

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**CONSUMO VOLUNTÁRIO E ASPECTOS REPRODUTIVOS DE OVELHAS  
INGERINDO ELEVADOS NÍVEIS DE CLORETO DE SÓDIO**

**LUIZA DE ÁVILA SPHOR**  
Engenheiro Agrônomo/UFPeI  
Mestre em Zootecnia/UFPeI

Tese apresentada como um dos requisitos à obtenção do grau de Doutor em  
Zootecnia

Área de concentração Produção Animal

Porto Alegre (RS), Brasil  
Julho, 2016

Sphor, Luiza de Ávila

Consumo voluntário e aspectos reprodutivos de  
ovelhas ingerindo elevados níveis de cloreto de sódio  
/ Luiza de Ávila Sphor. -- 2016.

142 f.

Orientador: César Poli.

Coorientador: Francisco Sales.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de  
Pós-Graduação em Zootecnia, Porto Alegre, BR-RS, 2016.

1. Produção Animal. 2. Nutrição. 3. Produção e  
composição de leite. 4. NaCl. 5. crescimento de  
cordeiros. I. Poli, César, orient. II. Sales,  
Francisco, coorient. III. Título.

LUIZA DE ÁVILA SPHOR  
Engenheira Agrônoma e Mestre em Ciências

**TESE**


Submetida como parte dos requisitos  
para obtenção do Grau de

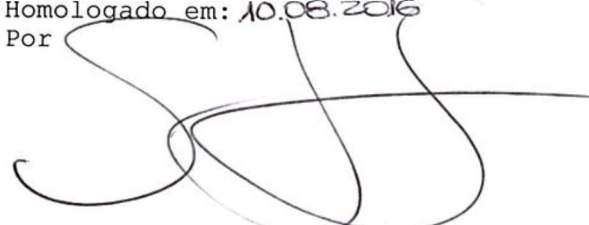
**DOUTORA EM ZOOTECNIA**

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia  
Faculdade de Agronomia  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovado em: 20.06.2016  
Pela Banca Examinadora


Homologado em: 10.08.2016  
Por


  
JULIO OTÁVIO JARDIM BARCELLOS  
PPG Zootecnia/UFRGS  
Presidente

  
PAULO CÉSAR DE FACCIÓ CARVALHO  
Coordenador do Programa de  
Pós-Graduação em Zootecnia

  
LUCIANO TREVISAN  
PPG Zootecnia/UFRGS

  
FÉLIX HILÁRIO DIAZ GONZÁLEZ  
UFRGS

  
GEORGET E. BANCHERO HUNZIKER  
INIA - La Estanzuela

  
PEDRO ALBERTO SELBACH  
Diretor da Faculdade de Agronomia

## **AGRADECIMENTOS**

A minha mãe, que sempre me apoiou em todas as decisões e mesmo com a enorme distância sempre esteve ao meu lado. Por abdicar do seus sonhos para que eu construa os meus.

Ao Governo de Magalhães e Antártida Chilena e toda sua gente, pelo carinho, receptividade e por permitir-me concretizar mais esta etapa profissional.

Ao INIA Kampenaike, seus operários, técnicos e pesquisadores, pela amizade e esforço na execução deste trabalho.

Ao Engenheiro Agrônomo Raúl Lira Fernandes, idealizador desta pesquisa, por acreditar no meu potencial e levar-me a fazer parte da sua equipe de investigação. Pela paciência e ensinamentos que levarei por toda a vida. Por todo carinho e amizade. Por proporcionar-me o imenso prazer de compartilhar de inesquecíveis momentos ao lado de todos os fantásticos Lira, Rodrigues e amigos e por apresentar-me a extraordinária gastronomia chilena.

Ao Dr. Francisco Sales Zlatar por aceitar o imenso desafio de me conduzir por estes novos caminhos, pela orientação, amizade e carinho. Por aguentar meus devaneios científicos, minhas dúvidas incessantes, minha inquietude e insegurança. Por instigar minha curiosidade e por sua capacidade em transmitir o conhecimento. Por todos ensinamentos e questionamentos.

A Mari, Japa, Tiago e Fernanda por todas as madrugadas, choros, risos, mates e muito carinho e amizade. Por tornarem este doutorado mais que um crescimento científico.

A Ione Borcelli, por ser a melhor e mais linda secretária do mundo.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UFRGS e seus docentes, pelo acolhimento e por todos os ensinamentos.

Ao professor César Poli por aceitar o desafio de me orientar, por ensinar-me que resultados inesperados são mais instigantes e induzem a um maior crescimento. Por sua paciência e amizade.

Ao professor Júlio Barcellos pelas inúmeras, divertidas e encorajadoras discussões científicas. Sua imensa paciência, carinho e aporte científico.

A todos que de maneira direta ou indireta contribuíram para a realização desse trabalho.

Agradeço a todos vocês, do fundo do meu coração, MUITO OBRIGADA!

## CONSUMO VOLUNTÁRIO E ASPECTOS REPRODUTIVOS DE OVELHAS INGERINDO ELEVADOS NÍVEIS DE CLORETO DE SÓDIO<sup>(1)</sup>

**Autor:** Luiza de Ávila Sphor

**Orientador:** César Henrique Espírito Candal Poli

**Co-orientador:** Francisco Andrés Sales Zlatar

**RESUMO:** O estudo foi realizado no Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA -Kampenaiké, Punta Arenas, Chile (52°42'17"S 70°55'20"W), com o objetivo de avaliar os efeitos da elevada ingestão de NaCl (sal) por ovelhas Corriedale sobre a limitação do consumo voluntário, a capacidade ovulatória, produção e composição de colostro e leite e crescimento de seus respectivos cordeiros. O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso, em esquema fatorial 2x2 (dieta com dois níveis de inclusão de sal e dois níveis de concentrado, determinados pelos dois níveis de sal). No primeiro estudo, 40 fêmeas de fertilidade comprovada, tiveram o ciclo estral sincronizado e foram bloqueadas de acordo com o peso vivo e escore de condição corporal em quatro tratamentos: 17 ou 22% de sal agregado ao alimento concentrado e seus dois respectivos homólogos sem sal (recebendo a mesma quantidade de alimento concentrado consumida nos tratamentos com sal). Os animais foram suplementados por um ciclo estral e posteriormente realizou-se ultrassonografia para aferição da taxa ovulatória. No segundo experimento, 24 ovelhas com 122 dias de gestação e comprovadamente portando cordeiros gêmeos, foram alocadas em quatro tratamentos dispostos em dois pares: 13 ou 17% de sal agregado ao alimento concentrado e seus dois respectivos homólogos sem sal com similar consumo de alimento concentrado. Os tratamentos foram aplicados por 21 dias prévios a data de parto até os 21 dias pós parto. Água e volumoso estavam disponíveis de forma ad libitum nos dois experimentos. Em ambos estudos foram coletadas, de todas as ovelhas, amostras de sangue para descrição do status do perfil proteico e energético. O consumo de concentrado foi inferior em animais com superior proporção de sal na dieta, porém, estes consumiram maiores volumes de água. A elevada ingestão de sal não alterou a taxa ovulatória, produção de colostro ou leite, peso ao nascimento ou crescimento dos cordeiros. Conversão alimentar e peso ao desmame dos cordeiros foi similar entre os tratamentos pareados. Peso vivo e escore de condição corporal das ovelhas não se diferenciaram entre os tratamentos nos distintos experimentos. O perfil plasmático sofreu pequenas alterações e todos os animais se mantiveram dentro de limites fisiológicos considerados normais para a espécie. Assim sendo, não há evidências de comprometimento da capacidade reprodutiva de ovelhas adultas consumindo altos níveis de NaCl agregado ao alimento concentrado.

**Palavras-chave:** colostro, crescimento de cordeiro, nutrição, perfil plasmático, reprodução, sal, taxa ovulatória

---

<sup>(1)</sup> Tese de Doutorado em Zootecnia – Produção Animal, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil (142 p.) julho, 2016.

## VOLUNTARY INTAKE AND REPRODUCTIVE ASPECTS OF EWES INGESTING HIGH LEVELS OF SODIUM CHLORIDE LEVELS<sup>(2)</sup>

**Author:** Luiza de Ávila Sphor

**Adviser:** César Henrique Espirito Candal Poli

**Co-Adviser:** Francisco Andrés Sales Zlatar

**ABSTRACT:** The study was conducted at the Institute of Agricultural Research, INIA - Kampenaike, Punta Arenas, Chile (52°42'17"S 70°55'20"W), to evaluate the effects of high intake of NaCl (salt) of Corriedale ewes on limitation of voluntary intake, ovulatory capacity, production and composition of colostrum and milk, as well as growth of their lambs. The experiment was conducted as a randomized complete block design, with a 2x2 factorial arrangement of treatments (diets with two inclusion levels of salt and two levels of concentrate, determined by the two levels of salt). In a first experiment, forty ewes of proven fertility were synchronized estrus and blocked according to body weight and body condition score in four treatments: 17 and 22% of salt added to concentrate and its two homologues without salt (fed the same amount of the commercial concentrate as their paired salt counterparts). Ewes were supplemented for an estrus cycle and, subsequently, the ovulatory rate measured by ultrasound. In the second experiment, twenty-four ewes with 122 days of gestation and carrying twins were allocated to four treatments: 13 and 17% of salt added to concentrate and its two homologues without salt (fed the same amount of the commercial concentrate as their paired salt counterparts). Treatments were applied for 21 days before lambing to 21 days after lambing. Water and roughage were provided ad libitum in both experiments. In both studies blood samples were collected to evaluate the proteic and energetic profile. Concentrate intake was less in ewes with superior proportion of salt in the diet, however, they drank higher volumes of water. The higher ingestion of salt did not change ovulatory rate, colostrum and milk production, weight at weaning and growth of lambs. Feed conversion ratio and weight of lambs at weaning were similar between paired treatments. Ewes body weight and body condition score did not differ among treatments in both experiments. Plasmatic profile had variation but it remained within physiological limits considered normal for the specie. Therefore, there is no evidence of impairment of the reproductive capacity of ewes with high intake of NaCl with the concentrate.

**Keywords:** colostrum, growing lambs, nutrition, ovulatory rate, plasma profile, reproduction, salt.

---

<sup>(2)</sup> Doctoral thesis in Animal Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (142 p.), July, 2016.

## SUMÁRIO

<b>RELAÇÃO DE TABELAS.....</b>	<b>9</b>
<b>RELAÇÃO DE FIGURAS .....</b>	<b>10</b>
<b>RELAÇÃO DE ABREVIATURAS E SIGLAS .....</b>	<b>12</b>
<b>CAPÍTULO I.....</b>	<b>13</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>15</b>
2.1. A nutrição como moduladora do potencial reprodutivo .....	15
2.2. O NaCl como limitador de consumo voluntário em ruminantes.....	19
2.3. Utilização NaCl na dieta de fêmeas em estágio reprodutivo .....	24
<b>3. HIPÓTESES .....</b>	<b>27</b>
<b>4. OBJETIVOS .....</b>	<b>27</b>
<b>CAPÍTULO II.....</b>	<b>28</b>
<b>Ingestão de altos níveis de sal não altera a taxa ovulatória de ovelhas ....</b>	<b>29</b>
<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>32</b>
<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>33</b>
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>37</b>
<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>41</b>
<b>LITERATURA CITADA.....</b>	<b>48</b>
<b>CAPÍTULO III.....</b>	<b>64</b>
<b>Utilização de elevados níveis de NaCl no suplemento concentrado para dieta pré e pós-parto de ovelhas .....</b>	<b>65</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>67</b>
<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>68</b>
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>74</b>
<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>80</b>
<b>LITERATURA CITADA.....</b>	<b>86</b>
<b>CAPÍTULO IV .....</b>	<b>108</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>109</b>

<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>110</b>
<b>APÊNDICES .....</b>	<b>121</b>
<b>VITA.....</b>	<b>142</b>



## RELAÇÃO DE TABELAS

### CAPÍTULO II

- Tabela 1.** Ingredientes e composição química (em % de MS ou como indicado) das dietas experimentais.....**56**
- Tabela 2.** Consumo médio diário (media  $\pm$  EPM) de concentrado (CON), de volumoso (VOL), de água, e da dieta total, taxa ovulatória, PV e ECC de ovelhas com e sem adição de NaCl ao concentrado na dieta durante 14 dias.....**57**

### CAPÍTULO III

- Tabela 1.** Ingredientes e composição química (em % de MS ou como indicado) das dietas experimentais).....**93**
- Tabela 2.** Consumo médio diário (media  $\pm$  EPM) de concentrado (CON), de volumoso (VOL), de água e da dieta total de ovelhas com e sem adição de NaCl ao alimento concentrado em dietas no pré e pós-parto.....**94**
- Tabela 3.** Duração da gestação (dias), peso dos cordeiros ao nascimento (kg), produção total de colostro no momento do parto (kg) e composição química do colostro (%) provenientes de ovelhas Corriedale alimentadas com e sem adição de NaCl ao alimento concentrado em dietas pré-parto. Valores expressos em média  $\pm$  EPM.....**95**

## RELAÇÃO DE FIGURAS

### CAPÍTULO I

**Figura 1.** Representação do mecanismo de liberação, centros de ação e respostas fisiológicas do peptídeos natriurético atrial.....**22**

### CAPITULO II

**Figura 1.** Representação esquemática do protocolo experimental (adaptado de Viñoles et al., 2005). PG, injeção de análogos de prostaglandina; Ov, ovulação; ULS, ultrassonografia .....**58**

**Figura 2.** Concentração plasmática (media  $\pm$  EPM) de hematócrito (A), glicose (B), insulina (C) e  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB; D) em três distintos períodos de ovelhas consumindo concentrado ad libitum acrescido de 17% de NaCl (quadrados abertos,  $n = 10$ ); concentrado sem adição de NaCl, par nutricional de animais consumindo concentrado com 17% de NaCl (quadrados fechados,  $n = 10$ ); consumindo concentrado ad libitum acrescido de 22% de NaCl (círculos abertos,  $n = 10$ ) e concentrado sem adição de NaCl, par nutricional de animais consumindo concentrado com 22% de NaCl (círculos fechados,  $n = 10$ ) do dia 0 ao dia 14 do ciclo estral.....**60**

**Figura 3.** Concentração plasmática (média  $\pm$  EPM) de ureia (A), albumina (B) e proteína total (C) em três distintos períodos de ovelhas consumindo concentrado ad libitum acrescido de 17% de NaCl (quadrados abertos,  $n = 10$ ); concentrado sem adição de NaCl, par nutricional de animais consumindo concentrado com 17% de NaCl (quadrados fechados,  $n = 10$ ); consumindo concentrado ad libitum acrescido de 22% de NaCl (círculos abertos,  $n = 10$ ) e concentrado sem adição de NaCl, par nutricional de animais consumindo concentrado com 22% de NaCl (círculos fechados,  $n = 10$ ) do dia 0 ao dia 14 do ciclo estral.....**62**

### CAPÍTULO III

**Figura 1.** Escore de condição corporal (ECC) e PV (média  $\pm$  EPM) de ovelhas consumindo concentrado ad libitum com adição de 13% de NaCl (S13, quadrado e losango abertos,  $n = 6$ ), concentrado sem adição de NaCl, calculado pelo consumo médio de concentrado de animais S13 (C13, quadrado e losango fechados,  $n = 6$ ), concentrado ad libitum com adição de 17% de NaCl (S17, círculo e triângulo abertos,  $n = 6$ ) concentrado sem adição de NaCl, calculado pelo consumo médio de concentrado de animais S17.....**96**

**Figura 2.** Produção semanal de leite (media  $\pm$  EPM) de ovelhas consumindo concentrado ad libitum com adição de 13% de NaCl (S13, quadrados abertos,  $n = 6$ ), concentrado sem adição de NaCl, calculado pelo consumo médio de concentrado de animais

- S13 (C13, quadrados fechados,  $n = 6$ ), concentrado ad libitum com adição de 17% de NaCl (S17, círculos abertos,  $n = 6$ ) concentrado sem adição de NaCl, calculado pelo consumo médio de concentrado de animais S17 (C17, círculos fechados,  $n = 6$ ) e ganho de peso de seus respectivos cordeiros (S13 barras fechadas,  $n = 12$ ; C13 barras abertas,  $n = 12$ ; S17 listras horizontais,  $n = 11$  e C17 listras verticais,  $n = 11$ ).....**98**
- Figura 3.** Peso de cordeiros (media  $\pm$  EPM) oriundos de ovelhas consumindo concentrado no pré e pós-parto de forma ad libitum com adição de 13% de NaCl (S13, quadrados abertos,  $n = 12$ ), concentrado sem adição de NaCl, calculado pelo consumo médio de concentrado de animais S13 (C13, quadrados fechados,  $n = 12$ ), concentrado ad libitum com adição de 17% de NaCl (S17, círculos abertos,  $n = 11$ ) concentrado sem adição de NaCl, calculado pelo consumo médio de concentrado de animais S17 (C17, círculos fechados,  $n = 11$ ).....**100**
- Figura 4.** Porcentagem de (A) lactose, (B) proteína e (C) gordura do leite, durante três semanas pós-parto, proveniente de ovelhas consumindo concentrado ad libitum com adição de 13% de NaCl (S13, quadrados abertos,  $n = 6$ ), concentrado sem adição de NaCl, calculado pelo consumo médio de concentrado de animais S13 (C13, quadrados fechados,  $n = 6$ ), concentrado ad libitum com adição de 17% de NaCl (S17, círculos abertos,  $n = 6$ ) concentrado sem adição de NaCl, calculado pelo consumo médio de concentrado de animais S17 (C17, círculos fechados,  $n = 6$ ) no pré e pós-parto.....**102**
- Figura 5.** Concentração plasmática (media  $\pm$  EPM) de hematócrito (A), glicose (B), insulina (C) e  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB; D) no pré-parto (PRE), 7, 14 e 21 dias pós-parto de ovelhas consumindo concentrado ad libitum com adição de 13% de NaCl (S13, quadrados abertos,  $n = 6$ ), concentrado sem adição de NaCl, calculado pelo consumo médio de concentrado de animais S13 (C13, quadrados fechados,  $n = 6$ ), concentrado ad libitum com adição de 17% de NaCl (S17, círculos abertos,  $n = 6$ ) concentrado sem adição de NaCl, calculado pelo consumo médio de concentrado de animais S17 (C17, círculos fechados,  $n = 6$ ) no pré e pós-parto.....**104**
- Figura 6.** Concentração plasmática (média  $\pm$  EPM) de ureia (A), albumina (B) e proteína total (C) no pré-parto (PRE) e 7, 14 e 21 dias após o parto de ovelhas consumindo concentrado ad libitum com adição de 13% de NaCl (S13, quadrados abertos,  $n = 6$ ), concentrado sem adição de NaCl, calculado pelo consumo médio de concentrado de animais S13 (C13, quadrados fechados,  $n = 6$ ), concentrado ad libitum com adição de 17% de NaCl (S17, círculos abertos,  $n = 6$ ) concentrado sem adição de NaCl, calculado pelo consumo médio de concentrado de animais S17 (C17, círculos fechados,  $n = 6$ ) no pré e pós-parto.....**106**

**RELAÇÃO DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

AVP	Arginina-vasopressina
BHB	$\beta$ -hidroxibutirato
CL	Corpo lúteo
ECC	Escore de condição corporal
eCG	Gonadotrofina coriônica equina
EDTA	Etilenodiaminotetracético dipotássico
EM	Energia metabolizável
HTC	Hematócrito
i.m.	Intra muscular
MO	Matéria orgânica
MS	Matéria seca
OV	Ovulação
PB	Proteína bruta
PG	Prostaglandina
POS	Pós-parto
PRE	Pré-parto
PV	Peso vivo
TO	Taxa ovulatória
ULS	Ultrassonografia

## **CAPÍTULO I**

## 1. INTRODUÇÃO

A eficiência reprodutiva de um sistema de produção de ovinos é determinada pela prolificidade e fertilidade das matrizes e pela taxa de sobrevivência do cordeiro ao parto e ao desmame (Graaf, 2010). A prolificidade é de primordial importância para o êxito reprodutivo, uma vez que esta impõe o limite biológico máximo da capacidade de reprodução sendo estabelecida, especialmente pela taxa ovulatória (TO; Scaramuzzi & Campbell, 1990). O número de óvulos liberados em uma ovulação é determinado geneticamente, mas poderá ser alterado por fatores ambientais (Downing & Scaramuzzi, 1991). Entre estes fatores, o que exerce influência mais significativa é a nutrição (Smith, 1991). O incremento nutricional da dieta pode aumentar a foliculogênese e a TO em ovelhas, pois o recrutamento folicular é muito sensível às modificações alimentares (Somchit, 2011).

Os efeitos da nutrição na TO são descritos como “estático”, “dinâmico” e “imediate”. Coop (1962) relata que animais mais pesados no momento do encarneamento possuem maior TO quando comparados com animais de menor peso (*efeito estático*), independentemente de quando ou como os animais chegaram a este maior peso. Para este mesmo autor o *efeito dinâmico* é uma resposta do rápido aumento de peso e condição corporal ocasionado por um melhor estado nutricional semanas antes do encarneamento. Já, o *efeito imediato* é o aumento do número de folículos e da TO como uma resposta súbita ao novo regime nutricional implementado durante a fase luteal, antes da ovulação, sem registrar aumentos de peso vivo (PV) ou de condição corporal (Lindsay, 1976).

Dentre as diversas estratégias utilizadas para melhorar a prolificidade está o pastejo de espécies cultivadas por períodos curtos, aumentando a TO e a porcentagem de gestação múltipla em diversos biótipos ovinos (Banchemo et al., 2002; 2009; Banchemo & Montossi, 2013). No entanto, em algumas regiões, a implantação de pastagens melhoradas é inviável, seja por dificuldades no manejo, limitações do solo, adversidades climáticas ou custos. Nestas situações a suplementação com alimento concentrado pode ser uma tecnologia viável, apresentando incrementos significativos na TO de ovelhas (Gherardi & Lindsay, 1982; Stewart & Oldham, 1986; Lassoued et al., 2004; Viñoles et al., 2009).

A obtenção de gestação gemelar não garante o sucesso reprodutivo. Este processo só será alcançado se esta ovelha tiver êxito no desmame destes dois cordeiros, e para que isto ocorra, a contemplação das necessidades nutricionais desta fêmea é um requisito primordial.

O momento de maior demanda nutricional de fêmeas de produção é o período compreendido entre o final da gestação e as semanas iniciais da lactação, e as necessidades nutricionais crescem quando aumentam o número de fetos gestados (NRC, 2007). Nas últimas semanas prévias ao parto, o rápido crescimento do feto coincide com o desenvolvimento e preparação da glândula mamária e a síntese de colostro. Condições nutricionais insatisfatórias neste momento da gestação comprometem o peso, vigor e a sobrevivência do neonato, a produção de colostro e leite, e consecutivamente o peso e a sobrevivência do cordeiro ao desmame (Celi & Bush, 2000).

Assim como no período prévio à estação de acasalamento, no pré-parto a oferta de alimentos concentrados buscando contemplar os requisitos nutricionais das ovelhas e potencializar seus níveis reprodutivos apresenta resultados positivos (Arnold, 1976; Banchemo et al., 2004; 2009). Entretanto, dentro de um sistema produtivo que está inserido em grandes áreas territoriais e em condições de manejo extensivo, a operacionalização para o transporte e oferta diária de suplemento alimentar para as fêmeas, seja no período prévio ao acasalamento ou no pré-parto, nem sempre é uma prática fácil, o que torna o processo oneroso e muitas vezes inviável devido a questões de relevo, clima ou disponibilidade de mão de obra.

Nestas condições, uma possível alternativa é a disponibilização de alimento concentrado agregado com algum restritor de consumo voluntário que limite a ingestão do suplemento prontamente disponível (Cardon et al., 1951). Entre estes reguladores, destaca-se o NaCl, que através de sua ação no aumento da tonicidade do fluido ruminal (Carter & Grovum, 1990), quando agregado em grandes proporções ao alimento é capaz de limitar sua ingestão.

Contudo, trabalhos avaliando o efeito da ingestão de NaCl sobre a capacidade reprodutiva de ovelhas adultas permanecem direcionados ao período de gestação e lactação e estão, majoritariamente, relacionados à descrição do efeito da ingestão de plantas halófitas cultivadas em solos salinos e seus respectivos percentuais de NaCl em ovelhas gestando cordeiros únicos (Zarkawi et al., 2005; Abu-zannat & Tabbaa, 2006). Entretanto, a resposta a ingestão de elevados níveis de NaCl sobre a capacidade ovulatória, e sobre ovelhas em gestação gemelar permanecem inconclusivos.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1. A nutrição como moduladora do potencial reprodutivo**

Potencializar o desempenho reprodutivo é o meio mais eficaz de aumentar a eficiência do sistema de produção animal (Scaramuzzi, 1988). Entretanto, o êxito só será alcançado frente a um correto manejo alimentar, pois a nutrição é moduladora do sistema reprodutivo em ovinos (Somchit, 2011). Esta manipulação inicia-se precocemente, uma vez que, a nutrição das ovelhas no momento da concepção, assim como durante a gestação, compromete a eficiência reprodutiva de suas futuras filhas quando em idade adulta (Rae et al., 2002, Kelly et al., 2005, Ashworth et al., 2009).

A estreita relação entre nutrição e reprodução tem como objetivo garantir a sobrevivência da prole. Ovelhas em presença de balanço energético negativo podem não apresentar estro. Isto porque possivelmente, não teriam condições nutricionais de finalizar de forma satisfatória a criação de seus cordeiros, visto que, o investimento energético para a fêmea concluir com êxito o processo reprodutivo é bastante elevado (Scaramuzzi, 2006). Assim, em sistemas extensivos de produção a infertilidade decorrente da baixa nutrição pode chegar a atingir 20% das fêmeas em idade reprodutiva (Claro, 1978). Segundo Ribeiro et al. (2002) a taxa de concepção no Rio Grande do Sul é de somente 80%, e a deficiência nutricional da fêmea prévio ao acasalamento é o principal o fator desta baixa eficiência reprodutiva.

Em ovinos o ciclo estral tem duração de  $17 \pm 2$  dias, e divide-se em uma fase luteal, que se estende desde o dia 2 (estro = dia 0) do ciclo, até aproximadamente o dia 13, e uma fase folicular, que vai do dia 14 até o dia 1 (Hafez & Hafez, 2004). Porém, o tempo médio para o desenvolvimento total do folículo em ovelhas adultas é de aproximadamente 180 dias (Cahill, 1980), e divide-se em 5 classes: folículos primordiais, comprometidos, sensíveis a gonadotrofina, dependentes de gonadotrofina e folículos ovulatórios (Scaramuzzi et al., 2011). A primeira fase corresponde ao estoque de folículo que será utilizado durante toda a vida da fêmea (Greenwald & Roy, 1994). Na segunda fase, alguns folículos serão recrutados e iniciarão o comprometimento com o crescimento, possivelmente por ação do IGFII (Perks et al., 1995). Durante a terceira fase de crescimento, quando os folículos tornam-se sensíveis a gonadotrofina, a elevação nos níveis de FSH gera o surgimento de uma onda de desenvolvimento folicular, a qual recruta um grupo de folículos de onde será selecionado um único (em raças monovular) que se tornará o folículo dominante. Este, a partir de sua habilidade em sintetizar estradiol, será capaz, durante a fase dependente de gonadotrofina, de induzir a atresia dos demais folículos, chegando sozinho a ovulação (Scaramuzzi et al., 2011). Uma vez que o folículo iniciou seu processo de crescimento ele somente poderá seguir um destes dois caminhos: ovulação ou atresia. A condição nutricional da fêmea, principalmente nas fases finais deste crescimento, será uma delimitadora do número de folículos que seguirão um ou outro caminho (Oldham et al., 1990).

Os efeitos da alimentação sobre a TO podem ser descritos como: *efeito estático*, *efeito dinâmico* e *efeito imediato*. Coop (1962) observou que ovelhas com maior PV no momento da concepção apresentavam superioridade na proporção de partos múltiplos quando comparadas com ovelhas mais leves, e que a geminação crescia linearmente em 6% para cada aumento de 4,5 kg de PV das ovelhas. A este efeito o autor deu o nome de *efeito estático* da nutrição, porque nele independe de quando e como a ovelha obteve este maior peso. Porém, quando a elevação de PV ocorre nas semanas que antecedem o acasalamento, em resposta a prática nutricional denominada *flushing*, o efeito da nutrição sobre a reprodução é denominado *efeito dinâmico* (Coop, 1966). Entretanto, a TO também pode ser aumentada como resposta súbita a um novo regime nutricional implementado durante os seis dias prévios a ovulação, sem registrar alterações no PV ou no escore de condição corporal (ECC), a este efeito Lindsay (1976) denominou *efeito imediato* da nutrição sobre a reprodução.

Os meios pelos quais a nutrição é capaz de manipular a foliculogênese e a TO não estão completamente elucidados, no entanto, os efeitos que se caracterizam por incremento de PV e aumento do tecido adiposo, parecem ser mediados por ação da elevação dos níveis plasmáticos de IGF-I e leptina, os quais atuam inibindo a secreção de estradiol pelo folículo dominante, permitindo assim, o recrutamento de novos folículos para a fase ovulatória (Scaramuzzi et al., 2011). Estudos buscando compreender o *efeito imediato* da nutrição sobre a reprodução sustentam que a elevação do plano nutricional incrementa os níveis plasmáticos de glicose e insulina, e este hormônio, por sua ação direta intrafolicular ou na mediação da absorção de glicose pelo folículo, é o responsável por inibir a secreção de estradiol pelo folículo dominante (Downing et al., 1995; Viñoles et al., 2005; Somchit et al., 2007; Scaramuzzi et al., 2015).



O três efeitos da nutrição sobre a foliculogênese se caracterizam por produzirem a mesma resposta, porém avaliada em momentos diferentes (Smith, 1991).

No princípio de cada novo ciclo de crescimento folicular aproximadamente 4000 folículos tornam-se comprometidos, porém destes somente 1 ou 2 serão efetivamente folículos ovulatórios (Scaramuzzi et al., 1993). Neste processo de apoptose celular, 80% das atresias foliculares ocorrem nos últimos nove dias prévios ao estro, é neste momento do ciclo que a nutrição torna-se a chave para potencializar a reprodução (Downing & Scaramuzzi, 1991).

A suplementação com grãos durante alguns dias prévios a data de ovulação demonstrou aumentar a TO de ovelhas de diferentes raças (Knigh et al., 1975; Lindsay, 1976; Stewart & Oldham et al., 1986; Teleni et al., 1989). Igualmente, a suplementação com ração concentrada em quantidades de duas vezes o nível de manutenção, oferecida durante um ciclo estral elevou em 44% o número de ovulações múltiplas quando comparadas a ovelhas alimentados com a mesma dieta em nível de manutenção (Haresing 1981). Elevação nos níveis ovulatórios também foram descritos por King et al. (2010) quando submeteram ovelhas adultas ao pastoreio de alfafa (*Medicago sativa*) ou chicória (*Chicorium intybus*) por nove dias prévios ao estro. Do mesmo modo, ovelhas pastejando em campos cultivados com *Lotus corniculatus* por 12 dias prévios ao estro elevaram o número de partos gemelares quando comparadas a ovelhas mantidas em campo nativo (Viñoles et al. 2009).

São diversas as tecnologias nutricionais de curto prazo avaliadas por diferentes pesquisadores. Contudo, o objetivo final das pesquisas é comum a todos: a busca pela elevação no número de nascimentos gemelares. O aumento da prolificidade em conjunto com o sucesso na obtenção de gestação múltipla são primordiais para incrementar a eficiência do sistema produtivo (Scaramuzzi & Campbell, 1990), visto que, possibilitam a elevação no número de cordeiros desmamados/ovelha/ano, gerando uma maior quantidade de produto vendável.

Entretanto, o ato por si só de estar gestando dois ou mais cordeiros não garante que esta fêmea será capaz de desmamá-los em condições satisfatórias. Em sistemas extensivos de produção a mortalidade perinatal de cordeiros pode atingir índices superiores a 30%. A maioria destes óbitos é em decorrência da inadequada condição nutricional da fêmea no momento do parto (Riet-Correa & Méndez, 2001). Assim, adequada atenção deve ser dada a nutrição da ovelha durante todo o período gestacional, uma vez que nos últimos meses prévios ao parto as exigências nutricionais aumentam consideravelmente, e esta demanda é todavia mais elevada em gestações de múltiplos fetos (Rattray et al., 1974). Não contemplar os requerimentos nutricionais da gestante pode comprometer severamente sua produtividade, visto que a mortalidade de cordeiros é uma das principais causas da baixa eficiência reprodutiva dos rebanhos (Riet-Correa & Méndez, 2001).

Ovelhas em melhor estado nutricional durante a gestação parem cordeiros mais pesados (Moore et al., 1986; Kenyon et al., 2009, Oldham et al., 2011) e mais vigorosos, este superior vigor os torna mais exitosos em encontrar o úbere e começar a mamar imediatamente após o parto (Dwyer et al., 2016), garantindo a manutenção da vida.

A presença de quantidades satisfatórias de colostro imediatamente após o nascimento pode ser limitante para a sobrevivência dos mamíferos neonatos, visto que esta é a fonte mais importante de energia e a única fonte de imunoglobulinas e água para o recém-nascido (Pattinson et al., 1995). A presença de colostro no abomaso logo após o parto foi demonstrada como facilitador da capacidade do cordeiro em reconhecer sua mãe (Goursaud & Nowak, 1999) o que aumenta as chances de sobrevivência do neonato. Cordeiros necessitam de no mínimo 50 ml de colostro/kg de PV no momento do nascimento para satisfazer suas necessidades metabólicas em condições amenas de temperatura (Robinson et al., 2002). Porém, quando a temperatura ambiente é inferior a 10°C, as exigências se elevam para 280 ml de colostro/kg para compensar o déficit lipídico e evitar hipotermia (Dwyer et al., 2016). No entanto, Banchemo et al. (2006) observaram que o acúmulo de colostro no momento do parto foi aproximadamente 62% inferior em ovelhas com menor plano nutricional durante o último terço da gestação. Eles concluíram que, o regime hormonal de ovelhas em baixa nutrição é inadequado para o desenvolvimento correto do úbere e para a satisfatória síntese de colostro.

