maior N fecal. Um dos fatores que podem influenciar a quantidade de N fecal é o nível de consumo dos animais, desde CMS, taxa de passagem e digestibilidade dos nutrientes estão altamente inter-relacionados. O N urinário foi semelhante entre as dietas, com valor médio de 4,4 g/d. Este baixo valor sugere que os animais podem ter aumentado o sistema de reciclagem de N a fim de atender suas demandas metabólicas.

O BN foi inferior na dieta L20, em relação à PC, MI e L10 ($P < 0,05$) e semelhante à dieta L15. Esta resposta reflete os resultados de N ingerido, fecal e urinário. O % e N retido em relação ao ingerido foi semelhante entre as dietas. Desta forma,

sugere-se que o nível de consumo foi determinante para o BN observado entre as dietas.

A tabela 14 apresenta o consumo de água (CH₂O) e suas inter-relações e o consumo de sal (CS) e sua inter-relação com o CH₂O (CS/ CH₂O).

Tabela. 14 - Consumo de água (CH₂O), relação entre consumo de água e consumo de matéria seca (CH₂O/CMS), relação entre consumo de água e consumo de fibra em detergente neutro (CH₂O/CFDN), volume urinário, balanço hídrico, densidade da urina, consumo de sal (CS) e relação entre consumo água e consumo de sal (CH₂O/CS) de ovelhas não gestantes da raça Santa Inês alimentadas com diferentes dietas.

	Dietas					CV (%)
	Polpa cítrica	Milho moído	Linhaça 10%	Linhaça 15%	Linhaça 20%	
	Conforto					
CH ₂ O (L/d)	2,94	2,23	2,30	2,30	2,05	24,94
CH ₂ OPV (%)	6,47	4,95	5,39	5,52	4,75	28,80
CH ₂ OPM (g/kg ^{0,75})	0,17	0,13	0,14	0,14	0,12	26,83
CH ₂ O/CMS (L/kg)	3,00	2,01	2,28	3,45	2,73	36,85
CH ₂ O/CFDN (L/kg)	4,90	3,08	3,91	7,33	5,47	58,94
Volume urinário (L)	1,05	0,65	0,51	0,65	0,97	57,54
Balanço hídrico	2,13	1,80	2,04	1,80	1,26	38,57
Densidade urinária	1,12	1,00	0,98	1,01	1,01	13,30
CS (kg)	0,02	0,03	0,03	0,02	0,03	55,31
CH ₂ O/CS	0,14	0,14	0,10	0,13	0,13	92,25

Estresse pelo calor						
CH ₂ O (L/d)	3,90 ab	4,36 a	3,53 ab	4,43 a	3,05 b	20,24
CH ₂ OPV (%)	8,68	9,36	8,51	11,09	7,10	25,23
CH ₂ OPM (g/kg ^{0,75})	0,23 ab	0,22 ab	0,22 ab	0,28 a	0,18 b	22,75
CH ₂ O/CMS (L/kg)	3,88 b	5,52 ab	4,51 ab	6,59 a	5,03 ab	28,09
CH ₂ O/CFDN (L/kg)	6,21	8,99	8,34	10,96	8,00	30,86
Volume urinário (L)	0,53 ab	0,62 ab	0,31 b	1,11 a	0,73 ab	65,63
Balanço hídrico	3,79	3,90	3,53	3,67	2,53	25,20
Densidade urinária	1,198	1,007	1,036	1,008	1,006	16,12
CS (kg)	0,024	0,028	0,027	0,024	0,031	55,97
CH ₂ O/CS	0,24	0,24	0,22	0,30	0,20	90,34

Dietas						
	Polpa cítrica	Milho moído	Linhaça 10%	Linhaça 15%	Linhaça 20%	CV (%)
Pós-estresse						
CH ₂ O (L/d)	2,63	2,29	2,22	2,42	2,67	26,16
CH ₂ OPV (%)	6,12	5,20	5,60	6,50	6,66	32,14
CH ₂ OPM (g/kg ^{0,75})	0,16	0,13	0,14	0,16	0,17	29,75
CH ₂ O/CMS (L/kg)	2,21	2,05	2,21	2,87	3,21	37,71
CH ₂ O/CFDN (L/kg)	3,40	2,96	3,53	3,62	4,63	44,12
Volume urinário (L)	0,54	0,47	0,40	0,70	0,71	58,87

	Pós-estresse					
Balanço hídrico	2,35	2,07	2,08	1,94	2,13	34,37
Densidade urinária	0,990	0,991	0,999	1,001	1,006	1,27
CS (kg)	0,038	0,038	0,036	0,028	0,033	37,80
CH ₂ O/CS	0,07	0,06	0,08	0,10	0,19	122,34

Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem entre si no teste SNK 5%

Verifica-se que durante o conforto, não houve diferença significativa para qualquer um dos parâmetros avaliados entre as diferentes dietas. Conforme discutido anteriormente, são fatores envolvidos no CH₂O: CMS, %MS da dieta, temperatura ambiente e consumo de sódio (Nutrient..., 2001). Neste estudo, as dietas não interferiram significativamente em qualquer um destes parâmetros e, como consequência, as respostas foram semelhantes entre as dietas.

Já durante o estresse, os animais que receberam a dieta L20 apresentaram menor CH₂O (l/d) em relação à dieta MI e L15 (P<0,05). A relação CH₂O/CMS foi menor na dieta PC do que na L15. O volume urinário foi diferente somente entre as dietas L10 e L15. No pós estresse, verifica-se que as dietas apresentam resultados semelhantes entre si para os parâmetros avaliados, assim como no conforto. Embora se observe algumas diferenças entre CMS e CFDN (Tabela 3) não foram suficientes para alterar as relações CH₂O/CMS e CH₂O/CFDN, respectivamente.

Na tabela 15, verificam-se os parâmetros de comportamento ingestivo das ovelhas quando submetidas aos tratamentos térmicos de conforto e estresse pelo calor.

Tabela. 15 - Parâmetros de comportamento ingestivo de ovelhas não gestantes da raça Santa Inês submetidas a diferentes tratamentos térmicos, conforto (24°C e 65% UR) e estresse pelo calor (34°C e 50%UR) dentro de câmara climatizada.

Ambiente			
	Conforto	Estresse pelo calor	CV%
Alimentação (min/d)	273,10a	267,00a	25,27
Mastigação (min/d)	764,50a	794,60a	19,24
Ruminação (min/d)	491,40a	527,60a	26,83
Ingestão de água (min/d)	5,94b	11,41a	65,91
Ingestão de sal mineral (min/d)	5,31a	5,78a	93,95
Ócio (min/d)	664,20a	628,10a	23,54
Consumo			
MS ¹ (g/d)	940,4a	825,1a	27,91
FDN ² (g/d)	565,8a	513,0a	30,98
Eficiência de Alimentação			
min/kg MS ¹	317,6a	346,5a	37,12
min/kg FDN ²	590,3a	568,2a	58,72
Eficiência de Ruminação			
min/kg MS ¹	561,4b	706,3a	42,17
min/kg FDN ²	1015,5a	1142,7a	48,44
Eficiência de Mastigação			
min/kg MS ¹	879,1a	1052,8a	36,07
min/kg FDN ²	1605,8a	1710,9a	48,53

Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si no teste SNK 5%. ¹Matéria Seca. ²Fibra em Detergente Neutro.

Não houve diferença significativa ($P>0,05$) para o tempo gasto com a alimentação, ao contrário do que se esperava, devido a relatos encontradas na literatura, tal como o do Nutrient... (1981) e Forbes (2007), que relatam diminuição no consumo e tempo de alimentação para animais em estresse pelo calor. O número de dias de observação, apenas um, e a metodologia empregada, observações a cada 5 minutos podem ter sido insuficientes para permitir expressar qualquer diferença.

Da mesma forma, não foi encontrada diferença significativa ($P>0,05$) para os tempos de mastigação, ruminação, ingestão de sal mineral e ócio dos animais em conforto ou estresse por calor, todavia, houve diferença significativa para o tempo total de ingestão de água ($P<0,05$), que foram de 5,94 min/dia e 11,41 min/d, respectivamente, uma elevação de 92,1% pela procura de água. Segundo Araújo *et al.* (2010), durante o estresse por calor, os animais aumentam o consumo de água devido a necessidade de resfriamento do corpo por condução e reposição da água evaporada pelo trato respiratório e pela pele e, por isso, o tempo gasto com esta atividade aumentou.

Apesar da diferença no tempo de ingestão de água com o estresse térmico, a duração desta atividade é muito pequena durante o intervalo de 24h e, por isso, não interferiu no tempo em ócio.

Embora tenha ocorrido redução do consumo de MS em estresse por calor em 12,3% ($P<0,05$) e o tempo gasto com a alimentação, ruminação e mastigação seja semelhante, não foi observada diferença entre a eficiência destas atividades, em min/kg de MS. Destacando o já exposto por Araújo *et al.* (2010), sobre a ingestão de água para compensar os efeitos da termorregulação, nota-se que mesmo tendo na redução de ingestão de MS outro fator compensador, as ovelhas usaram-se da maior ingestão de água como modulador do estresse térmico. Isso ocorre porque animais sujeitos à condição de temperatura crítica superior tendem a elevar muito mais a ingestão de líquidos que a queda muito acentuada na ingestão de alimentos, preservando ao máximo, suas características produtivas e reprodutivas (Riis, 1983; Clouse e Mount, 1978).

A eficiência de alimentação, ruminação e mastigação, em min/kg de FDN, não foi diferente entre os tratamentos de conforto e estresse por calor. Este resultado

reflete a semelhança entre os tratamentos para os parâmetros consumo de FDN e tempo despendido diariamente com estas atividades.

Os parâmetros de comportamento ingestivo de ovelhas recebendo concentrado contendo polpa cítrica (PC), milho moído (MI) ou linhaça integral (L10, L15 e L20) estão apresentados na tabela 16.

Tabela. 16 - Parâmetros de comportamento ingestivo de ovelhas não gestantes da raça Santa Inês alimentadas com nívediferentes dietas.

	Dietas					
	PC	MI	L10	L15	L20	CV%
Alimentação (min/d)	294,5a	260,3a	266,0a	275,4a	256,2a	25,27
Mastigação (min/d)	791,2a	841,7a	775,3a	722,9a	757,0a	19,24
Ruminação (min/d)	496,6a	581,4a	509,2a	447,5a	496,6a	26,83
Ingestão de água (min/d)	11,66a	8,21a	5,71a	7,50a	10,83a	65,91
Ingestão de sal mineral (min/d)	7,08a	5,71a	3,93a	4,58a	6,66a	93,95
Ócio (min/d)	630,0a	584,2a	655,0a	705,0a	665,4a	23,54
	Consumo					
MS ¹ (g/d)	990,3a	990,8a	862,0a	781,1a	775,0a	27,91
FDN ² (g/d)	629,2a	635,3a	497,9b	471,5b	453,8b	30,98
	Eficiência de Alimentação					
min/kg MS ¹	319,0a	276,3a	331,4a	390,8a	351,9a	37,12
min/kg FDN ²	495,4a	432,0a	598,3a	771,3a	620,4a	58,72
	Eficiência de Ruminação					
min/kg MS ¹	574,1a	607,5a	645,3a	630,0a	714,9a	42,17
min/kg FDN ²	875,4a	951,1a	1149,3a	1192,2a	1236,9a	48,44
	Eficiência de Mastigação					
min/kg MS ¹	893,2a	883,9a	976,8a	1020,9a	1066,9a	36,07
min/kg FDN ²	1370,9a	1383,2a	1747,7a	1857,3a	1963,5a	48,53

Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si no teste SNK 5%. 1Matéria Seca. 2Fibra em Detergente Neutro.

Observou-se que não houve diferença significativa ($P>0,05$) entre os tratamentos para o tempo gasto por dia com a atividade de alimentação, que apresentou valor médio de 270,48 min/d ou 4,5 h/d, oscilando de 18,1% (260,3 min/dia) do tempo diário para rações contendo milho a 20,46% (294,5 min/dia) para aquelas com polpa cítrica, valores bastante similares também quando comparados percentualmente.

Das *et al.* (1999) avaliaram o comportamento ingestivo de ovinos de diferentes categorias e verificaram que o tempo médio gasto com a alimentação foi de 420 min/d. Carvalho *et al.* (2006) em do mesmo tipo desse tipo com ovinos da raça Santa Inês, em baias individuais, recebendo silagem de capim elefante amonizado ou não e concentrado contendo farelo de cacau ou torta de dendê, não se detectou diferença significativa para tempo de alimentação entre os tratamentos ($P>0,05$) e o valor médio encontrado foi de 326,7 min/d. Peterson *et al.* (1974) encontraram valores de tempo de alimentação para ovinos machos, com peso vivo médio de 30,1kg e recebendo dieta contendo feno ou silagem pré-emurcheada (“*Haylage*”) de alfafa, de 344 a 413 min/d, não havendo diferença entre os tratamentos ($P>0,05$).

De acordo com Dulphy e Faverdin (1987) os ruminantes passam de 3h a 12h por dia ingerindo a quantidade de alimento necessária para atender suas necessidades nutricionais. Vários fatores podem causar diferenças no tempo gasto diariamente com a alimentação. Nos apontamentos de Van Soest (1994) alimentos densos, como concentrados e dietas peletizadas são consumidos mais rapidamente do que forragens picadas, que requerem maior tempo de mastigação.