A limitação nutricional da ovelha durante a gestação compromete o desenvolvimento do úbere, reduz o acúmulo de colostro e retarda o início da lactogênese (Mellor et al., 1987). Mesmo submetidas a adequado aporte nutricional, ovelhas portando gêmeos possuem menor quantidade de colostro no momento do parto em decorrência do maior nível de progesterona circulante que inibe a secreção de prolactina (McNeill et al., 1998). No entanto, Banchemo et al. (2004) demonstraram que a suplementação com milho por apenas 7 dias prévios a data provável de parto foi suficiente para reduzir os níveis de progesterona em ovelhas em gestação gemelar e incrementar a quantidade de colostro presente no momento do nascimento de 197 para 536 g por ovelha.

Entretanto, outras funções biológicas da mãe também ficam comprometidas com a inadequada condição nutricional durante a gestação, dentre elas está o desenvolvimento da habilidade materna. Dwyer et al. (2003) observaram o comportamento pós-parto de ovelhas, e constataram que fêmeas manejadas com restrição alimentar na gestação dedicam menos tempo a lambar seus cordeiros (o que compromete a formação da memória olfativa), são mais agressivas para com estes e possuem menor vínculo mãe-filhote, reduzindo severamente as chances de sobrevivência do neonato. Segundo Nowak & Poindron (2006), ovelhas deveriam permanecer aproximadamente 6 h ao lado de seu cordeiro, no local do parto, para estabelecerem correta relação de ligação e reconhecimento com a prole. No entanto, quando em deficiência nutricional, a fêmea inicia a busca por alimentos logo após o parto, o que reduz o tempo de permanência com seu filhote, aumentando a incidência de abandonos e mortalidade de cordeiros (Alexander et al., 1983). Alguns danos ocasionados pela restrição alimentar na gestação podem tornar-se irreversíveis, por exemplo, o crescimento da glândula mamária que uma vez depreciado pela baixo plano nutricional, comprometerá a produção de leite das ovelhas, mesmo quando estas forem alimentadas *ad libitum* no pós-parto (Bizelis et al., 2000; Charismiadou et al., 2000).

A quantidade de leite produzido pela ovelha é o fator de maior relação com o crescimento do cordeiro (Neidig & Iddings, 1919). O ganho de peso dos

filhotes até a quarta semana de vida está diretamente correlacionado com o volume de leite consumido (Burris & Baugus, 1955), e os reflexos do volume de produção leiteira das ovelhas podem estender-se no ganho de peso e na sobrevivência da prole até o desmame (Thompson et al., 2011). Estes mesmos autores concluem que o peso do cordeiro no momento do desmame pode ser confiavelmente predito pelo comportamento das variações de peso da ovelha durante a gestação, enfatizando assim, a relevante importância da correta nutrição e adequado ganho de peso da mãe durante a gestação.

Em virtude do exposto, fica perceptível que a busca pelo aumento da eficiência do sistema de produção de cordeiros passa diretamente pela atenção às condições nutricionais da ovelha em todas suas fases reprodutivas. O êxito na obtenção da gestação múltipla necessita ser acompanhado da contemplação total dos requerimentos nutricionais desta ovelha durante toda a prenhez. No entanto, raramente estes podem ser supridos na sua totalidade em condições extensivas de pastoreio exclusivo devido à restrição física da capacidade digestiva. Assim, a suplementação é uma alternativa a estes sistemas de forma a permitir a máxima expressão do potencial produtivo do rebanho.

## **2.2. O NaCl como limitador de consumo voluntário em ruminantes**

O NaCl, popularmente designado de sal, é o mais barato, mais palatável e mais utilizado dentre os suplementos minerais na pecuária mundial (Suttle, 2010). Cloro e sódio estão envolvidos na regulação do equilíbrio ácido-base, secreção gástrica, manutenção da pressão osmótica, assim como, na manutenção do volume hídrico corporal, transmissão de impulsos nervosos e contração muscular (Guyton & Hall, 2006). O requerimento de Na e Cl é de aproximadamente 0,6 e 0,5 g/d respectivamente, durante a gestação, e aumenta para 1,0 e 1,9 g/d na lactação (NRC, 2007).

Além de suprir as demandas bioquímicas destes macrominerais e contribuir para incrementar a palatabilidade (Grovmum & Chapman, 1988), a inclusão do NaCl na dieta de ruminantes pode ter outra função: limitar o consumo voluntário (Rovira & Velazco, 2012). Incluir elevados níveis de NaCl ao alimento concentrado buscando restringir o consumo de suplemento permanentemente disponível em sistemas extensivos de criação foi uma prática desenvolvida por ovinocultores norte-americanos no princípio dos anos de 1930 (Cardon, 1951) e teve grande crescimento durante o período da Segunda Guerra Mundial devido à escassez de mão de obra para trabalho nas áreas rurais (Rigs et al., 1953).

Os primeiros relatos de implantação desta tecnologia descrevem que níveis de até 50% de NaCl foram agregados ao farelo de algodão, e esta mistura apresentava moderada restrição de consumo e satisfatório resultado produtivo em bovinos (Cardon, 1951). Assim, Blache et al., (2007) adicionaram 20% de NaCl à dieta oferecida a borregos e observaram redução de 42% no consumo voluntário. No entanto, a equipe de pesquisadores do INTA Esquel (Argentina) veem há alguns anos avaliando o efeito de diferentes níveis de NaCl adicionados ao alimento e seus percentuais de restrição do consumo. Nestes experimentos o sal foi agregado apenas ao concentrado, e a oferta de volumoso *ad libitum*. Os pesquisadores observaram que a adição de 20% de NaCl ao alimento concentrado propiciou uma redução 32,6% da ingestão, mantendo o consumo em 0,9% do PV. Entretanto, quando eleva-se para 30% de sal a restrição no

consumo chega a 58,7% e a ingestão limita-se a aproximadamente 0,5% do PV (Villa et al., 2007). Reduções no consumo de 1,4; 7,2; 15; 18 e 24% foram descritas quando 8, 10, 14, 16 e 24% de NaCl, respectivamente, foi acrescentado ao concentrado para ovinos (Villa et al., 2007; 2011; Ceballos et al., 2014). De mesmo modo, suplementando terneiros com concentrado com 9 ou 15% de NaCl, Rovira & Velazco (2009) obtiveram consumos diários de 1,61 e 1,26% do PV, respectivamente. Chicco et al. (1971) acrescentou 30% de NaCl ao concentrado oferecido a novilhos os quais restringiram seu consumo a 0,28% de seu PV. Assim, a magnitude da restrição ingestiva ocasionada pela adição de NaCl é distinta entre os variados estudos, e isto deve-se, entre outros fatores, a variação na disponibilidade e na espécie vegetal do volumoso ofertado, digestibilidade e tipo de alimento ao qual o sal foi adicionado, estado fisiológico e espécie animal, e disponibilidade de água (Rovira & Velazco, 2012).

Dentre os fatores que limitam a ingestão voluntária quando há elevados níveis de NaCl na dieta, a alteração no sabor e a diminuição da palatabilidade do alimento, foram postuladas por Wilson (1966a) quando avaliando o consumo em ovinos. No entanto, Meyer et al. (1989) observaram que em caprinos, a infusão de arginina vasopressina (AVP), hormônio mediador da natriurese, deprime a ingestão de alimentos. Segundo os autores, este fato deve-se a que o sítio de produção deste peptídeo, o hipotálamo, é a mesma região responsável por controlar a ingestão alimentar. Porém, Digby (2007), alimentando ovelhas com 13% de NaCl durante cinco meses observou elevação nos níveis de AVP somente no primeiro mês, passado este período os níveis se igualaram aos de animais do tratamento controle. Masters et al. (2005) também assinalam a possibilidade da existência de mediação hormonal no controle da ingestão, mas Blanche et al. (2007) avaliaram a resposta metabólica de ovelhas submetidas a ingestão de NaCl e concluíram que insulina, leptina e cortisol, embora sendo hormônios que controlam o consumo de alimentos, não desempenham papéis importantes no controle da ingestão de dietas com sal. Outros estudos demonstram que o incremento na osmolaridade do fluido ruminal parece ser o responsável por limitar a ingestão quando há elevados níveis de NaCl na dieta (Ternouth & Beattie, 1971; Forbes & Barrio, 1992). Utilizando ovinos canulados no rúmen e abomaso, Carter & Grovum (1990) avaliaram diferentes elementos que induziram variações na carga osmótica da digesta e, através da utilização de um anestésico local, buscaram bloquear a depressão no consumo voluntário e assim detectar o exato local anatômico de identificação da variação da osmolaridade. Deste modo, estes autores concluíram que substâncias osmoticamente ativas, como o NaCl, causam inibição na ingestão devido ao aumento da osmolaridade da digesta e não pelo aumento da tonicidade do plasma. Igualmente estes identificaram que receptores neurais localizados na parede do retículo-rúmen são os responsáveis por detectar a hipertonicidade e diminuir a ingestão de alimentos. Apesar da hipótese do aumento de osmolaridade dos fluidos ruminais ser bastante admissível, os meios exatos pelos quais o NaCl limita ingestão não estão completamente elucidados, e provavelmente envolvam mais que um mecanismo.

Quando grandes quantidades de NaCl são ingeridas, estas necessariamente serão excretadas, visto que em organismos saudáveis a excreção é regulada pela ingestão (Guyton & Hall, 2006). Nelson et al. (1955)

observaram que 94,1% do Na e 97,5% do Cl consumido por capões foi eliminado na urina, demonstrando que a responsabilidade por esta excreção é do sistema renal. Os rins possuem ótima capacidade para regular a excreção em função da ingestão, desta forma aumentar enormemente o consumo de sódio ou reduzi-lo consideravelmente causam pequenas alterações no volume de líquido extracelular assim como na concentração plasmática de sódio (Potter, 1963). A unidade funcional do rim é o néfron, e cada néfron possui um grupo de capilares porosos chamado glomérulo. Estes quando comparados com outros capilares possuem pressão hidrostática elevada, deste modo, quando o sangue passa no seu interior acaba por ser filtrado (Guyton & Hall, 2006). O produto filtrado dos capilares glomerulares passa para o interior da cápsula de Bowman e então para o interior do túbulo proximal, que se situa na zona cortical renal. Após passar pela alça de Henle e pela mácula densa, se não reabsorvido, este produto flui em direção aos ductos coletores e é excretado como urina. Deste modo, a taxa de filtração glomerular corresponde a quantidade de líquido filtrado pelos capilares glomerulares em um determinado tempo (Guyton & Hall, 2006).

Quando a situação fisiológica exige, ovinos são capazes de quase quadruplicar (de 40 para 150 mL/min) a taxa de filtração glomerular, e sua capacidade excretora é quase duas vezes superior à registrada para qualquer outro mamífero (McDonald & Mcfarlane, 1958). A habilidade que permite aos ovinos suportarem a ingestão de grandes quantidades de NaCl está relacionada a aptidão destes animais em adaptarem suas funções renais aos excesso de eletrólitos, aumentando a taxa de filtração glomerular e diminuindo a taxa de reabsorção (Potter 1961, 1963 e 1968), excretando aproximadamente 96% do NaCl pela urina e o restante pelas fezes (Nelson et al., 1955).

Após ingeridos, a absorção de íons  $\text{Cl}^-$  e  $\text{Na}^+$  ocorre majoritariamente nas células epiteliais do intestino delgado (Murtaugh, 2006). Incremento nos níveis de sódio, aumentando o soluto no líquido extracelular, eleva a osmolaridade o que acarreta o deslocamento de água, ocasionando hipervolemia, aumento da pressão arterial e conseqüentemente estiramento das grandes artérias (Cunningham & Klein, 2007). Esta distensão da parede atrial induz a liberação do peptídeo natriurético atrial. Este hormônio, produzido nas células do átrio, atua na indução do aumento da taxa de filtração glomerular, inibição da reabsorção de Na, vasodilatação generalizada, diurese e natriurese (Figura 1). Ele também impede a secreção de renina, aldosterona e vasopressina. Essas ações combinadas levam à excreção aumentada de sal e água, e a retomada do volume plasmático normal (Eaton & Pooler, 2006). Outros fatores também podem auxiliar na vasodilatação, aumento da excreção de sódio e normalização da pressão arterial, entre eles estão: o óxido nítrico, cininas e as prostaglandinas (Jameson & Loscalzo, 2014).

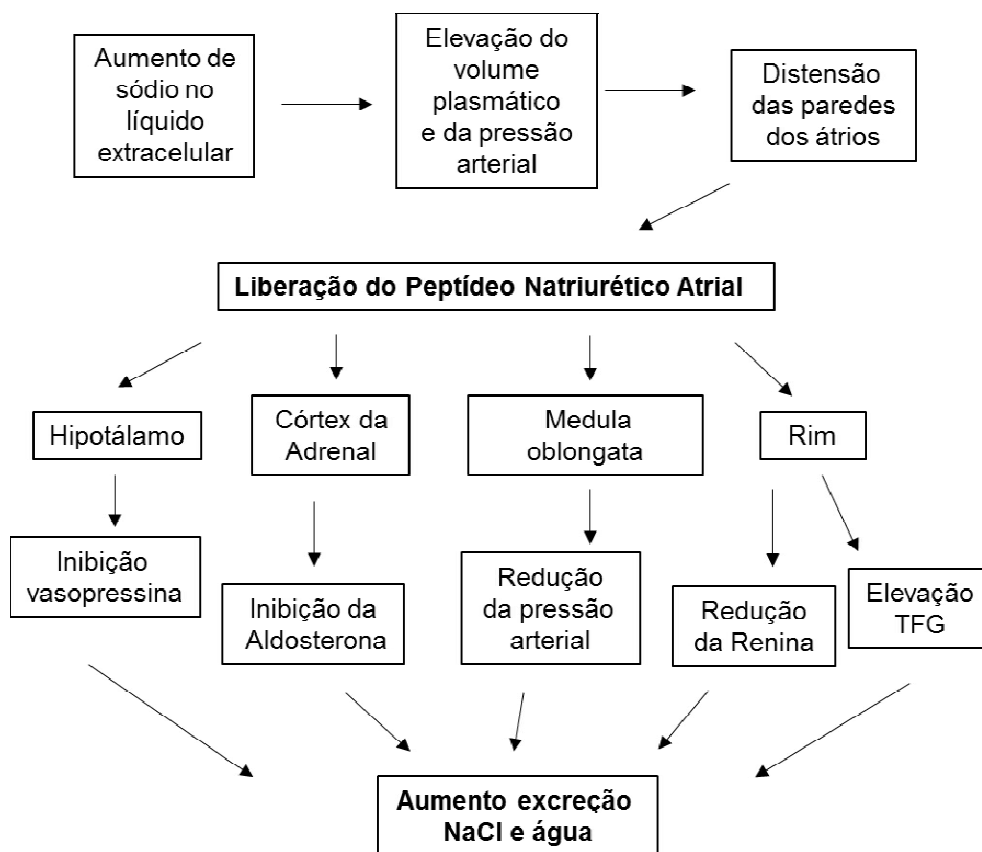


FIGURA 1 – Representação do mecanismo de liberação, centros de ação e respostas fisiológicas do peptídeo natriurético atrial.

Contudo, o sódio somente pode ser excretado em presença de água. Elevada ingestão de sal em restrição de água produz hipernatremia, podendo levar a óbito (Duarte et al., 2014). No entanto, quando abundante volume de água fresca não salgada está disponível para ingestão, ovinos excretam normalmente o excesso de eletrólitos da dieta e não são relatadas sintomatologias de intoxicação, nem mesmo quando um terço da ração oferecida é composta por NaCl (Villa et al., 2007)

O volume plasmático pode ser quantificado pela avaliação do hematócrito (HTC), que demonstra a proporção sanguínea ocupada por hemácias e por plasma (com proteínas em suspensão [Costanzo, 2014]). Também denominado de volume globular médio, seus níveis em ovinos saudáveis devem permanecer entre 27 e 45% (Jackson & Cockcroft, 2002). O HTC permite identificar desordens decorrentes da variação no acúmulo de fluídos extracelular (Meyer e Weir, 1954), seja por desidratação ou expansão hiperosmótica do sangue (Costanzo, 2014). Croom et al. (1982) caracterizaram como hemodiluição a redução de 10% encontrado no HTC de novilhos alimentados com dieta contendo 7% de NaCl. No entanto, Meyer et al. (1955) privaram o acesso a água de ovelhas consumindo dieta com 11% de NaCl e observaram redução do volume plasmático com elevação nos níveis de HTC destes animais. Porém, após a ingestão de água, níveis se estabilizaram e se igualaram a animais do tratamento controle. Digby (2007) ofertou dietas com

13% de NaCl a ovelhas adultas e não obteve quaisquer alterações na porcentagem de HTC. Igualmente, quando animais foram alimentadas com dietas contendo 10,5% de NaCl, não houve variação nos níveis de HTC (Tay et al., 2012). Estes autores atribuíram a inexistência de diferença ao adequado consumo de água de seus animais. Deste modo, parece ser a abundante oferta de água fresca não salgada um dos principais fatores que permitem aos ovinos adaptarem-se a elevadas ingestões de NaCl.

Para Thomas et al. (2007) o incremento no consumo de água foi de 40 mL por cada 1 g de sal ingerido. No entanto, Meyer & Weir (1954) observaram que seus animais tomaram 54 mL de água para cada 1 g de NaCl adicionado a dieta e resultados parecidos foram obtidos por Wilson (1966b) que registrou incremento de, aproximadamente, 50 mL de água para cada 1 g de NaCl consumido. As variações na proporção de água ingerida por grama de sal podem estar relacionadas aos diferentes tipos de alimentos ofertados, consumo total de matéria seca da dieta, temperatura ambiental, além do estágio fisiológico dos animais, entre outros (NRC, 2007).

Porém, a elevada ingestão de água pode aumentar a taxa de passagem, diminuindo o tempo de permanência da digesta no rúmen e prejudicando a digestibilidade dos alimentos. Hemsley et al. (1975) observaram que o incremento no consumo de água decorrente da alta ingestão de sal foi o responsável pela redução de 20 para 12 h o tempo médio de permanência do marcador solúvel <sup>51</sup>Cr-EDTA no rúmen. Do mesmo modo, Godwin & Williams (1986) avaliaram crescentes níveis de infusão intra-ruminal de NaCl e atribuíram a redução no tempo de permanência da digesta no rúmen ao aumento no consumo de água que como consequência, ocasionou redução na digestibilidade da matéria orgânica (MO). A atividade ruminal de vacas consumindo 0,2% de seu PV em NaCl manteve-se inalterada e, a elevação da pressão osmótica no rúmen não reduziu a atividade metabólica de fermentação microbiana da celulose e a digestibilidade da forragem foi mantida (Cardon, 1953). Porém, Pearce et al. (2008) e Moseley & Jones (1974) relataram decréscimo de 14 e 10% na digestibilidade da MO, respectivamente, quando sal foi adicionado a dieta. Hemsley et al. (1975) demonstraram que juntamente com a redução na digestibilidade da MO, a diminuição no tempo de permanência da digesta no rúmen reduz a digestibilidade da proteína e estes autores observaram que 38% a mais de proteína escapou da degradação microbiana no rúmen quando NaCl foi adicionado a dieta, e esta propiciou significativa redução na produção ruminal de amônia.

Este composto nitrogenado é resultado da atividade proteolítica das bactérias presentes no rúmen e está diretamente relacionado ao nível de ingestão de proteína assim como, como a relação energia/proteína da dieta (González et al., 2000). A microbiota ruminal produz amônia através da desaminação dos aminoácidos. Esta amônia é utilizada como principal fonte de nitrogênio para a síntese de proteína microbiana. Entretanto, quando em ausência de suficientes esqueletos de carbono, resultantes da degradação de carboidratos, e energia, a síntese proteica fica comprometida e a amônia não utilizada é removida através das papilas ruminais e transportada até o fígado pelo sistema portal hepático (Dijkstra et al., 2005). Na mitocôndria do hepatócito e, através do ciclo da ureia, esta amônia é então convertida em ureia, a qual será

transportada na circulação para ser excretada na urina e no leite, ou reciclada no organismo animal na forma de saliva (Kaneko et al., 2008). A ureia será sintetizada em quantidades proporcionais à concentração de amônia excedente produzida no rúmen (González et al., 2000). Contudo, o consumo de sal ocasionou redução de 40% nos níveis de ureia plasmática em borregos (Pearce et al., 2008). Esta redução pode ser decorrente do menor tempo de permanência da proteína no rúmen, que impossibilitou sua degradação, ou também, por aumento da excreção renal destes compostos, uma vez que, em presença de sal há incremento do volume urinário (Godwin & Williams, 1984; 1986).

### **2.3. Utilização NaCl na dieta de fêmeas em estágio reprodutivo**

A ação dos hormônios do sistema renina-angiotensina-aldosterona, reguladores do equilíbrio hídrico e osmótico do organismo, sobre a eficiência do sistema reprodutivo foi demonstrado por Maggi et al. (1988), e corroborado por Shanas & Haim (2004) que, após a infusão de vasopressina, hormônio antidiurético, por meio intraperitoneal em ratas observaram elevação do número de folículos atrésicos. Similarmente, a inclusão de 5% de NaCl à dieta de roedores do gênero *Acomys* reduziu o peso de ovário e útero, diminuiu o número de ciclos estrais e os níveis de progesterona, e também a massa testicular e a espermatogênese (Shanas & Haim, 2004; Wube et al., 2009; Bukovetzky et al., 2012).

Em ruminantes, a importância dos reguladores osmóticos na reprodução foi demonstrada por Ferreira (2006), que após avaliar a ação da angiotensina II no folículo ovariano de vacas adultas, demonstrou que este hormônio é indispensável para a ovulação em bovinos, uma vez que o bloqueio de seus receptores impede a ovulação em vacas. Entretanto, Digby et al. (2011) em extensa revisão, demonstram que em ovinos não há evidências de comprometimento da funcionalidade do aparelho reprodutivo ocasionado por influência do sistema regulador do balanço hídrico corporal.

Porém, Meyer & Weir (1954) alimentando fêmeas durante o período de 77 dias prévios ao acasalamento até os 28 dias após o parto com dietas contendo 0,5; 5; 9 ou 13% de NaCl, registraram inferioridade de 30% no número de gestações em ovelhas do tratamento consumindo 13% de NaCl quando comparados a animais 0,5% sal, apesar de, não haver diferenças no PV dos animais. Abdala (2013) observou que o número de cabras que concebeu e o número de nascimentos por parto não se diferenciaram entre fêmeas expostas exclusivamente a ingestão de água com NaCl ou fêmeas com acesso a água fresca a partir dos 60 dias prévios ao acasalamento até o pós parto. A nutrição da fêmea previamente ao período de concepção foi também estudada por Shaker (2009) que avaliou a utilização de plantas halófitas do gênero *Atriplex* cultivadas em solos salinos (que podem conter de 15 a 30% de NaCl; Digby, 2007) na alimentação de ovelhas da raça Barki. Esse autor não observou quaisquer efeitos negativos sobre a manifestação, o comportamento ao cio, a duração de ciclo estral, e tampouco nos níveis plasmáticos de progesterona e estradiol das fêmeas. Do mesmo modo, Zarkawi et al. (2005), avaliando plantas halófitas cultivadas em solos salinos e irrigadas com água salgada como fonte de volumoso para fêmeas adultas a partir dos 60 dias prévio ao acasalamento



até os 90 dias pós parto, identificaram ausência de efeitos na apresentação de cio, níveis de fertilidade, sincronização de estro e duração da gestação, assim como, no peso ao nascimento e ao desmame dos cordeiros. Entretanto, a ausência da descrição do perfil metabólico das fêmeas e a variação existente na definição dos níveis de sal das plantas halófitas entre os diversos trabalhos impossibilitam a tentativa de interpretação e comparação dos resultados obtidos.

Evidências de comprometimento no desenvolvimento dos cordeiros são escassas. Aparentemente, a capacidade intrínseca dos ovinos de excretarem excesso de eletrólitos da dieta permitem a regulação do sistema osmótico, mesmo durante a gestação, período que naturalmente há maior retenção de fluido extracelular nas fêmeas (Digby, 2007), o que possibilita o correto desenvolvimento e crescimento dos cordeiros. Weir & Miller (1953) não encontraram quaisquer evidências de prejuízo ao crescimento de cordeiros provenientes de ovelhas ingerindo 0 ou 25% de NaCl agregado ao concentrado ofertado da sexta semana de gestação aos 21 dias pós-parto. Do mesmo modo, a ingestão de farelo de algodão acrescido de sal, o qual propiciou o consumo de 270 g de NaCl/novilha/dia durante a gestação, não alterou o peso ao nascimento e o crescimento de terneiros (Brown et al., 1958). O ganho de peso da prole, assim como os quilos de cordeiro produzido por ovelhas consumindo 0,5 ou 13% de NaCl durante a gestação e lactação foram similares no trabalho de Meyer & Weir (1954). Similaridade também foi encontrada no peso ao nascimento dos cordeiros provenientes de ovelhas com ou sem ingestão de 13% de NaCl na dieta durante a gestação (Thomas et al., 2007). Filhos únicos de ovelhas alimentadas com 14% de NaCl a partir dos 60 dias de gestação até os 21 dias pós-parto apresentaram similar peso ao nascimento e taxa de crescimento até 6 meses, quando comparados a filhos de ovelhas sem elevada ingestão de sal (Chadwick et al., 2009a).

Embora não havendo descrição da curva de lactação e, tampouco da produção total de leite de ovelhas consumindo NaCl, possivelmente, a similaridade no crescimento inicial dos cordeiros esteja relacionado a provável semelhança na produção de leite de ovelhas consumindo sal e seus controles. Abu-Zanat & Tabbaa (2006) avaliaram a substituição do volumoso da dieta por 0%, 50% ou 100% de plantas halófitas do gênero *Atriplex* durante a gestação e lactação, e concluíram não haver qualquer diferença na produção diária de leite de ovelhas da raça Awassi, e tampouco na taxa de crescimento de seus respectivos cordeiros. Entretanto, Abdala (2013) ofertando água com sal no lugar de água fresca para cabras da raça Damascus, observou redução de 36% na produção total de leite, porém, a porcentagem de proteína, lactose e gordura do leite não foi alterada. Digby et al. (2008) também encontraram similaridade nos níveis de proteína e gordura do leite, assim como no volume do úbere de ovelhas Merino com ou sem adição de 13% de NaCl agregado ao alimento concentrado durante a gestação de cordeiros únicos. Igualmente, 0,5 ou 13% de NaCl acrescido ao alimento de ovelhas durante a gestação e lactação não alterou os níveis de proteína e tampouco de sódio ou potássio, porém os valores de cloro no leite foram 27% superiores em animais ingerindo 13% de NaCl (Meyer & Weir, 1954). Entretanto, Chadwick et al. (2009a) alimentando ovelhas na gestação e lactação com dieta contendo 14% de NaCl não observaram quaisquer alterações nos níveis totais de minerais do leite. Vacas da raça Holandesa alimentadas com

0 ou 3,33% de NaCl durante a lactação apresentaram similaridade na produção leiteira e nos teores de gordura e proteína do leite (Granzin & Gaughan, 2002). De mesmo modo, Amaral et al. (1985), suplementando vacas por 27 dias durante a lactação com 0 ou 4,8% de NaCl não observaram diferenças na produção de leite e na proporção de gordura e proteína do leite. Aparentemente, os mecanismos biológico pelos quais os ovinos secretam NaCl, buscando evitar a intoxicação, não influenciam a fisiologia do sistema mamário. Elevação no consumo de água e uma possível redução na digestibilidade da matéria seca parecem não possuir magnitude para interferir na produção de leite.

Apesar da ausência aparente de efeitos na produção e composição de leite e na taxa de crescimento de cordeiros, a ingestão de sal das ovelhas durante a gestação parece provocar alterações no desenvolvimento de alguns sistemas da sua progênie. Embora Potter & McIntosh (1974) não tenham encontrado quaisquer evidências histológicas de comprometimento de cordeiros provenientes de ovelhas consumindo água com 1,3% de NaCl durante a gestação, o sistema endócrino de filhos de ovelhas consumindo 13% de NaCl a partir do dia 60 de gestação foi alterado, e estes cordeiros nasceram com supressão de 20% da atividade da renina quando comparados a cordeiros provenientes de ovelhas controle (Chadwick et al., 2009a). De mesmo modo, a histologia renal de cordeiros nascidos de ovelhas que haviam consumido 10,3% de NaCl acrescido a dieta a partir do dia 78 de gestação até parto, demonstrou menor quantidade de glomérulos porém de maior tamanho, quando comparados a cordeiros nascidos de ovelhas com 1,3% de NaCl na dieta (Tay et al., 2012). Cordeiros nascidos de ovelha que ingeriram 13% de NaCl acrescido a dieta durante a gestação, após induzidos ao consumo de NaCl, apresentaram menor consumo voluntário de água, níveis plasmáticos de vasopressina inferiores e elevação na aldosterona plasmática (Digby et al., 2010). A produtividade dos cordeiros também parece ser influenciada pela ingestão de sal das ovelhas durante a gestação, visto que, filhos de ovelha consumindo sal durante a gestação apresentam maior produção de lã com maior peso de velo limpo quando comparados a cordeiros nascidos de ovelha controle. Possivelmente em decorrência de influências no mecanismo genético de determinação da densidade folicular acionados pela ingestão de sal de suas respectivas mães (Chadwick et al., 2009b).

O exposto permite interpretar que em presença de água fresca não salgada ovelhas são capazes de evitar a intoxicação e suportar níveis bastante elevados de NaCl na dieta. Mas, a diminuição da digestibilidade da matéria orgânica poderia comprometer o status do balanço energético e reduzir a produtividade, entretanto estes resultados não são observados e, aparentemente, ovelhas concluem com êxito sua atividade reprodutiva quando em presença de elevadas proporções de sal na dieta. Contudo, a variedade de níveis de NaCl ofertados, o método pelo qual este é introduzido na dieta, o estágio fisiológico dos animais, o período e a duração da exposição ao consumo de NaCl são muito heterogêneos entre os distintos trabalhos e, deste modo, impossibilitam uma determinação exata da ação do sal na fisiologia reprodutiva das ovelhas. Ao mesmo tempo, há inexistência de estudos descrevendo o consumo voluntário das fêmeas expostas ao sal e a efetividade do NaCl como

limitador de consumo voluntário na nutrição estratégica pré reprodutiva de ovelhas.

### **3. HIPÓTESES**

A ingestão de diferentes níveis de NaCl associados a diferentes quantidades de alimento concentrado não causará comprometimento na capacidade ovulatória de ovelhas;

A produção de leite e colostro, assim como, o crescimento dos cordeiros não serão afetados pela ingestão de NaCl adicionado ao alimento concentrado no final da gestação e princípio da lactação;

### **4. OBJETIVOS**

Mensurar a taxa ovulatória de ovelhas adultas consumindo diferentes níveis de NaCl e concentrado durante um ciclo estral;

Identificar as variações no perfil bioquímico do plasma de ovelhas consumindo diferentes níveis de cloreto de sódio agregado ao alimento concentrado;

Descrever a produção e composição de colostro e leite, assim como a curva de lactação de ovelhas alimentadas com diferentes níveis de NaCl agregado ao alimento concentrado em dietas pré e pós-parto;

Avaliar o peso ao nascimento, crescimento e peso à desmama de cordeiros oriundos de ovelhas consumindo diferentes níveis de NaCl agregado ao alimento concentrado durante a gestação e lactação.

## **CAPÍTULO II**

### **Ingestão de altos níveis de sal não altera a taxa ovulatória de ovelhas<sup>1</sup>**

---

<sup>1</sup>Elaborado de acordo com as normas do Journal of Animal Science (Apêndice 1)

Taxa ovulatória de ovelhas consumindo NaCl

### **Ingestão de altos níveis de sal não altera a taxa ovulatória de ovelhas<sup>1</sup>**

**L. A. Sphor,\* F. A. Sales,† R. J. Lira,† C. Viñoles,‡ J. O. J. Barcelos,\* e C. H. E. C.**

**Poli\*<sup>2</sup>**

\*Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 91450-000, Brasil;

†Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional Kampenaike, Punta Arenas, 6212707, Chile;

‡Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Tacuarembó, 45098, Uruguay

<sup>1</sup>Agradecimentos: Nossos sinceros agradecimentos ao governo Regional de Magalhães por conceder o financiamento ao projeto “Transferência técnica para melhorar a produtividade ovina em Magalhães”, a toda equipe técnica de apoio da estação experimental Kampenaike e a José Marques Alvarez do Laboratório De Agostini por auxiliar nas análises plasmáticas.

<sup>2</sup>autor para correspondência: [cesar.poli@ufrgs.br](mailto:cesar.poli@ufrgs.br)

**RESUMO:** A suplementação nutricional de ovelhas previamente a estação reprodutiva é um importante potencializador da foliculogênese e da taxa ovulatória, contudo, a oferta diária de alimento concentrado nem sempre é uma prática de fácil operacionalização, principalmente em sistemas extensivos de produção. Uma alternativa para estas situações

é a inclusão de NaCl (sal) agregado ao alimento buscando limitar o consumo voluntário do concentrado prontamente disponível. Este trabalho avaliou o efeito do sal acrescentado ao alimento concentrado oferecido a ovelhas durante um ciclo estral e suas respostas no consumo voluntário e nos níveis ovulatórios. Quarenta fêmeas Corriedale com o estro sincronizado foram divididas em quatro tratamentos: S17, oferta ad libitum de ração concentrada com 17% de sal; C17, ração concentrada sem adição de sal calculada pela média de consumo diário de concentrado dos animais S17; S22, oferta ad libitum de ração concentrada com 22% de sal, e C22, ração concentrada sem adição de sal calculada pela média de consumo diário de concentrado dos animais S22. Os tratamentos foram estabelecidos em pares: S17 vs C17 e S22 vs C22. Água fresca e forragem foram ofertados ad libitum. As fêmeas receberam dietas experimentais por 14 d, e posteriormente se realizou ultrassonografia transretal em tempo real para avaliação da taxa ovulatória. A diferença de 5 pontos percentuais na inclusão de sal ocasionou redução de 30% na ingestão de MS do suplemento em animais S22, quando comparados a S17 ( $P < 0,0001$ ). O consumo de volumoso foi similar entre todos os tratamentos. Não houve efeito da ingestão de sal nos níveis ovulatórios, e ovelhas S17 ( $P = 0,1849$ ) e S22 ( $P = 0,6003$ ) foram similares a seus respectivos pares nutricionais. Houve redução nos níveis médios de ureia plasmática de animais S22 quando comparados a C22 ( $P = 0,0854$ ). Animais S17 apresentaram níveis plasmáticos de insulina inferiores a C17 ( $P = 0,0320$ ), e animais S22 e C22 não se diferenciaram ( $P = 0,3879$ ). A inclusão de elevadas proporções de sal ao alimento concentrado não ocasionou diferença nos níveis plasmáticos médios de proteína total,  $\beta$ -hidroxibutirato e albumina entre os tratamentos pareados. Em conclusão, o aumento na inclusão de NaCl reduz o consumo voluntário do alimento concentrado. Ovinos possuem capacidade de adaptação a ingestão de elevados

níveis de sal, alterando minimamente seu perfil plasmático. Altos níveis de sal agrados ao alimento concentrado não comprometem a taxa ovulatória de ovelhas.

**Palavras chave:** consumo voluntário, NaCl, nutrição, perfil bioquímico plasmático, reprodução

## INTRODUÇÃO

A prolificidade em ovinos é um fator de primordial importância para o êxito reprodutivo de um sistema de produção de cordeiros, uma vez que, esta impõe o limite biológico máximo da capacidade de reprodução e é estabelecida, especialmente, pela taxa ovulatória (Scaramuzzi e Campbell, 1990). O incremento nutricional da dieta pode potencializar a foliculogênese e aumentar o número de óvulos liberados em cada ciclo, uma vez que o recrutamento folicular é muito sensível às modificações alimentares (Somchit, 2011). Uma estratégia nutricional utilizada para melhorar a prolificidade em ovelhas é a oferta de alimentação suplementar (Gherardi e Lindsay, 1982; Stewart e Oldham, 1986; Lassoued et al., 2004), contudo, a disponibilização diária de alimento concentrado nem sempre é uma prática de fácil operacionalização, principalmente em sistemas extensivos de produção como o praticado no oeste dos USA, sul do Brasil, Uruguai, Chile e África do Sul (Cottle, 2010). Neste âmbito, uma alternativa é a oferta de ração concentrada agregada com algum restritor de consumo que limite a ingestão do suplemento prontamente disponível (Cardon et al., 1951). Entre estes destaca-se o NaCl que acrescido ao alimento busca restringir o consumo voluntário (Rovira e Velazco, 2012). Neste sentido, estudos da utilização de NaCl na dieta de ovelhas no período reprodutivo estão na sua grande maioria direcionados a suplementação no período da gestação ou lactação e seus resultados não demonstram comprometimento produtivo dos animais (Digby et al., 2008; Abu-Zanat e Tabbaa, 2006). Contudo, a implicação do consumo elevado de NaCl durante o desenvolvimento folicular e suas respostas na capacidade ovulatória é inconclusiva. Deste modo, este trabalho busca descrever o efeito da ingestão de elevados níveis de NaCl agregado ao alimento concentrado sobre a



capacidade ovulatória de ovelhas, as variações do perfil plasmático, assim como os efeitos no consumo voluntário de suplemento, forragem e água.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os procedimentos com animais realizados no âmbito do presente estudo evitaram desconforto desnecessário aos animais e foram aprovados pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

A denominação sal é utilizada neste estudo como sinônimo de cloreto de sódio (NaCl).

### *Animais e tratamentos*

O experimento foi realizado na estação experimental Kampenaike, pertencente ao Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA - Chile (52°42'17"S 70°55'20"W) nos meses de maio e junho de 2014. Foram utilizadas 40 ovelhas Corriedale multíparas com idade  $30,0 \pm 0,16$  meses (média  $\pm$  erro padrão), que haviam parido um cordeiro no ano anterior. As ovelhas apresentavam PV de  $60,4 \pm 0,71$  kg e ECC de  $2,57 \pm 0,06$  (escala de 0-5; Russell et al., 1969) no início do experimento, quando receberam duas injeções de 1 mL i.m. de um análogo a PG (Ovolute®, D-Cloprostenol 7,5 mg/100 mL, Drag Pharma Chile Invetec S.A.) realizadas com nove dias de intervalo (Fig. 1) para sincronização de estro (Viñoles et al., 2005). Três dias após a segunda dose de prostaglandina, arbitrada como a data provável do primeiro estro, os animais foram divididos em quatro grupos bloqueados por PV e ECC. Neste momento, considerado o dia zero (d 0), as ovelhas foram

alojadas em baias individuais cobertas, mantidas com luz natural, e deu-se início ao fornecimento da alimentação conforme os tratamentos. Os tratamentos nutricionais foram caracterizados por diferentes níveis de adição de sal agregados a uma ração comercial concentrada de mesma formulação: **S17**: ração concentrada com adição de 17% de sal; **C17**: ração concentrada sem adição de sal calculada pela média de consumo diário de concentrado dos animais do tratamento S17; **S22**: ração concentrada com adição de 22% de sal, e **C22**: ração concentrada sem adição de sal calculada pela média de consumo diário de ração concentrada dos animais do tratamento S22. Os tratamentos foram estabelecidos em pares com base ao PV das ovelhas: S17 vs C17 e S22 vs C22. Ovelhas S17 e S22 receberam concentrado ad libitum com adição de sal, enquanto nos tratamentos C17 e C22 a oferta foi restringida para coincidir com o consumo de alimento concentrado de seus respectivos pares nutricionais no dia anterior, porém, subtraindo-se as respectivas proporções de sal anteriormente adicionada ao alimento (Blache et al., 2007). Juntamente com o concentrado, todas as ovelhas recebiam diariamente: 500 g de feno de alfafa, e também coirón (*Festuca gracillima* Hook. f.) e água fresca com disponibilidade ad libitum. Os alimentos foram ofertados diariamente às 0900 h. Água, suplemento e volumoso foram pesados previamente ao fornecimento e suas sobras determinadas diariamente. Ofertas caracterizadas como ad libitum foram computadas diariamente para apresentarem sobras não inferiores a 15% do fornecimento diário. As dietas pareadas foram aplicadas do dia 0 ao dia 14 do ciclo estral. Após este período, todos os animais foram mantidos em mesmo regime nutricional com suplemento sem adição de sal por mais oito dias, data de avaliação da taxa ovulatória. Peso vivo e ECC foram aferidos no dia -1, 7, 14 e 21, com jejum prévio de 12 h.

### ***Mensuração da taxa ovulatória***

A taxa ovulatória foi avaliada no vigésimo segundo dia após o início dos tratamentos por meio de ultrassonografia transretal (ULS) em tempo real (Pie Medical, Scanner 100LC, Pie Medical Imaging, Maastricht, NL – 6,5 MHz) para identificação do corpo lúteo (CL). A taxa ovulatória foi determinada por contagem do número de CL em ambos os ovários (Viñoles et al., 2005).

### ***Avaliação dos alimentos***

O consumo individual foi calculado com base na matéria seca a 105°C através da diferença entre a quantidade de alimento ofertado diariamente e sua sobra. Amostras dos alimentos foram coletadas semanalmente para descrição da sua composição bromatológica (Tabela 1). As análises dos teores de PB (volumetria [Harris, 1970]), EM (gravimetria [Garrido e Mann, 1981]), cinzas (gravimetria [Bateman, 1970]), Na (espectrofotometria de emissão atômica [Sadzawka et al., 2007]) e Cl (eletrodo íon-seletivo [Islan et al., 1983]) foram realizadas pelo Laboratório de Nutrição e Meio Ambiente, INIA Remehue, CH.

### ***Coleta sanguínea e análise plasmática***

Nos dias -1, 7, 14 e 21 do período experimental, com jejum prévio de 12 h, anteriormente a oferta dos alimentos, foram obtidos, através da venipunção da jugular, amostras sanguíneas de todos os animais. Para a determinação do hematócrito (HTC),

insulina,  $\beta$ -hidroxibutirato (**BHB**), proteína total, albumina e ureia, 8 mL de sangue foram coletados em tubos a vácuo contendo 7,2 mg de EDTA. A determinação do HTC foi realizada nas amostras utilizando tubos capilares de 75 mm em centrífuga de microhematócrito por 10 min a  $10000 \times g$  a  $23^\circ\text{C}$ . Os capilares foram lidos com cartão padrão para obter o nível de HTC (WHO, 2003). Após a retirada da fração empregada na determinação do HTC, os tubos foram centrifugados por 15 min a  $1500 \times g$  e  $23^\circ\text{C}$ , para a obtenção do plasma. Este foi aliquotado em tubo tipo eppendorf e criopreservados, a  $-20^\circ\text{C}$ , até que fossem realizadas as demais análises bioquímicas. As concentrações séricas de insulina foram determinadas utilizando o kit Insulin ELISA (Diagnostic Systems Laboratories - Webster, Texas, US) com CV intra e inter-ensaio de 6,3 e 8,8%, respectivamente (Smith et al., 2006). As análises de níveis de BHB foram determinadas pelo método cinético enzimático através de kit RANBUT (Randox Laboratories Ltd., Crumlin, County Antrim, UK [Al-Qudah, 2011]), com CV intra e inter-ensaio de 3,8 e 5,3%, respectivamente. As mensurações da proteína total, albumina e ureia plasmática foram realizadas utilizando um autoanalisador (Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH - Wiesbaden, DE). A concentração total de proteína foi determinada por Total Protein Liquicolor com prova colorimétrica fotométrica por absorvância simples, utilizando o método de biuret (Kilpi, 2015). Teores de albumina plasmática foram determinados por Albumin Liquicolor com teste fotométrico colorimétrico por absorvância direta, utilizando o método BCG – verde de bromocresol (Kilpi, 2015). A ureia foi quantificada através do Urea liquiUV, por método cinético completamente enzimático em presença de glutamato desidrogenase (Noro et al., 2012). O CV intra e inter-ensaio da proteína total, albumina e ureia plasmática foram de 1,1 e 2,7%; 1,3 e 1,8% e, 4,1 e 3,9%, respectivamente. Para determinação da glicose plasmática, 4 mL de

sangue foram coletados em tubos a vácuo contendo 3 mg de fluoreto de sódio e 6 mg de EDTA. As amostras foram centrifugadas por 15 min a  $1500 \times g$  e  $23^{\circ}\text{C}$ , para a obtenção do plasma, que foi aliquoteado em copo de amostra Hitachi (aulinbas 2 mL). A determinação dos níveis séricos de glicose foi realizada utilizando o método enzimático por glicose hexoquinase (Roche Diagnostics International Ltd, CH [Kerlake et al., 2008]).

### *Análise de dados*

Para analisar PV, ECC, consumo de alimento e água, e variáveis hematológicas, foi utilizado a análise de variância com medidas repetidas no tempo utilizando ProcMixed (SAS software versão 9.3; SAS Inst. Inc., Cary, NC, US). O modelo incluiu como efeitos fixos o tratamento, o dia, e sua interação. A estrutura de covariância foi modelada usando o efeito aleatório de ovelha e escolhida pelo critério AIC (Akaike, 1974). Valores hematológicos obtidos na coleta anterior ao início dos tratamentos (dia -1) foram utilizados como covariável para análise dos dados das coletas plasmáticas posteriores. A taxa ovulatória foi analisada com o procedimento Genmode (SAS software versão 9.3), assumindo a distribuição como binomial e utilizando Logit como função de ligação. Médias foram obtidas pelo teste  $t$  (Student). Interações e diferenças foram consideradas como significativas quando o nível de significância foi inferior a 10% ( $P < 0,10$ ). Todos os resultados são apresentados com média e erro padrão da média (SEM).

## **RESULTADOS**

### ***Consumo alimentar, peso vivo e escore de condição corporal***

O consumo de MO, PB e EM da dieta total entre S17 e C17, e entre S22 e C22 não apresentou diferença (Tabela 2), caracterizando os tratamentos pareados como isoprotéicos e isoenergéticos. Igualmente, a ingestão de volumoso foi similar entre todos os tratamentos (Tabela 2).

Ovelhas consumindo suplemento com adição de 22% de sal ingeriram 30% menos MS do alimento concentrado que animais S17 ( $P < 0,0001$ ), com isto, o consumo de MS de ovelhas do tratamento S17 foi de  $48,9 \pm 1,35$  g/kg PV<sup>0,75</sup>, enquanto o consumo de S22 foi de  $34,4 \pm 1,84$  g/kg PV<sup>0,75</sup>. Entretanto, o consumo de sal não se diferenciou entre os tratamentos, e S17 e S22 consumiram  $9,3 \pm 0,39$  e  $8,6 \pm 0,35$  g/kg PV<sup>0,75</sup>, respectivamente ( $P = 0,2117$ ).

Peso vivo e ECC permaneceram estáveis durante o período experimental não havendo efeito da ingestão de sal nestas variáveis (Tabela 2).

### ***Taxa ovulatória***

A totalidade dos animais que ingeriram elevados níveis de sal apresentou um ou mais CL no momento da ULS, demonstrando não haver efeito negativo da ingestão de sal na sincronização de estro e no recrutamento folicular. Dados de taxa ovulatória são apresentados na Tabela 2. A adição de sal ao suplemento concentrado não afetou a taxa ovulatória, e ovelhas S17 e S22 foram similares a seus respectivos pares nutricionais. No entanto, contrastando os dois tratamentos que consumiram elevadas proporções de sal,

observou-se uma resposta reprodutiva 25% inferior para animais S22 quando comparados com ovelhas S17 ( $P = 0,0792$ ).

### *Variáveis plasmáticas*

A elevada ingestão de sal propiciou alterações nos níveis de HTC (Fig. 2A), no entanto, tratamentos controle apresentaram estabilidade neste parâmetro. A curva durante os distintos tempos demonstra superioridade nos níveis de HTC durante os períodos 7 e 14 para animais S17 quando comparados com C17, mas este aumento foi significativo somente no décimo quarto dia ( $P = 0,0102$ ). Opostamente, ovelhas do tratamento S22 apresentaram menores níveis de HTC que seus pares nutricionais durante todo o período, mas atingiram significância apenas no sétimo dia ( $P = 0,0548$ ), quando foram 2,3% inferiores C22.

A concentração de glicose plasmática de S17 e C17 apresentou interação entre tempo e tratamento ( $P = 0,0200$ ). Ovelhas que consumiram concentrado com 17% de sal registraram acréscimo nos níveis glicêmicos entre os dias 7 e 14, seguido por um descenso e finalizando o período experimental com  $2,93 \pm 0,09$  mmol/L (Fig. 2B). Por outro lado, animais C17, que apresentaram níveis de  $3,67 \pm 0,09$  mmol/L no dia 7, registraram contínua diminuição de teores de glicose nos períodos seguintes e finalizaram o experimento com  $3,10 \pm 0,09$  mmol/L. Ovelhas S22 e seus pares sem sal não apresentaram diferenças na glicêmica através dos distintos tempos avaliados (Fig. 2B).

Níveis de insulina plasmática foram crescentes durante todo o período experimental, mas este crescimento foi mais acentuado em animais que não consumiram elevadas proporções de sal (Fig. 2C).

Houve similaridade na concentração de BHB entre os tratamentos pareados durante os três períodos avaliados, todos os tratamentos, exceto S17, sofreram um decréscimo nos níveis entre os dias 7 e 14 e um posterior crescimento até o dia 21 (Fig. 2D).

Valores de ureia plasmática de S17 e C17 apresentaram interação entre tempo e tratamento ( $P = 0,0001$ ). Contudo, ovelhas S17 apresentaram níveis de ureia 41% e 19% inferiores a animais C17 no dia 7 e 14 respectivamente, entretanto, após o término da oferta de concentrado com adição de sal os níveis de ureia foram similares (Fig. 3A). No entanto, os índices de animais S22 e C22 que apresentaram similaridade nos dia 7 ( $P = 0,2265$ ) e 21 ( $P = 0,8859$ ), foram significativamente diferentes no dia 14 ( $P = 0,0168$ ) em que, animais C22 resultaram 13% superiores.

Os níveis plasmáticos de albumina de S17 e C17 apresentaram pouca variação durante o estudo, e ao final do período alcançaram valores de  $38,5 \pm 1,04$  e  $37,0 \pm 1,01$  g/L, respectivamente. Entretanto, ovelhas S22 e seus pares apresentaram queda de 8% nesta proteína entre os dias 14 e 21 e chegaram ao final do experimento com  $33,7 \pm 2,30$  e  $33,5 \pm 2,38$  g/L, respectivamente (Fig. 3B).

Índices de proteína plasmática de animais S17 e C17 variaram de forma muito similar no decorrer do tempo, havendo diferença somente no dia 14, no qual animais consumindo sal foram aproximadamente 5 mmol/L superiores a seus pares ( $P = 0,0348$ ). Já ovelhas S22 e C22 apresentaram similaridade nos níveis proteicos em todo decorrer do estudo (Fig. 3C).



## DISCUSSÃO

Dietas contendo 17 ou 22% de NaCl agregado ao alimento concentrado, administradas por 14 dias, não afetaram a taxa ovulatória em ovelhas adultas. Escassas são as informações presentes na bibliografia relacionando ingestão de sal e foliculogênese em ruminantes. Até o presente momento não existem relatos da descrição dos efeitos de dietas com elevados teores de sal e taxa ovulatória de ovelhas. Em estudo realizado com roedores Shanas e Haim (2004) sustentam a hipótese de que o sistema reprodutivo pode ser diretamente afetado por fatores que regulam o equilíbrio hídrico e osmótico do organismo. Estes autores observaram uma diminuição da capacidade reprodutiva das fêmeas após a ingestão de dietas contendo sal. Igualmente, Bukovetzky et al. (2012) observaram diminuição no número de ciclos estrais de fêmeas ingerindo água com sal, e concluíram que o aumento da salinidade da dieta compromete a capacidade reprodutiva de roedores. Contudo, no presente estudo o sal agregado ao alimento concentrado não alterou a taxa ovulatória e os níveis reprodutivos foram similares entre animais que ingeriram elevadas proporções de sal e seus respectivos pares nutricionais. Esta igualdade pode ser explicada, possivelmente, pela capacidade inerente dos ovinos de adaptar suas funções renais aumentando a excreção de excessos de sal, sempre que há adequada disponibilidade de água fresca (Potter, 1961; 1963), mantendo inalteradas suas funções biológicas. Nelson et al. (1955) observaram que 94,1% do Na e 97,5% do Cl consumido por capões foi excretado na urina, provavelmente devido ao aumento da taxa de filtração glomerular (Potter, 1961; Meintjes e Engelbrecht, 1993). Digby et al. (2008) avaliando índices reprodutivos de ovelhas Merino alimentadas com 13% de sal, não obtiveram diferença na taxa de concepção quando comparadas com animais sem sal na dieta, e

concluíram que ovinos são capazes de regular com equilíbrio o sal e a água, realizando adaptações metabólicas impedindo o comprometimento de atividades reprodutivas. Igualmente, Meyer e Weir (1954) suplementando ovelhas mestiças previamente a estação reprodutiva não encontraram diferenças significativa nos níveis de fertilidade com a inclusão de até 13,1% de sal no alimento concentrado (avaliada pelo número de partos). Investigações anteriores, que avaliaram índices reprodutivos, utilizaram porcentagens relativamente baixas de inclusão de sal, entretanto, no presente estudo as ovelhas receberam 17 e 22% de sal agregado ao alimento, o que ocasionou o consumo diário de aproximadamente 9 g/kg PV<sup>0,75</sup> de sal, e igualmente mantiveram inalteradas suas funções reprodutivas quando comparadas a seus pares, não apresentando qualquer sintomatologia de intoxicação, permanecendo saudáveis durante todo o período, demonstrando que a capacidade de tolerância dos ovinos a ingestão de sal sem comprometimentos reprodutivos pode ser superior ao relatado até o presente momento.

Contudo, este potencial reprodutivo está sensivelmente influenciado por fatores nutricionais, uma vez que, a nutrição é moduladora das atividades reprodutivas, atuando através da sinalização do estado metabólico (Downing e Scaramuzzi, 1991), e um importante indicador deste status é o BHB (González et al., 2000). Este metabólito sanguíneo, que reflete a deficiência energética na dieta, quando em níveis elevados pode comprometer a eficiência reprodutiva (Scaramuzzi et al., 2006). O consumo de altas proporções de sal pode diminuir a digestibilidade da matéria orgânica (Hemsley et al., 1975), reduzindo o aporte nutricional da dieta e ocasionando deficiência energética. Contudo, os níveis de BHB, no presente estudo, não foram influenciados pela ingestão de sal, e se mantiveram dentro da faixa fisiológica normal para a espécie durante todo o período experimental (< 0,55 mmol/L; Kaneko et al., 2008). Juntamente com o BHB,

outro sinalizador do status energético é a glicose, os níveis deste carboidrato são capazes de manipular a taxa ovulatória em ovinos (Downing et al., 1995). No presente estudo não houve diferença nos níveis glicêmicos médios entre os tratamentos. Similaridade na glicose plasmática também foi encontrado por Blache et al. (2007) suplementando capões com dietas contendo 20% de sal por 14 dias. Igualmente, Digby et al. (2008) avaliando ovelhas prenhes consumindo 13% de sal e seus homólogos, não encontraram diferença na glicose plasmáticas, e atribuíram este resultado ao estado fisiológico das ovelhas. Os produtos da fermentação ruminal não foram avaliados no presente estudo, mas acredita-se que a inexistência de quaisquer oscilações nos índices glicêmicos de ovelhas consumindo sal poderiam, talvez, ser explicada pela igualdade nos níveis de ácidos graxos voláteis encontrado em animais alimentados por dietas com e sem adição de sal (Moseley, 1980; Harvey et al., 1986; de Waal et al., 1989), uma vez que o principal precursor glicogênico em ruminantes é o ácido propiônico (Russell e Gahr, 2000). Isto posto, a possível similaridade na produção de propionato pode ter sido a causadora da igualdade dos níveis glicêmicos, esta hipótese é corroborada pela glicemia registrada no dia 21, que se manteve estável mesmo após a retirada do sal das dietas ocorrido no dia 14.

Absorção de glicose pelos tecidos é regulada pela insulina, tornando este hormônio um dos principais mediadores dos efeitos nutricionais sobre a reprodução (Somchit, 2011). O aumento na absorção de glicose durante a fase luteal pode impedir a atresia e estimular o crescimento de novos folículos, dando a insulina importante função na manutenção da taxa ovulatória (Downing et al., 1995). No presente estudo ovelhas consumindo sal apresentaram menor incremento nos níveis insulinêmicos quando comparadas aos seus contrastes, mas esta diferença foi significativa apenas para animais S17. A inferioridade na insulina plasmática de animais consumindo sal foi também

descrito por Blache et al. (2007), que alimentando machos Merino obtiveram diferença de 45% entre animais com sal na dieta e seus homólogos. Além disso, Pearce et al. (2008) e Shaker (2014) avaliando o efeito de dietas compostas por plantas com elevado conteúdo de sal (*Atriplex nummularia*) encontraram redução de 37 e 26%, respectivamente, nas concentrações de insulina quando comparados com o grupo controle. Digby et al. (2008) alimentaram ovelhas da concepção ao parto com 13% de sal e observaram redução de 12% nos níveis insulinêmicos quando contrastadas com seus pares nutricionais, contudo concluíram não haver prejuízos na capacidade reprodutiva das fêmeas. Animais S17 apresentaram níveis de insulina 17% inferior aos seus pares no dia 14 (fase luteal) e tampouco reduziram seus índices ovulatórios, demonstrando que esta inferioridade não possui magnitude para ocasionar diferenças reprodutivas. Os mecanismos pelos quais os níveis séricos de insulina são influenciados pela alta ingestão de sal todavia não estão claros em ovinos, mas acreditamos estarem relacionados a atuação deste hormônio na regulação homeostática do  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  (Sweeney e Klip, 1998). O menor crescimento dos níveis insulinêmicos de animais consumindo sal pode ter sido decorrente de ajustes endocrinológicos que buscavam o aumento da excreção de sódio, visto que estudos em humanos demonstram que os níveis de insulina estão inversamente relacionados a proporção de sódio excretado (DeFronzo et al., 1975).

A correta eliminação de sódio e de cloro exige abundante ingestão de água não salgada (Cardon et al., 1951). Ovelhas S17 e S22 apresentaram grande superioridade na ingestão de água quando comparadas a seus pares, e conseqüentemente obtiveram menor crescimento dos níveis plasmáticos de ureia. Este metabólito é um indicador da ingestão de proteína, sendo sintetizado no fígado a partir da amônia proveniente do catabolismo dos aminoácidos e da reciclagem de amônia do rúmen (González et al., 2000). Dietas

acrescidas de sal elevam a ingestão de água, portanto aumentam a velocidade de trânsito dos alimentos no aparelho digestivo (Hemsley et al., 1975). Estes mesmos autores observaram redução de 40% no tempo médio de permanência do marcador  $^{51}\text{Cr-EDTA}$  no rúmen e por consequência, 38% a mais de proteína dietética escapou da degradação ruminal. Este decréscimo nos níveis de proteína fermentável no rúmen reduz a produção de amônia (Godwin e Williams, 1986) e, por conseguinte diminui a síntese de ureia (Pearce et al., 2008). Este fato ficou evidente em animais S22 que apresentaram superior consumo de água por unidade de MO consumida e inferiores níveis de ureia que S17. Tornar a proteína da dieta menos degradável no rúmen aumenta sua probabilidade de estar disponível para absorção pós-ruminal (Jahani-Moghadam et al., 2009; Felisberto et al., 2011). Em dietas isoenergéticas, o aumento da disponibilidade de proteína não degradável no rúmen aumenta a foliculogênese (Davis et al., 1981). O consumo de concentrado com adição de sal não alterou os níveis médios da proteína total no plasma, e animais S17 apresentaram níveis levemente superiores de proteína total no dia 14, o que poderia indicar um aumento na absorção pós ruminal de proteína, uma vez que as dietas foram isoprotéicas. Esta diferença desapareceu após a retirada do sal da dieta. Não houve alteração na concentração plasmática de albumina e este fator pode ser decorrente de um curto período experimental uma vez que, segundo González (2002), variações nos níveis de albumina necessitam um período mais longo para tornarem-se evidentes devido a sua baixa velocidade de síntese. A inexistência de diferença nos índices médios da proteína total e albumina demonstram não haver efeito da ingestão elevada de sal durante o ciclo estral no perfil de absorção de proteínas em ovelhas, explicando em parte o reduzido efeito do sal na taxa ovulatória.

Além de indicador do status proteico, a albumina auxilia na caracterização do estado de hidratação por meio da pressão coloidosmótica plasmática (Guyton e Hall, 2006). Juntamente a albumina, outro indicador de alterações no volume plasmático é o hematócrito, que representa a porcentagem de eritrócitos no sangue e prediz a relação sólidos/líquidos do plasma sanguíneo e, pode ser utilizado como indicador de acúmulo de fluido extracelular (Meyer e Weir, 1954). No presente estudo, os valores de HTC sofreram poucas alterações, com exceção dos animais S17, os quais apresentaram relevante superioridade nos níveis médios em relação aos seus homólogos. O aumento de 8% no volume médio de eritrócitos em animais S17, quando comparados a animais C17, reflete possivelmente, uma redução do volume plasmático, decorrente do menor consumo de água, uma vez que estes animais ingeriram menos água por unidade de MO que as demais ovelhas consumindo sal. Mesmo a água estando disponível de forma ad libitum para todos os tratamentos. A diminuição nos níveis de fluido extracelular de animais S17 pode ser caracterizada como suave e não pode ser interpretada como desidratação, uma vez que, o HTC de todas as ovelhas dos diferentes tratamentos permaneceu dentro da gama fisiológica normal para ovinos saudáveis (Jacson e Cockcroft, 2002), e após a retirada do sal da dieta os valores se estabilizaram e os níveis de S17 se aproximaram aos de seu par nutricional.

Observando o perfil bioquímico do plasma, todos os animais parecem ter sido exitosos na excreção de sódio e cloro, e não apresentaram alterações metabólicas lesivas decorrentes da ingestão de elevados níveis destes eletrólitos. De mesmo modo, a inclusão de 17 ou 22% de sal buscando limitar a ingestão de concentrado prontamente disponível foi exitosa. Ceballos et al. (2014) alimentaram ovelhas adultas ad libitum com concentrado 0% de sal e obtiveram consumo médio de MS de 60,6 g/kg<sup>0,75</sup>, entretanto,

quando acrescido 14% de sal ao concentrado o consumo de MS reduziu para 51,6 g/kg<sup>0,75</sup>. Ovelhas S17 consumiram 48.9 g/kg<sup>0,75</sup> em MS do concentrado, e a diferença de 5 pontos percentuais no teor de sal entre os tratamentos ocasionou a redução de aproximadamente um terço do consumo de concentrado de animais S22, o qual demonstra a eficiência do sal como regulador do consumo. Dados similares foram descritos por Villa et al. (2007), em que o aumento de 10 para 20% de sal acrescido ao alimento gerou uma redução de 27% na ingestão voluntária. Esta redução se deve a efetividade do sal como inibidor da ingestão voluntária, quando presente em elevados níveis, a partir, possivelmente, de sua ação no aumento da tonicidade do fluido ruminal, restringindo o consumo (Ternouth e Beattie, 1971; Carter e Grovum, 1990). Contudo, a superior inclusão de sal embora reduzindo a ingestão de concentrado permitiu adequado aporte de nutrientes, uma vez que o recrutamento folicular ocorreu normalmente, assim como o estro, demonstrando que 17 e 22% de inclusão de sal ao alimento concentrado podem ser utilizados sem comprometimento do potencial ovulatório em ovinos.

Existe uma complexa interação entre nutrição, hormônios metabólicos e taxa ovulatória, e nem todas as ligações entre estes três fatores estão completamente elucidadas (Scaramuzzi et al., 2011). Com isso, a diferença no nível de ovulações múltiplas entre S17 e S22, provavelmente seja decorrente de uma diferença nutricional ocasionada pela menor ingestão de alimentos de animais S22, entretanto esta diferença não foi acompanhada de grandes modificações no perfil plasmático, possivelmente porque não houve diferença na quantidade de sal ingerido entre estes tratamentos, e mesmo com a redução de 30% no consumo de MS do concentrado, animais S22 continuavam em um padrão de nutrição com nível superior a suas necessidades de manutenção (NRC, 2007).

Este trabalho descreve pela primeira vez os efeitos da ingestão de elevados níveis de NaCl na capacidade ovulatória de ruminantes. O consumo de dietas com altos níveis de sal não diminui o desempenho reprodutivo de ovelhas adultas. Ovinos são eficientes em adaptarem seu metabolismo a grande ingestão de eletrólitos sem relevantes comprometimentos do perfil metabólico plasmático. Elevadas proporções de sal podem ser utilizadas em sistemas de suplementação para restringir a ingestão de alimento concentrado mantendo inalterada a taxa ovulatória em ovelhas.