Das *et al.* (1999) verificaram que o tempo de alimentação diária varia entre as categorias dos ovinos, segundo os quais animais em crescimento, entre cinco e 12 meses de idade, gastam mais tempo com a atividade de alimentação (20 min/h) do que animais adultos (17,6 min/h) ($P<0,01$). Animais em pastejo apresentaram estratégias de alimentação baseadas na procura e seleção das estações alimentares (Carvalho, 2005) e, por isso, podem gastar mais tempo durante o dia com a atividade de alimentação em relação aos animais confinados. Além disso, a estrutura da pastagem, como a quantidade e a homogeneidade da

biomassa e seu valor nutricional, podem atuar no tempo gasto com o pastejo, isto é, a alimentação (Avondo e Lutri, 2004).

O tempo de ruminação não apresentou diferença entre as ovelhas dos grupos testados ($P > 0,05$ min/d), com os respectivos tempos: PC (496,7 min/d), MI (581,4 min/d), L10 (530,8 min/d), L15 (447,5 min/d) e L20 (500,8 min/d). O tempo de ruminação apresenta alta correlação (0,96) com o consumo de FDN em bovinos (Welch e Hooper, 1988) e, segundo Bae *et al.* (1979), esta atividade é um fator limitante importante na determinação da taxa de passagem da digesta, a qual atua no controle do consumo voluntário de forragens. De acordo com Welch (1982), de modo geral, o tempo gasto naturalmente pelos ruminantes com a ruminação não ultrapassa de 480 a 540 min/d, mesmo recebendo dietas de baixa qualidade, sendo que neste estudo somente a dieta MI ultrapassou este limite máximo previsto.

Da mesma forma, não houve alteração no tempo de mastigação dos animais nas diferentes dietas ($P > 0,05$). O valor médio encontrado foi de 777,62 min/d. Este resultado está de acordo com o consumo de MS e de FDN, assumindo que estes são os principais fatores da ingesta que influenciam a duração da atividade mastigatória diária.

O tempo gasto pelos animais para a atividade de ingestão de água foi semelhante nos diferentes tratamentos ($P > 0,05$) e o valor médio foi de 8,78 min/d (0,61% do dia). Segundo Das *et al.* (1999), os ovinos gastam somente 5 minutos por dia (0,35% do período de 24h) bebendo água e animais em crescimento e lactação gastam mais tempo com esta atividade do que ovelhas em gestação.

O tempo médio em que os animais ingeriram sal mineralizado foi de 5,59 min/d, não havendo diferença ($P > 0,05$) entre as diferentes dietas avaliadas. O tempo despendido em ócio pelas ovelhas foi semelhante entre os tratamentos ($P > 0,05$), com média geral de 647,92 min/d.

A eficiência de alimentação, em min/kg MS e em min/kg de FDN, não diferiu entre os tratamentos ($P > 0,05$), visto que o consumo de MS e de FDN e o tempo gasto com a atividade de alimentação foram semelhantes entre os tratamentos. Os valores médios encontrados foram de 333,9 min/kg MS e de 583,48 min/kg FDN.

Não se verificou diferença para a eficiência de ruminação ($P>0,05$), tanto em relação à MS como ao FDN consumidos. A eficiência de ruminação média, em min/kg MS, foi de 634,36 min/kg de MS e em min/kg FDN foi de 1081,0. Segundo Welch (1982), os ovinos são os animais com menor eficiência de ruminação, em g de FDN/kg^{0,75}/d, em relação aos bovinos e, mais pronunciadamente, aos caprinos.

A eficiência de mastigação, concordando com os resultados de eficiência de alimentação e de ruminação, não diferiu entre as dietas ($P>0,05$). Observou-se valores de médios de 968,34 min/kg MS e 1664,52 min/ kg FDN.

A distribuição nictemeral do comportamento ingestivo das ovelhas está apresentada na tabela 17.

Tabela. 17 - Distribuição nictemeral do comportamento ingestivo de ovelhas não gestantes, da raça Santa Inês, de acordo com o período do dia, alojadas em câmara climatizada.

Horário	Atividades (minutos/dia)				
	Alimentação	Ruminação	Ingestão de água	Ingestão de sal mineral	Ócio
Manhã ¹	71,6b	121,1b	2,8a	2,4a	153,0b
Tarde ²	89,3a	120,9b	2,6a	1,7ab	146,9b
Noite ³	80,7ab	101,0c	2,1a	1,5ab	172,1a
Madrugada ⁴	20,9c	164,6a	0,7b	0,9b	182,6a
CV%	43,83	37,51	158,39	171,96	32,16

Letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si pelo teste SNK 5%. ¹Manhã: 6h-11h e 59min. ²Tarde: 12h-17h e 59 min. ³Noite: 18h -23h e 59 min. ⁴Madrugada: 0h-5h e 59min.

Observou-se que houve diferença significativa ($P<0,05$) para o tempo gasto com a alimentação nos diferentes horários do dia. Durante os períodos da tarde e da noite, os animais gastaram mais tempo alimentando-se, 89,3 e 80,7 min/d,

respectivamente. Durante o período da manhã, as ovelhas dispensaram 71,6 min/d com a alimentação e já durante a madrugada, permaneceram menos tempo alimentando-se, somente 20,9 min/d. Em termos percentuais, os períodos da tarde e noite representaram cerca e 33% de todo período de alimentação (34 e 30,7% respectivamente), tendo a madrugada o menor período para a atividade (8%), a qual juntamente com o consumo conjugado com o intervalo da manhã perfaz aproximadamente 20% do tempo diário, semelhante ao período citado por Fahey e Berger (1988) para o qual os ruminantes permanecem geralmente, 1/3 do tempo diário ingerindo alimentos e esse é disperso de modo equitativo pelos turnos; no entanto, ovinos sob condições de pastejo, tendem a acumular horas de ingestão pelo início da manhã e final da tarde, momentos de menores incidência de radiação solar e temperaturas do ar mais amenas (Medeiros *et al.*, 2007).

Por outro lado, há de destacar que ovinos alimentados com feno à vontade mostram maior consumo durante o dia, especialmente após a oferta de alimento fresco. A principal diferença entre o dia e a noite, no que se refere à alimentação é a facilidade com que os animais podem ver o alimento na presença da luz. Entretanto, a sequencia regular de luz e escuro, no ciclo de 24h, atua como sincronizador de diversas funções biológicas que não são diretamente dependentes da presença de luz ou escuro (Forbes, 2007).

Schanbacher e Crouse (1981) avaliaram o efeito da quantidade de luz por dia (8 ou 16h) e a interrupção curta de uma noite longa (1h de luz no meio de uma noite de 16h) sobre a frequência de alimentação de cordeiros machos. Neste estudo verificou-se menor frequência de alimentação durante o período de escuro. Os animais que foram submetidos a um período longo de escuro apresentaram pico de frequência de alimentação durante o meio da noite, que foi exacerbado com a presença de luz neste momento (“Flash”), mesmo que durante um curto período de tempo.

Forbes (2007) relatou que embora não durmam profundamente, os ruminantes tornam-se menos atentos ao ambiente durante a noite e podem também estarem menos atentos aos sinais internos. Driver *et al.* (1979) verificou que injeções cerebroventriculares de melatonina, hormônio produzido pela glândula pineal durante a ausência de luz, em ovinos machos, não provocou efeito na

alimentação. Entretanto, Malpaux *et al.* (1996) registrou que, em ovinos, pinealectomia reduz significativamente as mudanças no consumo de alimentos induzidas pelo fotoperíodo. Donde se pode depreender que existem mecanismos hormonais que regulam o comportamento ingestivo, estando ligado diretamente ao fotoperíodo, de maneira mais ou menos intensa, a depender do estímulo óptico.

No presente estudo, os animais se alimentaram, principalmente, durante o período de luz. Durante o período da noite, o tempo gasto com a alimentação foi significativo. Entretanto vale ressaltar que este período compreendeu de 18h às 23h e 59 min. e o momento de interrupção da luz na câmara climatizada ocorreu às 19h e 30 min. Portanto, mesmo sendo considerado como noite, houve efeito da luz nas primeiras horas do período sobre a atividade de alimentação dos animais. Das *et al.* (1999) avaliaram o comportamento ingestivo de ovinos de diferentes categorias (jovens e adultos) e raças, em confinamento, e verificaram que picos de alimentação (min/h) ocorreram entre 3h e 9h e entre 15h e 21h.

Em sistemas de produção em que haja competição pelo alimento, por exemplo, em confinamentos com espaço de cocho reduzido, os animais apresentam alterações no padrão diário de alimentação (Grant e Albright, 1995). Nestes casos, verifica-se que os animais dominantes alimentam-se mais durante o dia e que os animais submissos passam então a fazer uma parte significativa de sua ingestão de alimentos durante a noite e madrugada (Olofsson, 1999). Os animais submissos serão prejudicados, pois ocorre redução do consumo de matéria seca e do valor nutritivo da dieta, uma vez que os animais dominantes, que já fizeram sua refeição e realizaram a seleção dos melhores alimentos em algum grau (Nowak *et al.*, 2008).

Durante a madrugada, os animais apresentaram maior tempo de ruminação (164,6 min/d), ou seja, 32,43% de todo tempo despendido para essa atividade ($P < 0,05$). Entretanto, não houve diferença para tempo de ruminação durante a manhã (121,1 min/d) e tarde (120,9 min/d) ($P > 0,05$), mas que diferiram da noite (101,0 min/d) ($P < 0,05$), representando 23,86, 23,82 e 19,9% do tempo diário, respectivamente.

A ruminação é um importante componente da função digestiva dos ruminantes (Murphy *et al.*, 1983). A redução do tamanho das partículas dos alimentos é uma de suas principais funções, sendo que também contribui para o aumento da taxa de passagem ruminal, a qual interfere no consumo de alimentos. Ovinos a pasto ruminam principalmente durante a noite (Van Soest, 1994).

Das *et al.* (1999), verificou que o tempo gasto com a ruminação (min/h) aumentou a partir das 21h, representado principalmente pela ruminação em pé, e o pico desta atividade ocorreu entre 0h e 6h, período em que predominou a ruminação em repouso (animais deitados), para ovinos de diferentes categorias (jovens e adultos), confinados.

Para Oshiro *et al.* (1996), trabalhando com cabras Saanen, aos nove meses de idade, o ritmo da atividade de ruminação está relacionado com a luz. Segundo estes pesquisadores, a luminosidade incita o animal a se alimentar e, conseqüentemente, cessa a ruminação, determinando seu ritmo circadiano. Das *et al.* (1999) também verificou, em ovinos de várias categorias e raças, que a redução da atividade de alimentação coincide com o aumento da atividade de ruminação, e vice-versa.

Embora o ciclo de luz e escuro / 24h seja significativo, outros fatores estão envolvidos com o ritmo circadiano da ruminação, principalmente o método de alimentação o qual estão submetidos os animais (Oshiro *et al.*, 1996). Murphy *et al.* (1983) avaliaram resultados de diferentes pesquisas sobre o comportamento ingestivo de ovinos e caprinos para formularem uma descrição quantitativa do controle da ruminação. Os pesquisadores verificaram que animais que recebem alimentação somente uma vez ao dia concentram a atividade de ruminação durante a noite e a madrugada, entre 20h e 8h. Aqueles que receberam duas refeições apresentaram, além do pico de atividade de ruminação durante a noite, outro pico no início da tarde, entre 12h e 15h. Já para os animais em que o alimento foi ofertado a cada hora (24 vezes ao dia), a atividade de ruminação distribuiu-se com maior uniformidade ao longo do dia, principalmente para aqueles que apresentam alto consumo.

Ressalta-se que a ruminação também está inversamente relacionada com condições estressantes. Um momento de estresse pode cessar a atividade de

ruminação. Desta forma, a ruminação predomina em períodos em que o animal encontra-se menos excitado e sujeito a menores intervenções do ambiente, ou seja, durante a madrugada. Talvez seja esse um dos principais responsáveis pelo tipo de resposta obtido nesse estudo.

O tempo despendido pelos animais para ingestão de água foi semelhante durante a manhã, a tarde e a noite, de 2,8, 2,6, 2,1 min/d, respectivamente ($P>0,05$), equivalente à 91,15% do tempo dispensado à essa atividade. Durante a madrugada, houve redução do tempo gasto para ingestão de água (0,7 min/d) em relação aos demais períodos ($P<0,05$). Das *et al.* (1999) também verificaram que ovinos usaram mais tempo bebendo água durante o dia (0,23 min/h) que durante a noite (0,15 min/h) ($P<0,01$). Hunsaker e Wolynetz (1979) e Shreffler e Hohenboken (1980) reportaram que o pico de consumo de água, em cordeiros confinados, ocorre no nascer e no pôr do sol. Nocek e Braund (1985) estudaram a relação entre o padrão de alimentação e de ingestão de água em vacas primíparas, aos 50 dias após o parto, e verificaram que o pico de frequência de ingestão de água ocorre simultaneamente ao pico de ingestão de matéria seca, isto é, durante a alimentação. No presente estudo essa foi a lógica observada, maiores ingestões de matéria seca impuseram maiores consumos de água nas ovelhas.