#### LITERATURA CITADA

- Abu-Zanat, M. M. W., and M. J. Tabbaa. 2006. Effect of feeding *Atriplex* browse to lactating ewes on milk yield and growth rate of their lambs. *Small Rumin. Res.* 64:152–161. doi:10.1016/j.smallrumres.2005.04.004
- Akaike, H. 1974. A new look at the statistical model identification. *IEEE T. Automat. Contr.* 19:716–723. doi:10.1109/TAC.1974.1100705
- Al-Qudah K. M. 2011. Oxidant and antioxidant profile of hyperketonemic ewes affected by pregnancy toxemia. *Vet. Clin. Pathol.* 40:60–65. doi:10.1111/j.1939-165X.2011.00284.x
- Bateman, J. V. 1970. *Nutrición animal: manual de métodos analíticos* (In Spanish). Herrero Hermanos S. A. México, DF.
- Blache, D., M. J. Grandison, D. G. Masters, R. A. Dynes, M. A. Blackberry, and G. B. Martin. 2007. Relationships between metabolic endocrine systems and voluntary feed intake in Merino sheep fed a high salt diet. *Aust. J. Agric. Res.* 47:544–550. doi:10.1071/EA06112



- Bukovetzky, E., H. Schwimmer, F. Fares, and A. Haim. 2012. Photoperiodicity and increasing salinity as environmental cues for reproduction in desert adapted rodents. *Horm. Behav.* 61:84–90. doi:10.1016/j.yhbeh.2011.10.006
- Cardon, B. P., B. Stanley, W. J. Pistor, and J. C. Nesbitt. 1951. The use of salt as a regulator of supplemental feed intake and its effect on the health of range livestock. *Arizona Agric. Exp. Sta. Bull.* 239:1–15.
- Carter, R. R., and W. L. Grovum. 1990. Factors affecting the voluntary intake of food by sheep.V. The inhibitory effect of hypertonicity in the rumen. *Brit. J. Nutr.* 64:285–299. doi:10.1079/BJN19900029
- Ceballos, D., D. M. Villa, C. Inchausti, W. Opazo, and J. Tracaman. 2014. Engorde de ovejas merino de refugio a galpón y aire libre con el agregado de NaCl a la dieta (In Spanish). 2nd Joint Meeting ASAS-AAPA. Buenos Aires, AR. 382.
- Cottle, D. J. 2010. *International Sheep and Wool Handbook*. Nottingham University Press, Nottingham, UK.
- Davis, I. F., F. D. Brien, J. K. Findlay, and I. A. Cumming. 1981. Interactions between dietary protein, ovulation rate and follicle stimulating hormone level in the ewe. *Anim. Reprod. Sci.* 4:19–28. doi:10.1016/0378-4320(81)90016-6
- de Waal, H. O., M. A. Baard, and E. A. N. Engels. 1989. Effects of sodium chloride on sheep. 2. Voluntary feed intake and changes in certain rumen parameters of young Merino wethers grazing native pasture. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 19:34–42.
- DeFronzo, R. A., C. R. Cooke, R. Andres, G. R. Faloona, and P. J. Davis. 1975. The effect of insulin on renal handling of sodium, potassium, calcium, and phosphate in man. *J. Clin. Invest.* 55:845–55. doi:10.1172/JCI107996

- Digby, S. N., D. G. Masters, D. Blache, M. A. Blackberry, P. I. Hynd, and D. K. Revell. 2008. Reproductive capacity of merino ewes fed a high-salt diet. *Animal*. 2:1353–1360. doi:10.1017/S1751731108002449
- Downing, J. A., and R. J. Scaramuzzi. 1991. Nutrient effects on ovulation rate, ovarian function and the secretion of gonadotrophic and metabolic hormones in sheep. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 43:209–227.
- Downing, J. A., J. Joss, and R. J. Scaramuzzi. 1995. Ovulation rate and the concentrations of gonadotrophins and metabolic hormones in ewes infused with glucose during the late luteal phase of the oestrous cycle. *J. Endocrinol.* 146:403–410. doi:10.1677/joe.0.1460403
- Felisberto, N. R. O., M. T. Rodrigues, M. A. D. Bomfim, R. S. Matos, A. G. P. C. Cordeiro, and M. M. C. Silva. 2011. Effects of different sources of protein on digestive characteristics, microbial efficiency, and nutrient flow in dairy goats. *Rev. Bras. Zootecn.* 40:2228–2234. doi:10.1590/S1516-35982011001000024
- Garrido, O., and E. Mann. 1981. Composición química, digestibilidad y valor energético de una pradera permanente a través del año (In Spanish). Graduation Thesis. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Valdivia, Chile.
- Gherardi, P. B., and D. R. Lindsay. 1982. Response of ewes to lupin supplementation at different times of the breeding season. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.* 22:264–267. doi:10.1071/EA9820264
- Godwin, I. R., and V. J. Williams. 1986. Effects of intraruminal sodium chloride infusion on rumen and renal nitrogen and electrolyte dynamics in sheep. *Br. J. Nutr.* 56:379–394. doi:10.1079/BJN19860119

- González, F. H. D., J. O. J. Barcellos, H. Ospina, H., and L. A. O. Ribeiro. 2000. Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais (In Portuguese). Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, BR.
- González, F. H. D. 2002. Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluidos corporais (In Portuguese). In: Proc. 29th Congr. Bras. de Vet., Gramado, Brazil. 5-17.
- Guyton, A. C., and J. E. Hall. 2006. Textbook of Medical Physiology. 11th ed. Elsevier Saunders, Philadelphia, PA, USA.
- Harris, L. E. 1970. Nutrition research techniques for domestic and wild animals. Vol. 1, An International Record System and Procedures for Analyzing Samples. Logan State University, Logan, Utah, USA.
- Harvey, R. W., W. J. Croom, K. R. Pond, B. W. Hogarth, and E. S. Leonard. 1986. High levels of sodium chloride in supplements for growing cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 66:423–429.
- Hemsley J. A., J. P. Hogan, and R. H. Weston. 1975. Effect of high intakes of sodium chloride on the utilisation of a protein concentrate by sheep. II. Digestion and absorption of organic matter and electrolytes. *Aust. J. Agr. Res.* 26:715-727. doi:10.1071/AR9750715
- Islam, A. K. M. S., G. L. Kerven, and C. J. Asher. 1983. Chloride determination in plant tissue using a solid state chloride ion specific electrode. *Commun. in Soil Sci. Plant Anal.* 14(7):645–653. doi:10.1080/00103628309367395
- Jackson, P., and P. Cockcroft. 2002. Clinical examination of farms animals. Blackwell Science Ltd, Malden, MA, USA.

- Jahani-Moghadam, M., H. Amanlou, and A. Nikkhah. 2009. Metabolic and productive response to ruminal protein degradability in early lactation cows fed untreated or xylose-treated soybean mealbased diets. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 93:777–786  
doi:10.1111/j.1439-0396.2008.00867.x
- Kaneko J. J., J. W. Harvey, and M. L. Bruss. 2008. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 6th ed. Burlington. Academic Press, Burlington, MA, USA.
- Kerslake, J. L., P. R. Kenyon, S. T. Morris, K. J. Stafford, and P. C. H. Morel. 2008. Effect of concentrate supplement and sward height on twin-bearing ewe body condition and the performance of their offspring. *Aust. J. Exp. Agr.* 48:988–994.  
doi:10.1071/EA08041
- Kilpi, A. J. 2015. Serum concentrations of globulins, albumin and serum amyloid a of neonatal lambs and associations with weight gain during summer rearing period. Graduation Thesis. Estonian Univ. of Life Sciences, Tartu, EE.
- Lassoued, N., M. Rekik, M. Mahouachi, and M. Ben Hamouda. 2004. The effect of nutrition prior to and during mating on ovulation rate, reproductive wastage, and lambing rate in three sheep breeds. *Small Rumin. Res.* 52:117–125.  
doi:10.1016/S0921-4488(03)00250-5
- Meintjes, R. A. and H. Engelbrecht. 1993. Changes in kidney function and faecal excretion of water and electrolytes with sodium chloride loading in sheep. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 64:13–19.
- Meyer, J. H., and W. C. Weir. 1954. The tolerance of sheep to high intakes of sodium chloride. *J. Anim. Sci.* 13:443–449.

- Moseley, J. G. 1980. Effects of variation in herbage sodium levels and salt supplementation on the nutritive value of perennial ryegrass for sheep. *Grass Forage Sci.* 35:105–113. doi:10.1111/j.1365-2494.1980.tb01499.x
- Nelson, A. B., R. W. Maovicar, J. R. W. Archer, and J. C. Meiske. 1955. Effect of high salt intake on the digestibility of ration constituents and on nitrogen, sodium and chloride retention by steers and wethers. *J. Anim. Sci.* 14:825–830.
- Noro, M., R. Bertinat, A. Yañez, J. C. Slebe, and F. Wittwer. 2012. Non protein nitrogen supplementation increases gluconeogenic capacity in sheep. *Livest. Sci.* 148:243–248. doi:10.1016/j.livsci.2012.06.013
- NRC. 2007. Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids and new world camelids. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Pearce, K. L., D. W. Pethick, and D. G. Masters. 2008. The effect of ingesting a saltbush and barley ration on the carcass and eating quality of sheep meat. *Animal.* 2:479–490. doi:10.1017/S1751731107001449
- Potter, B. J. 1961. The renal response of sheep to prolonged ingestion of sodium chloride. *Aust. J. Agric. Res.* 12:440–445. doi:10.1071/AR9610440
- Potter, B. J. 1963. The effect of saline water on kidney tubular function and electrolyte excretion in sheep. *Aust. J. Agr. Res.* 14:518–528. doi:10.1071/AR9630518
- Rovira, P. J., and J. I. Velazco. 2012. En las puertas de un nuevo período invernal de suplementación. Autoconsumo de raciones con alto contenido de sal (In Spanish). *Rev. INIA Uruguay (Montevideo, UY)* 28:3–7.
- Russell, A. J. F., J. M. Doney, and R. G. Gunn. 1969. Subjective assessment of body fat in live sheep. *J. Agric. Sci. Camb.* 72:451–454. doi:10.1017/S0021859600024874

- Russell, R. W., and S. A. Gahr. 2000. Glucose availability and associated metabolism. In: J. P. F. D'Mello, editor, *Farm animal metabolism and nutrition*. CABI Publishing, Wallingford, UK. p. 121–147.
- Sadzawka, R. A., M. A. Carrasco, R. F. Demanet, H. P. Flores, R. Z. Grez, M. L. G. Mora, and A. Neaman. 2007. *Métodos de análisis de tejidos vegetales (In Spanish)*. 2th ed. Instituto de investigaciones Agropecuarias, INIA, Santiago, CL.
- Scaramuzzi, R. J., and B. K. Campbell. 1990. Physiological regulation of ovulation rate in the ewe: A new look at an old problem. In: C. M. Oldham, G. B. Martin and I. W. Purvis, editors, *Reproductive Physiology of Merino Sheep-Concepts and Consequences*. School of Agriculture (Animal Science), The University of Western, AU. p. 71–84.
- Scaramuzzi, R. J., B. K. Campbell, J. A. Downing, N. R. Kendall, M. Khalid, M. Muñoz-Gutiérrez, and A. Somchit. 2006. A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. *Reprod. Nutr. Dev.* 46:339–354. doi:10.1051/RND:2006016
- Scaramuzzi R. J., D. T. Baird, B. K. Campbell, M. A. Driancourt, J. Dupont, J. E. Fortune et al. 2011. Regulation of folliculogenesis and the determination of ovulation rate in ruminants. *Reprod. Fert. Develop.* 23:444–67. doi:10.1071/RD09161
- Shaker, Y. M. 2014. Live body weight changes and physiological performance of Barki sheep fed salt tolerant fodder crops under the arid conditions of southern Sinai, Egypt. *J. Am. Sci.* 10:78–88. doi: 10.7537/marsjas1002s14.11

- Shanas, U., and A. Haim. 2004. Diet salinity and vasopressin as reproduction modulators in the desert-dwelling golden spiny mouse (*acomys russatus*). *Physiol. Behav.* 81:645–650.
- Smith, D. L., B. M. Stinefelt, K. P. Blemings, and M. E. Wilson. 2006. Diet-induced alterations in progesterone clearance appear to be mediated by insulin signaling in hepatocytes. *J. Anim. Sci.* 84:1102–1109. doi:10.2527/2006.8451102x
- Somchit, A. 2011. Influence of nutritional management on folliculogenesis in ewes. *Thai. J. Vet. Med.* 41:25–29.
- Stewart, R., and C. M. Oldham. 1986. Feeding lupins to ewes for four days during the luteal phase can increase ovulation rate. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.* 16:367–370.
- Sweeney, G., and A. Klip. 1998. Regulation of the Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase by insulin: why and how? *Mol. Cell. Biochem.* 182:121–133. doi:10.1023/A:1006805510749
- Ternouth, J. H., and A. W. Beattie. 1971. Studies of the food intake of sheep at a single meal. *Brit. J. Nutr.* 25:153–164. doi:10.1079/BJN19710073
- Villa, M., O. Buratovich, and D. Ceballos. 2007. Uso de sal común (NaCl) como limitador del consumo de suplemento invernal en corderas (In Spanish). *Rev. Arg. Prod. Anim (Buenos Aires, AR)* 27:76-78.
- Viñoles, C., M. Forsberg, G. B. Martin, C. Cajarville, J. Repetto, and A. Meikle. 2005. Short-term nutritional supplementation of ewes in low body condition affects follicle development due to an increase in glucose and metabolic hormones. *Reproduction.* 129:299-309. doi:10.1530/rep.1.00536
- WHO. 2003. *Manual of Basic Techniques for a Health Laboratory.* 2th ed. World Health Organization, Geneva, CH.

**Tabela 1.** Ingredientes e composição química (em % de MS ou como indicado) das dietas experimentais<sup>1</sup>

Item	Concentrado			Volumoso	
	S17	S22	C17 e C22	Coirón	Alfafa
Ingredientes,					
Aveia, resíduo do beneficiamento	37,4	33,0	44,0	-	-
Tremoço, grão	20,7	18,2	24,3	-	-
Milho, grão	9,5	8,4	11,2	-	-
Feijão, partido	7,1	6,3	8,4	-	-
Aveia, grão	5,0	4,4	5,9	-	-
Cevada, grão	1,6	1,4	1,9	-	-
Cevada, radícula	1,5	1,4	1,8	-	-
Mix mineral	0,85	0,75	1,0	-	-
Ureia	1,3	1,11	1,5	-	-
Adição de NaCl	17	22	0	-	-
Composição química <sup>2</sup>					
Digestibilidade <sup>3</sup>	76,1	77,6	70,1	38,5	74,9
EM, kcal/kg MS	2060	1950	2440	1400	2380
PB	17,1	15,8	19,6	4,84	13,1
Cinzas	21,8	26,7	4,25	10,5	11,3

<sup>1</sup>Cada dieta consistia de coirón (*Festuca gracillima* Hook. f.), alfafa e concentrado correspondente ao tratamento.

<sup>2</sup>Resultados emitidos pelo Laboratório de Nutrição e Meio Ambiente, INIA Remehue, Chile.

<sup>3</sup>Digestibilidade In Vitro.



**Tabela 2.** Consumo médio diário<sup>1</sup> (media  $\pm$  EPM) de concentrado (CON), de volumoso (VOL)<sup>2</sup>, de água, e da dieta total, taxa ovulatória, PV e ECC de ovelhas com e sem adição de NaCl ao concentrado na dieta durante 14 dias

Item	Tratamentos <sup>3</sup>				Significância <sup>6</sup>		
	C17	S17	C22	S22	P <sup>#</sup>	P <sup>†</sup>	P <sup>‡</sup>
Consumo							
MO <sub>CON</sub>	36,3 $\pm$ 1,13	37,5 $\pm$ 1,13	25,7 $\pm$ 1,39	24,3 $\pm$ 1,42	0,4769	0,5088	0,0042
MO <sub>VOL</sub>	35,2 $\pm$ 1,99	36,6 $\pm$ 2,01	38,9 $\pm$ 2,04	40,2 $\pm$ 1,99	0,6308	0,6638	0,2233
MO <sub>TOTAL</sub>	71,5 $\pm$ 0,99	74,2 $\pm$ 2,38	64,6 $\pm$ 2,44	64,6 $\pm$ 2,72	0,6558	0,8649	0,0276
PB <sub>TOTAL</sub>	10,4 $\pm$ 0,16	10,8 $\pm$ 0,29	8,40 $\pm$ 0,19	8,55 $\pm$ 0,41	0,2667	0,8706	0,0002
EM <sub>TOTAL</sub> <sup>4</sup>	161 $\pm$ 2,18	166 $\pm$ 4,13	138 $\pm$ 3,86	139 $\pm$ 5,56	0,3938	0,8818	0,0019
Água <sub>TOTAL</sub>	173 $\pm$ 11,9	450 $\pm$ 12,4	141 $\pm$ 21,8	413 $\pm$ 22,9	0,0001	0,0001	0,0806
PV Inicial, kg	60,1 $\pm$ 1,51	60,1 $\pm$ 1,49	60,6 $\pm$ 1,44	60,7 $\pm$ 1,51	0,9233	0,6455	0,7633
PV final, kg	59,9 $\pm$ 1,63	59,7 $\pm$ 1,56	59,6 $\pm$ 1,28	60,6 $\pm$ 1,57	0,9815	0,9430	0,7041
ECC Inicial	2,48 $\pm$ 0,14	2,68 $\pm$ 0,07	2,65 $\pm$ 0,14	2,48 $\pm$ 0,09	0,2030	0,3035	0,1254
ECC Final	2,45 $\pm$ 0,13	2,63 $\pm$ 0,07	2,63 $\pm$ 0,15	2,45 $\pm$ 0,09	0,2418	0,3196	0,1434
Taxa Ovulatória <sup>5</sup>	1,30 $\pm$ 0,15	1,60 $\pm$ 0,16	1,11 $\pm$ 0,11	1,20 $\pm$ 0,13	0,1849	0,6003	0,0792

<sup>1</sup>g/kg de peso metabólico ou como indicado.

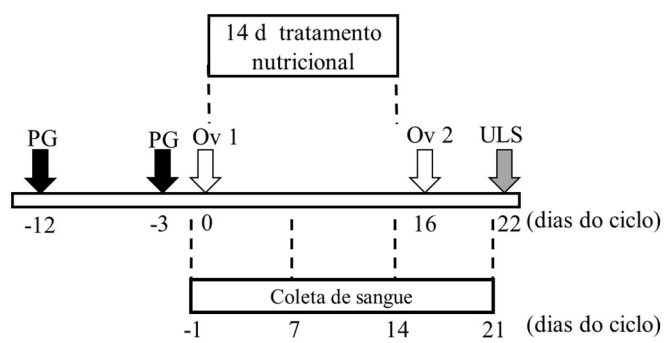
<sup>2</sup> Coirón (*Festuca gracillima* Hook. f.) + alfafa.

<sup>3</sup>Tratamentos: S17 ( $n = 10$ ), concentrado ad libitum com 17% de NaCl; C17 ( $n = 10$ ), concentrado sem adição de NaCl, par nutricional de animais consumindo concentrado com 17% de NaCl; S22 ( $n = 10$ ), concentrado ad libitum com 22% de NaCl; C22 ( $n = 10$ ), concentrado sem adição de NaCl, par nutricional de animais consumindo concentrado com 22% de NaCl.

<sup>4</sup>kcal/kg de peso metabólico.

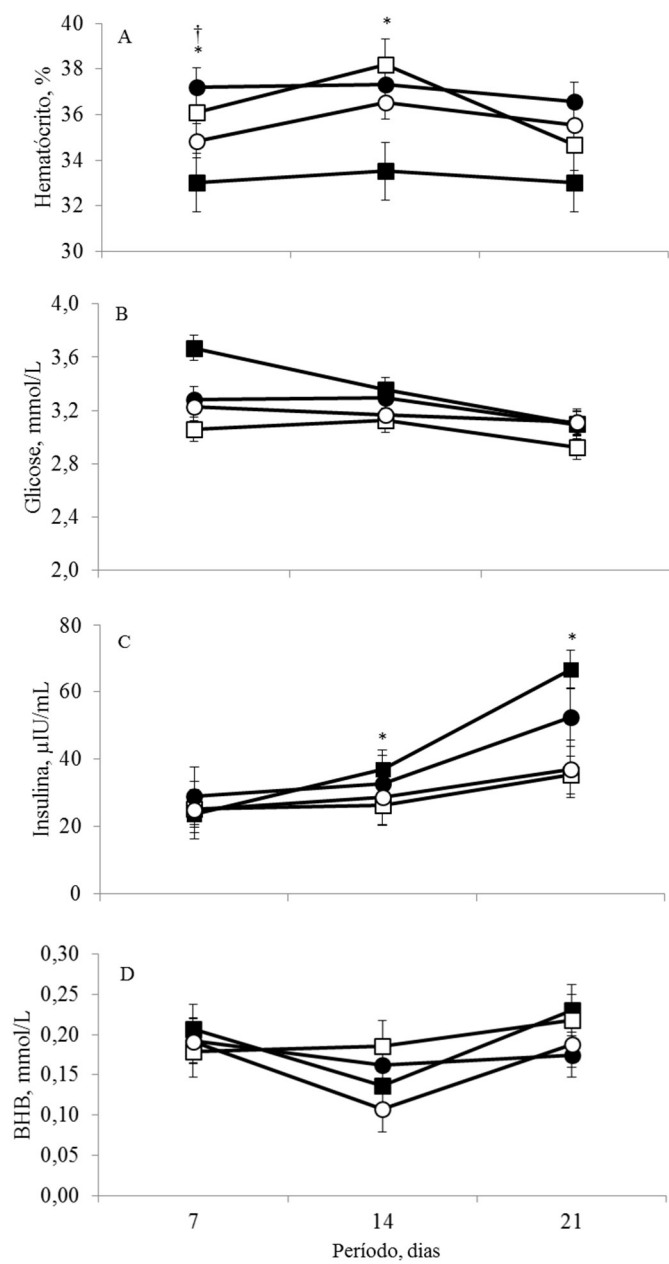
<sup>5</sup>Avaliada pelo número de corpos lúteos presentes em ambos ovários 8 d após a ovulação.

<sup>6</sup>P<sup>#</sup> entre S17 e C17; P<sup>†</sup> entre S22 e C22; P<sup>‡</sup> entre S17 e S22.

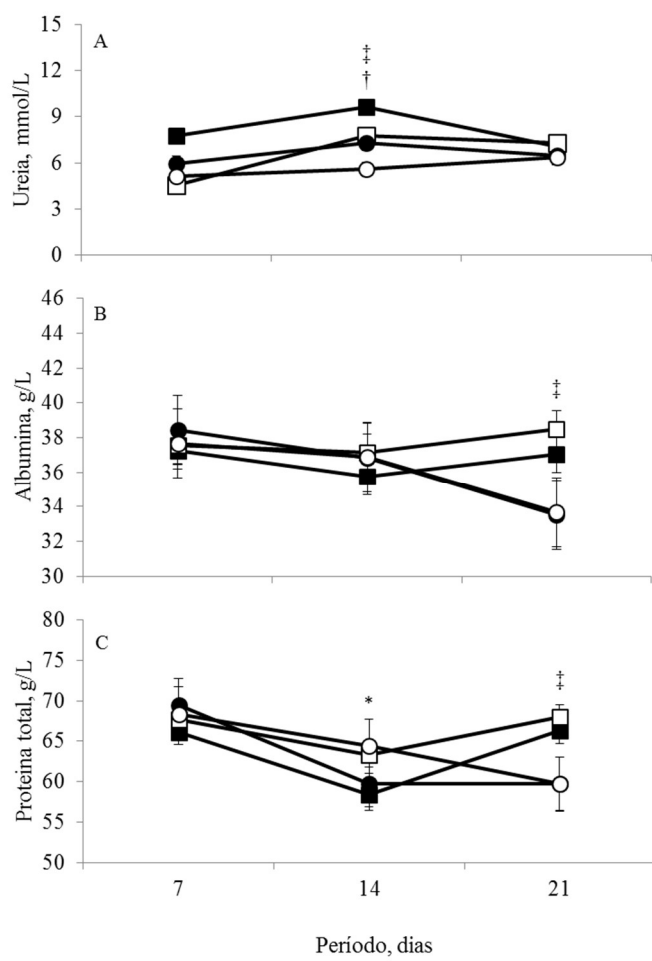


**Figura 1**

**Figura 1.** Representação esquemática do protocolo experimental (adaptado de Viñoles et al., 2005). PG, injeção de análogos a prostaglandina; Ov, ovulação; ULS, ultrassonografia.

**Figura 2**

**Figura 2.** Concentração plasmática (media  $\pm$  EPM) de hematócrito (A), glicose (B), insulina (C) e  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB; D) em três distintos períodos de ovelhas consumindo concentrado ad libitum acrescido de 17% de NaCl (quadrados abertos,  $n = 10$ ); concentrado sem adição de NaCl, par nutricional de animais consumindo concentrado com 17% de NaCl (quadrados fechados,  $n = 10$ ); consumindo concentrado ad libitum acrescido de 22% de NaCl (círculos abertos,  $n = 10$ ) e concentrado sem adição de NaCl, par nutricional de animais consumindo concentrado com 22% de NaCl (círculos fechados,  $n = 10$ ) do dia 0 ao dia 14 do ciclo estral (\*  $P < 0,10$  entre S17 e C17; †  $P < 0,10$  entre S22 e C22).

**Figura 3**

**Figura 3.** Concentração plasmática (média  $\pm$  EPM) de ureia (A), albumina (B) e proteína total (C) em três distintos períodos de ovelhas consumindo concentrado ad libitum acrescido de 17% de NaCl (quadrados abertos,  $n = 10$ ); concentrado sem adição de NaCl, par nutricional de animais consumindo concentrado com 17% de NaCl (quadrados fechados,  $n = 10$ ); consumindo concentrado ad libitum acrescido de 22% de NaCl (círculos abertos,  $n = 10$ ) e concentrado sem adição de NaCl, par nutricional de animais consumindo concentrado com 22% de NaCl (círculos fechados,  $n = 10$ ) do dia 0 ao dia 14 do ciclo estral (\*  $P < 0,10$  entre S17 e C17; †  $P < 0,10$  entre S22 e C22; ‡  $P < 0,10$  entre S17 e S22).

### **CAPÍTULO III**

#### **Utilização de elevados níveis de NaCl no suplemento concentrado para dieta pré e pós-parto de ovelhas<sup>1</sup>**

---

<sup>1</sup>Elaborado de acordo com as normas do Journal of Animal Science (Apêndice 1)



Adição de NaCl na dieta de ovelhas gestantes

**Utilização de elevados níveis de NaCl no suplemento concentrado para dieta pré e pós-parto de ovelhas**

**L. A. Sphor,\* R. J. Lira,† F. A. Sales,† J. O. J. Barcelos,\* e C. H. E. C. Poli\*<sup>1</sup>**

\*Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 91450-000, Brasil;

†Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional Kampenaike, Punta Arenas, 6212707, Chile;

<sup>1</sup>autor para correspondência: [cesar.poli@ufrgs.br](mailto:cesar.poli@ufrgs.br)

**RESUMO:** As necessidades nutricionais ao final da gestação em ovelhas portando múltiplos fetos raramente são supridas em sua totalidade apenas com a oferta de pastagens. Assim, a disponibilização de alimento concentrado é uma alternativa quando buscamos elevar a produtividade do rebanho. Porém, em sistemas de pecuária extensiva, como o praticado no sul do Brasil, Uruguai, Chile, oeste dos EUA e África do Sul a entrega diária de alimentação complementar nem sempre é viável devido à dificuldades operacionais de tempo, clima, relevo e mão de obra para o transporte do alimento. Entretanto, uma possível alternativa é a oferta de grandes quantidades de suplemento em que a adição de um elemento, neste caso o NaCl (sal), agregado ao concentrado limitaria o consumo voluntário, eliminando a necessidade de entrega diária do suplemento, assim,

este estudo buscou avaliar o efeito de elevados níveis de sal no alimento concentrado em dietas pré e pós-parto de ovelhas gestando gêmeos e suas respostas na produção e composição de colostro e leite, na variação do perfil plasmático e no crescimento da prole. Vinte e quatro fêmeas Corriedale adultas foram alojadas em baias individuais e divididas em quatro tratamentos: S13: oferta ad libitum de ração concentrada com 13% de sal; C13: ração concentrada sem adição de sal calculada pela média de consumo diário de concentrado dos animais S13; S17: oferta ad libitum de ração concentrada com 17% de sal, e C17: ração concentrada sem adição de sal calculada pela média de consumo diário de concentrado dos animais S17. Os tratamentos foram estabelecidos em pares: S13 vs C13 e S17 vs C17. Água fresca e volumoso foram ofertados ad libitum. Os tratamentos nutricionais foram aplicados do dia 123 de gestação ao dia 21 de lactação. O peso ao nascimento de filhos de S13 e C13 foi similar ( $P = 0,1002$ ) assim como o da prole de S17 e C17 ( $P = 0,8449$ ). Produção de colostro de S13 vs C13 ( $P = 0,7798$ ) e de S17 vs C17 ( $P = 0,6423$ ), assim como a produção de leite de S13 vs C13 ( $P = 0,8925$ ) e S17 vs C17 ( $P = 0,7698$ ) não se diferenciaram. Níveis plasmáticos de insulina, hematócrito e proteína total não foram influenciados pela dieta e todos os animais se mantiveram dentro de limites fisiológicos considerados normais para a espécie ovina. A utilização de 13 ou 17% de sal agregado ao alimento concentrado não causou qualquer comprometimento na capacidade reprodutiva das ovelhas, e tampouco, no crescimento de sua prole, demonstrando viabilidade da utilização de sal como limitador de consumo na dieta pré e pós-parto de ovelhas.

**Palavras chave:** colostro, crescimento de cordeiro, leite, perfil plasmático, reprodução, sal

## INTRODUÇÃO

Na busca da expressão máxima do potencial reprodutivo de ovelhas gestando gêmeos a suplementação alimentar é muitas vezes imprescindível, visto que, fêmeas em melhor estado nutricional no momento do parto possuem maior vínculo com seus filhotes (Dwyer, 2003), superior produção de colostro (Banchero et al., 2015) e leite (Mellor et al., 1987) e seus filhos nascem mais pesados e com maior vigor (Moore et al., 1986), elevando as probabilidades de sobrevivência e favorecendo o crescimento da progênie. Contudo, em sistemas de produção extensiva a entrega diária de alimentação complementar nem sempre é viável devido à dificuldades operacionais. Nestas situações, a estratégia de adição de NaCl ao alimento concentrado buscando limitar o consumo voluntário, pode ser uma alternativa, propiciando a eventual entrega de grandes volumes de alimento que seriam consumidos em quantidades adequadas e de forma limitada (Rovira e Velazco, 2012). Contudo, as avaliações da ingestão de NaCl durante a gestação e a lactação estão, majoritariamente, relacionadas à descrição do efeito da ingestão de plantas halófitas cultivadas em solos salinos e seus respectivos percentuais de sal em ovelhas gestando cordeiros únicos (Zarkawi et al., 2005; Digby et al., 2008; Chadwick 2009), demonstrando, na quase totalidade, inexistência de efeitos negativos da ingestão de sal na ovelha gestante e crescimento de sua prole. Em cabras a inclusão de NaCl na água reduziu em 36% a produção total de leite (Abdala, 2013). Porém em ovinos não existem registros da avaliação da produção de leite ou colostro por ovelhas consumindo níveis elevados de sal. Deste modo, buscamos avaliar o efeito da inclusão de dois níveis de NaCl na dieta pré e pós-parto de ovelhas gestando gêmeos e seus reflexos no consumo

voluntário de alimentos, alterações no perfil plasmático assim como, na produção e composição de colostro e leite e o crescimento de seus respectivos cordeiros.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os procedimentos com animais realizados no âmbito do presente estudo evitaram desconforto desnecessário aos animais e foram aprovados pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

A denominação sal é utilizada neste estudo como sinônimo de cloreto de sódio (NaCl).

### *Animais e tratamentos*

O experimento foi realizado na estação experimental Kampenaike, pertencente ao Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA - Chile (52°42'14.1"S 70°56'03.7"W). Um rebanho comercial com 286 ovelhas Corriedale de idade  $30,6 \pm 0,23$  meses (média  $\pm$  erro padrão), mantido sob as mesmas condições sanitárias e nutricionais, teve seu ciclo estral sincronizado com a utilização de dispositivo interno de liberação controlada de progesterona (EAZI-BREED™ CIDR®, Pfizer, NZ; 0,33 g progesterona). Dez dias após a introdução os dispositivos foram retirados e 250 UI de eCG (FOLLIGON®5000, Intervet, NL; 5.000 UI PMSG) i.m. foi ministrado. Posteriormente as fêmeas foram expostas a 32 carneiros da raça Suffolk por 4 dias. Ultrassonografia transabdominal foi realizada para confirmação da carga fetal aos 52 e repedida aos 71 dias após o início do acasalamento. Aos  $122 \pm 0,32$  dias de gestação, 24 ovelhas previamente diagnosticadas

como gestando gêmeos foram retiradas do rebanho e esquiladas. Estes animais de PV  $52,2 \pm 0,89$  kg e ECC  $2,08 \pm 0,04$  (escala de 0-5; Russell et al., 1969), foram divididos em quatro grupos com seis repetições bloqueados por PV e ECC e imediatamente alojadas em baias individuais cobertas, mantidas sob fotoperíodo natural, e deu-se início ao fornecimento da alimentação conforme os tratamentos. Os tratamentos nutricionais foram caracterizados por diferentes níveis de sal agregados a uma ração comercial concentrada (Tabela 1): tratamento **S13**: ração concentrada acrescida de 13% de sal; **C13**: ração concentrada sem adição de sal calculada pela média de consumo diário de animais S13; **S17**: ração concentrada com adição de 17% de sal, e **C17**: ração concentrada sem adição de sal calculada pela média de consumo diário de animais S17. Os tratamentos foram estabelecidos em pares com base no PV das ovelhas: S13 vs C13 e S17 vs C17. Ovelhas S13 e S17 receberam concentrado ad libitum com adição de sal, enquanto nos tratamentos C13 e C17 a oferta foi restringida para coincidir com o consumo de alimento concentrado de seus respectivos pares nutricionais no dia anterior, porém, subtraindo-se as respectivas proporções de sal anteriormente adicionada ao alimento (Blache et al., 2007). Juntamente com o concentrado, todas as ovelhas recebiam diariamente: 600 g de feno de alfafa, coirón (*Festuca gracillima* Hook. f.) e água fresca ad libitum. Os alimentos foram ofertados diariamente às 0900 h. Água, suplemento e volumoso foram pesados previamente ao fornecimento e suas sobras determinadas diariamente. Ofertas caracterizadas como ad libitum foram computadas diariamente para apresentarem sobras não inferiores a 15% do fornecimento diário. Os tratamentos nutricionais foram aplicados do dia 123 de gestação ao dia 21 de lactação, quando então os animais foram reunidos em um único grupo e passaram a conviver sob mesmas condições até a data de desmame.

### ***Peso vivo e escore de condição corporal das ovelhas***

O PV e o ECC das ovelhas foram registrados no princípio do experimento, repetindo-se a cada sete dias até a terceira semana de lactação, sem jejum prévio (Meyer e Weir, 1954), sempre às 0800 h previamente a oferta diária de alimentos.

### ***Avaliação dos alimentos***

O consumo individual foi avaliado com base na MS a 105°C através da diferença entre a quantidade de alimento ofertado diariamente e sua sobra. Amostras dos alimentos foram coletadas semanalmente para descrição da sua composição bromatológica (Tabela 1). As análises dos teores de PB (volumetria [Harris, 1970]), EM (gravimetria [Garrido e Mann, 1981]), cinzas (gravimetria [Bateman, 1970]), Na (espectrofotometria de emissão atômica [Sadzawka et al., 2007]) e Cl (eletrodo íon-seletivo [Islam et al., 1983]) foram realizadas pelo Laboratório de Nutrição e Meio Ambiente, INIA Remehue, CL.

### ***Produção e composição de colostro e leite***

Vinte e quatro dias após o início da suplementação começaram os partos, e este foi considerado o dia zero (d 0). Os animais foram assistidos 24 h/dia e imediatamente após o nascimento do segundo cordeiro, foi ministrada às ovelhas uma injeção i.m. de 10 UI de oxitocina (Oxitocina, 10 UI/mL, Lasca de Vicente Scavone, PY) e uma teta foi ordenhada completamente de forma manual, a outra teta foi deixada a disposição dos cordeiros (Banchemo et al., 2009). A produção total de colostro de cada animal foi

quantificada através de pesagem do montante obtido na ordenha multiplicado por dois. Após a pesagem o material foi homogeneizado e uma amostra de 40 g retirada e conservada a 4°C para posterior envio ao laboratório para identificação da composição química. O restante do colostro foi ofertado aos cordeiros.

As coletas de leite se iniciaram sete dias após os partos e as ordenhas foram realizadas de forma manual com intervalos de sete dias durante três semanas. A produção de leite foi estimada utilizando-se a técnica da oxitocina (Doney et al. 1979), onde todas as ovelhas receberam uma dose de 10 UI de oxitocina i.m. (Oxitocina) e logo foram ordenhadas completamente. Depois de quatro horas separadas de seus cordeiros, foram submetidas outra vez a aplicação de oxitocina e ordenhadas até o completo esgotamento da cisterna mamária. A produção diária de leite foi obtida através do peso total de leite removido nas quatro horas extrapolado para as 24 h de um dia. A estimativa da produção semanal de leite foi calculada através da multiplicação da produção diária de leite por sete. O total de leite produzido no período foi estimado pela soma das produções nos três períodos de sete dias. Após a coleta o leite foi pesado, homogeneizado e uma amostra de 40 g foi conservada com Bronopol® (0,05% de 2-Bromo-2-Nitropropano-1,3-diol) para posterior caracterização química. Amostras de leite e colostro foram analisadas para porcentagem de gordura, lactose, proteína e sólidos totais no Laboratório de Qualidade do Leite INIA Carillanca, CL, com o auxílio de um Milkoscan 4000® (FOSS Electric A/S, DK).

### ***Crescimento dos cordeiros***

Todos os cordeiros foram pesados e identificados logo após o parto. As pesagens se repetiram a cada sete dias até a terceira semana pós-parto (**POS**), quando terminou o controle da dieta das ovelhas e todos os animais foram encaminhados para campo onde permaneceram de forma conjunta sob mesmo manejo nutricional e sanitário até o momento do desmame (112 dias POS), neste período as aferições de peso dos cordeiros foram realizadas com intervalos de 14 dias.

### ***Coleta sanguínea e análise plasmática***

Nos dias -25 -1, 7, 14 e 21 do período experimental, anteriormente à oferta diária dos alimentos, foram obtidos, através da venipunção da jugular, amostras sanguíneas de todos os animais. Para a determinação do hematócrito (**HTC**), insulina,  $\beta$ -hidroxibutirato (**BHB**), proteína total, albumina e ureia, 8 mL de sangue foram coletados em tubos a vácuo contendo 7,2 mg de EDTA. A determinação do HTC foi realizada nas amostras utilizando tubos capilares de 75 mm em centrífuga de microhematócrito por 10 min a  $10000 \times g$  a  $23^{\circ}\text{C}$ . Os capilares foram lidos com cartão padrão para obter o nível de HTC (WHO, 2003). Após a retirada da fração empregada na determinação do HTC, os tubos foram centrifugados por 15 min a  $1500 \times g$  e  $23^{\circ}\text{C}$ , para a obtenção do plasma. Este foi aliquotado em tubo tipo eppendorf e criopreservados, a  $-20^{\circ}\text{C}$ , até que fossem realizadas as demais análises bioquímicas. As concentrações séricas de insulina foram determinadas utilizando o kit Insulin ELISA (Diagnostic Systems Laboratories - Webster, Texas, US) com CV intra e inter-ensaio de 6,3 e 8,8%, respectivamente (Smith et al., 2006) As



análises de níveis de BHB foram determinadas pelo método cinético enzimático através de Kit RANBUT (Randox Laboratories Ltd., Crumlin, County Antrim, UK [Al-Qudah, 2011]), com CV intra e inter-ensaio de 3,8 e 5,3%, respectivamente. As mensurações da proteína total, albumina e ureia plasmática foram realizadas utilizando um autoanalisador (Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH - Wiesbaden, DE). A concentração total de proteína foi determinada por Total Protein Liquicolor com prova colorimétrica fotométrica por absorvância simples, utilizando o método de biuret (Kilpi, 2015). Teores de albumina plasmática foram determinados por Albumin Liquicolor com teste fotométrico colorimétrico por absorvância direta, utilizando o método BCG – verde de bromocresol (Kilpi, 2015). A ureia foi quantificada através do Urea liquiUV, por método cinético completamente enzimático em presença de glutamato desidrogenase (Noro et al., 2012). O CV intra e inter-ensaio da proteína total, albumina e ureia plasmática foram de 1,1 e 2,7%; 1,3 e 1,8% e, 4,1 e 3,9%, respectivamente. Para determinação da glicose plasmática, 4 mL de sangue foram coletados em tubos a vácuo contendo 3 mg de fluoreto de sódio e 6 mg de EDTA. As amostras foram centrifugadas por 15 min a  $1500 \times g$  e  $23^{\circ}\text{C}$ , para a obtenção do plasma, que foi aliqotado em copo de amostra Hitachi (aulinbas 2 mL). A determinação dos níveis séricos de glicose foi realizada utilizando o método enzimático por glicose hexoquinase (Roche Diagnostics International Ltd, CH [Kerslake et al., 2008]).

### ***Análise de dados***

Para analisar PV, ECC, consumo, variáveis hematológicas, produção e composição de leite e crescimento de cordeiros, foi utilizado a análise de variância com

medidas repetidas no tempo utilizando ProcMixed (SAS software versão 9.3; SAS Inst. Inc., Cary, NC, US). O modelo incluiu como efeitos fixos o tratamento e o dia, e sua interação. A estrutura de covariância foi modelada usando o efeito aleatório de ovelha e escolhida pelo critério AIC (Akaike, 1974). Valores hematológicos obtidos na coleta anterior ao início dos tratamentos (dia -25) foram utilizados como covariável para análise dos dados das coletas plasmáticas posteriores. Peso de cordeiro ao nascimento foi incluído como covariável da avaliação da taxa de crescimento dos cordeiros e o peso da ovelha ao parto para avaliar a produção de colostro e leite. Análise de variância (ProcMixed; SAS) foi utilizada para analisar o efeito do tratamento no peso ao nascimento, produção e composição de colostro e tempo de gestação. Médias foram obtidas pelo teste t (Student). Interações e diferenças foram consideradas como significativas quando o nível de significância foi inferior a 5% ( $P < 0,5$ ). Todos os resultados são apresentados com média e erro padrão da média (EPM).

## RESULTADOS

### *Consumo de alimentos e água*

O consumo voluntário de água, concentrado, volumoso e o total da dieta ingerida é demonstrado na Tabela 2. O consumo de MO do alimento concentrado no PRE e no POS foi similar entre os tratamentos pareados. A diferença de 4 pontos percentuais no teor de sal gerou uma redução no consumo médio diário de MO do alimento concentrado de 23% no PRE e de 35% no POS para animais S17 quando comparados a S13. Ovelhas

C13 consumiram 35 e 26% a menos de volumoso que seus homólogos no PRE e POS respectivamente, entretanto, animais S17 e C17 não se diferenciaram.

O consumo médio diário de sal proveniente do alimento concentrado não se distinguiu, e S13 e S17 consumiram  $5,83 \pm 0,59$  e  $6,38 \pm 0,62$  g/kg<sup>0,75</sup>, respectivamente ( $P = 0,5525$ ) no PRE e  $12,6 \pm 1,2$  e  $11,6 \pm 1,33$  g/kg<sup>0,75</sup>, respectivamente ( $P = 0,6103$ ) no POS.

### ***Peso vivo e escore de condição corporal das ovelhas***

Peso vivo e ECC foram similares entre animais com e sem ingestão de sal (Fig. 1). Ovelhas S13 e C13 chegaram ao parto com  $63,0 \pm 1,62$  e  $62,8 \pm 1,78$  kg ( $P = 0,9137$ ), similarmente, ovelhas S17 e seus homólogos pesaram  $61,6 \pm 1,77$  e  $61,5 \pm 1,57$  kg ( $P = 0,9714$ ), respectivamente. Igualmente, valores de ECC não foram afetados pela ingestão de sal, e permaneceram estáveis até o momento do parto, entretanto, no POS estes decresceram e a redução chegou a 20; 19; 32 e 26% para S13, C13, S17 e C17, respectivamente, entre o parto e a terceira semana de lactação.

### ***Duração da gestação, peso ao nascimento e crescimento de cordeiro***

A duração da gestação, assim como o peso dos cordeiros ao nascimento, não foram influenciados pelos tratamento nutricionais (Tabela 3). O ganho de peso dos cordeiros aos 7, 14 e 21 dias POS foi semelhante entre os tratamentos pareados, assim como, entre S13 e S17 (Fig. 2). Igualmente, a conversão alimentar para todos os cordeiros durante os primeiros 21 dias foi similar, e filhos de ovelhas S13 e C13 ganharam  $0,178 \pm$

0,02 e  $0,168 \pm 0,02$  kg para cada kg de leite produzido, respectivamente ( $P = 0,7254$ ), e a prole de S17 e C17 aumentaram  $0,199 \pm 0,03$  e  $0,208 \pm 0,02$  kg/kg de leite produzido, respectivamente ( $P = 0,7066$ ). De mesmo modo, cordeiros oriundos de S13 e S17 não se diferenciaram ( $P = 0,3870$ ).

A evolução de peso de todos os cordeiros até os 112 dias foi similar entre os tratamentos (Fig. 3). Filhos de ovelhas S13 e de C13 chegaram ao desmame com  $25,2 \pm 1,14$  e  $23,0 \pm 1,08$  respectivamente ( $P = 0,1646$ ), igualmente, cordeiros oriundos de ovelhas S17 e C17 foram similares, e chegaram ao final do experimento pesando  $23,0 \pm 1,34$  e  $21,0 \pm 1,16$ , respectivamente, ( $P = 0,2556$ ). Filhos de S13 e S17 tampouco se diferenciaram ( $P = 0,3425$ ).

Não foram registradas mortes de cordeiros vinculadas com a ingestão de sal de suas respectivas mães. Ovelhas S13 e C13 tiveram todos seus filhos vivos até o final do experimento, no entanto, um cordeiros de S17 e outro de C17 vieram a óbito menos de 72 h após o nascimento, porém, as causas não foram relacionadas aos tratamentos dietético oferecidos as ovelhas.

### ***Produção e composição de colostro e leite***

A produção total, assim como a composição química do colostro, não foram influenciadas pela presença de sal na dieta e animais S13 e S17 foram similares a seus homólogos (Tabela 3).

A produção de leite nas semanas 1, 2 e 3 após o parto foi semelhante entre animais consumindo sal e seus pares, causando desta maneira uma curva lactacional similar entre os tratamentos pareados (Fig. 2). Igualmente, a produção de leite acumulada das três

primeira semanas pós-parto de ovelhas consumindo 13% de sal e seu pares não se diferenciou ( $44,0 \pm 4,12$  e  $41,5 \pm 3,57$  kg, respectivamente;  $P = 0,8925$ ), assim como ovelhas S17 e C17 ( $34,5 \pm 4,09$  e  $32,9 \pm 3,17$  kg, respectivamente;  $P = 0,7698$ ). A produção total acumulada para o período de três semanas foi similar para S13 e S17 ( $P = 0,1689$ ).

A proporção média de sólidos totais do leite de S13 e C13 foi de  $18,5 \pm 0,59$  e  $20,4 \pm 0,63\%$ , respectivamente ( $P = 0,0516$ ), de mesmo modo, animais S17 e seus homólogos apresentaram  $18,8 \pm 0,50$  e  $19,3 \pm 0,56\%$ , respectivamente; ( $P = 0,4675$ ). Durante os três distintos períodos avaliados os valores de sólidos totais não se diferenciaram e a curva de níveis médios semanais se apresentou de forma similar para todos os tratamentos, porém, na terceira semana POS ovelhas S13 foram 3% inferiores a C13 ( $P = 0,0194$ ). A produção total de sólidos do leite durante as três semanas avaliadas para S13 ( $8,32 \pm 0,88$  kg) e seus pares ( $9,08 \pm 0,81$  kg) não se diferenciou ( $P = 0,5167$ ), do mesmo modo, animais S17 ( $6,49 \pm 0,81$  kg) e C17 ( $6,38 \pm 0,78$  kg) foram similares ( $P = 0,9296$ ). Tampouco houve diferença na produção total de sólidos do leite de S3 e S17 ( $P = 0,1236$ ).

Níveis semanais de lactose foram semelhantes para animais S13 e C13, assim como para S17 e C17 (Fig.4A). Igualmente, a quantidade acumulada de lactose produzida durante as três semanas não apresentou diferença entre S13 ( $2,48 \pm 0,2$  kg) e C13 ( $2,36 \pm 0,2$  kg;  $P = 0,7082$ ), e tampouco entre S17 ( $1,80 \pm 0,2$  kg) e C17 ( $1,74 \pm 0,2$  kg;  $P = 0,8590$ ). Entretanto, S13 foi 27% superior a S17 ( $P = 0,0475$ ).

A ingestão de sal não afetou a proporção de proteína do leite (Fig. 4B). A produção total de quilos de proteína oriunda do leite de S13 e C13 ( $2,11 \pm 0,19$  e  $2,13 \pm 0,21$  kg, respectivamente;  $P = 0,9563$ ), bem como de S17 e C17 ( $1,71 \pm 0,19$  e  $1,58 \pm 0,19$  kg,

respectivamente;  $P = 0,1307$ ) não se diferenciou. Do mesmo modo, ovelhas S13 e S17 foram semelhantes ( $P = 0,1442$ ).

A produção total de gordura do leite foi similar entre animais S13 e C13 ( $3,12 \pm 0,39$  e  $3,96 \pm 0,39$  kg, respectivamente;  $P = 0,1390$ ) e entre ovelhas S17 e C17 ( $2,51 \pm 0,38$  e  $2,60 \pm 0,39$  kg, respectivamente;  $P = 0,8670$ ), assim como, entre animais S13 e S17 ( $P = 0,2696$ ). Porém, observando o comportamento produtivo durante as três semanas temos que animais S13 foram inferiores a seus pares nutricionais na primeira ( $P = 0,0490$ ) e na última semana experimental ( $P = 0,0112$ ; Fig. 4C).

### ***Plasma sanguíneo***

A inclusão de sal agregado ao alimento concentrado na dieta de ovelhas gestantes e em lactação não influenciou os níveis de HTC, e valores foram crescentes durante o estudo (Fig. 5A). O incremento nos índices chegou a 8 pontos percentuais para animais S13 e C13, 9 para S17 e 7 pontos para C17 durante o transcorrer do estudo, estes mesmos tratamentos finalizaram a terceira semana pós parto com  $36,5 \pm 0,99$ ;  $36 \pm 1,1$ ;  $34 \pm 1,20$  e  $33 \pm 1,33\%$  respectivamente.

Níveis glicêmicos, que se portaram de forma semelhante entre os tratamentos consumindo sal e seus pares em praticamente todos os momentos avaliados, decresceram na segunda semana de lactação, porém voltaram a ascender e chegaram a terceira semana em aproximadamente 3 mmol/L para todos os tratamentos (Fig. 5B). Animais S17 e C17 foram similares em todos os momentos avaliados, igualmente, ovelhas S13 e C13 não apresentaram diferenças no decorrer do período, no entanto, na primeira semana POS houve tendência ( $P = 0,0590$ ) para superioridade de animais S13.

A insulinemia de todos os tratamentos apresentou redução na primeira semana após o parto e crescimento na semana subsequente, entretanto todas as variações foram similares e não houve diferenças entre os tratamentos pareados durante os quatro momentos avaliados (Fig. 5C).

A concentração de BHB no plasma de S13 e C13 apresentou interação entre tempo e tratamento ( $P = 0,0380$ ). Ovelhas que consumiram concentrado com adição de 13% de sal e seus pares registraram acréscimo de 42 e 90%, respectivamente, nos índices de BHB entre o PRE e a primeira semana de lactação, contudo, estes tratamentos chegaram a terceira semana POS com igualdade no nível destes corpos cetônicos ( $0,40 \pm 0,06$  mmol/L; Fig, 5D). Ovelhas S17 e C17 foram similares durante todos os momentos avaliados e aos 21 dias POS apresentaram valores de  $0,35 \pm 0,05$  e  $0,48 \pm 0,07$  mmol/L, respectivamente ( $P = 0,1260$ ).

Níveis de ureia plasmática de animais S17 e C17 apresentaram interação entre tempo e tratamento ( $P = 0,0120$ ). Ovelhas S17 diminuíram seus níveis de ureia em 10% na primeira semana POS, opostamente, seus pares aumentaram 19% neste mesmo período, estes dois tratamentos se assemelharam no período seguinte (Fig. 6A), porém finalizaram a terceira semana com níveis de  $4,64 \pm 0,72$  e  $9,74 \pm 0,61$  mmol/L, respectivamente. Ovelhas S13 elevaram seus níveis de ureia em 43% do PRE a terceira semana POS, de mesmo modo, animais C13 acresceram em 38% seus níveis neste período, entretanto, não houve qualquer diferenças entre estes tratamentos durante os quatro momentos avaliados.

A albumina plasmática, que foi similar entre animais S13 e C13 nos três primeiros períodos, apresentou diferença na terceira semana POS ( $P = 0,0245$ ) em que, animais S13

resultaram 8% superiores (Fig. 6B). Porém, ovelhas S17 foram inferiores a seus pares na primeira ( $P = 0,0101$ ) e segunda ( $P = 0,0083$ ) semana POS.

Não houve diferença nos níveis de proteína plasmática em qualquer dos momentos para ovelhas S13 e C13 (Fig. 6C). Animais S17 e seus pares que tiveram teores de proteínas plasmáticas similares no PRE ( $P = 0,9518$ ) e nas duas semanas logo após o parto ( $P = 0,1592$  e  $0,2422$ , respectivamente) apresentaram tendência a diferença na terceira semana POS ( $P = 0,0551$ ) decorrente de um constante e crescente aumento nos níveis de C17 (Fig. 6C).

## DISCUSSÃO

Altos níveis de NaCl agregado ao alimento concentrado para a suplementação a partir do dia 123 de gestação até os 21 dias pós-parto de ovelhas gestando gêmeos não compromete o crescimento da progênie do nascimento ao desmame. Filhos de animais consumindo concentrado acrescido de 13 ou 17% de sal apresentaram similar peso ao nascimento e sobrevivência ao parto e ao desmame que filhos de seus respectivos homólogos. Igualmente, a produção de colostro e leite, assim como o comportamento da curva de lactação tampouco se diferenciaram entre os tratamentos consumindo suplemento com sal e seus respectivos pares. Esta similitude pode estar relacionada a particular eficiência dos ovinos de adaptarem suas funções biológicas ao excesso de sal na dieta, uma vez que, a habilidade excretora dos rins destes animais supera a de qualquer outro animal de produção (McDonald e Mcfarlane, 1958), e esta aptidão pode estar relacionada a capacidade inerente dos ovinos de aumentarem a taxa de filtração glomerular quando os níveis de sódio e cloro da dieta se elevam (Potter, 1961; Meintjes e Engelbrecht, 1993).



Porém, o consumo de água fresca é imprescindível para a correta eliminação do excesso de eletrólitos da dieta (Cardon et al., 1951). Ovelhas com acesso a dietas ricas em sal apresentaram elevado consumo de água quando comparadas a seus homólogos. Contudo, o HTC foi muito similar entre animais ingerindo elevados níveis de sal e seus pares, demonstrando inexistência de acúmulo de fluido extracelular e tampouco desidratação decorrente do consumo de sódio (Meyer e Weir, 1954). Assim como o HTC, os níveis de glicose, BHB, ureia, albumina e proteína total no plasma de animais consumindo sal estiveram dentro da gama fisiológica normal para ovinos (Jackson e Cockcroft, 2002; Kaneko et al., 2008) demonstrando inexistência de alterações metabólicas e sucesso na adaptação a elevada ingestão de sal.

Contudo, ovelhas no princípio da lactação podem apresentar redução na capacidade hepática de sintetizar proteínas, e também, neste período fisiológico há maior demanda por aminoácidos para a síntese de proteína no leite. Desta maneira, estes fatores podem conduzir a uma diminuição na formação de outras proteínas, como por exemplo a albumina plasmática (González et al., 2000). Embora, não tenha havido diferença nos níveis proteicos do leite, a redução nos níveis de albumina de animais S17 no princípio da lactação, assim como, de S13 na terceira semana POS poderia, possivelmente, ser decorrente da demanda de aminoácidos pela glândula mamária, uma vez que, estes animais não foram inferiores no consumo de proteína, quando comparados a seus pares e tampouco houve qualquer diferença nos níveis de ureia plasmática, demonstrando similaridade no metabolismo dos elementos nitrogenados (Wittwer e Contreras, 1980). Do mesmo modo, outro fator que poderia haver corroborado para a inferioridade nos níveis de albumina plasmática em animais com presença elevada de sal na dieta é a hemodiluição decorrente do superior consumo de água destes animais (Guyton e Hall,

2006). Contudo, a redução nos níveis de albumina plasmática não atingiu magnitude para influenciar os níveis plasmáticos de proteínas totais, os quais foram similares entre os tratamentos pareados durante todo o período experimental.

Não houve efeito da ingestão de sal na composição bromatológica do leite e tampouco na produção total de quilos de proteína, gordura ou lactose. Similaridade na proporção de gordura e proteína láctea também foram descritos por Digby et al. (2008), que avaliaram a ingestão de 0 ou 13% de sal em ovelhas Merino. De mesma forma, Meyer e Weir (1954), observaram semelhança nos níveis de proteína do leite de ovelhas consumindo 0,5; 4,8; 9 ou 13% de sal na dieta. No entanto, animais C13 apresentaram superioridade na proporção de gordura do leite, o que ocasionou diferença na porcentagem de sólidos totais no leite destes animais quando comparados a S13. Este acréscimo parece estar relacionado com a mobilização da reservas corporais, visto que, o BHB presente no plasma sanguíneo é um dos precursores para síntese de lipídios nas células mamárias, e que elevações na gordura do leite estão relacionadas a mobilização de gordura corporal (González, 2002). Embora, a presença de interação entre tempo e dieta impeça a avaliação da diferença nos índices de BHB de S13 e seus pares, animais C13 apresentaram elevação deste corpo cetônico acima dos níveis fisiológicos normais para ovinos ( $> 0,55$  mmol/L; Kaneko et al., 2008), caracterizando ocorrência de oxidação hepática dos ácidos graxos (Contreras et al., 1996). Cientes de que durante a lactação a glândula mamária apresenta prioridade metabólica no fluxo de utilização de nutrientes (Baird, 1981), e que houve considerável inferioridade na ingestão de volumoso de animais C13 quando comparados a S13, acreditamos que a superioridade nos níveis de gordura do leite de ovelhas C13 está relacionada a lipólise dos tecidos ocorrida nestes animais imediatamente após o parto. No entanto, a composição do colostro de animais

consumindo sal e seus homólogos não se diferenciou, e os níveis de proteína, gordura e lactose se mantiveram próximos ao relatado por Banchero et al. (2009) para a raça Corriedale. Igualmente, a quantidade de colostro disponível no momento do parto foi similar entre os tratamentos pareados e, todas as ovelhas produziram volumes dentro dos níveis aceitáveis para ovelhas Corriedale (Banchero et al., 2015), demonstrando ausência de efeitos decorrentes da ingestão de sal.

A disponibilidade de colostro no momento de parto é preponderante para a manutenção da vida do cordeiro (Dwyer et al., 2016), entretanto outro fator relevante que afeta a sobrevivência do neonato é o peso ao nascimento (Hinch et al., 1985) devido, principalmente, a importância das reservas de glicogênio (Alexander, 1964). No presente estudo não houve diferença na sobrevivência da prole ao parto e, tampouco, ao desmame e igualmente o peso ao nascimento foi similar para S13 e S17 e seus respectivos pares. Cordeiros pesaram no momento do parto aproximadamente 4 kg, e segundo Hinch et al. (1985) valores próximos a este são os mais adequados e que ocasionam menores índices de mortalidade em cordeiros gêmeos. De mesma forma, a conversão alimentar durante os primeiros 21 dias de cordeiros oriundos de ovelhas consumindo sal não foi afetada e animais apresentaram eficiência na utilização do leite similar ao relatado para a espécie (Treacher, 1983; Dove, 1988). No entanto, passadas estas primeiras semanas de aleitamento exclusivo e com o início do acesso a pastagem, os cordeiros seguiram apresentando similaridade no crescimento, e assim foi até o desmame, desta forma, a curva de crescimento, assim como o peso vivo dos cordeiros, foram similares ao relatado por Scales (1968) e Geenty (1979) para cordeiros Corriedale, indicando inexistência de comprometimentos no crescimento dos cordeiros em decorrência da ingestão de sal de suas respectivas mães.

O consumo voluntário das ovelhas S13 e S17 cresceu consideravelmente após o parto. Ovelhas S13 e S17 elevaram em 90 e 62%, respectivamente, a ingestão de MO do concentrado e o consumo de sal no POS. A diferença na efetividade da restrição alimentar ocasionada pela ingestão de sal entre o PRE e POS poderia estar relacionada, possivelmente, com alterações endócrinas e fisiológicas no balanço hídrico decorrentes da gestação. O período gestacional é caracterizado por elevação do volume plasmático e das proporções de fluido extracelular, resultantes da elevada reabsorção de sódio, cloreto e água pelos túbulos renais em consequência da maior produção de hormônios esteroides pela placenta e pelo córtex da suprarrenal (Guyton e Hall, 2006). Segundo estes autores, o incremento da taxa de filtração glomerular e do fluxo sanguíneo renal na gestação pode chegar a níveis superiores a 50% no fluxo de não gestantes. Neste momento, a grande elevação no consumo de sal e a necessidade de excretá-lo poderia exigir um desempenho renal acima da capacidade deste órgão. Assim, conflitos fisiológicos intrínsecos da gestação podem haver impedido a elevação no consumo voluntário de S13 e S17. Igualmente, outro fator que poderia estar impedindo o aumento da ingestão no PRE é a redução da capacidade ruminal proveniente da grande proporção abdominal ocupada pelo útero gravídico de gêmeos (Macedo Junior et al., 2002). Deste modo, a restrição física da capacidade ingestiva, e a atividade do sistema de regulação do equilíbrio hidroeletrolítico poderiam interagir de forma simultânea restringindo o consumo durante a fase final da gestação.

O aumento no consumo voluntário de concentrado com sal após passadas algumas semanas do princípio do experimento pode também, ser uma resposta adaptativa de tolerância a elevada ingestão de sal. Schauer et al. (2002) alimentando novilhos com dietas contendo 16% de sal, observaram incremento de 69% no consumo diário de

suplemento dos animais (de 2,42 para 4,11 kg/animal/dia) durante o transcorrer do período experimental. Estes autores atribuiriam o aumento no consumo a diminuição na sensibilidade dos animais a palatabilidade do sal. De mesmo modo, Beeson et al. (1957) alimentando novilhos com uma mistura de milho acrescido de sal observaram redução nos níveis de limitação de consumo durante o experimento e concluíram que a proporção de sal no suplemento deve ser ajustada frequentemente devido a modificações na capacidade de adaptação a palatabilidade dos animais ao sal. Assim, a diferença no consumo de concentrado entre o PRE e o POS, poderia ser uma somatória de fatores restritivos do consumo, bem como fatores adaptativos de sensibilidade ao sal.

Porém, mesmo com a grande elevação no consumo de sal no POS, a avaliação do perfil plasmático permite concluir que ovelhas S13 e S17 foram exitosas na excreção do excesso de eletrólitos da dieta, uma vez que, nenhum indicativo de distúrbios foi identificado. Ovelhas consumindo sal foram eficientes também na criação de seus filhos, e os resultados do presente estudo estão de acordo ao relatado por Weir e Torrel (1953), Digby et al. (2008) e Chadwick et al. (2009) que avaliaram a influência da ingestão de sal por fêmeas gestando únicos e não encontraram diferença no crescimento dos cordeiros. Assim, através das condições avaliadas no presente estudo torna-se evidente que 13% de sal agregado ao alimento concentrado de ovelhas adultas não ocasiona qualquer efeito depreciativo no crescimento da prole até o desmame e que níveis de 17% de sal propiciam satisfatória restrição no consumo voluntário, assim como, adequado aporte nutricional permitindo aos animais alcançarem níveis produtivos comparáveis aos padrões para a raça estudada. Entretanto, devido a amplitude das respostas encontradas internamente em algumas variáveis dentro do mesmo tratamento, estudos complementares são necessários.

Assim, concluímos que não há efeito depreciativo no potencial reprodutivo de ovelhas ingerindo elevados níveis de NaCl. Alterações no perfil energético e proteico do plasma de ovelhas consumindo grandes proporções de sal foram irrelevantes e demonstram que ovinos são capazes de suportar grandes quantidades de eletrólitos na dieta. Não há evidência no comprometimento do crescimento da progênie oriunda de ovelhas alimentadas com sal ao final da gestação e lactação.

### LITERATURA CITADA

- Akaike, H. 1974. A new look at the statistical model identification. *IEEE T. Automat. Contr.* 19:716–723. doi:10.1109/TAC.1974.1100705
- Alexander, G. 1964. Lamb survival: physiological considerations. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.* 5:113-122.
- Al-Qudah K. M. 2011. Oxidant and antioxidant profile of hyperketonemic ewes affected by pregnancy toxemia. *Vet. Clin. Pathol.* 40:60–65. doi:10.1111/j.1939-165X.2011.00284.x
- Baird, G. D. 1981. Lactation, pregnancy and metabolic disorder in the ruminant. *P. Nutr. Soc.* 40:115-120. doi: 10.1079/PNS19810016
- Banchemo, G. E., G. Quintans, D. R. Lindsay, and J. T. B. Milton. 2009. A pre-partum lift in ewe nutrition from a high-energy lick or maize or by grazing *Lotus uliginosus* pasture, increases colostrum production and lamb survival. *Animal* 3:1183-1188. doi:10.1017/S1751731109004571

- Banchero, G. E., J. T. B. Milton, D. R. Lindsay, G. B. Martin, and G. Quintans. 2015. Colostrum production in ewes: a review of regulation mechanisms and of energy supply. *Animal* 9:831-837. doi:10.1017/S1751731114003243
- Bateman, J. V. 1970. *Nutrición animal: manual de métodos analíticos*. Herrero Hermanos S. A. México, DF.
- Beenson, W. M., T. W. Perry, M. Mohler. 1957. Self-Feeding Free Choice vs. Self-Feeding a Complete Mixture for Fattening Steers. *J. Anim. Sci.* 16:787-795. 1957.
- Blache, D., M. J. Grandison, D. G. Masters, R. A. Dynes, M. A. Blackberry, and G. B. Martin. 2007. Relationships between metabolic endocrine systems and voluntary feed intake in Merino sheep fed a high salt diet. *Aust. J. Agric. Res.* 47:544-550. doi:10.1071/EA06112
- Cardon, B. P., B. Stanley, W. J. Pistor, and J. C. Nesbitt. 1951. The use of salt as a regulator of supplemental feed intake and its effect on the health of range livestock. *Arizona Agric. Exp. Sta. Bull.* 239:1-15.
- Chadwick, M. A., I. H. Williams, P. V. Vercoe, and D. K. Revell. 2009. Feeding pregnant ewes a high-salt diet or saltbush suppresses their offspring's postnatal renin activity. *Animal* 3:972-979. doi:10.1017/S175173110900425X
- Contreras, P. A., L. Valenzuela, F. Wittwer, and H. Böhmwald. 1996. Desbalances metabólicos nutricionales más frecuentes en rebaños de pequeños productores de leche, Valdivia-Chile. *Arch. Med. Vet.* 28:39-50.
- Digby, S. N., D. G. Masters, D. Blache, M. A. Blackberry, P. I. Hynd, and D. K. Revell. 2008. Reproductive capacity of merino ewes fed a high-salt diet. *Animal*. 2:1353-1360. doi:10.1017/S1751731108002449

- Doney, J. M., J. N. Peart, W. F. Smith, and F. Louda. 1979. A consideration of the technique for estimation of milk yield by suckled sheep and a comparison of estimates obtained by two methods in relation to the effect of breed, level of production and stage of lactation. *J. Agric. Sci.* 92:123-132. doi:10.1017/S0021859600060573
- Dove, H. 1988. Estimating the intake of milk by lambs, from the turnover of deuterium- or tritium-labelled water. *Brit. J. Nutr.* 60:375-387. doi:10.1079/BJN19880107
- Dwyer, C. M. 2003. Behavioural development in the neonatal lamb: Effect of maternal and birth-related factors. *Theriogenology* 59:1027-1050. doi:10.1016/S0093-691X(02)01137-8
- Dwyer, C. M., J. Conington, J., F. Corbiere, I. H. Holmøy, K. Muri, R. Nowak, J. Rooke, J. Vipond, and J. M. Gautier. 2016. Invited review: Improving neonatal survival in small ruminants: Science into practice. *Animal* 10:449-459. doi:10.1017/S1751731115001974
- Garrido, O., and E. Mann. 1981. Composición química, digestibilidad y valor energético de una pradera permanente a través del año. Graduation Thesis. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Valdivia, Chile.
- Geenty, K. G. 1979. Lactation performance, growth, and carcass composition of sheep, New Zeal. *J. Agr. Res.* 22:241-250. doi:10.1080/00288233.1979.10430743
- Geenty, K. G. 2010. Lactation and Lamb Growth. In: D. J. Cottle, editor, *International Sheep and Wool Handbook*, Nottingham University Press, Nottingham, UK. p. 259-276.