Nos apontamentos de **Hungate (1966)** e Fahey e Berger (1988), a ruminação possui também a função de reciclagem de líquidos, e em assim sendo, observou-se que na madrugada, conjuga-se ruminação e menor ingestão de água de bebida, tendo o estudo de correlação de Pearson, do presente ensaio, demonstrado relação inversa e negativa entre ruminação e ingestão de água (-0,0737).

O tempo gasto com a ingestão de sal mineralizado foi maior durante o período da manhã (2,4 min/d) que durante a madrugada (0,9 min/d) ($P<0,05$), entretanto não diferiu ($P>0,05$) dos valores encontrados durante a tarde (1,7 min/d) e à noite (1,5 min/d). Também não houve diferença ($P>0,05$) para essa atividade durante a tarde, noite ou madrugada. Acredita-se que a ingestão de sal mineral esteja ligada à atividade de alimentação e, portanto, ocorre principalmente durante o período de luz.

O tempo que os animais permaneceram em ócio foi superior durante a madrugada (185,7 min/d) em relação aos períodos da manhã (152,5 min/d) e da tarde (148,9 min/d) ($P < 0,05$), entretanto foi semelhante ao tempo de ócio durante a noite (171,6 min/d) ($P > 0,05$). Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) para o tempo em ócio dos animais durante o período da manhã, da tarde ou da noite. O tempo em ócio é inversamente relacionado com o tempo gasto com as atividades de alimentação, ruminação, ingestão de água e de sal mineral. Neste estudo, durante o período de escuro, principalmente durante a madrugada, os animais reduziram a atividades de alimentação, ingestão de água e ingestão de sal mineral, apresentando somente elevada atividade de ruminação. Desta forma, foi possível permanecer mais tempo em ócio neste período do dia. Além disso, como os animais estão em um momento de menor atenção ao ambiente (Forbes, 2007), estão mais tranquilos para ficarem ociosos.

O ritmo circadiano das ovelhas mostrou que permaneceram mais tempo em ócio (45,2%) que alimentando (18,2%), ruminando (35,1%) ou ingerindo água e sal (1%).

4 CONCLUSÕES

Sob a condição de estresse por calor ovelhas Santa Inês apresentam redução do consumo de matéria seca e aumento do consumo de água.

Após um período de estresse por calor, os animais apresentaram maior balanço de N entretanto sem aumento da eficiência de retenção do N.

Quanto maior a inclusão de semente de linhaça na dieta, menor foi o consumo.

O estresse pelo calor aumentou o tempo gasto diariamente com a ingestão de água e induziu a ruminação durante a madrugada.

5 REFERÊNCIAS

AMES, D.R., BRINK, D.R. Effect of temperature on lamb performance and protein efficiency ratio. *J. Anim. Sci.*, v.44, n.1, p.136-140, 1977.

ANDRADE, P. *Efeito do estresse pelo calor e do milho expandido em parâmetros digestivos e fisiológicos em ovinos*. 2011. 68f. Dissertação (mestrado) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

ARAÚJO, G.G.L., VOLTOLINI, T.V., CHIZZOTTI, M.L. *et al.* Water and small ruminant production. *Rev. Bras. Zootec.*, v. 39, p. 326-336, 2010.

ASSIS, A.J., CAMPOS, J.M.S., VALADARES FILHO, S.C. *et al.* Polpa Cítrica em Dietas de Vacas em Lactação. 1. Consumo de Nutrientes, Produção e Composição do Leite. *Rev. Bras. Zootec.*, v.33, p. 242-250, 2004.

AVONDO, M., LUTRI, L. Feed Intake. In: PULINA, G., BENCINI, R. (Eds). *Dairy sheep nutrition*. Oxford: CABI, 2004. p.65-78.

BAE, D.H.; WELCH, J.G.; SMITH, A.M. Forage Intake and rumination by sheep. *J. Anim. Sci.*, v.49, n.5, p.1292-1299, 1979.

BRODERICK, G.A.; MERTENS, D.R.; SIMONS, R. Efficacy of carbohydrate sources for milk production by cows fed diets based on alfalfa silage. *J. Dairy Sci.*, v.85, p.1767-1776, 2002.

BRODY, S. *Bioenergetics and growth*. New York: Reinhold Pub, 1945.

CARVALHO, G.G.P.; PIRES, A.J.V.; SILVA, R.R. *et al.* Comportamento ingestivo de ovinos alimentados com dietas compostas de silagem de capim-elefante amonizada ou não e subprodutos agroindustriais. *Rev. Bras. Zootec.*, v.35, p.1805-1812, 2006.

CARVALHO, P.C.F. O manejo da pastagem como gerador de ambientes pastoris adequados à produção animal. In: PEDREIRA, C.G.S.; MOURA, J.C.; SILVA, S.C. *et al.* (Eds). *Teoria e prática da produção animal em pastagens*. Piracicaba, 2005. p.7-32.

COPPOCK, C. E. Energy nutrition and metabolism of the lactating dairy cow. *J. Dairy Sci.*, v.68, n.12, p.3403–3410, 1985.

CHRISTENSEN, R.A.; CLARK, J.H.; DRACKLEY, J.K. *et al.* Fatty acid flow to the duodenum and in milk from cows fed diets that contained fat and nicotinic acid. *Journal of Dairy Science*, v. 81, p. 1078-1088, 1998.

DAS, N.; MAITRA, D.N.; BISHT, G.S. Genetic and non-genetic factors influencing ingestive behavior of sheep under stall-feeding conditions. *Small Ruminant Res.*, v.32, p.129-136, 1999.

DOREAU, M.; CHILLIARD, Y. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. *Br. J. Nutr.*, v.78, p.S15-S35, 1997.

DRIVER, P.M.; FORBES, J.M.; SCANES, C.G. Hormones, feeding and temperature in sheep following cerebroventricular injections of neurotransmitters and carbachol. *J. Physiol.*, v.290, p.399–411, 1979.

DULPHY, J.P.; FAVERDIN, P.H. L'ingestion alimentaire chez les ruminants: Modalities et phénomènes associés. *Reprod. Nutr. Dev.*, v.27, p.129-155, 1987.

DUSKOVA, D.; MAROUNEK, M. Fermentation of pectin and glucose, and activity of pectin-degrading enzymes in the rumen bacterium *Lachnospira multiparus*. *Lett. Appl. Microbiol.*, v.33, p.159-163, 2001.

EFFECT of environment on nutrient requirements of domestic animals. Washington, D.C.: National Academic Press, 1981. 168p.

FAHEY JR, G.C., BERGER, L.L. Los carbohidratos en la nutrición de los rumiantes. In: Church, C.D. (Ed.) *El rumiante: fisiología digestiva y nutrición*. Zaragoza: Acribia, 1988. p.305-337.

FEGEROS, K.; ZERVAS, G.; STAMOULI, S. *et al.* Nutritive value of dried citrus pulp and its effect on milk yield and milk composition of lactating ewes. *J. Dairy Sci.*, v.78, n.5, p.1116-1121, 1995.

FERREIRA, D.F. SISVAR: sistema de análise de variância para dados balanceados, versão 4.0. Lavras: DEX/UFLA, 2000

FORBES, J.M., PROVENZA, F.D. Integration of Learning and Metabolic Signals into a Theory of Dietary Choice and Food Intake. In: CRONJÉ, P.B.; BOOMKER, E.A.; HENNING, P.H. *et al.* (Eds.) *Ruminant physiology, digestion, metabolism, growth and reproduction*. Oxford: CABI, 2000. p. 3-19.

FORBES, J.M. *Voluntary food intake and diet selection in farm animals*. 2.ed. Oxford: CABI, 2007. 453p.

FRIEDMAN, H.I.; NYLUND, B. Intestinal fat digestion, absorption and transport: a review. *Am. J. Clin. Nutr.*, v.33, p.1108-1139, 1980.

FUQUAY, J. W. Heat stress as it affects animal production. *J. Anim. Sci.*, v.52, n.1, p.164-174, 1981.

HALL, M.B. *Neutral detergent-soluble carbohydrates: nutritional relevance and analysis*. Florida /US: University of Florida, 2000 (Bulletin 339).

HUNSAKER, W.G.; WOLYNETZ, M.S. Vaginal temperature and eating, drinking, standing and walking activity rhythms of four anestrus Finish Landrace ewes. *Can. J. Anim. Sci.*, v.5, p.11-23, 1979.

IGWUEGBU, O. A.; SUTTON, J. D. The effect of varying the amount of linseed oil supplementation on rumen metabolism in sheep. *Br. J. Nutr.*, v.48, p.365-375, 1982.

JENKINS, T.C.; FOTOUHI, N. Effects of lecithin and corn oil on site of digestion, ruminal fermentation and microbial protein synthesis in sheep. *J. Anim. Sci.*, v.68, n.2, p.460-466, 1990.

JENKINS, T.C. Lipid Metabolism in the Rumen. *J. Dairy Sci.*, v.76, n.1-2, p.3851-3863, 1993.

KOUBA, M.; HERMIER, D.; DIVIDICH, J.L. Influence of a high ambient temperature on lipid metabolism in the growing pig. *J. Anim. Sci.*, v.79, n.1, p.81-87, 2001.

KUCUK, O.; HESS, W.; RULE, D.C. Soybean oil supplementation of a high-concentrate does not affect site and extent of organic matter, starch, neutral detergent fiber or nitrogen digestion, but influences both ruminal metabolism and intestinal flow of fatty acids in limit-fed lambs. *J. Anim. Sci.*, v.82, n.10, p.2985-2994, 2004.

MACEDO JUNIOR, G. L. *Exigências nutricionais de ovelhas gestantes da raça Santa*. 2008. 291f. Tese (Doutorado) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

MAUPAUX, B.; VIGUI, C.; THIÉRY, J.C. *et al.* Contrôle potopériodique de la reproduction. *INRA Prod. Anim.*, v.9, p.9-23, 1996.

McDOWELL, R.E. Bases biológicas de la producción animal em zonas tropicales. Zaragoza: Acribia, 1974. 692p.

MERTENS, D.R. Regulation of forage intake. In: FAHEY JR, G.C. *Forage quality, evaluation and utilization*. Winsconsin: Amer Soc Agron., 1994.

MURPHY, M. R.; BALDWIN, M.R.; ULYATT M. J. *et al.* A quantitative analysis of rumination patterns. *J. Anim. Sci.*, v.56, n.5, p.1236-1240, 1983.

MURPHY, M. R. Water metabolism of dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, v.76, n.1, p.326-333, 1992.

NUTRIENT requirements of small ruminant. Washington, D.C.: National Academic Press, 1985.

NUTRIENT requirements of dairy cattle. 7.rev.ed. Washington, D.C.: National Academic Press, 2001. 242p.

NUTRIENT requirements of small ruminant. Washington, D.C.: National Academic Press, 2007.

NOCEK, J.E.; BRAUND, D.G. Effect of feeding frequency on diurnal dry matter and water consumption, liquid dilution rate, and milk yield in first lactation. *J. Dairy Sci.*, v. 68, n.9, p.2238-2247, 1985.

NOWAK, R.; PORTER R.H.; BLACHE D.; DWYER C.M. Behaviour and the welfare of the sheep. In: THE WELFARE of sheep. Springer: Edinburgh, 2008. p.81-135.

OCKNER, R.K.; PITTMAN, J.M.; YAGER, J.L. Differences in the intestinal absorption of saturated and unsaturated long chain fatty acids. *Gastroenterology*, v.62, p.981-992, 1972.

OFFICIAL methods of analysis. 14.ed. Washington DC: AOAC, 1980. 1094p.

OSHIRO, S.; NAKAMAE, H.; HIRAYAMA, T. *et al.* Effects of duration of photoperiod on the rumination behavior of goats. *Small Ruminant Res.*, v.22, p. 97-102, 1996.

PANTOJA, J.; FIRKINS, J.L.; EASTRIDGE, M.L. Fatty acid digestibility and lactation performance by dairy cows fed fats varying in degree of saturation. *J. Dairy Sci.*, v.79, n.3, p.429-437, 1996..

PETIT, H.V.; GERMIQUET, C.; LEBEL, D. Effect of feeding whole, unprocessed sunflower seeds and flaxseed on milk production, milk composition, and prostaglandin secretion in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v.87, n.11, p.3889-3898, 2004.

ROBINSON, P.H. *Feeding strategies for heat stressed dairy cows during hot dry weather*. California Farm Advisors, 1998. Disponível em: <animalscience.ucdavis.edu>. Acesso em 02/02/2011.

SALVADOR, S.C.; PEREIRA, M.N.; SANTOS, J.F. *et al.* Resposta de vacas leiteiras à substituição total de milho por polpa cítrica e à suplementação com microminerais orgânicos I: Consumo e digestão. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.60, p.682-690, 2008.

SCHANBACHER, B.D.; CROUSE, J.D. Photoperiodic regulation of growth: a photosensitive phase during light-dark cycle. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metabol.*, v.241, p.E1-E5, 1981.

SHREFFLER, C.; HOHENBOKEN, W. Circadian behaviour including their regulatory activities in feedlot lamb. *Appl. Anim. Ethol.*, v.6, p.241-246, 1980.

SILVA, J.F.C.; LEÃO, M.I. *Fundamentos da nutrição de ruminantes*. Piracicaba, Livroceres, 1979. 380p.

SISTEMA para análises estatísticas, Versão 9.1. Viçosa: UFV, 2007.