- González, F. H. D., J. O. J. Barcellos, H. Ospina, and L. A. O. Ribeiro. 2000. Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Ed.UFRGS, Porto Alegre, BR.
- González, F. H. D. 2002. Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluídos corporais. 29º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, Gramado, BR. 5-17
- Harris, L. E. 1970. Nutrition research techniques for domestic and wild animals. In: L. E. Harris, editor, An International Record System and Procedures for Analyzing Samples. Logan State University, Logan, Utah, USA. p. 240.
- Hinch, G. N., S. F. Crosbie, R. W. Kelly, J. L. Owens, and G. H. Davis. 1985. Influence of birth weight and litter size on lamb survival in high fecundity Booroola-Merino crossbred flocks. New Zeal. J. Agr. Res. 28:31-38. doi:10.1080/00288233.1985.10426996
- Islam, A. K. M. S., G. L. Kerven, and C. J. Asher. 1983. Chloride determination in plant tissue using a solid state chloride ion specific electrode. Commun. in Soil Sci. Plant Anal. 14:645-653. doi:10.1080/00103628309367395
- Jackson, P., and P. Cockcroft. 2002. Clinical examination of farms animals. Blackwell Science Ltd, Malden, MA, USA.
- Kaneko J. J., J. W. Harvey, and M. L. Bruss. 2008. Clinical biochemistry of domestic animals. 6th ed. Burlington. Academic Press, Burlington, MA, USA.
- Kerslake, J. L., P. R. Kenyon, S. T. Morris, K. J. Stafford, and P. C. H. Morel. 2008. Effect of concentrate supplement and sward height on twin-bearing ewe body condition and the performance of their offspring. Aust. J. Exp. Agr. 48:988-994. doi:10.1071/EA08041

- Kilpi, A. J. 2015. Serum concentrations of globulins, albumin and serum amyloid a of neonatal lambs and associations with weight gain during summer rearing period. Graduation Thesis. Estonian Univ. of Life Sciences, Tartu.
- Macedo Junior, G. D. L., Y. I. Benevides, W. E. Campos, I. Borges, N. M. Rodriguez, and D. A. Ferreira. 2012. Consumo, digestibilidade e taxa de passagem ruminal em ovelhas gestantes. *Ci. Anim. Bras.* 13:429-439. doi:10.5216/cab.v13i4.18826
- McDonald, J., and W. V. Macfarlane. 1958. Renal function of sheep in hot environments. *Aust. J. Agric. Res* 9:680-692. doi:10.1071/AR9580680
- Meintjes, R. A. and H. Engelbrecht. 1993. Changes in kidney function and faecal excretion of water and electrolytes with sodium chloride loading in sheep. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 64:13-19.
- Mellor, D. J., D. J. Flint, R. G. Vernon, and I. A. Forsyth. 1987. Relationships between plasma hormone concentrations, udder development and the production of early mammary secretions in twin-bearing ewes on different planes of nutrition. *Quart. J. Exp. Physiol.* 72:345-356. doi:10.1113/expphysiol.1987.sp003080
- Meyer, J. H., and W. C. Weir. 1954. The tolerance of sheep to high intakes of sodium chloride. *J. Anim. Sci.* 13:443-449.
- Moore, R. W., C. M. Millar, P. R. Lynch, and B. W. Dow. 1986. The effect of pre-natal nutrition and type of birth and rearing of lambs on vigour, temperature and weight at birth, and weight and survival at weaning. *Proc. New Zeal. Soc. An.* 46:259-262.
- Noro, M., R. Bertinat, A. Yañez, J. C. Slebe, and F. Wittwer. 2012. Non protein nitrogen supplementation increases gluconeogenic capacity in sheep. *Livest. Sci.* 148:243–248. doi:10.1016/j.livsci.2012.06.013

- NRC. 2007. Nutrient requirements for small ruminants: sheep, goats, cervids, and New World camelids. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC. USA.
- Potter, B. J. 1961. The renal response of sheep to prolonged ingestion of sodium chloride. *Aust. J. Agric. Res.* 12:440-445. doi:10.1071/AR9610440
- Rovira, P., and Velazco, J. 2012. Suplementación de bovinos en pastoreo: autoconsumo. Serie Técnica n.199. ed. Unidad de Comunicación y Transferencia de Tecnología de INIA, Montevideo. Uy.
- Russell, A. J. F., J. M. Doney, and R. G. Gunn. 1969. Subjective assessment of body fat in live sheep. *J. Agric. Sci. Camb.* 72:451-454. doi:10.1017/S0021859600024874
- Sadzawka, R. A., M. A. Carrasco, R. F. Demanet, H. P. Flores, R. Z. Grez, M. L. G. Mora, and A. Neaman. 2007. Métodos de análisis de tejidos vegetales. 2th ed. Instituto de investigaciones Agropecuarias, INIA, Santiago, CL.
- Scales, G. H. 1968. Lactation performances of Romney, Corriedale and Merino ewes in a tussock grassland environment. *New Zeal. J. Agr. Res.* 11:155-170. doi:10.1080/00288233.1968.10431643
- Schauer, C.S., G. P. Lardy, W. D. Slinger, M. L. Bauer, and K. K. Sedivec. 2004. Self-limiting supplements fed to cattle grazing native mixed-grass prairie in the northern Great Plains. *J. Anim. Sci.* 82:298-306.
- Smith, D. L., B. M. Stinefelt, K. P. Blemings, and M. E. Wilson. 2006. Diet-induced alterations in progesterone clearance appear to be mediated by insulin signaling in hepatocytes. *J. Anim. Sci.* 84:1102–1109. doi:10.2527/2006.8451102x
- Treacher, T. T. 1983. Nutrition requirements for lactation in the ewe. In: W. Haresign, editor, *Sheep Production*. Butterworths, London, UK. p. 133-153.

- Weir, W. C., and D. T. Torell. 1953. Salt-cottonseed meal mixture as a supplement for breeding ewes on the range. *J. Anim. Sci.* 12:353-358.
- WHO. 2003. *Manual of Basic Techniques for a Health Laboratory*. 2th ed. World Health Organization, Geneva, CH.
- Wittwer, F., and P. A. Contreras. 1980. Consideraciones sobre el empleo de los Perfiles Metabólicos en el ganado lechero. *Arch. Med.* Vol. 12:180-188.
- Zarkawi, M., M. R. Al-Masri, and K. Khalifa. 2005. Nutritive value of *Sesbania aculeata* grown on a salty soil and its effect on the reproductive parameters of Syrian Awassi ewes. *Aust. J. Agric. Res.* 56:819-825. doi:10.1071/AR04301

**Tabela 1.** Ingredientes e composição química (em % de MS ou como indicado) das dietas experimentais<sup>1</sup>

Item	Concentrado			Volumoso	
	S13	S17	C13 e C17	Coirón	Alfafa
Ingredientes, %					
Trigo, farelo	29,7	28,8	33,8	-	-
Aveia, resíduo do beneficiamento	25,9	24,8	30,0	-	-
Tremoço, grão	17,0	15,9	20,0	-	-
Cevada, radícula	6,8	6,42	8,0	-	-
Feijão, grão partido	3,12	2,81	3,68	-	-
Aveia, grão	1,75	1,58	2,06	-	-
Mix mineral	1,0	0,77	1,0	-	-
Ureia	1,28	1,15	1,5	-	-
Adição de NaCl	13	17	0	-	-
Composição química <sup>2</sup>					
Digestibilidade <sup>3</sup>	75,9	81,2	69,0	36,6	68,6
EM, kcal/kg MS	2130	2180	2380	1360	2190
PB	17,7	14,4	21,1	4,0	14,5
Cinzas	19,3	23,5	5,10	10,4	8,20

<sup>1</sup>Cada dieta consistia de coirón (*Festuca gracillima* Hook. f.), alfafa e concentrado correspondente ao tratamento.

<sup>2</sup>Resultados emitidos pelo Laboratório de Nutrição e Meio Ambiente, INIA Remehue, Chile.

<sup>3</sup>Digestibilidade In Vitro.

**Tabela 2.** Consumo médio diário (media  $\pm$  EPM) de concentrado (CON), de volumoso (VOL)<sup>1</sup>, de água e da dieta total de ovelhas com e sem adição de NaCl ao alimento concentrado em dietas no pré e pós-parto

Item <sup>4</sup>	Tratamentos <sup>2</sup>				Significância <sup>3</sup>		
	S13	C13	S17	C17	<i>P</i> <sup>#</sup>	<i>P</i> <sup>†</sup>	<i>P</i> <sup>‡</sup>
Pré-parto							
MO <sub>CON</sub>	40,1 $\pm$ 2,54	38,8 $\pm$ 2,54	30,7 $\pm$ 2,68	29,3 $\pm$ 2,19	0,5011	0,2593	0,0134
MO <sub>VOL</sub>	43,5 $\pm$ 3,66	28,0 $\pm$ 3,19	44,7 $\pm$ 3,54	42,7 $\pm$ 3,26	0,0025	0,5144	0,7949
MO <sub>total</sub>	83,5 $\pm$ 1,31	64,9 $\pm$ 1,09	74,4 $\pm$ 1,19	72,9 $\pm$ 0,97	0,0185	0,1298	0,0724
PB <sub>total</sub>	12,9 $\pm$ 0,18	12,2 $\pm$ 0,15	9,9 $\pm$ 0,16	9,5 $\pm$ 0,13	0,1350	0,6296	0,0089
EM <sub>total</sub> <sup>5</sup>	188 $\pm$ 7,78	166 $\pm$ 7,78	162 $\pm$ 6,55	157 $\pm$ 6,10	0,1528	0,0983	0,1115
Água,	457 $\pm$ 45,1	152 $\pm$ 38,1	378 $\pm$ 45,1	140 $\pm$ 27,5	0,0002	0,0001	0,2413
Pós-parto							
MO <sub>CON</sub>	76,4 $\pm$ 6,57	73,1 $\pm$ 5,99	49,8 $\pm$ 6,57	46,7 $\pm$ 4,82	0,5177	0,5919	0,0164
MO <sub>VOL</sub>	43,4 $\pm$ 2,89	31,8 $\pm$ 2,89	46,9 $\pm$ 3,11	48,1 $\pm$ 3,2	0,0095	0,7797	0,3921
MO <sub>total</sub>	119,9 $\pm$ 2,24	104,2 $\pm$ 1,73	96,6 $\pm$ 2,24	93,8 $\pm$ 1,55	0,0796	0,6566	0,0383
PB <sub>total</sub>	21,4 $\pm$ 0,31	20,8 $\pm$ 0,30	16,2 $\pm$ 0,34	15,6 $\pm$ 0,22	0,3855	0,3310	0,0020
EM <sub>total</sub> <sup>5</sup>	289 $\pm$ 5,11	271 $\pm$ 4,41	226 $\pm$ 5,92	219 $\pm$ 5,03	0,0715	0,1837	0,0581
Água	1016 $\pm$ 103	338 $\pm$ 74,5	781 $\pm$ 103	258 $\pm$ 74,6	0,0001	0,0006	0,1410

<sup>1</sup>Coirón (*Festuca gracillima* Hook. f.) + alfafa.

<sup>2</sup>Tratamentos: S13 ( $n = 6$ ), concentrado ad libitum acrescido de 13% de NaCl; C13 ( $n = 6$ ), concentrado sem adição de NaCl, calculado pelo consumo médio de concentrado de S13; S17 ( $n = 6$ ), concentrado ad libitum acrescido de 17% de NaCl; C17 ( $n = 6$ ), concentrado sem adição de NaCl, calculado pelo consumo médio de concentrado de S17.

<sup>3</sup>*P*<sup>#</sup> entre S13 e C13; *P*<sup>†</sup> entre S17 e C17; *P*<sup>‡</sup> entre S13 e S17.

<sup>4</sup>g/kg de peso metabólico ou como indicado.

<sup>5</sup>kcal/kg de peso metabólico.

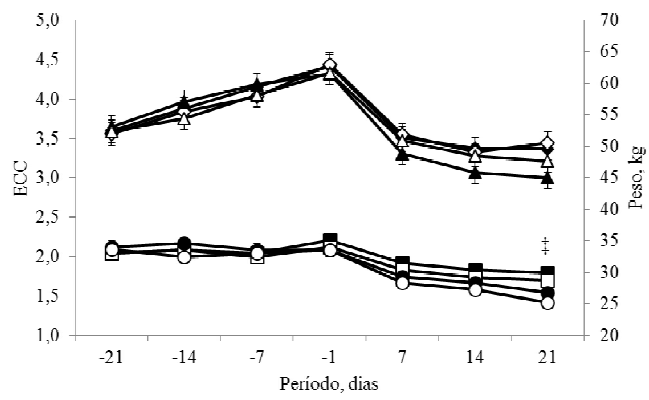
**Tabela 3.** Duração da gestação (dias), peso dos cordeiros ao nascimento (kg), produção total de colostro no momento do parto (kg) e composição química do colostro<sup>1</sup> (%) provenientes de ovelhas Corriedale alimentadas com e sem adição de NaCl ao alimento concentrado em dietas pré-parto. Valores expressos em média  $\pm$  EPM

Item	Tratamentos <sup>2</sup>				Significância <sup>3</sup>		
	S13	C13	S17	C17	<i>P</i> <sup>#</sup>	<i>P</i> <sup>†</sup>	<i>P</i> <sup>‡</sup>
Duração da gestação	147 $\pm$ 0,52	148 $\pm$ 0,62	147 $\pm$ 0,83	148 $\pm$ 0,49	0,1277	0,2563	0,8682
Peso cordeiro	3,89 $\pm$ 0,12	4,31 $\pm$ 0,17	3,87 $\pm$ 0,20	4,06 $\pm$ 0,13	0,1002	0,8449	0,2839
Produção de colostro	0,35 $\pm$ 0,09	0,32 $\pm$ 0,09	0,38 $\pm$ 0,18	0,29 $\pm$ 0,12	0,7798	0,6423	0,8594
Gordura	13,5 $\pm$ 1,12	15,1 $\pm$ 1,37	14,7 $\pm$ 0,93	17,3 $\pm$ 0,98	0,3909	0,0968	0,4115
Proteína	17,5 $\pm$ 1,31	21,0 $\pm$ 2,17	19,1 $\pm$ 0,65	22,6 $\pm$ 1,38	0,1983	0,0633	0,2913
Lactose	2,54 $\pm$ 0,49	2,96 $\pm$ 0,34	3,08 $\pm$ 0,15	2,42 $\pm$ 0,35	0,4978	0,1410	0,3258
Sólidos totais	35,6 $\pm$ 3,16	41,6 $\pm$ 3,41	39,2 $\pm$ 2,0	45,2 $\pm$ 1,83	0,2208	0,0534	0,2961

<sup>1</sup>Resultados emitidos pelo Laboratório de Qualidade do Leite INIA Carillanca, Chile.

<sup>2</sup>Tratamentos: S13 (*n* = 6), concentrado ad libitum com adição de 13% de NaCl; C13 (*n* = 6), concentrado sem adição de NaCl, calculado pelo consumo médio de concentrado de S13; S17 (*n* = 6), concentrado ad libitum com adição de 17% de NaCl; C17 (*n* = 6), concentrado sem adição de NaCl, calculado pelo consumo médio de concentrado de S17.

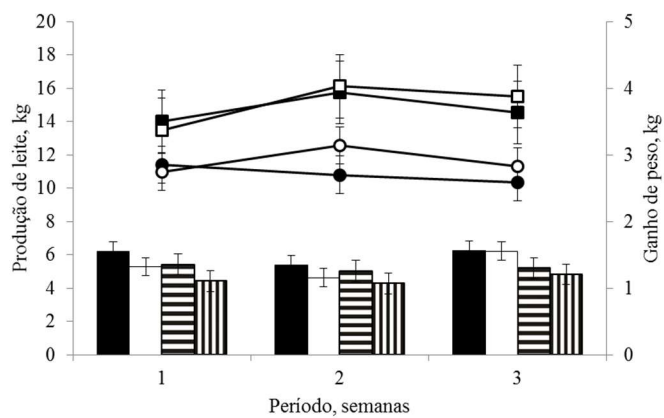
<sup>3</sup>*P*<sup>#</sup> entre S13 e C13; *P*<sup>†</sup> entre S17 e C17; *P*<sup>‡</sup> entre S13 e S17.



**Figura 1.**

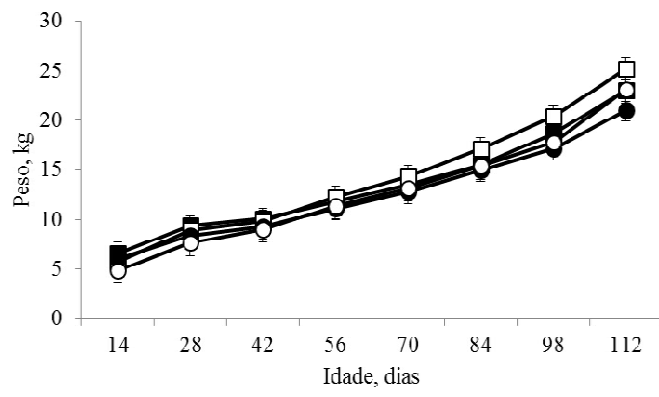


**Figura 1.** Escore de condição corporal (ECC) e PV (média  $\pm$  EPM) de ovelhas consumindo concentrado ad libitum com adição de 13% de NaCl (S13, quadrado e losango abertos,  $n = 6$ ), concentrado sem adição de NaCl, calculado pelo consumo médio de concentrado de animais S13 (C13, quadrado e losango fechados,  $n = 6$ ), concentrado ad libitum com adição de 17% de NaCl (S17, círculo e triângulo abertos,  $n = 6$ ) concentrado sem adição de NaCl, calculado pelo consumo médio de concentrado de animais S17 (C17, círculo e triângulo fechados,  $n = 6$ ; [ $\ddagger P < 0,05$  entre S13 e S17]).



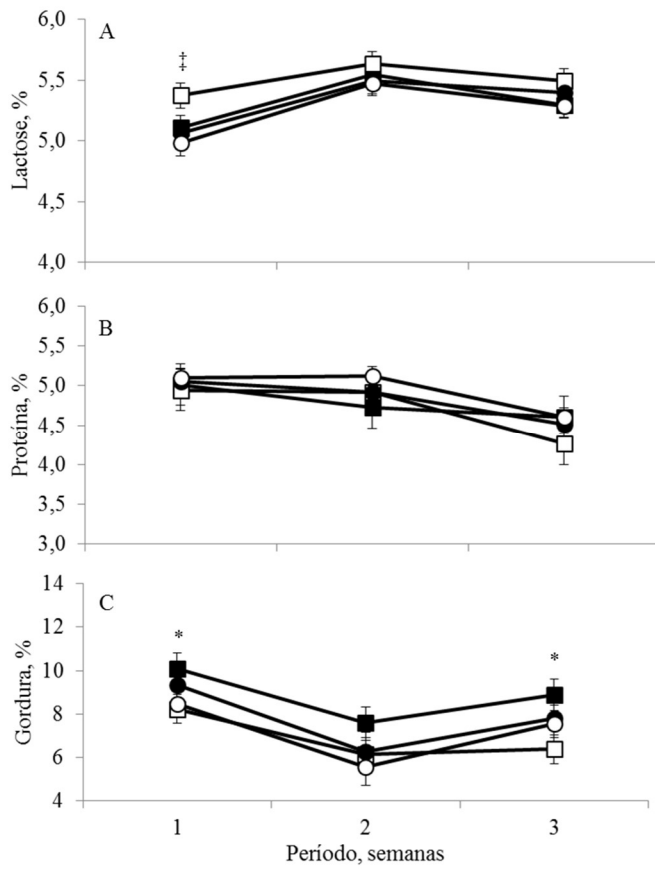
**Figura 2.**

**Figura 2.** Produção semanal de leite (media  $\pm$  EPM) de ovelhas consumindo concentrado ad libitum com adição de 13% de NaCl (S13, quadrados abertos,  $n = 6$ ), concentrado sem adição de NaCl, calculado pelo consumo médio de concentrado de animais S13 (C13, quadrados fechados,  $n = 6$ ), concentrado ad libitum com adição de 17% de NaCl (S17, círculos abertos,  $n = 6$ ) concentrado sem adição de NaCl, calculado pelo consumo médio de concentrado de animais S17 (C17, círculos fechados,  $n = 6$ ) e ganho de peso de seus respectivos cordeiros (S13 barras fechadas,  $n = 12$ ; C13 barras abertas,  $n = 12$ ; S17 listras horizontais,  $n = 11$  e C17 listras verticais,  $n = 11$ ).



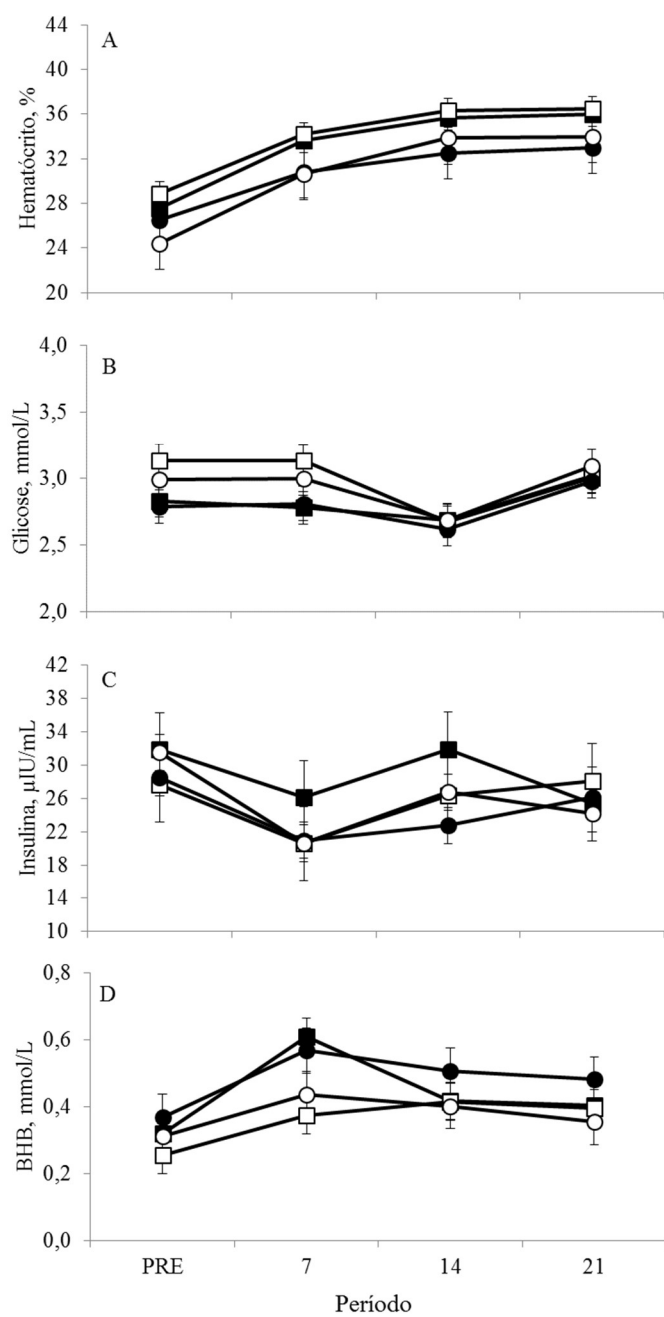
**Figura 3.**

**Figura 3.** Peso de cordeiros (media  $\pm$  EPM) oriundos de ovelhas consumindo concentrado no pré e pós-parto de forma ad libitum com adição de 13% de NaCl (S13, quadrados abertos,  $n = 12$ ), concentrado sem adição de NaCl, calculado pelo consumo médio de concentrado de animais S13 (C13, quadrados fechados,  $n = 12$ ), concentrado ad libitum com adição de 17% de NaCl (S17, círculos abertos,  $n = 11$ ) concentrado sem adição de NaCl, calculado pelo consumo médio de concentrado de animais S17 (C17, círculos fechados,  $n = 11$ ).



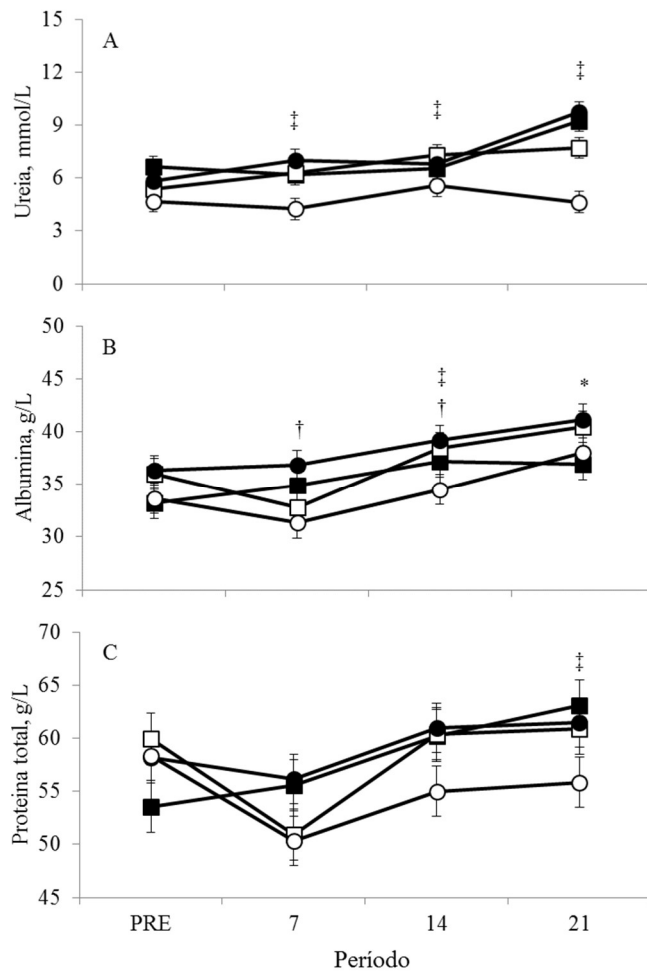
**Figura 4.**

**Figura 4.** Porcentagem de (A) lactose, (B) proteína e (C) gordura do leite, durante três semanas pós-parto, proveniente de ovelhas consumindo concentrado ad libitum com adição de 13% de NaCl (S13, quadrados abertos,  $n = 6$ ), concentrado sem adição de NaCl, calculado pelo consumo médio de concentrado de animais S13 (C13, quadrados fechados,  $n = 6$ ), concentrado ad libitum com adição de 17% de NaCl (S17, círculos abertos,  $n = 6$ ) concentrado sem adição de NaCl, calculado pelo consumo médio de concentrado de animais S17 (C17, círculos fechados,  $n = 6$ ) no pré e pós-parto (\*  $P < 0,05$  entre S13 e C13; ‡  $P < 0,05$  entre S13 e S17).

**Figura 5.**



**Figura 5.** Concentração plasmática (media  $\pm$  EPM) de hematócrito (A), glicose (B), insulina (C) e  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB; D) no pré-parto (PRE), 7, 14 e 21 dias pós-parto de ovelhas consumindo concentrado ad libitum com adição de 13% de NaCl (S13, quadrados abertos,  $n = 6$ ), concentrado sem adição de NaCl, calculado pelo consumo médio de concentrado de animais S13 (C13, quadrados fechados,  $n = 6$ ), concentrado ad libitum com adição de 17% de NaCl (S17, círculos abertos,  $n = 6$ ) concentrado sem adição de NaCl, calculado pelo consumo médio de concentrado de animais S17 (C17, círculos fechados,  $n = 6$ ) no pré e pós-parto.



**Figura 6.**

**Figura 6.** Concentração plasmática (média  $\pm$  EPM) de ureia (A), albumina (B) e proteína total (C) no pré-parto (PRE) e 7, 14 e 21 dias após o parto de ovelhas consumindo concentrado ad libitum com adição de 13% de NaCl (S13, quadrados abertos,  $n = 6$ ), concentrado sem adição de NaCl, calculado pelo consumo médio de concentrado de animais S13 (C13, quadrados fechados,  $n = 6$ ), concentrado ad libitum com adição de 17% de NaCl (S17, círculos abertos,  $n = 6$ ) concentrado sem adição de NaCl, calculado pelo consumo médio de concentrado de animais S17 (C17, círculos fechados,  $n = 6$ ) no pré e pós-parto (\*  $P < 0,05$  entre S13 e C13; †  $P < 0,05$  entre S17 e C17; ‡  $P < 0,05$  entre S13 e S17).

## **CAPÍTULO IV**

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho consistiu na avaliação da viabilidade de utilização do NaCl adicionado ao alimento concentrado para suplementação focalizada e seus reflexos na capacidade reprodutiva de ovelhas adultas. Seus resultados descrevem pela primeira vez o efeito da ingestão de elevados níveis de NaCl na capacidade ovulatória de ruminantes.

Assim, o capítulo dois demonstra que a ingestão de dietas isoprotéicas e isoenergéticas, com níveis de sal muito superiores aos requisitos diários de ovinos não compromete a capacidade ovulatória e tampouco o perfil metabólico plasmático de ovelhas adultas. O NaCl restringiu o consumo com êxito, demonstrando desta maneira a viabilidade da utilização de sal como regulador de consumo voluntário de suplemento permanentemente disponível, buscando melhorar a condição nutricional da fêmea prévio ao acasalamento.

De mesmo modo, dados como composição de colostro e crescimento de cordeiros gêmeos expostos no capítulo três, são descritos pela primeira vez na bibliografia e juntamente com a curva de lactação e o perfil bioquímico plasmático, demonstram que altos níveis de sal agregados ao alimento concentrado de ovelhas gestantes e em lactação não comprometem a produtividade. Assim, em sistemas extensivos de produção, onde muitas vezes as condições nutricionais da pastagem não são suficientes para permitir as fêmeas gestantes expressarem todo o seu potencial produtivo e há inviabilidade de transporte diário de suplemento, a possibilidade de suplementação com sal como limitador de consumo se apresenta como uma tecnologia viável, buscando elevar os níveis de sobrevivência e aumentar o peso ao desmame, permitindo, possivelmente, redução da idade ao abate.

A inclusão de 17% de NaCl ao suplemento concentrado mostrou-se como a proporção mais adequada, uma vez que com este nível de inserção houve superior índice ovulatório, assim como, aceitáveis respostas produtivas ao parto e ao desmame, porém com menor ingestão de alimento concentrado. Igualmente esta proporção de sal permite convenientes níveis de restrição do consumo voluntário de suplemento.

Contudo, estudos complementares são necessário para que se possa avaliar se há correta implantação e desenvolvimento embrionário quando dietas com NaCl são oferecidas as fêmeas prévio ao apareamento, assim como, descrever a estrutura morfológica, propriedades físicas e a composição tecidual da carcaça de cordeiros provenientes de mães consumindo elevados níveis de NaCl.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDALLA, E. B. et al. Reproductive Efficiency of Damascus Goats in Salt-Affected Lands in South Sinai. **Egypt Journal of American Science**, New York, v. 9, p. 170-177, 2013.
- ABU-ZANAT, M. M. W.; TABBAA, M. J. Effect of feeding Atriplex browse to lactating ewes on milk yield and growth rate of their lambs. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 64, p. 152-161, 2006.
- ALEXANDER, G. et al. Separation of ewes from twin lambs: incidence in several sheep breeds. **Applied animal ethology**, Amsterdam, v. 10, p. 301-317, 1983.
- AMARAL, D. M. et al. Increased concentration of sodium chloride on milk production of cows fed low fiber diets. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 68, n. 11, p. 2940-2947, 1985.
- ARNOLD, G. W. A note on changes in ingestive behaviour of sheep following shearing. **Applied Animal Ethology**, Amsterdam, v. 2, p. 175-179, 1976.
- ASHWORTH, C. J. et al. The impact of in utero nutritional programming on small ruminant performances. **Options Méditerranéennes**, Paris, v. 85, p. 337-349, 2009.
- BANCHERO, G. E. et al. Supplementation during the last week of pregnancy of Corriedale ewes can improve colostrum and milk yield. **Proceedings of the Australian Society of Animal Production**, Melbourne, v. 24, p. 273, 2002.
- BANCHERO, G. E. et al. Nutrition and colostrum production in sheep. 1. Metabolic and hormonal responses to a high-energy supplement in the final stages of pregnancy. **Reproduction, Fertility and Development**, Melbourne, v. 16, p. 633-643, 2004.
- BANCHERO, G. E. et al. Endocrine and metabolic factors involved in the effect of nutrition on the production of colostrum in female sheep. **Reproduction Nutrition Development**, Paris, v. 46, p. 447-460, 2006.
- BANCHERO, G. E. et al. A pre-partum lift in ewe nutrition from a high-energy lick or maize or by grazing Lotus uliginosus pasture, increases colostrum production and lamb survival. **Animal**, Cambridge, v. 3, p. 1183-1188, 2009.
- BANCHERO, G. E.; MONTOSI, F.; de BARBIERI, I. **Como lograr una buena encarnerada para mejorar la eficiencia reproductiva de nuestras majadas**. Montevideo: Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, 2013. p.12-16.

- BIZELIS, J. A.; CHARISMIADOU, M. A.; RODKAIS, E. Metabolic changes during the perinatal period in dairy sheep in relation to level of nutrition and breed. II. Early lactation. **Journal Animal Physiology and Animal Nutrition**, Chichester, v. 84, p. 73-84, 2000.
- BLACHE, D. et al. Relationships between metabolic endocrine systems and voluntary feed intake in Merino sheep fed a high salt diet. **Animal Production Science**, Melbourne, v. 47, p. 544-550, 2007.
- BROWN, V. L.; ANTHONY, W. B.; MARTIN, C. M. **Use of salt to control intake of protein supplement self-fed to wintered beef cows**. Alabama. Agricultural experiment station of the Alabama Polytechnic Institute, 1958. (Progress Report Series, 70).
- BUKOVETZKY, E. et al. Photoperiodicity and increasing salinity as environmental cues for reproduction in desert adapted rodents. **Hormones and Behavior**, New York, v. 61, p. 84-90, 2012.
- BURRIS, M. J.; BAUGUS, C. A. Milk consumption and growth of suckling lambs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 14, p. 186-191, 1955.
- CAHILL, L. P. Folliculogenesis in the sheep as influenced by breed, season and oestrous cycle. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 30, p. 135-142, 1980.
- CARDON, B. P. et al. **The use of salt as a regulator of supplemental feed intake and its effect on the health of range livestock**. Tucson. Agricultural Experiment Station, University of Arizona, 1951. 1-15 p. (Bulletin 239).
- CARDON, B. P. Influence of a High Salt Intake on Cellulose Digestion. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 12, p. 536-540, 1953.
- CARTER, R. R.; GROVUM, W. L. Factors affecting the voluntary intake of food by sheep. V. The inhibitory effect of hypertonicity in the rumen. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 64, p. 285-299, 1990.
- CEBALLOS, D. et al. Engorde de ovejas merino de refugio a galpón y aire libre con el agregado de NaCl a la dieta. In: CONGRESO DA ASSOCIAÇÃO ARGENTINA DE PRODUÇÃO ANIMAL, 37., 2014, Buenos Aires. **Resumos...** Buenos Aires, Argentina, 2014, p. 382.
- CELI, P.; BUSH, D. R. Pregnancy, lambing and survival. In: COTTLE, D. (Ed.). **International sheep and wool handbook**. Nottingham: Nottingham University Press, 2010. p. 223-257.
- CHADWICK, M. A. et al. Feeding pregnant ewes a high-salt diet or saltbush suppresses their offspring's postnatal renin activity. **Animal**, Cambridge, v. 3, p. 972-979, 2009a.