SKLAN, D.; ARIELI, A.; CHALUPA, W. *et al.* Digestion and absorption of lipids and bile acids in sheep fed stearic acid, oleic acid or triestearin. *J. Dairy Sci.*, v.68, n.7, p.1667-1675, 1985.

SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. *et al.* A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. II. Carbohydrate and protein availability. *J. Anim. Sci.*, v.70, n.11, p.3562- 3577, 1992.

SNIFFEN, C.J.; BEVERLY, R.W.; MOONEY, C.S. Nutrient requirements versus supply in the dairy cow: strategies to account for variability. *J. Dairy Sci.*, v.73, n.10, p.3160-3178, 1993.

VAN SOEST, P.J. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2.ed. Ithaca: Cornell University, 1994. 476p.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Anim. Sci.*, v.74, p.3583-3597, 1991.

WEISS, W.P. Energy prediction equations for ruminant feeds. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, 61., 1999, *Proceedings...* Ithaca: Cornell University, 1999. p.176-185.

WELCH, J.G. Rumination, particle size and passage from the rumen. *J. Anim. Sci.*, v. 54, n.4, p.885-894, 1982.

WELCH, J.G.; HOOPER, A.P. Ingestion of feed and water. In: CHURCH, D.C. (Ed.). *The ruminant animal: digestive physiology and nutrition*. Englewood Cliffs: Reston, 1988. p.108-116.

WEST, J.W. Nutritional strategies for managing the heat-stressed dairy cow. *J. Anim. Sci.*, v.77, n.2, p.21-35, 1999.

WEST, J.W. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, v.86, n.6, p.2131-2144, 2003.

WU, Z.; OHAJURUKA, O.A.; PALMQUIST, D.L. Ruminant synthesis, biohydrogenation and digestibility of fatty acids by dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v.74, n.9, p.3025-3034, 1991.

CAPÍTULO 4

Efeito do estresse pelo calor sobre a superovulação de ovelhas Santa Inês alimentadas com diferentes dietas

RESUMO

O presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do estresse pelo calor sobre a resposta superovulatória de ovelhas da raça Santa Inês alimentadas com diferentes dietas. Quarenta ovelhas adultas não gestantes da raça Santa Inês, entre dois e cinco anos de idade, seguindo um delineamento experimental inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2x5 (duas temperaturas e cinco dietas) foram alimentadas com dietas a base de feno de tifton 85 picado e concentrados que variavam entre polpa cítrica, milho e níveis crescentes de inclusão de semente de linhaça, submetidas a duas temperaturas em câmara climatizada, a 24°C e 65% de umidade relativa do ar e outra a 34°C e 50% de umidade relativa do ar. Ainda foram submetidas a protocolos de superovulação com FSH de origem suína, sob influência das duas temperaturas testadas. Vinte e cinco animais (62,5%) responderam ao tratamento superovulatório no grupo conforto e os outros 13 (32,5%) responderam no grupo estresse. O número médio de corpos lúteos no conforto foi 4,63 e no estresse, esta média foi 2,88. Não foi observado efeito da inclusão de linhaça sobre os parâmetros avaliados, no entanto foi observado que o efeito do ambiente estresse pelo calor foi capaz de diminuir a resposta superovulatória e o número de corpos lúteos em ovelhas Santa Inês.

Palavras chave – linhaça; FSH suíno; cisto folicular

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effect of heat stress on the superovulatory response of Santa Ines ewes fed different diets. Forty non-pregnant Santa Ines ewes, between two and five years old, following a completely randomized experimental design in a factorial 2x5 (two temperatures and five diets) arrangement were fed with diets based on tifton 85 hay and concentrated from citrus pulp, corn and increasing levels of inclusion of brown flaxseed, subjected to two temperatures in climatic chamber, one at 24°C and 65% relative humidity and another at 34°C and 50% relative humidity air. They were also subjected to protocols of superovulation with FSH of porcine under the influence of two temperatures. Twenty-five animals (62.5%) responded to superovulatory treatment in the group of comfort and the others 13 (32.5%) responded in group of stress. The average number of corpora lutea in the comfort was 4.63, and in stress the mean was 2.88. No effect of adding flaxseed to the parameters evaluated was observed, however it was observed that the effect of environmental heat stress was able to decrease the superovulatory response and the number of corpora lutea in Santa Inês ewes.

Keywords - flaxseed; swine FSH; follicular cyst

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos têm aumentado a utilização de biotecnologias da reprodução que, juntamente com o atendimento das exigências nutricionais das diversas categorias dos animais, incrementa a eficiência reprodutiva dos rebanhos. Tais técnicas baseiam-se desde o simples manejo em estações de monta, como a inseminação artificial, até a superovulação e transferência de embriões.

A eficiência reprodutiva dos ovinos, tanto em fêmeas quanto em machos é adversamente afetada pela hipertermia (Sawyer, 1979), a qual, nas fêmeas, implica em deficiente desenvolvimento folicular e qualidade do oócito, fixação, implantação e inadequado desenvolvimento embrionário e fetal, ocasionando conseqüentemente abortos ou partições precoces e lactações incapazes de prover nutrição satisfatória para atender toda a demanda de seus descendentes (Pereira, 2005).

A hipertermia pode ser de causa intrínseca, proveniente de uma reação do próprio animal, ou extrínseca, em virtude do binômio temperatura do ambiente e umidade relativa do ar, sendo apontados como os principais agentes causadores do estresse pelo calor (Pereira, 2005)

Todavia, a nutrição, importante fator permissivo à expressão do potencial reprodutivo do animal, por sua vez influenciada diretamente pela temperatura corporal. Assim, é de grande importância a elaboração de dietas que proporcionem menores impactos na temperatura corporal e, conseqüentemente, na reprodução.

Nesse sentido, os ácidos graxos essenciais interferem na reprodução animal, sendo precursores de hormônios da gama reprodutiva. Além disso, são classificados como lipídios, apresentando baixo incremento calórico e elevando pouco a temperatura corporal do animal durante sua digestão (Nutrient..., 1985).

As fontes de lipídios são capazes de aumentar a densidade energética da dieta e, ao mesmo tempo, permitir alta relação volumoso: concentrado, ao contrário do que ocorrem com fontes ricas em amido. Em decorrência, os lipídios podem ser utilizados para manipular a fermentação ruminal, pois podem reduzir a produção

de metano em 10% a 15%, aumentando a eficiência de utilização (Nutrient..., 1985).

O presente trabalho tem por objetivo avaliar o efeito do estresse pelo calor sobre a resposta superovulatória de ovelhas da raça Santa Inês alimentadas com diferentes dietas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido sob aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFMG (CETEA), protocolo: 77/2006 (Avaliação do estresse pelo calor e seus efeitos nas respostas fisiológicas de ovinos da raça Santa Inês).

O trabalho foi realizado no Laboratório de Calorimetria e Metabolismo Animal do Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, localizada em Belo Horizonte, Minas Gerais. O experimento apresentou um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial de 2x5 (dois tratamentos térmicos e cinco dietas) com parcelas subdivididas (dois tratamentos climáticos nas parcelas e cinco dietas nas subparcelas).

Quarenta ovelhas adultas da raça Santa Inês, entre 2 e 5 anos foram examinadas por ultrassonografia (Honda 1500 Vet®, Tóquio, Japão) via transretal para avaliação do aparelho genital antes do início do experimento. Neste exame, avaliou-se a condição uterina, sendo descartados os animais gestantes e que apresentaram acúmulo de líquido no útero. O transdutor linear, de 5 MHz, foi preso a um tubo de PVC e fita adesiva para mantê-lo rígido, de forma a permitir sua introdução no reto das ovelhas.

Após confirmação da condição de não gestantes, esses animais foram distribuídos, aleatoriamente, em cinco grupos de manejo alimentar, todas passando por dois tratamentos térmicos em câmara climatizada (Tabela1).

O monitoramento da temperatura e umidade relativa do ar no interior da câmara climatizada ocorreu por meio da média entre os valores obtidos na leitura entre dois termohigrômetros digitais de máxima e mínima (Equitherm®) dispostos em extremidades opostas do recinto, ao passo que a temperatura externa, ou seja, no interior do galpão experimental ocorreu por leitura em termohigrômetro idêntico aos colocados no interior da câmara. Para título de averiguação destes aparelhos, cada ambiente experimental era guarnecido com um termo higrômetro analógico de bulbo seco e úmido (5203.03.0.00 - Incoterm®) para comparação entre as aferições.

Tabela: 1 – Média das temperaturas (T°C) e umidades relativas do ar (UR%) encontradas nos ambientes de conforto e estresse térmico dentro de câmara climatizada, e adaptação e pós estresse dentro de galpão experimental.

Adaptação						
	T (°C)	Tmín (°C)	Tmax (°C)	UR (%)	URmín (%)	URmax (%)
Manhã	23,0	22,64	23,36	50,97	43,47	58,30
Tarde	22,9	22,62	23,37	50,95	43,51	58,27
Geral	23,0	22,63	23,37	50,96	43,50	58,29
Conforto Térmico						
	T (°C)	Tmín (°C)	Tmax (°C)	UR (%)	URmín (%)	URmax (%)
Manhã	24,35	23,57	25,29	64,63	56,84	69,98
Tarde	24,40	23,63	25,33	64,91	57,08	70,42
Geral	24,40	23,61	25,33	64,50	56,74	69,87
Estresse pelo Calor						
	T (°C)	Tmín (°C)	Tmax (°C)	UR (%)	URmín (%)	URmax (%)
Manhã	33,89	32,57	35,21	49,47	38,47	61,50
Tarde	33,83	32,51	35,14	49,49	38,53	61,48
Geral	33,86	32,54	35,17	49,48	38,50	61,49

T (°C) temperatura do ar; Tmín (°C) temperatura mínima do ar; Tmax (°C) temperatura máxima do ar; UR (%) umidade relativa do ar; URmín (%) umidade relativa mínima do ar; URmax (%) umidade relativa máxima do ar.

As ovelhas permaneceram alojadas em gaiolas metabólicas durante todo o período experimental. Inicialmente passaram por um período de adaptação a gaiola e a dieta por 21 dias, em galpão experimental, quando, em seguida, passaram para exposição aos tratamentos térmicos na câmara climatizada, isolada por material adiabático onde as temperaturas do ambiente e a umidade relativa do ar podiam ser controladas, por 15 dias em cada ambiente. A luminosidade dentro da câmara climatizada foi controlada por um temporizador digital, tendo as luzes acesas diariamente às seis horas e desligada às 19h e 30 min., totalizando 13h e 30 min. de luz diárias. Entre cada um dos tratamentos térmicos, as ovelhas permaneceram alojadas em gaiolas metabólicas, porém fora da câmara climatizada, em um galpão coberto, durante 15 dias, submetidas a semelhante período de luminosidade e temperatura iguais a do período de adaptação.

Ao serem acomodados nas gaiolas de metabolismos, os animais foram vacinados contra as principais espécies de *Clostridium sp* e desverminados. Após 21 dias da everminação, realizou-se exame de OPG para verificar a infestação de verminoses e eiméria, e proceder a desverminação caso houvesse necessidade. No momento em que foram colocadas nas gaiolas, as ovelhas foram pesadas em balança móvel para ovinos (602-SM, Açôres®), com escala de 100g e avaliado o escore de condição corporal (apalpação da região dorso lombar e dado um valor que variava de zero a cinco (Tabela 2). A cada 15 dias esse processo foi repetido. Os animais receberam brincos para identificação, a fim de que pudessem ser distribuídos nos tratamentos corretamente.

Tabela: 2 – Peso médio de ovelhas não gestantes da raça Santa Inês no início do experimento e ao final de cada tratamento térmico proposto, conforto e estresse pelo calor.

	Peso (kg)	Escore Corporal
Inicial	42,50	2,40
Conforto	43,95	2,45
Estresse por calor	41,74	2,38

O fornecimento das dietas baseou-se em 3% do peso vivo dos animais, de acordo com o Nutrient... (1985), calculadas para condições isoprotéicas e isoenergéticas, com aproximadamente 14% de proteína bruta e 65% de NDT, sendo compostas, uma com predomínio de polpa cítrica, outra de milho moído e, as demais com crescentes níveis de inclusão de semente de linhaça marrom na dieta (10%, 15%, 20% de inclusão) (Tabela 3). O volumoso fornecido foi feno de Tifton 85, picado a cinco centímetros aproximadamente.

Tabela: 3 - Composição bromatológica das dietas e proporção dos ingredientes no concentrado

Dietas					
	Polpa Cítrica	Milho	Linhaça 10%	Linhaça 15%	Linhaça 20%
Concentrado	26,8	25,79	29,3	28,04	37,82
Feno	73,2	74,21	70,7	71,96	62,18
Composição bromatológica na dieta					
MS	87,72	87,66	87,87	88,48	88,46
MO	93,56	95,16	94,82	94,84	93,62
MM	6,44	4,84	5,18	5,17	6,37
FDN	62,65	64,30	61,12	62,73	59,33
FDA	25,64	24,56	24,56	24,55	21,93
PB	13,62	13,86	13,57	13,51	13,89
EE	1,53	1,87	5,28	6,85	8,67
NDT	65	65	65	65	65

Concentrado					
Proporção dos ingredientes (% na MS)					
Polpa cítrica	57,0	-	-	-	-
Farelo de soja	28,3	30,1	9,92	2,1	-
Milho	11,3	68,3	55,63	43,6	43,3
Linhaça	-	-	33,74	53,0	52,6
Calcário	1,9	1,6	-	-	0,17
Fosfato bicálcico	1,6	-	0,71	1,31	3,9

A alimentação era fornecida pela manhã e tarde. O arraçoamento consistia no fornecimento do feno e concentrado em duas refeições, às oito e 16 h. A água e o sal mineralizado específico para ovinos (Vacci-pHós, Vaccinar®) eram ofertados, diariamente na refeição matutina, sendo cinco litros de água e 100 gramas de sal, quantidades suficientes para disponibilidade *ad libitum* e possibilitar a mensuração dos consumos. Antes da primeira oferta de alimentos do dia, todas as sobras eram retiradas para determinação do consumo dos alimentos, sendo esta calculada pela diferença entre o que foi ofertado e a sobra.

Para o protocolo de superovulação foi utilizada esponja vaginal contendo 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP) por 12 dias (Progespon® – Schering Plough -Brasil) e a superovulação induzida com 250 UI de Hormônio Folículo Estimulante da espécie suína (pFSH) (Pluset® – Hertapie Calier - Brasil), divididas em seis doses decrescentes, aplicadas em intervalo de 12 horas. O tratamento superovulatório foi iniciado 72 horas antes da retirada da esponja vaginal, o que ocorreu no momento da aplicação da penúltima dose de pFSH. As fêmeas receberam, juntamente com a última dose de pFSH, 200 UI de eCG (Novormon® – Intervet Schering Plough - Brasil) e 0,125 mg de cloprostenol sódico (Ciosin® – Schering Plough - Brasil) (Tabela 4).

Tabela: 4 – Protocolo utilizado no programa de super ovulação, adaptado de Baldassare (2008).

Ovelha	
Dia 0	Colocação esponja vaginal contendo 60mg de acetato de medroxiprogesterona (Progespon® – Schering Plough -Brasil)
Dia 10 – manhã	1ª injeção de FSH (62,5 UI)
Dia 10 – tarde	2ª injeção de FSH (62,5 UI)
Dia 11 – manhã	3ª injeção de FSH (41,66UI)
Dia 11 – tarde	4ª injeção de FSH (41,66UI)
Dia 12 – manhã	5ª injeção de FSH (20,83UI) + retirada do implante ou da esponja
Dia 12 – tarde	6ª injeção de FSH (20,83UI) + 200 UI de ECG + 0,125mg de PGF2 α
Dia 13	Observação de estro e inseminação artificial
Dia 14	Observação de estro e inseminação artificial
Dia 19	Coleta dos embriões

Todas as fêmeas foram inseminadas pela técnica transcervical com sêmen fresco, coletado de machos de fertilidade comprovada, e dose inseminante mínima de 750 milhões de espermatozoides. Para inseminação, as doadoras foram colocadas com o posterior elevado e com auxílio de espécuro, do tipo bico de pato, foi realizada a tração do óstio cervical com duas pinças *Allis* (22 cm). Foi utilizado aplicador universal para pequenos ruminantes da empresa Alta Genetics® para transposição cervical. Cada doadora foi inseminada duas vezes, com intervalo de 8 horas, sendo a primeira inseminação realizada 38 horas após a retirada da esponja de progesterona. O dia do cio foi considerado como dia 0 (D0) do ciclo estral.

A coleta de embriões foi realizada por laparotomia seis dias após o início do estro (D6), sob condições de anestesia geral endovenosa. Uma incisão de aproximadamente 5 cm cm foi feita na pele, paralelamente à linha alba, a aproximadamente 10 cm da glândula mamária. A partir desta incisão, o útero foi totalmente exposto sobre um pano de campo apoiado sobre o próprio abdômen do animal. Em seguida, os ovários eram observados para contagem de corpos lúteos. Todas as doadoras que apresentaram quatro ou mais corpos lúteos em resposta ao protocolo superovulatório foram submetidas à lavagem uterina para coleta de embriões.

Cada corno uterino foi lavado com 40 mL de solução de PBS (*Phosphate buffered solution* – Solução fosfatada tamponada) acrescida de 10% de soro fetal bovino (SFB). A solução de lavagem foi introduzida no útero pelo ápice do corno, utilizando-se cateter endovenoso 18G (BD, *New Jersey*, EUA) e recuperada pela base do mesmo corno com auxílio de sonda uretral siliconada nº 10 (Embramac®, São Paulo, Brasil), em fluxo contínuo, diretamente em uma placa de Petri (100 x 20mm).

Durante a coleta, os cornos uterinos foram constantemente irrigados externamente com solução fisiológica (0,9% de NaCl) a 37°C. Após a lavagem, os cornos uterinos foram lubrificados com pomada de heparina sódica (Trombofob®, Abbott – São Paulo - Brasil) e inseridos na cavidade abdominal, que era lavada com solução fisiológica (0,9% de NaCl) aquecida a 37°C e acrescida de 20 UI/mL de heparina sódica.

Para sutura da musculatura abdominal e peritônio foi utilizado fio Catgut 0 em ponto simples interrompido, enquanto que para suturar a pele, foi utilizado Nylon 0 em ponto simples isolado. Todas as doadoras receberam tetraciclina LA (10mg/kg de peso vivo) e 0,5 mL de PGF-2 α , ambas por via intramuscular, ao final do procedimento cirúrgico e, sete dias após a coleta, nova dose de PGF-2 α . Trinta dias após as coletas do ambiente de conforto, as mesmas ovelhas passavam pelo tratamento de estresse e eram submetidas a novas coletas embrionárias.

Para o rastreamento dos embriões utilizou-se estereomicroscópio (20X). Os embriões recuperados foram avaliados, classificados segundo a *International Embryo Transfer Society* (IETS) (Robertson e Nelson, 1999). Com relação à

produção dos embriões, avaliou-se o número de corpos lúteos íntegros e em regressão, o número de embriões recuperados e folículos anovulatórios. A luteólise precoce foi avaliada pela coloração dos corpos lúteos, sendo considerados regredidos os corpos lúteos de aspecto esbranquiçado ou amarelado. A existência de folículos anovulatórios foi definida pela presença de um ou mais folículos grandes (acima de 8mm) nos ovários.

Para análise da resposta superovulatória utilizou-se o teste de Qui-Quadrado e para avaliação da significância das respostas encontradas foi utilizado o teste de Fisher a 5% de probabilidade.

A comparação entre as médias de número de corpos lúteos, corpos lúteos em regressão, cistos foliculares e embriões recuperados foi realizada pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis (1952) e para diferenciar os tratamentos climáticos de Wilcoxon, usando o SAEG 9.1 (Sistema..., 2007).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve interação nas respostas entre os ambientes térmicos e dietas testadas, portanto tais resultados serão apresentados separadamente.

Os resultados obtidos quanto à resposta ao tratamento superovulatório está apresentado na tabela 5.

Tabela: 5 - Resposta de ovelhas não gestantes da raça Santa Inês ao tratamento superovulatório entre os tratamentos climáticos, conforto (24°C e 65%UR) e estresse (34°C e 50%UR).

Resposta ao Tratamento Superovulatório				
Ambiente	Não	Sim	Total	Tx Resp(%)
Conforto	15	25	40	62,5
Estresse	27	13	40	32,5

A significância foi de $P= 0,0133$ pelo teste de Fisher. TxResp – taxa de resposta ao tratamento superovulatório, significa o número de ovelhas que apresentaram mais que quatro corpos lúteos no momento da coleta.

Quando se utiliza FHS de origem ovina para indução da superovulação, taxas superiores de respostas são encontradas, tal como os 83,3% observados em ovelhas da raça Corriedale (Simonetti *et al.*, 2008), dos 97% reportados com ovelhas da raça Cara Negra Inglesa (Bari *et al.*,2001). Aparentemente, estes resultados sugerem melhores respostas ao protocolo de super ovulação na utilização de FSH ovino. Contudo, uma taxa de 100%, com a utilização de FSH de origem suína, foi observada em animais da raça Merino (Blanco *et al.*,2003). Foi observado decréscimo no número de ovelhas que responderam ao tratamento superovulatório quando observado o gradiente climático, conforto e estresse, verificando que entre 40 ovelhas observadas em cada grupo, 25 animais responderam ao tratamento no grupo conforto, 62,5% de taxa de resposta (TxResp), enquanto apenas 13 responderam no grupo estresse, 32,5% de TxResp.

Fica evidente que, independente da dieta fornecida à temperatura ambiente de 34°C a 50% de umidade, foi suficiente para influenciar na resposta ao tratamento superovulatório nos animais estudados, provavelmente em virtude ao estresse térmico ocasionado por esta temperatura.

A TxResp encontrada no grupo conforto de 62,5% assemelha-se a taxa encontrada por Varago (2009), também utilizando ovelhas Santa Inês estimuladas

com FSH suíno, de 63,26% em animais criados estabulados em baias dentro de um galpão e superior a taxa de 46,51% observada para animais contidos em gaiolas metabólicas, dentro de câmara climatizada sob as mesmas condições climáticas.

Todavia, quando comparada a taxa obtida por animais criados a campo e estimulados com FHS suíno, de 71,42% (Varago, 2009) e 74% (Gusmão *et al.*, 2007), a taxa aqui registrada torna-se inferior. É possível que animais estabulados, principalmente aqueles contidos em gaiolas metabólicas em câmaras climatizadas ou simplesmente em baias coletivas, estejam em condição comportamental mais estressante do que animais criados a campo, proporcionando maior liberação de cortisol e influenciando, de forma negativa, a reprodução (2003). Desta forma, evidencia-se a difícil comparação entre as taxas de superovulação com animais de raças nativas não sazonais e raças exóticas sazonais, pois independente da origem do FSH utilizado, suíno ou ovino, as raças exóticas parecem apresentar melhores taxas de resposta a superovulação.

Não foi observada significância estatística na comparação entre dietas e resposta ao tratamento superovulatório pelo mesmo teste de Fisher ($P = 1,0$), portanto esta análise não foi apresentada.

Para a avaliação do sucesso e insucesso da técnica de superovulação nos animais estudados, examinamos o número de corpos lúteos (CL) e embriões recuperados (Recup), o número de corpos lúteos em regressão prematura (CLreg) e cistos foliculares (CF), respectivamente. Tais resultados estão apresentados na tabela 6.

Tabela: 6 – Comparação entre médias do número de corpos lúteos (CL), corpos lúteos em regressão prematura (CLreg), cistos foliculares (CF), estruturas embrionárias recuperadas (Recup) e taxa de recuperação (TxRec) influenciadas pelo tipo de ambiente, conforto (24°C e 65%UR) e estresse (34°C e 50%UR), e por níveis crescentes de lipídeo na dieta de ovelhas não gestantes da raça Santa Inês.

	Conforto					Estresse				
	CL	Recup	CLreg	CF	TxRec	CL	Recup	CLreg	CF	TxRec
Ambiente	4,63 A	1,60 A	1,93 A	0,43 A	34,6 A	2,88 B	0,73 A	1,13 A	0,33 A	25,3 B
Dieta										
Polpa Cítrica	3,75 c	1,00 a	1,50	0,25	26,6	1,63 c	0,13	1,13	0,25	8,0
Milho	6,50 a	2,63 a	1,88	0,25	40,5	4,75 a	1,75	0,75	0,75	36,8
Linhaça 10	4,25 b	1,25 a	2,13	0,25	29,4	2,38 b	0,75	2,38	0,13	31,5
Linhaça 15	2,63 c	2,25 a	2,75	0,88	85,5	3,13 a	0,75	0,75	0,00	24,0
Linhaça 20	6,0 a	0,88 b	1,38	0,50	14,7	2,50 b	0,25	0,63	0,50	10,0

Letras maiúsculas comparam efeitos de ambientes, CL (Teste Qui-quadrado $P < 0,0736$) TxRec % (Teste Qui-quadrado $P < 0,008$) e letras minúsculas comparam efeitos de rações (Teste Qui-quadrado $P < 0,05$).

A tabela 6 apresenta a comparação entre médias das variáveis estudadas entre os tratamentos climáticos, a qual revela significância na comparação entre as médias do número CL, 4,63 no conforto e 2,88 no estresse, reflexo da maior da resposta superovulatória no ambiente a 24°C do que a 34°C. Nas demais variáveis não houve diferença estatística ($P > 0,05$), sendo, o número de embriões recuperados no conforto e estresse, de 1,6 e 0,73 respectivamente, o número

médio de CLreg 1,93 conforto e 1,13 no estresse, bem como 0,43 e 0,33 o número médio de CF, respectivamente, no conforto e estresse.

Adicionalmente, a taxa de recuperação embrionária, baseada no número de embriões coletados por número de corpos lúteos, também foi diferente entre os grupos avaliados, 34,6% no conforto e 25,3% no estresse. Todavia ambos os valores encontram-se dentro da variação encontrada na literatura, de 20 a 100% (McKelvey *et al.*, 1986; Scudamore *et al.*, 1991; Bari *et al.*, 2000; Lymberopoulos *et al.*, 2000; Ehling *et al.*, 2003; Capovilla, 2006; Varago, 2009), o que demonstra grande variabilidade nos resultados nesta espécie.