- CHADWICK, M. A. et al. Programming sheep production on saltbush: adaptations of offspring from ewes that consumed high amounts of salt during pregnancy. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Paris, v. 49, p. 311-317, 2009b.
- CHARISMIADOU, M. A.; BIZELIS, J.A.; ROGDAKIS, E. Metabolic changes during the perinatal period in dairy sheep in relation to level of nutrition and breed. I. Late pregnancy. **Journal Animal Physiology and Animal Nutrition**, Chichester, v. 84, p. 61-72, 2000.
- CHICO, C. F. et al. Self-feeding salt supplement to grazing steers under tropical conditions. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 33, p. 142-146, 1971.
- CLARO, D. Reproducción de los ovinos en Magallanes. IV peso al encaste. **Agricultura técnica**, Santiago, v. 38, p. 119-121, 1978.
- COOP, I. E. Liveweight-productivity relationships in sheep. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, Abingdon, v. 5, p. 249-264, 1962.
- COOP, I. E. Effect of flushing on reproductive performance of ewes. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 67, p. 305-323, 1966.
- COSTANZO, L. **Fisiología**. 2 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. 466 p.
- CROOM, W. J. et al. High levels of sodium chloride in beef cattle diets. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 62, p. 217-227, 1982.
- CUNNINGHAM, J. G.; KLEIN, G. B. **Textbook of Veterinary physiology**. 4 ed. Saunders: Elsevier. 2007. 714 p.
- DIGBY, S. N. **High dietary salt during pregnancy in ewes alters the responses of offspring to an oral salt challenge**. 2007. 156f. Tese (Doutorado) - Department of Agricultural and Animal Science, The University of Adelaide, Australia. 2007.
- DIGBY, S. N. et al. Reproductive capacity of Merino ewes fed a high-salt diet. **Animal**, Cambridge, v. 2, p. 1353-1360, 2008.
- DIGBY, S. N. et al. Offspring born to ewes fed high salt during pregnancy have altered responses to oral salt loads. **Animal**, Cambridge, v. 4, p. 81-88. 2010.
- DIGBY, S. N.; CHADWICK, M.A.; BLACHE, D. Salt intake and reproductive function in sheep. **Animal**, Cambridge, v. 5, n. 8, p. 1207-1216, 2011.
- DIJKSTRA, J.; FORBES, J. M.; FRANCE, J. **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolismo**. 2 ed. Cambridge: CAB International. 2005. 729 p.



DOWNING, J. A.; SCARAMUZZI, R. J. Nutrient effects on ovulation rate, ovarian function and the secretion of gonadotrophic and metabolic hormones in sheep. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 43, p. 209-227, 1991.

DOWNING, J. A.; JOSS, J.; SCARAMUZZI, R. J. Ovulation rate and the concentrations of gonadotrophins and metabolic hormones in ewes infused with glucose during the late luteal phase of the oestrous cycle. **Journal of Endocrinology**, New York, v. 146, n. 3, p. 403-410, 1995.

DUARTE M. D. et al. Surto de intoxicação por sal em ovinos no estado do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 34, p. 1061-1068. 2014.

DWYER, C. et al. Ewe-lamb bonding behaviours at birth are affected by maternal undernutrition in pregnancy **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 89, p. 123-136, 2003.

EATON, D. C.; POOLER, J. **Fisiologia Renal De Vander**. Porto Alegre: Artmed, 2006. 256 p.

FERREIRA, R. **Angiotensina II no mecanismo inicial de ovulação, através dos receptores AT2, em bovinos**. 2006. 54f. Dissertação. (Mestrado) - Programa de pós-graduação em medicina veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.

FORBES, J. M.; BARRIO, J. P. Abdominal chemo-and mechanosensitivity in ruminants and its role in the control of food intake. **Experimental Physiology**, Chichester, v. 77, n. 1, p. 27-50, 1992.

GHERARDI, P. B.; LINDSAY, D. R. Response of ewes to lupin supplementation at different times of the breeding season. **Animal Production Science**, Melbourne, v. 22, n. 117, p. 264-267, 1982.

GODWIN, I. R.; WILLIAMS, V. J. Renal control of plasma urea level in sheep: The diuretic effect of urea, potassium and sodium chloride. **Quarterly journal of experimental physiology**, Chichester, v. 69, n. 1, p. 49-59, 1984.

GODWIN, I. R.; WILLIAMS, V. J. Effects of intraruminal sodium chloride infusion on rumen and renal nitrogen and electrolyte dynamics in sheep. **British journal of nutrition**, Cambridge, v. 56, n. 2, p. 379-394, 1986.

GONZÁLEZ, F. H. D. et al. **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000. 108 p.

GOURSAUD, A. P.; NOWAK, R. Colostrum mediates the development of mother preference by the new born lamb. **Physiology & Behavior**, New York, v. 67, p. 49-56, 1999.

GRAAF, S. P. Reproduction. In: COTTLE, D. J. (Ed). **International Sheep and Wool Handbook**. Nottingham: Nottingham University Press, 2010. p. 189-222.

GRANZIN, B. C.; GAUGHAN, J. B. The effect of sodium chloride supplementation on the milk production of grazing Holstein Friesian cows during summer and autumn in a humid sub-tropical environment. **Animal Feed Science and Technology**, Philadelphia, v. 96, n. 3, p. 147-160, 2002.

GREENWALD, G. S.; ROY, S. K. Follicular development and its control. In: KNOBIL, E. NEILL, J.D. (Ed.). **The physiology of reproduction**. New York: Raven Press Ltd., 1994. p. 629-724.

GROVUM, W. L.; CHAPMAN, H. W. Factors affecting the voluntary intake of food by sheep. 4. The effect of additives representing the primary tastes on sham intakes by oesophageal-fistulated sheep. **The British journal of nutrition**, Cambridge, v. 59, n. 1, p. 63-72, 1988.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Textbook of Medical Physiology**. 11. ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2006. 1128 p.

HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. **Reprodução animal**. 7. ed. Barueri. Manole, 2004. 513 p.

HARESIGN, W. The influence of nutrition on reproduction in the ewe 1. Effects on ovulation rate, follicle development and luteinizing hormone release. **Animal Production**, Cambridge, v. 32, n. 2, p. 197-202, 1981.

HEMSLEY, J. A. HOGAN, J. P.; WESTON, R. H. Effect of high intakes of sodium chloride on the utilization of a protein concentrate by sheep. II. Digestion and absorption of organic matter and electrolytes. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v. 26, p. 715-727, 1975.

JACKSON, P.; COCKCROFT, P. **Clinical examination of farms animals**. Malden: Blackwell Science Ltd., 2002. 322 p.

JAMESON, J. L.; LOSCALZO, J. **Nefrologia e Distúrbios Acidobásicos de Harrison**. 2. ed. Porto Alegre: AMGH Editora, 2014. 272 p.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6. ed. Burlington. Academic Press, 2008. 896 p.

KELLY, R. W. Care for mum-fetal programming, lamb survival and lifetime performance. **Agribusiness Sheep Updates**, Western, p. 19-20, 2005.

KENYON, P. R. et al. The effect of ewe size and nutritional regimen beginning in early pregnancy on ewe and lamb performance to weaning. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, London, v. 52, p. 203-212, 2009.

KING, B. J. et al. Short-term grazing of lucerne and chicory increases ovulation rate in synchronised Merino ewes. **Animal reproduction science**, Melbourne, v. 121, p. 242-248, 2010.

KNIGHT, T. W.; OLDHAM, C. M.; LINDSAY, D. R. Studies in ovine infertility in agricultural regions in Western Australia: the influence of a supplement of lupins (*Lupinus angustifolius* cv. uniwhite) at joining on the reproductive performance of ewes. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v. 26, p. 567-575, 1975.

LASSOUED, N. et al. The effect of nutrition prior to and during mating on ovulation rate, reproductive wastage, and lambing rate in three sheep breeds. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 52, p. 117-125, 2004.

LINDSAY, D. R. The usefulness to the animal producer of research findings in nutrition on reproduction. In: **Proceedings of the Australian Society of Animal Production**, Melbourne, v. 11, p. 217-224. 1976.

MAGGI, M. et al. Vasopressin and Oxytocin Receptors in Vagina, Myometrium, and Oviduct of Rabbits. **Journal of Endocrinology**, New York, v. 122, p. 2970-2980, 1988.

MCDONALD, J.; MACFARLANE, W. V. Renal function of sheep in hot environments. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v. 9, p. 680-692, 1958.

MCNEILL, D. M.; MURPHY, P. M.; PURVIS, I. W. Lactogenesis and colostrum production in ewes. **Proceedings of the Australian Society of Animal Production**, Melbourne, v. 17, p. 437. 1988.

MELLOR, D. J. et al. Relationships between plasma hormone concentrations, udder development and the production of early mammary secretions in twin-bearing ewes on different planes of nutrition. **Quarterly Journal of Experimental Physiology**, Chichester, v. 72, p. 345-356, 1987.

MEYER, J. H.; WEIR, W. C. The tolerance of sheep to high intakes of sodium chloride. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 13, p. 443-449, 1954.

MEYER, J. H.; WEIR, W. C.; SMITH, D. J. A study of sheep during starvation and water deprivation. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 14, p. 160-172, 1955.

MEYER, A. H.; LANGHANS, W.; SCHARRER, E. Vasopressin reduces food intake in goats. **Quarterly Journal of Experimental Physiology**, Chichester, v. 74, p. 465-473, 1989.

MOORE, R. W., MILLAR, C. M., LYNCH, P. R. The effect of prenatal nutrition and type of birth and rearing of lambs on vigour, temperature and weight at birth, and weight and survival at weaning. **Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production**, London, v. 46, p. 259-262, 1986.

MOSELEY, G.; JONES, D. I. H. The effect of sodium chloride supplementation of a sodium adequate hay on digestion, production and mineral nutrition in sheep. **The Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 83, p. 37-42, 1974.

MURTAUGH, R. J. **Tratamento intensivo em medicina veterinária**. São Paulo: Roca. 2006. 152 p.

NEIDIG, R. E.; IDDINGS, E. J. Quantity and composition of ewes' milk: its relation to the growth of lambs. **Journal of Agriculture Research**, Lahore, v. 17, p. 19-32. 1919.

NELSON, A. B. et al. Effect of a high salt intake on the digestibility of ration constituents and on nitrogen, sodium, and chloride retention by steers and wethers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 14, n. 3, p. 825-830, 1955.

NOWAK, R.; POINDRON, P. From birth to colostrum: early steps leading to lamb survival. **Reproduction Nutrition Development**, Paris, v. 46, n. 4, p. 431-446, 2006.

NRC. National Research Council. **Nutrient requirements for small ruminants: sheep, goats, cervids, and New World camelids**. Committee on Nutrient Requirements of Small Ruminants, Board on Agriculture and Natural Resources, Division on Earth and Life Studies ed. National Academies Press, Washington, 2007. p. 362.

OLDHAM, C. M.; LINDSAY, D. R.; MARTIN, G. B. Effects of seasonal variation of live weight on the breeding activity of Merino ewes. In: OLDHAM, C. M. et al. (Eds). **Reproductive physiology of Merino sheep: concepts and consequences**. Perth: University of Western Australia. 1990. p. 41-58.

OLDHAM, C. M. et al. The birthweight and survival of Merino lambs can be predicted from the profile of liveweight change of their mothers during pregnancy. **Animal Production Science**, Melbourne, v. 51, n. 9, p. 776-783, 2011.

PATTINSON, S. E.; DAVIES, A. R.; WINTER, A. C. Changes in the secretion rate and production of colostrum by ewes over the first 24 h post partum. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 61, p. 63-68, 1995.

PEARCE, K. L.; PETHICK, D. W.; MASTERS, D. G. The effect of grazing a saltbush and barley ration on the carcass and eating quality of sheepmeat. **Meat Science**, Oxford, v. 79, p. 344-354, 2008.

PERKS, C. M. et al. Localization of messenger ribonucleic acids for insulin-like growth factor I (IGF-I), IGF-II, and the type 1 IGF receptor in the ovine ovary throughout the estrous cycle. **Endocrinology**, New York, v. 136, p. 5266-5273, 1995.

POTTER, B. J. The renal response of sheep to prolonged ingestion of sodium chloride. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v. 12, n. 3, p. 440-445, 1961.

POTTER, B. J. The effect of saline water on kidney tubular function and electrolyte excretion in sheep. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v. 14, n. 4, p. 518-528, 1963.

POTTER, B. J. The influence of previous salt ingestion on the renal function of sheep subjected to intravenous hypertonic saline. **The Journal of physiology**, Chichester, v. 194, n. 2, p. 435, 1968.

POTTER, B. J.; MCINTOSH, G. H. Effect of salt water ingestion on pregnancy in the ewe and on lamb survival. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v. 25, n. 6, p. 909-917, 1974.

RAE, M. T. et al. The effects of undernutrition, in utero, on reproductive function in adult male and female sheep. **Animal Reproduction Science**, Werribee, v. 72, p. 63-71, 2002.

RATTRAY, P. V. et al. Growth, development and composition of the ovine conceptus and mammary gland during pregnancy. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 38, n. 3, p. 613-626, 1974.

RIBEIRO, L. A. O.; GREGORY, R. M.; MATTTOS, R. C. Prenhez em rebanhos ovinos no Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 4, p. 637-641, 2002.

RIET-CORREA, F. et al. **Doenças de Ruminantes e Equinos**. 2. ed. São Paulo: Varela, 2001.v. 2, 573 p.

RIGGS, J. K.; COLBY, R. W.; SELLS, L. V. The effect of self-feeding salt-cottonseed meal mixtures to beef cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 12, n. 2, p. 379-393, 1953.

ROBINSON, J. J.; ROOKE, J. A.; MCEVOY, T. G. Nutrition for conception and pregnancy. In: FREER, M.; DOVE, H. (Ed.), **Sheep Nutrition**. Wallingford: CAB International, 2002. p. 189-211.

ROVIRA, P. J.; VELAZCO, J. **Evaluación de un sistema de autoconsumo restringido con distinto contenido de sal en la ración en la suplementación de terneros sobre campo natural**. Montevideo: Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, 2009. p. 69-77. (Serie Actividades de Difusión, 591).

ROVIRA, P.; VELAZCO J. **Suplementación de bovinos en pastoreo: autoconsumo**. Montevideo: Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, 2012. p. 72. (Serie técnica, 199).

SCARAMUZZI, R. J. Reproduction research in perspective. **Proceedings of the Australian Society of Animal Production**, Melbourne, v. 17, p. 57-73, 1988.

SCARAMUZZI, R. J., CAMPBELL, B. K. Physiological regulation of ovulation rate in the ewe: A new look at an old problem. In: OLDHAM, C. M.; MARTIN, G. B.; PURVIS, I. W. (Ed.). **Reproductive Physiology of Merino Sheep: Concepts and Consequences**. Perth: The University of Western Australia, 1990. p. 71-84.

SCARAMUZZI, R. J. et al. A model for follicles selection and the determination of ovulation rate in the ewe. **Reproduction, Fertility and Development**, Melbourne, v. 5, p. 459-478, 1993.

SCARAMUZZI, R. J. et al. A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. **Reproduction Nutrition Development**, Paris, v. 46, n. 4, p. 339-354, 2006.

SCARAMUZZI, R. J. et al. Regulation of folliculogenesis and the determination of ovulation rate in ruminants. **Reproduction, Fertility and Development**, Melbourne, v. 23, n. 3, p. 444-467, 2011.

SCARAMUZZI, R. J. et al. The effects of intravenous, glucose versus saline on ovarian follicles and their levels of some mediators of insulin signalling. **Reproductive Biology and Endocrinology**, London, v. 13, p. 1-14, 2015.

SHAKER, Y. M. Ovarian response of Barki ewes fed *Atriplex nummularia* to estrus synchronization. **Egyptian Journal of Basic and Applied Physiology**, Mansoura, v. 8, n. 1, p. 185-203, 2009.

SHANAS, U.; HAIM, A. Diet salinity and vasopressin as reproduction modulators in the desert-dwelling golden spiny mouse (*Acomys russatus*).

**Physiology & behavior**, New York, v. 81, n. 4, p. 645-650, 2004.

SMITH, J. F. A review of recent developments on the effect of nutrition on ovulation rate (the flushing effect) with particular reference to research at Ruakura. **Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production**, London, v. 51, p. 15-23, 1991.

SOMCHIT, A. Influence of nutritional management on folliculogenesis in ewes. **The Thai Journal of Veterinary Medicine**, Bangkok, v. 41, p. 25-29, 2011.

SOMCHIT, A. et al. The effect of short-term nutritional supplementation of ewes with lupin grain (*Lupinus luteus*), during the luteal phase of the estrous cycle on the number of ovarian follicles and the concentrations of hormones and glucose in plasma and follicular fluid. **Theriogenology**, New York, v. 68, n. 7, p. 1037-1046, 2007.

STEWART, R.; OLDHAM, C. M. Feeding lupins to ewes for four days during can increase ovulation rate. **Proceedings of the Australian Society of Animal Production**, Melbourne, v. 16, p. 367-370, 1986.

SUTTLE, N. F. **Mineral nutrition of livestock**. 4. ed. Oxfordshire: Cabi, 2010. 587 p.

TAY, S. H. et al. Consumption of a high-salt diet by ewes during pregnancy alters nephrogenesis in 5-month-old offspring. **Animal**, Cambridge, v. 6, n. 11, p. 1803-1810, 2012.

TELENI, E. et al. Lupins and energy-yielding nutrients in ewes. II. Responses in ovulation rate in ewes to increased availability of glucose, acetate and amino acids. **Reproduction, Fertility and Development**, Melbourne, v. 1, n. 2, p. 117-125, 1989.

TERNOUTH, J. H.; BEATTIE, A. W. Studies of the food intake of sheep at a single meal. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 25, n. 1, p. 153-164, 1971.

THOMAS, D. et al. The impact of high dietary salt and its implications for the management of livestock grazing saline land. **Agribusiness Livestock**, Melbourne, conference paper, 2007.

THOMPSON, A. N. et al. Improving the nutrition of Merino ewes during pregnancy and lactation increases weaning weight and survival of progeny but does not affect their mature size. **Animal Production Science**, Melbourne, v. 51, n. 9, p. 784-793, 2011.

VILLA, M. **Inclusión de sal en el pellet de balanceado para limitar el consumo**. Buenos Aires: Revista Argentina de Producción Animal, 2011. v. 31, 350 p.

VILLA, M.; BURATOVICH, O.; CEBALLOS, D. **Uso de sal común (NaCl) como limitador del consumo de suplemento invernal en corderas**. Buenos Aires: Revista Argentina de Producción Animal, 2007. v. 27, 76-78 p.

VIÑALES, C. et al. Short-term nutritional supplementation of ewes in low body condition affects follicle development due to an increase in glucose and metabolic hormones. **Reproduction**, Bristol, v. 129, n. 3, p. 299-309, 2005.

VIÑALES, C.; MEIKLE, A.; MARTIN, G. B. Short-term nutritional treatments grazing legumes or feeding concentrates increase prolificacy in Corriedale ewes. **Animal reproduction science**, Werribee, v. 113, n. 1, p. 82-92, 2009.

WEIR, W. C.; MILLER, R. F. The use of salt as a regulator of protein supplement intake by breeding ewes. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 12, n. 1, p. 219-225, 1953.

WILSON, A. D. The tolerance of sheep to sodium chloride in food or drinking water. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v. 17, n. 4, p. 503-514, 1966a.

WILSON A. D. The intake and excretion of sodium by sheep fed on species of atriplex (saltbush) and kochia (bluebush), **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v. 17, p. 155-163, 1966b.

WUBE, T.; HAIM, A.; FARES, F. Effect of increased dietary salinity on the reproductive status and energy intake of xeric and mesic populations of the spiny mouse, *Acomys*. **Physiology & behavior**, New York, v. 96, n. 1, p. 122-127, 2009.

ZARKAWI, M.; AL-MASRI, M. R.; KHALIFA, K. Nutritive value of *Sesbania aculeata* grown on salty soil and its effect on reproductive parameters of Syrian Awassi ewes. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v. 56, n. 8, p. 819-825, 2005.



## APÊNDICES

### **Apêndice 1.** Normas para preparação de trabalhos científicos para publicação no Journal of Animal Science

#### **INSTRUCTIONS FOR AUTHORS (REVISED 2016)**

##### ***Journal of Animal Science***

The Instructions for Authors, *Journal of Animal Science (JAS)* is divided into 2 sections:

- I. Manuscript Preparation, which describes the Style and Form that authors must follow in the preparation of manuscripts; and
- II. Policies and Procedures of *JAS*, which describes the mission of *JAS*, contact information, care and use of animals, protection of human subjects, conflict of interest, types of articles published in *JAS*, manuscript submission, copyright policies, review procedures and policies, papers in press, author proofs, and publication charges.

#### **I. MANUSCRIPT PREPARATION (STYLE AND FORM)**

The most important thing authors can do as they prepare their manuscripts is to consult a recent issue of *JAS* to see the acceptable format for headings, title page, ABSTRACT, Key words, INTRODUCTION, MATERIALS AND METHODS, RESULTS, DISCUSSION (or combined RESULTS AND DISCUSSION), LITERATURE CITED, and tables and figures (including figure captions). Each of these topics is described in this document. The headings are shown in uppercase letters to illustrate how they should appear in manuscripts. A basic manuscript template in Microsoft Word is available at <http://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/infora>. Manuscripts that are not consistent with the Instructions for Authors will be immediately rejected.

**General.** Manuscripts must be written in English and must use American spelling and usage, as well as standard scientific usage. The following online resources provide detailed information.

- For general style and form, authors should follow that recommended in *Scientific Style and Format: The CSE Manual for Authors, Editors, and Publishers*. 7th ed. Council of Science Editors, Reston, VA.

- For American English spelling and usage, consult Merriam-Webster Online. <http://www.m-w.com/>

- For how to use numbers, refer to Policies Regarding Number Usage later in this document.
- For SI units, the National Institute of Standards and Technology provides a comprehensive guide. <http://physics.nist.gov/cuu/Units/index.html>
- For capitalization and spelling of plants, consult the USDA Plants website. <http://plants.usda.gov>
- For anatomical nomenclature, consult the current Nomina Anatomica Veterinaria. [www.wava-amav.org/Downloads/nav\\_2012.pdf](http://www.wava-amav.org/Downloads/nav_2012.pdf)
- For bacterial nomenclature, consult Approved Lists of Bacterial Names. <http://www.bacterio.net/alintro.html>

Manuscripts should be prepared double-spaced in Microsoft Word, with lines and pages numbered consecutively, using Times New Roman font at 12 points and no less than 2.54-cm (1 inch) margins all around.

Special characters (e.g., Greek and symbols) should be inserted using the symbols palette available in this font. Complex equations should be entered using Math-Type (<http://www.dessci.com/en/products/mathtype/>). Tables and figures should be placed in separate sections at the end of the manuscript, and not placed in the text. Manuscripts should be uploaded to Thomson Reuters ScholarOne Manuscripts (formerly called Manuscript Central) using the fewest files possible to facilitate the review and editing processes. Manuscripts should contain the following sections in this order.

**Title Page.** The title page includes a running head (the first word only and any proper nouns capitalized and no more than 45 keystrokes [i.e., characters and spaces; a space is counted as a keystroke]); the title (only the first word and any proper nouns capitalized, as brief as possible, and including the species involved); names of authors (e.g., T. E. Smith; no title, positions, or degrees) and institutions, including the department, city, state or country (all with first letters capitalized), and ZIP or postal code. Author affiliations are footnoted using the symbols \*, †, ‡, §, #, ||, and ¶ and are placed below the author names. If a consortium is listed in the byline, a footnoted reference to a website showing the names and affiliations of each member of the consortium should be included in acknowledgements; names and affiliations of each member of the consortium will not be listed on the title page. Superscript numbers are used to reference footnotes on the first page. Acknowledgments, including acknowledgements of consortia, grants, experimente station, or journal series number, are given as a footnote to the title. Authors disclosing potential or actual conflicts of interest related to the research presented in the manuscript should describe this in a footnote with other acknowledgements (for details, see Conflict of Interest).

**Abstract.** ABSTRACT consists of no more than 2,500 keystrokes (characters and spaces) in one paragraph and contains a summary of the pertinent results, with statistical evidence (i.e., *P*-values), in a brief but understandable form, beginning with a clear statement of the objective and ending with the conclusions, with no references cited. Abbreviations in the abstract that are not in Standard JAS Abbreviations must be defined at first use.

**Key words.** List up to 6 key words or including the species, variables tested, and major response criteria. The first letter of each key word is lowercase, unless it is a proper noun; key words are separated by commas and presented in alphabetical order; and no abbreviations should be used. Because major words in the title are not used for the subject index, which is published in the last issue of each volume of *JAS*, appropriate words from the title should be listed as key words.

**Introduction.** INTRODUCTION must not exceed 2,000 keystrokes (characters and spaces) and must contain a brief justification for conducting the research, the hypotheses to be tested, and the objective(s). Extensive discussion of relevant literature should be included in DISCUSSION, not in INTRODUCTION.

**Materials and Methods.** MATERIALS AND METHODS is a required section and must contain a clear description or specific original reference for all biological, analytical, and statistical procedures. All modifications of procedures must be explained. Diets, dates of experimental activities if appropriate, animals (breed, sex, age, body weight, and weighing conditions [i.e., with or without restriction of feed and water]), surgical techniques, measurements, and statistical models should be described clearly and fully. Manufacturer information must be provided at the first mention of each proprietary product used in the research (for details see, **Commercial Products**). Appropriate statistical methods should be used, although the biology should be emphasized. The threshold (e.g.,  $P < 0.05$ ) for significance should be stated. A statement of the results of the statistical analysis should justify the interpretations and conclusions. The experimental unit is the smallest unit to which an individual treatment is imposed. Measurements on the same experimental unit over time are not independent and should not be considered as independent experimental units. Provide a validation for assays (e.g., mean and CV for repeated analysis of a sample [both between and within-assay if available] and the sensitivity [minimum amount or concentration detectable]). Also, provide a publication reference for the methods used in kits. Centrifugal force should be provided in  $\times g$ , not rpm, and duration and temperature of centrifugation must be included. Include volume of blood

collected, container used, and amount of preservative or anticoagulant (e.g., 10  $\mu$ L of heparin).

**Results.** RESULTS are presented in the form of tables or figures when feasible. The text should explain or elaborate on the tabular data, but numbers should not be repeated within the text. Sufficient data, all with some index of variation attached, including significance level (i.e., *P*-value), should be presented to allow readers to interpret the results of the experiment. Reporting the *P*-value is preferred to the use of the terms significant and highly significant, which are more editorial than quantitative descriptions. Thus, the *P*-value (e.g.,  $P = 0.042$  or  $P < 0.05$ ) should be presented, thereby allowing readers to decide what to reject. Other probability (alpha) levels may be discussed if properly qualified so that the reader is not misled (e.g., trends in the data).

**Discussion.** DISCUSSION contains the author's, or authors', interpretations of the results of the study. The presentation should be clear and concise, address biological mechanisms and their significance, and integrate the research findings with the body of previously published literature to provide readers with a broad base on which to evaluate the author's, or authors', interpretations and assertions. Authors may speculate, but they should make it clear that their statements are speculative, rather than factual. A stand-alone DISCUSSION should not refer to any tables or figures, nor should it include *P*-values, unless citing a *P*-value from another work. The discussion must be consistent with the data from the research.

**Results and Discussion.** In JAS, authors have the option of combining the results and discussion into one section.

**Literature Cited.** To be listed in LITERATURE CITED, papers must be published or accepted for publication ("in press"). Personal communications and unpublished data must not be included in LITERATURE CITED. Guidelines and formats for references and citations are described in the Literature Cited Section of this document.

**Tables and Figures.** Tables and figures must be prepared so they meet the stand-alone criterion; that is, information in a table or figure can be understood without referring to information in the body of the manuscript. Tables and figures shall be placed at the end of the manuscript. Each table and each figure shall be placed on a separate page (separated with section breaks) and identified with table and figure numbers. Author-defined abbreviations must be defined (or redefined) in each table and figure. Manufacturer name and location must be provided for any proprietary product appearing in a table or figure.

Tables must be created using the table feature in MS Word (for instructions, see Guidelines for Creating Tables Using Microsoft Word (<http://www.animalsciencepublications.org/files/publications/jas/wordtableguidelines-jas.pdf>). Refer to a recent issue of JAS for examples of table construction. When possible, tables should be organized to fit across the page (i.e., portrait layout) without running broadside (i.e., landscape). Each column must have a heading (e.g., Item, Ingredient, Trait, Fatty acid). Units (e.g., kg) should be separated from headings by a comma, rather than being shown in parentheses. Limit the data field to the minimum needed for meaningful comparison within the accuracy of the methods. In the body of the table, numerals are used to reference footnotes. Each footnote should begin on a new line. Lowercase, superscript letters are used to indicate significant differences among means within a row or column and to reference footnotes explaining how to interpret the letters.

Figures should follow the Quality Guidelines for Journal of Animal Science (JAS) Figures (<http://www.animalsciencepublications.org/files/publications/jas/infora-guidelines-for-figures.pdf>). Figure captions should be typed double-spaced on a separate page. Now that JAS is a fully electronic publication, authors are encouraged to use color to enhance figures; there are no additional fees for color figures and images in issues of JAS.

Individuals may purchase print-on-demand copies of JAS issues from Sheridan Press. Print-on-demand copies will contain gray-scale, rather than color, figures and images. To purchase these, contact Sheridan at *Journal of Animal Science* or American Society of Animal Science, PO Box 465, Hanover, PA 17331 P: 717-632-3535, F: 717-633-8920, E: [pubsvc.tsp@sheridan.com](mailto:pubsvc.tsp@sheridan.com).

**Appendices.** An appendix or appendices are optional and used to provide numerical examples or give extensive detail of analytical procedures. However, if the supplemental material is of interest only to a limited number of JAS readers, it should not be included as an appendix. Instead, state that supplemental information is available on request from the corresponding author; addresses for websites with appropriate supplemental information are acceptable. If extensive, the data may be included as an e-supplement to the manuscript (see E-Supplements). Appendices should follow LITERATURE CITED and be introduced with a major heading (e.g., APPENDIX 1: TITLE).

**E-Supplements.** Authors may present material in an e-supplement (e.g., detailed data sets, Excel files, and video) that is more extensive or detailed than necessary for a JAS article. A note will appear in the JAS article that more material can be found online. Material in an e-supplement must undergo peer review and, thus, should be in a format that is easily accessible (i.e., does not require dedicated software or software that is not generally available) to most reviewers and readers.

### **Additional Usage Notes**

**Numbers.** For details, see Policies Regarding Number Usage for Journal of Animal Science later in this document.

**Abbreviations.** Except to begin a sentence and when specifically contraindicated (e.g., units of time should only be abbreviated when used with a number), authors must use the abbreviations that are listed in this document under STANDARD JAS ABBREVIATIONS. Abbreviations in the text that are not listed in STANDARD JAS ABBREVIATIONS must be defined at first use, unless they are international abbreviations for elements, units of measure, amino acids, and chemicals, as examples. Abbreviations listed in STANDARD JAS ABBREVIATIONS or standard international abbreviations cannot be used to create author-defined abbreviations (e.g., t = metric ton and cannot be used as an abbreviation for time, temperature, or treatment; C = carbon and cannot be used for Control).

Once defined, author-defined abbreviations should always be used, except to begin a sentence. Authordefined abbreviations must be defined in the abstract and redefined at first use in the body of the manuscript, in each table, and in each figure. Authors should avoid excessive use of author-defined abbreviations.

**Gene and Protein Names.** Because there is no universally accepted style for gene and protein names that applies to all species, the *JAS* asks authors to assume the responsibility of using the convention appropriate for the particular species. Some general guidelines can be found in the *CSE Manual for Authors, Editors, and Publishers* (7th ed., 2006). For example, the gene that codes for the protein p53 is *TP53* in humans and *Trp53* in mice (note that, by convention, gene names are italicized, and protein names are generally not italicized).

**Quantitative Trait Loci and DNA Markers and Microarray Data.** Authors of papers that contain original quantitative trait loci (QTL) or DNA marker association results for livestock are strongly encouraged to make their data available in an electronic form to one of the publicly available livestock QTL databases *after the* manuscript appears on the JAS First Look website (<http://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/first-look>). The date on which the paper is posted to the JAS-Papers in Press website may represent the official public disclosure date for the contents of the article. Current QTL databases for livestock include, but may not be limited to, the Animal QTL database (<http://www.animalgenome.org/QTLdb>) and the Bovine QTL database (<http://genomes.sapac.edu.au/bovineqtl/index.html>). Similarly, for microarray data we request that all authors using microarray data analysis in their research submit a complete data set to 1 of 3 databases before submission of a

manuscript: the NCBI Gene Expression Omnibus (GEO; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/geo>), the EMBL-EBI ArrayExpress repository (<http://www.ebi.ac.uk/arrayexpress>), or the Center for Information Biology Gene Expression (CIBEX) database.