Vários fatores podem interferir na taxa de recuperação, tais como o método de coleta (Andrioli *et al.*, 1999), regressão prematura de corpo lúteo, variação individual dos animais, raça, intervalo da inseminação artificial à coleta, a gonadotrofina utilizada para induzir a superovulação (Scudamore *et al.*, 1991) e a experiência do técnico que realiza o procedimento (Varago, 2009).

O uso da esponja intra vaginal, como dispositivo para implante de progesterona, gerou quase que na totalidade dos animais tratados a ocorrência de vaginite. Esta patologia deveu-se às mudanças no ambiente vaginal, atribuídas a fatores físicos, esfoliação do epitélio, bem como por meio do acúmulo de secreções (Suárez *et al.*, 2006).

Alguns autores afirmam que a presença de um corpo estranho, por exemplo, esponja intra vaginal, é suficiente para estimular o crescimento bacteriano, inflamação localizada, com o acúmulo de muco secreções e fluidos de odor fétido (Motlomelo *et al.*, 2002; Manesa *et al.*, 2010), fato apresentado neste trabalho.

O trabalho revelou influência direta do estresse pelo calor sobre a resposta superovulatória, número de corpos lúteos e taxa de recuperação. Alguns fatores a respeito da influência do estresse pelo calor sobre a fisiologia da reprodução dos animais são enumerados na literatura, sendo considerados relevantes, pois justificaram ou explicam tais fatos ocorridos.

O estresse pelo calor é capaz de causar alterações na fisiologia dos animais. Mecanismos como o acúmulo corporal de calor proveniente do ambiente, tornam-

se prejudiciais, à medida que o metabolismo do animal entra em estado catabólico. Nessa situação, ocorre a ativação das adrenais com liberação de corticosteróides, que são hormônios que promovem a gliconeogênese e também diminuem a circulação uterina e ovariana, prejudicando, assim, a reprodução (Muller, 1989). Desta forma, pode ter ocorrido uma diminuição na circulação ovariana nas ovelhas sob estresse pelo calor estudadas neste trabalho, diminuindo a chegada dos hormônios reprodutivos ligados ao processo superovulatório, bem como diminuído a saúde folicular e qualidade dos oócitos, inviabilizando, por vezes, a formação de embriões.

Nesta mesma linha de raciocínio, quando na presença de um estresse na fase crônica, tal como o ocorrido neste estudo, onde os animais permaneceram por sete dias aproximadamente em condição de estresse pelo calor antes do término do tratamento superovulatório, bem como por 15 dias antes da coleta dos dados. Assim, segundo Alexander e Irvine (1998), a elevação do cortisol plasmático causa uma retroalimentação negativa sobre o hipotálamo e hipófise, produzindo um efeito igualmente negativo sobre a liberação de hormônios reprodutivos. Morberg (1987) afirmou que o estresse provoca alterações sobre a expressão de receptores, síntese e secreção de hormônios esteróides, da mesma forma que pode prejudicar o desenvolvimento do oócito, pode alterar a função luteal e a síntese e secreção de prostaglandinas, desencadeando regressão prematura dos corpos lúteos.

Mitchell *et al.* (2002), trabalhando com ovelhas exóticas na Inglaterra, observaram que não houve diferença no número de CL e taxa de recuperação após superovulação comparando os meses de outubro, pico da estação reprodutiva neste país, e o mês de abril, fim da estação reprodutiva. No entanto, no mês de outubro o pico de LH foi superior, ao passo que o número de estruturas viáveis a transferência foi reduzido no mês de abril. Os autores justificaram que a maior concentração de LH obtida no mês de outubro pode ter influenciado na atividade folicular e diferenciação celular dos oócitos.

No entanto, Varago (2009) observou que ovelhas Santa Inês apresentaram menor taxa de resposta ao protocolo, com menor número de CL, bem como menor taxa de recuperação no período compreendido entre primavera e verão comparado ao

período outono e inverno. Como neste trabalho a luminosidade foi constante, atribui-se mais uma vez menores taxas de resposta ao tratamento e recuperação à temperatura.

Além do calor, alguns outros fatores podem ter influenciado a menor e discrepante resposta superovulatória e taxa de recuperação. Ainda hoje, vários autores compartilham que há uma grande variação na taxa de ovulação e no número de embriões viáveis recuperados entre os tratamentos e entre os animais dentro de um mesmo tratamento de superovulação, sendo esta variação um fator limitante na utilização destes programas e coleta de embriões em ovinos (Driancourt, 1991; Cognié, 1999; Baldassare, 2008). Gonzales-Bulnes *et al.* (2000) mencionam que este é um problema pertinente constatado entre 20 a 30% das fêmeas tratadas.

Diferentemente do FSH endógeno, o FSH exógeno utilizado nos protocolos atuais de superovulação, atua apenas nos folículos que já iniciaram o seu desenvolvimento, ou seja, folículos responsivos a gonadotrofinas ou folículos antrais com diâmetro entre 2 e 3 mm (Veiga-Lopes *et al.*, 2005).

Além disso, a presença de folículos não responsivos ao LH durante a regulação de seus receptores nas células da teca e granulosa também pode ser um fator que influencia a não responsividade ao tratamento superovulatório e baixa recuperação embrionária (Boland *et al.*, 1991; González-Bulnes *et al.*, 2003), ficando constatado que a população folicular presente nos ovários no início do tratamento hormonal é um fator que tem grande participação na resposta à superovulação (González-Bulnes *et al.*, 2005; Veiga-Lopes *et al.*, 2005).

Estudos realizados até o momento evidenciam que o sucesso na recuperação embrionária, após o processo de superovulação em ovelhas, está diretamente ligado ao status ovariano no início do tratamento com FSH (González-Bulnes *et al.*, 2000, 2004, 2005), ou seja, a quantidade de folículos que podem ser estimulados pelo FSH, depende da quantidade de folículos presentes no ovário no momento do início da superovulação. No entanto, com a utilização dos protocolos convencionais, a população folicular existente no início do tratamento com gonadotrofina é desconhecida. Por esta razão, o resultado para um mesmo

tratamento pode variar entre zero e 30 embriões transferíveis (Baldassare, 2008) por lavado.

Cahill *et al.* (1979) citaram que 45 dias seriam necessários para a formação do antro até a ovulação. Bari *et al.* (2001) mencionam que 40 dias já seriam suficientes para este processo. Se apenas a partir da formação do antro os folículos tornam-se responsivos as gonadotrofinas, este período deveria ser respeitado entre coletas. Todavia, tratamentos superovulatórios repetidos em intervalos curtos de trinta dias, assim como o realizado neste experimento, teoricamente não resultariam em resposta reduzida ao protocolo e poderiam ser aplicados sem queda na eficiência, pois na espécie ovina há um crescimento contínuo de folículos primordiais durante cada ciclo estral, dessa forma, folículos não responsivos ao tratamento em uma onda, poderiam ser responsivos na onda seguinte.

Outra especulação para menor taxa de recuperação embrionária observada no grupo experimental estresse térmico pode estar ligada à grande formação de aderências que a técnica de laparotomia induziu no aparelho reprodutivo das fêmeas após as primeiras coletas, o que pode ter levado a diminuição de captação e transporte dos oócitos. Por esta razão, a formação de aderências foi admitida como a possível causa para essa menor recuperação embrionária nas segundas coletas. Este fato é corroborado por Torres e Sevelle (1987), Andrioli *et al.* (1999) e Bari *et al.* (2001) ao estudarem animais exóticos, Varago (2009) trabalhando com ovelhas Santa Inês, acrescido de Palmieri *et al.* (2011), ao revisar patologias do trato reprodutor de ovelhas.

Na mesma tabela 6, está apresentada a comparação entre a variável dieta dentro do gradiente térmico de conforto e estresse. No ambiente conforto observou-se a média para o número de corpos lúteos superior nos animais alimentados com a dieta MI, 6,5 e L20, 6,0 ($p < 0,05$). O grupo alimentado com a dieta L10 apresentou valor intermediário, 4,25, enquanto menores valores foram observados para os animais alimentados pelas dietas PC e L15, 3,75 e 2,63 respectivamente.

No ambiente estresse observou-se a média para o número de corpos lúteos superior nos animais alimentados com a dieta MI, 4,75 e L15, 3,13. Nos grupos

L10, 2,38 e L20, 2,5, sendo médias intermediárias e com menor valor a dieta PC, 1,63.

Fica notório que em algum ambiente sempre em uma dieta composta por lipídeo foi apresentado maior valor para corpos lúteos, todavia na dieta composta por predomínio de milho, as médias apresentaram-se mais elevadas em ambas as temperaturas, demonstrando não ter havido influência dos ácidos graxos sobre o número de corpos lúteos.

Capovilla (2006) não observaram aumento no número de corpos lúteos quando acrescidos linhaça em grão e ômega 6 sintético (LAC-100® - Yakult) nas dietas de ovelhas Santa Inês. Da mesma forma, outro tratamento nutricional objetivando um aumento no número de embriões concomitante ao aumento nível de energia na dieta, não alterou a resposta superovulatória em ovinos, de acordo com McEvoy *et al.* (1995).

Todavia, em ovelhas Merino, Zeron *et al.* (2002) observaram que ao fornecer óleo de peixe (ômega- 3) na dieta dos animais, houve um aumento no número de folículos e qualidade de oócitos. Pode-se prever o número de corpos lúteos oriundos após tratamento superovulatório pelo número de folículos no período pré ovulatório, desde que apresentem receptores para FSH no momento do início do protocolo.

A suplementação da dieta com lipídios melhora o balanço energético dos animais que, por sua vez, apresentam aumento do crescimento e desenvolvimento folicular (Grummer e Carroll, 1991; Staples *et al.*, 1998), aumento da esteroidogênese e manipulação da insulina, estimulando o desenvolvimento folicular (Staples *et al.*, 1998). Já foi relatado que a suplementação alimentar com ácidos graxos influencia positivamente a dinâmica de crescimento folicular na espécie bovina (Wehrman *et al.*, 1991;. Beam e Butler, 1997; Lammoglia *et al.*, 1997; Rigolon *et al.*, 2003).

Entretanto, Lucy *et al.* (1992) sugeriram que os ácidos graxos, e não a energia adicional oriunda das lipídios, estimularia a função ovariana, uma vez que estes nutrientes sejam precursores das prostaglandinas e, via colesterol, dos hormônios esteróides (Petit, 2003).

Adicionalmente, avaliando parâmetros reprodutivos em machos adultos sem raça definida, Fuck (2006) não observou qualquer significância entre os parâmetros avaliados dos animais alimentados com dieta contendo semente de linhaça dos animais que não recebiam este alimento.

Foi demonstrado que perfis de ácidos graxos em oócitos podem ser alterados pela temperatura ambiente, tal como indicado pela comparação em oócitos obtidos no verão e no inverno em bovinos (Zeron *et al.*, 2001). Foi sugerido pelos autores que mudanças sazonais no perfil lipídico, e especialmente o aumento em ácidos graxos poliinsaturados nos componentes folicular pode ser conectado com o aumento do número de folículos por ovário e mudança da qualidade do oócito com a estação. O mesmo aumento em ácidos graxos poliinsaturados observado nos bovinos, também foi observado em ovelhas, que mostram um maior número de folículos e de oócitos grau I após a suplementação com ácidos graxos polinsaturados (Zeron *et al.*, 2002).

No presente estudo não houve aumento no número de corpos lúteos nas ovelhas alimentadas com maior teor de lipídio nem no ambiente conforto, 24°C, nem no ambiente de estresse pelo calor, 34°C. Talvez o número de folículos não seja determinante na variação da resposta superovulatória, mas, sim, se estes possuem receptores para FSH (hormônio folículo estimulante), tal como discutido anteriormente.

Outra possibilidade poderia ser a influência da glicose sanguínea. Sabe-se que a glicose juntamente com a insulina e IGF-1 são estimuladores do crescimento folicular e tem efeitos benéficos sobre a qualidade do oócito, além de estarem envolvidos tanto no metabolismo intra-ovariano como na regulação hormonal, principalmente na modulação dos pulsos de LH e ovulação (Rabiee *et al.*, 1997).

Os animais que receberam a dieta L20 apresentaram o valor glicêmico médio mais elevado, 63,02 mg/dl, seguido pelo grupo L15. Ambos os grupos obtiveram maiores médias de CL, sendo o primeiro no conforto e o segundo no estresse, todavia os animais do grupo M1 apresentou médias mais elevadas de corpos lúteos em ambos tratamentos térmicos e obteve valor glicêmico médio bem inferior aos outros dois grupos, 55,92 mg/dl, como pode ser observado na tabela 10 do capítulo 2. Todos estes valores de glicemia encontram-se dentro da faixa

observada para a raça, que pode variar de acordo com a dieta, todavia não foi encontrado na literatura trabalhos que tivessem correlacionado glicemia e superovulação.

No ambiente conforto observou-se significância estatística semelhante entre número de embriões recuperados para todas as dietas, exceto a L20, que apresentou o menor valor, 0,88 ($p < 0,05$). Para as demais dietas foram encontrados os valores de 1,0, PC; 2,63, MI; 1,25, L10 e 2,25 para L15.

Quanto ao número de embriões recuperados no grupo estresse, não houve diferença estatística entre as médias observadas para as dietas testadas.

O aumento das concentrações plasmáticas de progesterona tem sido associado ao aumento da taxa de concepção de fêmeas ruminantes em lactação. A secreção de progesterona é a principal função do corpo lúteo e este hormônio não somente prepara o útero para a implantação do embrião, bem como contribui para a manutenção da gestação (Staples *et al.*, 1998). O colesterol serve como precursor para a síntese de progesterona pelas células luteais ovarianas e é oriundo da síntese *de novo* a partir do acetato ou captado a partir de lipoproteínas plasmáticas. O colesterol plasmático está associado, principalmente, à lipoproteína de alta densidade (HDL – *High Density Lipoprotein*) e à lipoproteína de baixa densidade (LDL – *Low Density Lipoprotein*) (Grummer e Carroll, 1988).

O fato de não ter sido evidenciado neste trabalho um maior número de corpos lúteos para os tratamentos com linhaça, pode ser uma das explicações para não ter havido melhoria na recuperação de embriões viáveis.

Diferentemente, Capovilla (2006) encontrou média superior de embriões viáveis a transferência em ovelhas Santa Inês suplementadas com ômega 6 sintético, em relação a ovelhas suplementadas apenas com linhaça grão, mesmo sem observar maior número de corpos lúteos nestas ovelhas. Todavia, estes autores utilizaram mesmo número de animais, oito, e diferente metodologia de avaliação estatística, diferindo no teste aplicado para comparação de médias. No caso destes autores, os mesmos não sugeriram os motivos pelos quais levaram a tais resultados, no entanto Zeron *et al.* (2001) observaram maior concentração de ácidos graxos poliinsaturados em células do *cumulus oophorus* de vacas suplementadas com estes nutrientes, especulando que esse poderia ser o motivo da melhor qualidade

dos oócitos oriundos destes folículos. Desta forma, se poderia ter embriões de melhor qualidade, visto que lipídios fazem parte da membrana e constituintes celulares (Lehninger *et al.*, 2005).

A tabela 6 ainda revela a comparação entre as médias do número de CLreg, CF e TxRec entre dietas no ambiente conforto e estresse. Não foi observado neste trabalho diferença estatística ($P > 4,0$) para as variáveis em questão. É provável que o número de animais nas subparcelas (dietas) tenha sido insuficiente para permitir a expressão de qualquer nível estatístico de significância entre a comparação de médias destas variáveis.

No entanto, CLreg foi um fator fortemente observado nas ovelhas dos grupos experimentais. Tal fato é comum em ovelhas que tenham passado pelo processo de superovulação e parece estar associado a elevadas concentrações de estrógenos circulantes durante a fase luteal inicial (Fonseca *et al.*, 2007).

O ciclo normal das ovelhas é caracterizado por altos níveis préovulatórios de secreção de estradiol (E2) resultando na “down regulation” dos receptores de ocitocina pelo útero, revelando a associação entre altas concentrações de estradiol e a luteólise prematura (Vallet *et al.*, 1990). Portanto, como o processo de superovulação aumenta ainda mais o número de folículos préovulatórios, este fator estaria ainda mais exacerbado.

A regressão luteal precoce é evidente em aproximadamente quatro dias após o estro, mas a concentração circulante de progesterona já se apresenta abaixo do desejável desde o terceiro dia. Este tipo precoce de regressão pode variar entre 6 a 75% dos animais tratados e como principal consequência é observada diminuição na taxa de recuperação e qualidade dos embriões recuperados (Lopes Júnior *et al.*, 2006).

Protocolos de superovulação que utilizaram a gonadotrofina coriônica equina (eCG) em substituição ao FSH têm apresentado maior ocorrência de regressão luteal prematura (Armstrong *et al.*, 1983, 1987; Pendleton *et al.*, 1989). Tratamentos superovulatórios utilizando eCG, na maioria das vezes estão associados com a presença de um grande número de folículos anovulatórios no momento da coleta de embriões (Gonzales *et al.*, 1994), devido a longa meia vida do eCG que provoca o desenvolvimento de uma nova onda folicular (Murphy e

Martinuk, 1991). Essa segunda onda provoca um aumento nos níveis de estrógeno que afeta a qualidade dos embriões colhidos (Schiewe *et al.*, 1991). Ao passo que tratamentos superovulatórios com gonadotrofina da menopausa humana (hMG) devido sua meia vida curta leva a um rápido e homogêneo aumento de progesterona durante a fase luteal concomitante ao decréscimo do estradiol plasmático, produzindo um maior efeito sincronizador sobre a manutenção folicular (Lauria *et al.*, 1982; Traldi *et al.*, 1996).

O aumento dos níveis de secreção de progesterona produzido pelo corpo lúteo promove a inibição dos níveis de receptores de ocitocina pouco antes da luteólise. Este processo se inicia durante a fase luteal com a diminuição de receptores de ocitocina que não estimula a ação da PGF2 α luteolítica (Vallet *et al.*, 1990).

Coyne *et al.* (2008) verificaram que o efeito da suplementação de ômega 3 na dieta de vacas foi significativo ($p < 0,05$) para influenciar na diminuição da síntese e secreção da PGF2 α . O mesmo pode também ter ocorrido com as ovelhas deste experimento, pois não houve diferença estatística entre o número de corpos lúteos em regressão prematura no ambiente estresse comparado ao conforto. Todavia, tal especulação pode ser questionada uma vez que, mesmo numericamente a dieta L20 tenha apresentado o menor valor de CLreg, não houve comprovação estatística.

Os efeitos relacionados à presença do corpo lúteo podem ser relacionados a alterações na competência de desenvolvimento dos oócitos, no processo de fecundação e no desenvolvimento inicial do embrião (Greve *et al.*, 1995) ou a mudanças no ambiente uterino, o que expõe os embriões a ambiente hostil e sem capacidade para recebê-los (Barnes, 2000). No entanto, Veiga-Lopes *et al.* (2005) demonstraram que a influência do corpo lúteo é principalmente relacionada às questões de ambiente uterino e à população folicular, portanto, os oócitos também são diretamente afetados.

Existe ainda uma interação entre a ausência de corpo lúteo e a presença de grandes folículos no ovário, sendo maior o efeito negativo da dominância sobre a taxa de recuperação e a viabilidade embrionária na ausência de corpo lúteo (Greve *et al.*, 1995), portanto, subentende-se que quanto maior o número de corpos lúteos em regressão, menor o número de corpos lúteos saudáveis, menor

a concentração circulante de progesterona e menor a quantidade de embriões viáveis recuperados após protocolo de superovulação.

Quanto aos cistos foliculares não foi observada diferença entre os valores dos grupos sob distintos tratamentos térmicos, bem como entre as deitas testadas. Grunert *et al.* (2005) relataram que os cistos foliculares são oriundos de folículos anovulatórios em detrimento ao desequilíbrio hormonal entre GnRH e LH que bloqueia a ovulação. Em função das gonadotrofinas serem conhecidas por induzir a produção do fator de crescimento endotélio-vascular (VEGF) pelas células foliculares, foi concluído que os baixos níveis de LH durante a transição levam à vascularização reduzida do folículo e subsequente falha na aquisição da capacidade ovulatória. É demonstrado que o IGF-1 estimula a produção de VEGF nos folículos e é provável que a baixa disponibilidade de IGF-1 nos folículos transicionais, posteriormente, contribua para a reduzida angiogênese folicular, desta forma podendo contribuir com a presença de folículos anovulatórios (Donadeu e Watson, 2007). Adicionalmente, Ghinter *et al.* (2006) observaram que em eqüinos, folículos pré ovulatórios exageradamente grandes e que apresentam por consequência maior conteúdo de fluido folicular e produção de estrógeno, apresentam maior propensão a não ovularem, podendo tornarem-se cistos foliculares ou folículo hemorrágico anovulatório.

A ocorrência de cistos foliculares parece ser comumente observada após protocolos de superovulação, como corroborado por Blanco *et al.* (2003) e Varago (2009) numa grandeza de 30% dos animais estimulados. No entanto, as especulações das causas por estes autores referem-se apenas a desequilíbrios hormonais. Sugere-se então que são os protocolos de superovulação, por estimularem em demasia o crescimento folicular, que podem causar desequilíbrio intrafolicular e, conseqüentemente, afetar os fatores de angiogênese, prejudicando a ovulação.

Quanto as dietas, poder-se-ia esperar que àquelas que apresentaram maiores valores para glicemia apresentassem menor número de CF, visto que poderiam favorecer o eixo insulina-glicose-IGF-1 no interior dos folículos, favorecendo o fator de crescimento endotélio vascular e favorecendo a ovulação.

4 CONCLUSÕES

A temperatura de 34°C a 50% de umidade relativa do ar foi capaz de diminuir a taxa de resposta ao protocolo de superovulação, o número de corpos lúteos e a taxa de recuperação de embriões.

Os diferentes níveis de inclusão de semente de linhaça marrom na dieta não influenciaram as respostas ao protocolo de superovulação em ovelhas Santa Inês.

5 REFERÊNCIAS

ALEXANDER, S. L.; IRVINE, C. H. The effect of social stress on adrenal axis activity in horses: the importance of monitoring corticosteroid-binding globulin capacity. *J. Endocrinol.*, v.157, n.3, p. 425-432, 1998.

ANDRIOLI, A.; SIMPLÍCIO, A. A.; SOARES, A. T. *et al.* Eficiência da recuperação de embriões e os efeitos de consecutivas colheitas sobre o aparelho reprodutor de doadoras da espécie caprina. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v.36, n.3, p.136-143, 1999.

ARMSTRONG, D.V. Heat stress interaction with shade and cooling. *J. Dairy Sci.*, v.77, n.7, p.2044-2050. 1994.

ARMSTRONG, D. T.; EVANS, G. M. Factors influencing success of embryo transfer in sheep and goats. *Theriogenology*, v.19, n.1, p.31-42, 1983.

ARMSTRONG, D. T.; KIEHM, D. J.; WARNES, G. M. *et al.* Corpus Luteum (C.L.) failure and embryonic loss in superovulated goats. *Theriogenology*, v.27, p.207, 1987. (Abstract).

ARASHIRO, E. K. N.; FONSECA, J. F.; HENRY, M. *et al.* Efeito do protocolo de sincronizaçãoda primeira onda folicular sobre a resposta a superovulação em ovelhas da raça santa inês. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 18., 2009. Belo Horizonte – MG. *Anais...* Belo Horizonte, MG: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 2009.

BALDASSARE, H. Coleta, conservação e transferência de embrião. In: AISEN, E.G. *Reprodução caprina e ovina*. São Paulo: MedVet, 2008. 203p.

BARI, F.; KHALID, M.; HARESIGN, W. *et al.* Effect of mating system, flushing procedure, progesterone dose and donor ewe age on the yield and quality of embryos within a moet programme in sheep. *Theriogenology*, v.53, n.3, p.727-742, 2000.

BARI, F.; KHALID, M.; WOLF, B. *et al.* The repeatabilty of superovulatory response and embryo recovery in sheep. *Theriogenology*, v.56, n.1, p.147-155, 2001.

BARNES, F.L. The effects of early uterine environment on the subsequent development of embryos and fetus. *Theriogenology*, v.53, p.649-658, 2000.

BEAM SW, BUTLER WR. Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biol. Reprod.*, v.56, p.133-142, 1997.

BLANCO, M. R.; SIMONETT, L.; RIVERA, O. E. Embryo production and progesterone profiles in ewes superovulated with different hormonal treatments. *Small Ruminant Res.*, v.47, p. 183-191, 2003.

BOLAND, M. P.; GOULDING, D.; ROCHE, J. F. Alternative gonadotrophins for superovulation in cattle. *Theriogenology*, v.35, p.5-17, 1991.

CAHILL, L. P.; MARIANA, J. C.; MAULÉON, P. Total follicular populations in ewes of high and low ovulation rates. *J. Reprod. Fertil.*, v.55, p.27-36, 1979.

CAPOVILLA, L. C. T. *Indução de estro e produção de embriões ovinos*. 2006.70f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR.

COGNIÉ, Y. State of Art in Sheep-goat embryo transfer. *Theriogenology*, v.51, n.1, p.105-116, 1999.

COYNE, G. S.; KENNY, D. A.; CHILDS, B. S. *et al.* Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids alter the expression of genes involved in prostaglandin biosynthesis in the bovine uterus. *Theriogenology*, v.70, n.5, p.772-782, 2008.

DONADEU, F.X.; WATSON, E.D. Seasonal changes in ovarian activity: lessons learnt from the horse. *Anim. Reprod. Sci.*, v.100, p.225-242, 2007.

DRIANCOURT, M. A.; WEBB, R.; FRY, R. C. Does follicular dominance occur in ewes *J. Reprod. Fertil.*, v.93, p.63-70, 1991.

EHLING, C.; WIRTH, P.; SCHINDLER, L. *et al.* Laparoscopic intrauterine insemination with different doses of fresh, conserved, and frozen sêmen for the production of ovine zygotes. *Theriogenology*, v.60, n.4, p.777-787, 2003.

FONSECA, J. F.; SOUZA, J. M. G.; BRUSCHI, J. H. Sincronização de estro e superovulação em ovinos e caprinos. In: SIMPÓSIO DE CAPRINOS E OVINOS, 2., 2007, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: Escola de Veterinária/UFMG, 2007.

FUCK, E .J. *Desempenho produtivo e reprodutivo de caprinos machos alimentados com dieta contendo grãos de linhaça*. 2006. 79f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR.