**Commercial Products.** The use of names of commercial products should be minimized. When a commercial product is used as part of an experiment, the manufacturer name and location (city and state if in the US; city, administrative region or district [e.g., province], and country if outside the US) or a website address must be given parenthetically at first mention in text, tables, and figures. The generic name should be used subsequently. No <sup>TM</sup>, ®, or © symbols should be used.

### **General Usage.**

- Abbreviations are not used to begin sentences. Words must be spelled out.
- “Sex” should be used, rather than “gender.” Gender is more appropriate for describing a role in society than for describing biological sex.
- State total sample size (e.g., the study included a total of 600 animals), rather than using “N” to represent total sample size.
- The hierarchy for brackets and parentheses is [ ( ) ]. For example,  $[(2 + 3) \times (12 \div 2)] \times 2 = 60$ .
- Meat shear force should be expressed in kilograms (kg), although newtons (N) may also be acceptable.
- Report time using the 24-h system (e.g., 1410 h rather than 2:10 p.m.).
- Use italics to designate genus and species (e.g., *Bos taurus*) and botanical varieties (e.g., *Medicago sativa* var. Potomac). Designations for botanical cultivars should be preceded by “cv.” Or enclosed in single quotes (e.g., *Festuca arundinacea* cv. Kentucky 31 or *Festuca arundinacea* ‘Kentucky 31’).
- Names of muscles are not italicized.
- Specify the basis (i.e., as-fed or dry matter) for dietary ingredient and chemical composition data listed in text or in tables. Similarly, specify the basis for tissue composition data (e.g., wet or dry basis).
- Calculations of efficiency should be expressed as output divided by input (i.e., gain:feed, not feed:gain).
- A diet is a feedstuff or a mixture of feedstuffs; a ration is the daily allotment of the diet.
- The word “Table” is capitalized and never abbreviated.

- 
- Except to begin a sentence, the word “Figure” should be abbreviated to “Fig.”
- Except to begin a sentence, experiment and equation should be abbreviated to Exp. And Eq., respectively, when preceding a numeral (e.g., Exp. 1).
- Avoid jargon unfamiliar to scientists from other disciplines. Do not use the term “head” to refer to an animal or group of animals. Instead, use animal, sow, ewe, steer, heifer, cattle, etc.
- Avoid bi- as a prefix because of its ambiguity; biweekly means twice per week and once every 2 weeks.
- Breed and variety names should be capitalized (e.g., Landrace and Hereford).
- Trademarked or registered names should be capitalized, but no ™ or ® symbols should be used.

## II. POLICIES AND PROCEDURES OF *JAS*

The mission of the American Society of Animal Science (ASAS) is to “foster the discovery, sharing, and application of scientific knowledge concerning the responsible use of animals to enhance human life and well-being” (<https://asas.org/about-asas/history-and-mission>). The *Journal of Animal Science*, which is published monthly by ASAS, accepts manuscripts presenting information for publication with this mission in mind.

The *JAS* is divided into the following Sections: Animal Genetics; Animal Nutrition: Nonruminant Nutrition; Animal Nutrition: Ruminant Nutrition; Animal Physiology; Animal Production; Animal Products; Special Topics; and Symposia, which contains invited manuscripts from symposia at ASAS meetings. Manuscripts that do not fit one of the *JAS* Sections will not be considered for publication.

The Editor-in-Chief, Associate Editor-in-Chief, Managing Editor, and Section Editors establish the editorial policies of *JAS*, subject to review by the publications committee and ASAS Board of Directors. The views expressed in articles published in *JAS* represent the opinions of the author(s) and do not necessarily reflect the official policy of the institution with which an author is affiliated, the ASAS, or the *JAS* Editor-in-Chief. Authors are responsible for ensuring the accuracy of collection, analysis, and interpretation of data in manuscripts and ultimately for guaranteeing the veracity of the contents of articles published in *JAS*.

### **Contact Information**



For information on the scientific content of the journal, contact the Editor-in-Chief, Dr. James Sartin, American Society of Animal Science, P.O. Box 7410, Champaign, Illinois 61826-7410; e-mail: [jsartin@asas.org](mailto:jsartin@asas.org).

For questions about submitting a manuscript and ScholarOne Manuscripts, contact Mr. Brett Holte, Submission Services Manager; e-mail: [bholte@sciencesocieties.org](mailto:bholte@sciencesocieties.org).

For assistance with author proofs, contact Ms. Emily Mueller, Managing Editor; e-mail: [emueller@sciencesocieties.org](mailto:emueller@sciencesocieties.org).

### ***Care and Use of Animals***

All authors submitting to *JAS* must complete the Care and Use of Animals form certifying that any research that involves animals has followed established standards for the humane care and use of animals and must specify which standards were used. Only investigations that have followed high standards for the humane care and use of animals in research will be reported in *JAS*.

Also, the manuscript must include a statement of institutional animal care and use committee (IACUC), or equivalent, approval of all animal procedures. The IACUC statement should appear as the first item in MATERIALS AND METHODS and should specify which publically available animal care and use standards were followed (e.g., ADSA-ASAS-PSA Guide for Care and Use of Agricultural Animals in Research and Teaching; Primary Industries Ministerial Council, Model code of practice for the welfare of animals: the sheep). The manuscript should describe anesthetics, analgesics, tranquilizers, and care taken to minimize pain and discomfort during preoperative, operative, and postoperative procedures. If research requires discomfort to the animals or stressful conditions, justification for these conditions must be evident in papers published in *JAS*.

### ***Protection of Human Subjects***

In the United States, federally funded or regulated research involving human subjects must comply with Code of Federal Regulations (CFR), Title 45 Public Welfare, Part 46 Protection of Human Subjects. However, CFR 45 Part 46.101(b) exempts some research from these regulations. For all exempted research and other details, see <http://www.hhs.gov/ohrp/humansubjects/guidance/45cfr46.html>. Exempted research includes that in which the only involvement of human subjects is for “taste and food quality evaluation and consumer acceptance if 1) wholesome foods without additives are consumed or 2) a food is consumed that contains a food ingredient at or below the level and for a use found to be safe, or agricultural chemical or environmental contaminant at or below the level found to be safe, by the Food and Drug Administration or approved by the Environmental Protection Agency or the Food Safety and Inspection Service of the U.S. Department of Agriculture.” If human subjects were used in exempted research and the research was in compliance with CFR 45 Part 46, or equivalent regulations where the research was conducted, authors

must state in MATERIALS AND METHODS or acknowledgements that they were in full compliance. If human subjects were used in research that was not exempted in CFR 45 Part 46, or equivalent regulations where the research was conducted, authors must certify that the research received a priori approval from an appropriate Institutional Review Board.

### ***Conflict of Interest***

All *JAS* editors, ASAS staff, ASAS Board of Directors, and submitting authors must disclose any actual or potential conflicts of interest that may affect their ability to objectively present or review research or data. This generally includes any relevant professional, personal, political, intellectual, religious, or financial interest in, or relationship with, an individual or business that could have an actual or perceived influence, positive or negative, on the conduct and publication of the research or data. Financial relationships generally refer to financial benefits accrued to authors through avenues such as salary, consulting fees, honoraria (including paid holidays, use of vacation property, country club privileges, and other nonmonetary rewards for service), intellectual property rights, royalties, business ownership, and investments, other than diversified mutual funds or the equivalent.

Disclosures for *JAS* authors are to be provided as an acknowledgement on the title page of a manuscript (for instructions, see ***Title Page***). The *JAS* may use such information as a basis for editorial and publication decisions, and may publish such disclosures if that is deemed relevant and sufficient. The *JAS* editors, ASAS staff, and ASAS Board of Directors with actual or potential conflicts of interest that may affect their ability to objectively evaluate or manage a manuscript will be prevented from gaining access to the manuscript and associated documents, unless they are an author or coauthor, in which case ScholarOne Manuscripts will limit their access to the Corresponding Author Center. When the current Editor-in-Chief, for example, has an actual or potential conflict of interest with a manuscript, a former Editor-in-Chief will assume the responsibilities of the Editor-in-Chief for that manuscript.

### ***Types of Articles***

Articles published in *JAS* encompass a broad range of research topics in animal production and fundamental aspects of genetics, nutrition, physiology, and preparation and utilization of animal products. Many articles are multidisciplinary and cannot be conveniently categorized. Articles typically report research with cattle, goats, pigs, and sheep. However, studies involving other farm animals (e.g., poultry and meat and working horses) and companion animals, including performance and recreational horses, aquatic, and wildlife species will be considered for publication. Studies with laboratory animal species

that address fundamental questions related to the biology of livestock, companion animals, and other managed animals may be considered.

The preceding paragraph is not meant to exclude manuscripts but, rather, is a clarification of the focus of *JAS*. Authors may contact the Editor-in-Chief or Associate Editor-in-Chief if there are questions about whether the topic of a manuscript is appropriate for *JAS*.

*Research Articles.* Results of research contained in manuscripts submitted to *JAS* must not have been published in or submitted previously to a peerreviewed scientific journal. Previous presentation at a scientific meeting or the use of data in field-day reports or similar documents, including press publications or postings to personal or departmental websites, do not preclude the publication of such data in *JAS*. However, abstracts, proceedings papers, field-day reports, or similar presentations that are expanded to produce full-length manuscripts should be referenced and cited in *JAS* manuscripts. Articles simultaneously posted to websites and submitted to *JAS* should carry a disclaimer on the website that this version of the paper has not undergone *JAS* peerreview and is not to be considered the final published form of the article. If the article has been published in *JAS*, the author should include the complete *JAS* citation so that proper credit can be given to *JAS* as the publisher of the article. Because *JAS* holds the copyright to articles it publishes, posting altered *JAS* articles that are represented as exact duplicates of the published version constitutes copyright violation.

*Review Articles.* The journal publishes invited review articles. The Editor-in-Chief, in consultation with the Associate Editor-in-Chief, Section Editors, and the ASAS Board of Directors, identifies invited reviews. Section Editors may solicit proposals for review articles to be published in *JAS*, after consultation with and approval by the Editor-in-Chief; the authors may be responsible for a portion of the publication charges for invited reviews. Unsolicited review articles will not be considered.

*Special Topics.* This Section includes Biographical or Historical Sketches and Contemporary Issues in the animal sciences. Even though Biographical or Historical Sketches are part of the Special Topics Section, they will be published on the ASAS website and in the Association News section of *JAS*. The frequency of publication depends on the availability of the prepared sketches. For more information, see <http://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/infora>.

Contemporary Issues include topics such as environmental concerns, legislative proposals, systems analysis, and various “newsworthy” scientific issues. Even though Contemporary Issues manuscripts do not have to include original data, authors’ assertions should be substantiated with references to established information from credible published sources.

Special Topics papers will be subject to peer review in a manner similar to other *JAS* submissions. Because of the nature of these manuscripts, their format may vary from that of standard scientific articles, although ABSTRACT and INTRODUCTION must be consistent with keystroke (characters and spaces) limitations defined earlier in this document.

Teaching articles should be submitted to *Natural Sciences Education*, which is a joint venture of several professional societies, including the ASAS. Articles in *Natural Sciences Education* are “written by and for educators in extension, universities, industry, administration, and grades K–12” and highlight teaching techniques, concepts, ideas, and other teaching-related issues. The goal is build a portfolio of teaching-related articles that can be accessed at a single location. For detailed information about Natural Sciences Education, see <https://www.agronomy.org/publications/nse>.

Rapid Communications. *JAS* is now considering rapid publication of short communications that are considered novel and highly significant to animal science. Submitted papers should follow *JAS* guidelines, but are restricted to 2 figures or tables or a combination of 1 figure/1 table. The final published paper will be no more than 5 printed pages (approximately 15 Word file pages). A *JAS* Section Editor handles the review and outcome is to accept or reject the paper. The reviews will generally be complete by 2 weeks and if accepted, added to the First Look page within 2 days and placed in the next available journal issue. If significant revisions are needed, the Section Editor will reject the manuscript and require a new submission. Generally there will not be a revision. All papers are subject to the \$100 submission fee (applied towards publication if accepted). The manuscript will be published **Open Access** and the fee for publication of this rapid format will be \$1,000 (members) and \$2,000 (nonmembers).

*Technical Notes.* A technical note is used to report a new method, technique, or procedure of interest to *JAS* readers. When possible, a technical note should include a comparison of results from the new method with those from previous methods, using appropriate statistical tests. The advantages and disadvantages of the new procedure should be discussed. When typeset for publication, a technical note shall not exceed 10 pages (approximately 18 Microsoft Word document pages), including tables and figures. “Technical note:” shall be the first portion of the title of such manuscripts. The review process for a technical note will be the same as that for other manuscripts. Information that is more extensive or detailed than necessary for a Technical note may be presented in an e-supplement (see ***E-Supplements***). Short communications, brief communications, and similar types of articles will not be considered for publication in *JAS*.

*Letters to the Editor.* A letter judged suitable for publication will be printed in a “Letters to the Editor” section of *JAS*. The purpose of this section is to provide a forum for scientific exchange relating to articles published in *JAS*. To be

acceptable for publication, a letter must adhere to the following guidelines. 1) Only a letter that addresses matters of science and relates to information published in *JAS* will be considered. In general, a letter should not exceed 5,000 keystrokes and should contain no more than 5 citations. 2) A letter should provide supporting evidence based on published data for the points made or must develop logical scientific hypotheses. A letter based on conjecture or unsubstantiated claims will not normally be published. No new data may be presented in a letter. 3) The Editor-in-Chief will evaluate each letter and determine whether a letter is appropriate for publication. If a letter is considered appropriate, the author(s) of original *JAS* article(s) will be invited to write a letter of response. Normally both letters will be published together. 4) All letters will be subject to acceptance and editing by the Editor-in-Chief and editing by a technical editor.

### **SUBMISSION OF MANUSCRIPTS**

Manuscripts should be submitted electronically through ScholarOne Manuscripts at <http://mc.manuscriptcentral.com/jas>. Authors with questions about using the electronic manuscript submission system or, for technological reasons, are unable to submit manuscripts electronically may contact Mr. Brett Holte ([bholte@sciencesocieties.org](mailto:bholte@sciencesocieties.org)). Please note: beginning in 2016, *JAS* will institute a submission fee equivalent to the page charges for one page at the membership rate. The submission fee must be paid at the time of publication, but will be credited towards total page charge fee if the article is published. Please note: the submission fee is not refundable if the article is rejected.

### ***Copyright Agreement***

Authors shall complete the Manuscript Submission and Copyright Release form for each new manuscript submission. The form is completed during the submission process through ScholarOne Manuscripts. Authors, such as United States government employees, who are unable to grant copyright to ASAS must indicate the reason for exemption on the form; material that was produced as an official duty of a U.S. Government employee is considered public domain. The American Society of Animal Science holds the copyright to material published in *JAS*. Persons who wish to reproduce material in *JAS* must request written permission to reprint copyrighted information from the Managing Editor, Ms. Emily Mueller ([emueller@sciencesocieties.org](mailto:emueller@sciencesocieties.org)). Likewise, authors of *JAS* manuscripts who include material (usually tables or figures) taken from other copyrighted sources must secure permission from the copyright holders and provide evidence of this permission at the time the manuscript is submitted to *JAS* for review. Tables or figures reproduced from the work of others, or data extracted from the work of others and used to construct summary tables (or figures) or for meta-analyses, must include an acknowledgement of the original

source in a footnote or legend and, when appropriate, a complete citation in LITERATURE CITED. The ASAS, however, grants to the author(s) of *JAS* articles the right of republication in any book of which he or she is author or editor, subject only to his or her giving proper credit in the book to the original *JAS* publication of the article by ASAS.

## REVIEW OF MANUSCRIPTS

**General Procedures.** The Editor-in-Chief, Associate Editor-in-Chief, and Section Editors determine whether manuscripts are suitable for publication in *JAS*. All communications about a submitted manuscript should maintain confidentiality. The Associate Editor-in-Chief and Section Editors handle correspondence with the peer reviewers and corresponding author and promptly decide whether a manuscript should be accepted, revised, or rejected. A Section Editor's decision to accept, invite revision, or reject a manuscript after peer review is based on peer-reviewer comments and recommendations and the Section Editor's own review of the manuscript. Section Editors forward document files for accepted and rejected manuscripts to the Editor-in-Chief. After acceptance, manuscript files are forwarded to the technical editors. The Editor-in-Chief is the final arbiter concerning acceptance or rejection of manuscripts submitted for publication.

**Rejections.** Manuscripts are rejected for 3 general reasons. 1) The substance of the manuscript may not meet *JAS* standards; the work may be incomplete, the evidence may not support the conclusions, the experimental approach may be poorly conceived, or the work may repeat established fact or represent no advancement of the existing knowledge. 2) Even though the work may be sound and the results valid, the paper may be better suited for publication elsewhere. 3) Manuscripts are not written clearly, concisely, and coherently, or they are not consistent with guidelines in the 2016 Instructions for Authors, *Journal of Animal Science*. These manuscripts may be rejected without review. Authors whose first language is not English are urged to have an editing service review their manuscripts before they are submitted to *JAS*. However, *JAS* considers the authors, and not an editing service, responsible for the content of manuscripts.

**Appeals.** If a manuscript is rejected, as a first course of action the author should discuss the matter with the Section Editor responsible for the manuscript. Decisions must be appealed to the Editor-in-Chief if the author(s) believe(s) that the judgment was erroneous or biased. A letter presenting the reasons for the appeal should be sent to the Editor-in-Chief. The Editor-in-Chief will review the author's reasons, all documents related to the manuscript, and, if necessary, consult with the Section Editor responsible for the manuscript. The Editor-in-Chief will then decide whether to accept or deny the appeal.

**Revisions.** Most manuscripts that are eventually accepted for publication are returned to the author(s) at least once for revision. All revised manuscripts must be returned to Section Editors via *JAS* Scholar- One Manuscripts. Authors will be permitted 15 days to revise and return manuscripts classified as Minor Revision and permitted 35 days to revise and return manuscripts classified as Major Revision. ScholarOne Manuscripts prompts reviewers to classify manuscripts as Minor Revision or Major Revision.

Manuscripts that exceed the revision-option deadline will be withdrawn. Extenuating circumstances may justify the need to extend the revision-option deadline. Requests for extensions must be communicated to the Section Editor responsible for the manuscript before the revision-option expires. The Revision Checklist for Authors is sent with requests for revision (<http://www.animalsciencepublications.org/files/publications/jas/jas-revision-checklist.pdf>). Authors should closely follow the Checklist.

#### **PAPERS IN PRESS, AUTHOR PROOFS, AND PUBLICATION CHARGES**

**Papers in Press.** To facilitate earlier disclosure of research results, accepted manuscripts will be assigned a digital object identifier (doi) and posted to the *JAS* First Look site (<http://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/first-look>) in the form in which they are accepted. The authors bear the primary responsibility for the content of manuscripts posted to the Papers in Press site. Because articles posted to this site have not been professionally edited and typeset, and are frequently changed in response to questions from editors, they do not represent the final, published form of the manuscript. The date a complete monthly issue of *JAS* is posted online is the official publication date for *JAS* articles. However, the date on which a manuscript is posted to the *JAS*-Papers in Press website may represent the official public disclosure date for the contents of the article. Authors concerned about intellectual property issues, such as patents and disclosure dates, should seek legal counsel before submitting manuscripts to a scientific journal.

**Author Proofs.** Accepted manuscripts are forwarded to the editorial office for technical editing and typesetting. During this process, the technical editor may add queries to ask the authors for missing information, to clarify points, or to update figures. The manuscript is then typeset, figures processed, and author proofs (also called galley proofs) prepared. Queries are included in the galley proofs. Correspondence concerning the accepted manuscript should be directed to the Managing Editor. Proofs of all manuscripts will be provided to the corresponding author and should be read carefully and checked against the typed manuscript. Accuracy of the author proof is the sole responsibility of the author(s). Corrections may be returned by e-mail (preferred), or by fax if necessary. For faxed corrections, changes to the proof should be made neatly and clearly in

the margins of the proof. Notes created with Adobe editing tools and pointing to specific locations for corrections are preferred. Changes e-mailed to the Managing Editor, if not noted directly on the Adobe PDF file, must indicate page, column, and line numbers for each correction to be made on the proof. Editor queries should be answered on the galley proofs; failure to do so may delay or prevent publication. Excessive author changes made at the proof stage may result in a \$250 surcharge for additional typesetting, and they may be deemed so excessive that the manuscript will be returned to the Section Editor for additional scientific review.

**Publication Charges and Reprints.** The journal has 2 options available for publication: open access and conventional page charges. For the open access option, authors will pay the open access fee when proofs are returned to the editorial office so that their article will become freely available upon publication in an online issue of *JAS*. Charges for open access publication are \$2,500 per article if at least one author is a current professional member of ASAS; the charge is \$3,250 when no author is a professional ASAS member. For conventional publication, the charge is \$100 per printed page in *JAS* if at least one author is a professional ASAS member; the page charge is \$200 when no author is a professional member of ASAS. Reprints may be ordered at an additional charge. Professional membership in ASAS is available to any person who has research, educational, commercial, or administrative responsibilities or interests in the broad disciplines within animal science. Complete details are available at the following website: [www.asas.org/membership-services/member-information](http://www.asas.org/membership-services/member-information). When the author proof is sent, the author is asked to complete a reprint order form requesting the number of reprints desired and the name of the institution, agency, or individual responsible for publication charges. Now that *JAS* is a fully electronic publication, there are no additional charges for color figures and images that appear in electronic issues of *JAS*. However, authors who order reprints are responsible for paying any additional charges for printing reprints that contain color.

#### **STANDARD *JAS* ABBREVIATIONS**

The following abbreviations should be used without definition in *JAS*. Plural abbreviations do not contain a final “s” because the context of an abbreviation implies whether it is singular or plural. Use of the standard 3-letter abbreviations for amino acids (e.g., Ala) is acceptable in *JAS*. Use of the internationally recognized chemical symbols for chemical elements (e.g., P and S) is acceptable in *JAS*. Except for N (not italicized), which is the recognized abbreviation for nitrogen and newton (unit of force), chemical symbols for elements are reserved for elements (e.g., C is for carbon and never for control). For chemical units and abbreviations, refer to the ACS Style Guide (published by the American Chemical Society, Washington, DC).



## **LITERATURE CITED GUIDELINES FOR *JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE***

**References in the Text.** In the body of the manuscript, refer to authors as follows: Smith and Jones (1992) or Smith and Jones (1990, 1992). If the sentence structure requires the authors' names to be included in parentheses, the proper format is (Smith and Jones, 1982; Jones, 1988a,b; Jones et al., 1992, 1993). When there are more than 2 authors of an article, the first author's name is followed by the abbreviation et al. More 1 article listed in the same sentence or parentheses must be in chronological order first and alphabetical order for 2 publications in the same year. Published, peer-reviewed articles, and not abstracts, should be cited. However, if authors originally described their work in a meeting abstract, proceedings paper, fieldday report, or similar presentation and then expanded the information to produce a full-length manuscript, the authors should reference and cite those reports. If the work was someone else's and originally described in an abstract, proceedings paper, field-day report, or similar presentation, the authors should determine whether the work has been expanded and published as a peer-reviewed article, and then reference and cite the peer-reviewed article.

Work that has not been accepted for publication shall be listed in the text as "J. E. Jones (institution, city, and state or country, personal communication)." The author's own unpublished work should be listed in the text as "(J. Smith, unpublished data)." Personal communications and unpublished data must not be included in the Literature Cited section.

**Literature Cited Section.** To be listed in LITERATURE CITED, articles must be published or accepted for publication ("in press"). In-press citations should be updated with complete information during revision or in the author proofs. In LITERATURE CITED, citations are listed alphabetically according to author(s) last name(s), and then chronologically. The year of publication follows author names. As with text references, 2 or more publications by the same author or set of authors in the same year shall be differentiated by adding lowercase letters after the date. With the exception of consortia, the names of all authors must appear in LITERATURE CITED. For consortia, authors may include, as an acknowledgement on the title page, a link to the website containing the names and locations of the members of the consortium, or they may include the names and locations of the members of the consortium in an appendix, but not in an acknowledgement on the title page. Journal names shall be abbreviated according to the conventional ISO abbreviations used by PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>). One-word titles must be spelled out. Inclusive page numbers must be provided.

Sample references are as follows:

### **1. Books and articles within edited books:**

- AOAC. 1990. Official methods of analysis. 15th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington, VA.
- NRC. 2000. Nutrient requirements of beef cattle. 7<sup>th</sup> rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Robinson, P. H., E. K. Okine, and J. J. Kennelly. 1992. Measurement of protein digestion in ruminants. In: S. Nissen, editor, Modern methods in protein nutrition and metabolism. Academic Press, San Diego, CA. p. 121–127.

## **2. Handbooks, technical bulletins, theses, and dissertations**

- Goering, H. K., and P. J. Van Soest. 1970. Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures, and some applications). Agric. Handbook No. 379. ARS-USDA, Washington, DC.
- Shreck, A. L., C. D. Buckner, G. E. Erickson, and T. J. Klopfenstein. 2011. Digestibility of crop residues after chemical treatment and anaerobic storage. In: 2011 Nebraska Beef Cattle Report. Rep. No. MP94. Univ. of Nebraska, Lincoln. p. 35–36.
- Sigma. 1984. Total hemoglobin: Quantitative, colorimetric determination in whole blood at 530–550 nm. Tech. Bull. No. 525. rev. ed. Sigma Chemical, St. Louis, MO.
- Ward, J. D. 1995. Effects of copper deficiency on performance and immune function of cattle. PhD Diss. North Carolina State Univ., Raleigh.

## **3. Journal articles and abstracts**

- Centon, J. R., G. E. Erickson, T. J. Klopfenstein, K. J. Vander Pol, and M. A. Greenquist. 2007. Effects of roughage source and level in finishing diets containing wet distillers grains on feedlot performance. *J. Anim. Sci.* 85(Suppl. 2):76. (Abstr.) doi:10.2527/jas.2006-354 (**NOTE**: The doi is now considered part of a citation.)
- Cleale, R. M., IV, R. A. Britton, T. J. Klopfenstein, M. L. Bauer, D. L. Harmon, and L. D. Satterlee. 1987a. Induced non-enzymatic browning of soybean meal. II. Ruminal escape and net portal absorption of soybean protein treated with xylose. *J. Anim. Sci.* 65:1319–1326. (**NOTE**: Articles published before circa 2005 may not have a doi.)
- Perez, V. G., A. M. Waguespark, T. D. Bidner, L. L. Southern, T. M. Fakler, T. L. Ward, M. Steidinger, and J. E. Pettigrew. 2011. Additivity of effects from dietary copper and zinc on growth performance and fecal microbiota of pigs after weaning. *J. Anim. Sci.* 89:414–425. doi:10.2527/jas.2010-2839
- Revidatti, M. A., J. V. Delgado Bermejo, L. T. Gama, V. Landi Periat, C. Ginja, L. A. Alvarez, J. L. Vega-Pla, A. M. Martínez, and BioPig Consortium. 2014. Genetic characterization of local Criollo pig breeds from the Americas using microsatellite markers. *J. Anim. Sci.* 92:4823-4832. doi: 10.2527/jas.2014-7848

The Bovine Hap Map Consortium. 2009. Genomewide survey of SNP variation uncovers the genetic structure of cattle breeds. *Science*. 324:528- 532. doi 10.1126/science.1167936

#### 4. Conference proceedings

Bailey, E. A., J. R. Jaeger, J. W. Waggoner, G. W. Preedy, L. A. Pacheco, and K. C. Olson. 2012. Effect of weaning method on welfare and performance of beef calves during receiving. *Proc. West. Sec. Amer. Soc. Anim. Sci.* 63:25-29.

NMC. 1995. Summary of peer-reviewed publications on efficacy of premilking and postmilking teat disinfections published since 1980. In: *Natl. Mastitis Counc. Reg. Meet. Proc.*, Harrisburg, PA. *Natl. Mastitis Counc.*, Arlington, VA. p.82–92.

Talmant, A., X. Fernandez, P. Sellier, and G. Monin. 1989. Glycolytic potential in longissimus dorsi muscle of Large White pigs as measured after in vivo sampling. In: *Proc. 35th Int. Congr. Meat Sci. Technol.*, Copenhagen, Denmark. p. 1129.

Van der Werf, J. H. J. 1990. A note on the use of conditional models to estimate additive genetic variance in selected populations. *Proc. 4th World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod.*, Edinburgh, Scotland XIII:476–479.

#### 5. Electronic Publications

FDA. 2014. Approved animal drug products online (Green Book). <http://www.fda.gov/AnimalVeterinary/Products/ApprovedAnimalDrugProducts/default.htm> (Accessed 26 December 2014.)

Galyean, M. L. and P. J. Defoor. 2003. Effects of roughage source and level on intake by feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 81(E. Suppl. 2):E8–E16.

Heaton, M. P., T. S. Kalbfleisch, D. T. Petrik, B. Simpson, J. W. Kijas, M. L. Clawson, C. G. Chitko- McKown, G. P. Harhay, K. A. Leymaster, and the International Sheep Genomics Consortium. 2013. Genetic testing for TMEM154 mutations associated with lentivirus susceptibility in sheep. *PLoS ONE* 8(2): e55490. doi:10.1371/journal.pone.0055490

### **POLICIES REGARDING NUMBER USAGE FOR *JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE***

Number usage in *JAS* is consistent with the *Scientific Style and Format: The CSE Manual for Authors, Editors, and Publishers*.

- All cardinal numbers are written as numerals except when they begin a sentence or appear in a title, when 2 numerals are adjacent in a sentence (spell out the number most easily expressed in words; e.g., two 10-kg samples), or when a number is used as a figure of speech.
- Numbers less than 1 are written with a preceding (leading) zero (e.g., 0.75).

- A comma separator is used in numbers greater than 999 (e.g., 1,234 and 1,234,567).
- Numerals should be used to designate ratios and multiplication factors (e.g., 2:1 and 3-fold increase).
- Statements such as “5 times less” should be avoided because “times” means multiplied by, and the product of a positive number (multiplicand) multiplied by 5, for example, is greater, not less, than the multiplicand. The opposite is true for a negative multiplicand, but the notion of “5 times less than –5,” for example, may be not be clear to readers.
- If a number is spelled out at the beginning of a sentence, its associated unit is also spelled out (e.g., Ten microliters of fluid . . ., not Ten  $\mu\text{L}$  of fluid . . .).
- Units of measurement not associated with a number should be spelled out rather than abbreviated (e.g., lysine content was measured in milligrams per kilogram of diet) unless used parenthetically, as “lysine content (mg/kg of diet) was measured,” or in tables and figures.
- Single-digit ordinals are spelled out (i.e., first through ninth); larger ordinals are expressed in numeric form. Single-digit ordinals may be expressed numerically when they form part of a series (e.g., 1st, 3rd, 10th, 20th, not first, third, 10th, and 20th).
- Measures must be presented in the metric system (SI or *Système International d’Unités*; see <http://physics.nist.gov/cuu/Units/introduction.html>).
- When a term must be expressed in nonmetric units for clarity (e.g., bushel weight), show the nonmetric value in parentheses immediately after the metric value.
- Use “to” instead of a hyphen to indicate a numerical range in text (e.g., 1 to 10).
- Avoid the use of multiplying factors (e.g.,  $\times 10^{-6}$ ) in table columns or rows, or in figure axis labels because of the uncertainty about whether the data are to be, or already have been, multiplied by the factor.
- Avoid ambiguity by stating units (e.g., numbers of spermatozoa, millions/mL).
- Do not use more than one slant line (for “per”) in a single expression; for example, use  $5 \text{ mg}/(\text{g} \cdot \text{d})$  or  $5 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  instead of  $5 \text{ mg}/\text{g}/\text{d}$ . Mathematically, “per” implies division; when 2 “per” occur consecutively, it is unclear precisely what is being divided by what.
- Dietary energy may be expressed in calories or in joules, although joule is the standard SI unit for energy.

- Hyphenate units of measure used as preceding adjectives (e.g., 5-kg sample). Hyphens are not used with percent or degree signs.
- Insert spaces around all signs (except slant lines) of operation when these signs occur between 2 values (e.g.,  $10 \pm 1$ ;  $5 < 10$ ;  $2 + 2 = 4$ ).
- Convert “mg %” to other units, such as mg/L or mg/mL.
- Use “mol/100 mol” rather than “molar percent.”.

## VITA

Luiza de Ávila Sphor, filha de Eloá Vaz de Ávila e Jorge Luiz Sphor, nasceu na cidade de Pelotas - RS, no dia 12 de julho de 1982. Coursou o ensino fundamental no Colégio Municipal Pelotense e o ensino médio na Escola Estadual de Ensino Médio Nossa Senhor de Lourdes.

No mês de abril do ano de 2002 ingressou no curso de Agronomia da Universidade Federal de Pelotas. Durante o período de graduação foi monitora na disciplina de Genética, estagiária do setor de Fitotecnia e Zootecnia, bem como, na Estação Experimental Clima Temperado da EMBRAPA. Realizou o Estágio Curricular Obrigatório na Unidade de Ovinos do INIA La Estanzuela, Uruguai, sob supervisão da Dra. Georgget Banchemo. Titulou-se Engenheiro Agrônomo em fevereiro de 2008.

No mês de março do ano de 2009 foi aprovada no processo de seleção para o curso de Mestrado em Zootecnia pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – UFPel, sob a orientação da professora Dra. Maria Teresa Osório. O trabalho de dissertação foi desenvolvido no Uruguai, sob orientação da Dra. Georgget Banchemo e intitulou-se “*Desempenho materno-filial de ovinos da raça Ideal submetidos à tosquia pré-parto*”. Obteve o título de mestre em Zootecnia em março de 2011.

Em setembro de 2011 ingressou no curso de Doutorado em Produção Animal pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia - UFRGS, sob a orientação do professor César Henrique Espírito Candal Poli, contemplada com bolsa CAPES, desenvolveu o trabalho de tese “*Consumo voluntário e aspectos reprodutivos de ovelhas ingerindo elevados níveis de cloreto de sódio*” executado no INIA Kampenaike - Chile, sob orientação do Dr. Francisco Sales Zlata. Foi submetida à banca de defesa de tese em junho de 2016.