GHINTHER, O.J.; GASTAL, E.L.; GASTAL, M.O.; BEG, M.A. Conversion of a viable preovulatory follicle into a hemorrhagic anovulatory follicle in mares. *Anim. Reprod. Sci.*, v.3, n.1, p.29-40, 2006.

GONZALES, A.; WANG, H.; CARRUTHERS, T. D. Increased ovulations rates in PMSG-stimulated beef heifers treated with a monoclonal PMSG antibody. *Theriogenology*, v.41, p.1631-1642, 1994.

GONZÁLES-BULNES, A.; BAIRD, D. T; CAMPBELL, B. K. *et al.* Multiple factors affecting the efficiency of multiple ovulation and embryo transfer in sheep and goats. *Reprod. Fertil. Dev.*, v.16, p.421-435, 2004.

GONZÁLES-BULNES, A.; BERLINGUER, F.; COCERO, M.J. *et al.* Induction of the presence of corpus luteum during superovulatory treatments enhances in vivo and in vitro blastocysts output in sheep. *Theriogenology*, v.64, n.6, p.1392-1403, 2005.

GONZÁLES-BULNES, A.; GARCIA GARCIA, R. M.; SANTIAGO-MORENO, J. *et al.* Reproductive Season affects inhibitory effects from large follicles on the response to superovulatory FSH treatment in ewes. *Theriogenology*, v.60, n.2, p.281-288, 2003.

GONZÁLES-BULNES, A.; SANTIAGO MORENO, J.; GOMEZ-BRUNET, A. *et al.* Relationship between ultrasonographic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration during the oestrous cycle in monovular ewes. *Reprod. Domest. Anim.*, v.35, p.65-68, 2000.

GREVE, T.; CALLESEN, H.; HYTELL, P. *et al.* The effects of exogenous gonadotrophins on oocyte and embryo quality in cattle. *Theriogenology*, v.43, p.41-50, 1995.

GRUNERT, E; BIRGEL, E. H.; VALE, W. G. *Patologia e clínica da reprodução dos animais mamíferos domésticos: ginecologia*. São Paulo: Varela, 2005. 551p. Cap.4: Efeitos do meio ambiente e da nutrição sobre a reprodução. p.125-180.

GRUMMER, R.R.; CARROLL, D.J. A review of lipoprotein cholesterol metabolism: importance to ovarian function. *J. Anim. Sci.*, v.66, n.12, p.3160-3173, 1988.

GRUMMER, R.R.; CARROLL, D.J. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. *J. Anim. Sci.*, v.69, n.9, p.3838-3852, 1991.

GUSMÃO, A. L.; SILVA, J. C.; QUINTELA, A. *et al.* Colheita transcervical de embriões ovinos da raça Santa Inês no semi-árido nordestino. *Rev. Bras. Saúde Reprod. Anim.*, v.8, p.1-10, 2007.

LAMMOGLIA, M.A.; WILLARD, S.T.; HALLFORD, D.M.; RANDEL, R.D. Effects of dietary fat on follicular development and circulating concentrations of lipids, insulin, progesterone, estradiol-17b, 13,14-dihydro-15- keto-prostaglandin F2a and growth hormone in estrous cyclic brahman cows. *J. Dairy Sci.*, v.75, n.8, p.1591-1600, 1997.

LAURIA, A ; GENAZZANI, A.R.; OLIVA, O. Clinical and endocrinological investigation on superovulation induced in heifers by human menopausal gonadotropin (hMG). *Theriogenology*, v.18, p.357-64, 1982.

LEHNINGER, A.L.; COX, M.M.; NELSON, D.L. *Lehninger principles of the biochemistry*. 4.ed. New York: W.H. Freeman, 1119p. 2005.

LOPES JÚNIOR, E. S.; MAIA, E. L. M. M.; ALMEIDA, K. C. *et al.* Influência dos níveis plasmáticos de progesterona sobre a resposta ovariana e produção embrionária de ovelhas Morada Nova. *Acta Vet. Sci.*, v.34, p.510, 2006.

LUCY, M. C.; SAVIO, J. D.; BADINGA, L. *et al.* Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J. Anim. Sci.*, v.70, p.3615– 3626, 1992.

LYMBEROPOULOS, A. G.; AMIRIDIS, G. S.; KÜHHOLZER, B. *et al.* Fertilization and embryo recovery rates in superovulated chios ewes after laparoscopic intrauterine insemination. *Theriogenology*, v.55, n.9, p.1855-1862, 2000.

MANESA, J.; FIORENTINO, M. A.; KAISERA, G. *et al.* Changes in the aerobic vaginal flora after treatment with different intravaginal devices in ewes. *Small Ruminant Res.*, v.94, p.201-204, 2010.

MCEVOY, T. G.; ROBINSON, J. J.; AITKEN, R. P. *et al.* Dietary-induced suppression of pré-ovulatory progesterone concentrations in superovulatory ewes impairs the subsequent in vivo and in vitro development of their ova. *Anim. Reprod. Sci.*, v.39, p.89-107, 1995.

McKELVEY, W. A. C.; ROBINSON, J. J.; AITKEN, R. P. *et al.* Repeated recoveries of embryos from ewes by laparoscopy. *Theriogenology*, v.25, n.6, p.855-865, 1986.

MITCHELL, L. M.; SILVEIRA, M.; MYLNE, M. J. A. *et al.* Seasonal differences in lamb birthweight do not arise from inherent differences in the oocyte and/ or early embryo. *Reprod. Fertil. Dev.*, v.14, p.207-213, 2002.

MOBERG, G. P. A model for assessing the impact of behavioral stress on domestic animals. *J. Anim. Sci.* v.65, n.5, p.1228-1235, 1987.

MOTLOMELO, K. C., GREYLING, J. P. C., SCHWALBACH, L. M. J. Synchronisation of oestrus in goats: the use of different progestagen treatments. *Small Ruminant Res.*, v.45, p.45–49, 2002..

MÜLLER, P.B. *Bioclimatologia aplicada aos animais domésticos*. 3.ed. Porto Alegre,RS: Sulina, 1989.

MURPHY, B. D.; MARTINUK, S. D. Equine chorionic gonadotropin. *Endocrinol. Rev.*, v.12, p.27-44, 1991.

NUTRIENT requirement of sheeps. 6.ed. Washington: National Academy Press, 1985. 99p.

PALMIERI, C.; SCHIAVI, E.; DELLA SALDA, L.. Congenital and acquired pathology of ovary and tubular genital organs in ewes: A review. *Theriogenology*, v.75, n.3, p.393-410, 2011.

PENDLETON, R. J.; YOUNGS, C. R.; RORIE, R. W. *et al.* Follicle stimulating hormone versus pregnant mare serum gonadotropin for superovulation of dairy goats. *Small Ruminant Res.*, v.86, p.303-308, 1989.

PEREIRA, J. C. C. *Fundamentos de bioclimatologia aplicados à produção animal*. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2005.

PETIT, H.V. Effects of dietary fat on reproduction. In: ANNUAL TRI-STATE DAIRY NUTRITION CONFERENCE. *Proceedings...* Fort Wayne, 2003, p. 35-48.

RABIEE, A. R.; LEAN, I. J.; GOODEN, J. M.; MILLER, B. J.; SCARAMUZZI, R. J. An evaluation of transovarian uptake of metabolites using arterio-venous difference methods in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, v.48, p.9-25,1997.

RIGOLON, L. P.; PRADO, I.N.; CAVALIERI, F.L.B. *et al.* Efeito de diferentes níveis de ingestão de energia sobre a produção e viabilidade de embriões em novilhas e vacas. *Rev. Bras. Zootec.*, v.32, n.6, p.1304-1310, 2003.

ROBERTSON I.; NELSON R. Certificação e identificação de embriões. In: STRINGFELLOW, D.A.; SEIDEL, S.M. (Eds.). *Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões*. 3.ed. Savoy, IL: IETS, 1999. p.109-140.

SAWYER, G. J. The influence to radiant heat load in Merino ewes. II. The relative effects of heating before and after insemination. *Aust. J. Agric. Res.*, v.30, p.1143–1149. 1979.

SCHIEWE, M.C.; FITZ, T.A ; BROWN, J.L. Relationship of oestrus synchronization method, circulating hormones , luteinizing hormone and prostaglandin F2-a receptors and luteal progesterone concentration to premature luteal regression in superovulated sheep. *J. Reprod. Fertil.*, v.93, p. 19-30, 1991.

SCUDAMORE, C. L.; ROBINSON, J. J.; AITKEN, R. P. The effect of timing of laparoscopic insemination in superovulated ewes, with or without sedation, on the recovery of embryos, their stage of development and subsequent viability. *Theriogenology*, v.35, n.5, p.907-914, 1991.

SCUDAMORE, C. L.. Intravaginal sponge insertion technique. *Vet. Rec.* v.123, p.554, 1988. (Abstract).

SIMONETTI, L.; FORCADA, F.; RIVERA, O. E. *et al.* Simplified superovulatory treatments in Corriedale ewes. *Anim. Reprod. Sci.*, v.104, n.2-4, p.227-237, 2008.

SISTEMA para análises estatísticas, Versão 9.1. Viçosa: UFV, 2007.

STAPLES, C.R.; BURKE, J.M.; THATCHER, W.W. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. *J. Dairy Sci.*, v.81, n.3, p.856-871, 1998.

SUÁREZ, G., ZUNINO, P., CAROL, H., UNGERFELD, R. Changes in the aerobic vaginal bacterial mucous load and assessment of the susceptibility to antibiotics after treatment with intravaginal sponges in anestrus ewes. *Small Ruminant Res.*, v.63, p.39–43, 2006.

TORRES, S.; SEVELLE, C. Repeated superovulation and surgical recovery of embryos in the ewe. *Reprod. Nutr. Dev.*, v.27, p.859-863, 1987.

TRALDI, S. A ;VISINTIN, V. A; MIZUTA, K. *et al.* Resposta superovulatória de caprinos à gonadotrofina da menopausa humana (hMG). *Arq. Fac. Vet. UFRGS*, v.24, supl., p.218, 1996.

VALLET, J. L.; LAMMING, G. E.;BATTEN, M. Control of endometrial oxytocin receptor and uterine response to oxytocin by progesterone and estradiol in the ewes. *J. Reprod. Fertil.*, v.90, p.625-634, 1990.

VARAGO, F. C. *Superovulação em ovelhas da raça Santa Inês e criopreservação de embriões*. 2009. 80f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Belo Horizonte, MG.

VEIGA-LOPEZ, A.; GONZALEZBULNES, A.; GARCIA-GARCIA, R.M. *et al.* Effects of previous ovarian status in ovulation rate and early embryo development in response to superovulatory FSH treatments in sheep. *Theriogenology*, v.63, n.7, p.1973-1983, 2005.

WEHRMAN, M.E.; WELSH, T.H.; WILLIAMS, G.L. Diet-induced hyperlipidemia in cattle modifies the intrafollicular cholesterol environment, modulates ovarian follicular dynamics, and hastens the onset of postpartum luteal activity. *Biol. Reprod.*, v.45, p.514-522, 1991.

ZERON, Y; SKALAN, D; ARAV, A. Effect of polyunsaturated fatty acid supplementation on biophysical parameters and chilling sensitivity of ewe oocytes. *Molecular Reproduction and Development*. v.62, n.2, p.271-278, 2002.

ZERON, Y.; OCHERETNY, A.; KEDAR, O. *et al.* Seasonal changes in bovine fertility: relation to developmental competence of oocytes, membrane properties and fatty acid composition of follicles. *Reproduction*, v.121, p.447-454, 2001.

Anexo 2 – Estatística descritiva para as variáveis corpo lúteo (CL), corpo lúteo em regressão (CLreg), cisto folicular (Cisto) e embriões recuperados (Recup) de ovelhas não gestantes da raça Santa Inês alimentadas com diferentes dietas.

CL	Polpa Citrica	Milho	Linhaça 10	Linhaça 15	Linhaça 20
Média	2,69	5,63	3,31	2,88	4,25
Desv. Padrão	3,79	8,90	4,74	4,35	5,22
Coef. Variação	141,0	158,2	143,2	151,3	122,9
Máximo	11	32	17	13	14
Mínimo	0	0	0	0	0
CLreg	Polpa Citrica	Milho	Linhaça 10	Linhaça 15	Linhaça 20
Média	1,31	1,31	2,25	1,75	1,00
Desv. Padrão	3,09	2,68	4,42	3,57	2,39
Coef. Variação	235,6	203,9	196,4	203,9	239,4
Máximo	9	9	15	13	9
Mínimo	0	0	0	0	0
Cisto	Polpa Citrica	Milho	Linhaça 10	Linhaça 15	Linhaça 20
Média	0,25	0,50	0,19	0,44	0,50
Desv. Padrão	0,45	0,89	0,54	1,03	0,82
Coef. Variação	178,9	178,9	290,1	235,6	163,3
Máximo	1	3	2	4	2
Mínimo	0	0	0	0	0

Recup	Polpa Citrica	Milho	Linhaça 10	Linhaça 15	Linhaça 20
Média	0,56	2,19	1,00	1,50	0,56
Desv. Padrão	1,15	3,78	1,55	2,66	1,31
Coef. Variação	205,0	172,8	154,9	177,2	233,8
Máximo	4	10	4	8	5
Mínimo	0	0	0	0	0