

EMANUEL FELIPE DE OLIVEIRA FILHO

**Aspectos nutricionais em cordeiros: Surto de ataxia enzoótica em cordeiros
e Resposta metabólica de cordeiros recebendo dietas com diferentes níveis
de glicerina bruta**

RECIFE-PE

2016



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

EMANUEL FELIPE DE OLIVEIRA FILHO

**Aspectos nutricionais em cordeiros: Surto de ataxia enzoótica em cordeiros
e Resposta metabólica de cordeiros recebendo dietas com diferentes níveis
de glicerina bruta**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Orientador: Pierre Castro Soares
Departamento de Medicina Veterinária - UFRPE

Co-Orientador: José Augusto Bastos Afonso
Clínica de Bovinos de Garanhuns - UFRPE

RECIFE-PE

2016

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA**

**Aspectos nutricionais em cordeiros: Surto de ataxia enzoótica em cordeiros
e Resposta metabólica de cordeiros recebendo dietas com diferentes níveis
de glicerina bruta**

Dissertação de Mestrado elaborada por

EMANUEL FELIPE DE OLIVEIRA FILHO

Aprovada em/...../.....

BANCA EXAMINADORA

.....
Dr. Pierre Castro Soares
Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

.....
Dra Tatiane Rodrigues da Silva
Faculdade Pio Décimo - SE

.....
Dr. José Augusto Bastos Afonso
Clínica de Bovinos de Garanhuns – UFRPE

Ficha catalográfica

- O48a Oliveira Filho, Emanuel Felipe de
Aspectos nutricionais em cordeiros: Surto de ataxia enzoótica em cordeiros e Resposta metabólica de cordeiros recebendo dietas com diferentes níveis de glicerina bruta / Emanuel Felipe de Oliveira Filho. – Recife, 2016.
81 f. : il.
- Orientador: Pierre Castro Soares.
Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina Veterinária, Recife, 2016.
Inclui referências e apêndice(s).
1. Ataxia enzoótica 2. Elementos traços 3. Metabolismo
4. Nutrição animal 5. Ruminantes I. Soares, Pierre Castro, orientador
II. Título

CDD 636.089

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, José Porfírio,
Ivanete Francisca e Josenilda de Oliveira, a
vocês toda a minha gratidão. Espero que
um dia possam entender a minha
escolha e ausência.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por estar presente em todos os momentos da minha vida, por me guiar, proteger, iluminar e abençoar sempre, por tudo o que aconteceu, acontece e acontecerá.

A toda a minha família {principalmente minha mãe (Josenilda), meu Avô e Pai (José Porfírio) e minha mãezinha (Ivanete Francisca), irmã (Elda Naate), tios (Joseane, Joselma e Marcos), primos (Ana Sofia, Júnior, Raíssa, Raiane, Vinícius e Vitor)}, mesmo não concordando e nem apoiando a minha escolha profissional e pessoal, sempre estiveram ao meu lado e nunca me desamparam.

Ao professor Dr. Pierre Castro Soares pela oportunidade de trabalho, colaboração, incentivo, ensinamentos, puxões de orelha, elogios, críticas, confiança e pela amizade.

A Daniel Nunes e Tatiane Rodrigues (Maria Lêlê) pela vivência, por me espelhar tanto pessoalmente quanto profissionalmente, pelos conselhos, críticas, auxílio, palavra amiga, elogios e pela amizade.

Aos amigos (as), Júnior Mário (Saloá), Bruno Pajeú (Brunito de Smith), Alexandre Mota (Alexandrito de Dirksen, 3M's), Gláucia Luna (Gatíssima), Luciana Pereira (Luh), Robson Honorato (Peludo), Paulo Calado (Paulinho Pompom), Ludymila Cantanhêde (Luda), Rodrigo Tenório, Felipe Rosendo, Luana Raposo, Nayra Moura, Samara Vieira, Aline Pacheco por todo carinho, amor, atenção, gargalhadas, conselhos, sugestões, confiança, ensinamentos, por todos os momentos e acima de tudo pela amizade.

A família Cavalcanti, especialmente a Dona Neide (Comadre), Sr. Edilson (Compadre), Luciana (Luh tatu), Lucas (Afilhado), Elaine, Ricardo (Ricardinho) Yago, Yan por todo carinho, amor, atenção, por todos os momentos e acima de tudo pela amizade.

A todos do Ambulatório de Grandes Animais do Hospital Veterinário da UFRPE {Alexandre Dantas (Ô Bonitão), Janaina Guimarães, Mayumi Onno (May Sam), Jefferson Ayrtton, Pollyanna Souto (Poliresidências), Leandro Lamartine (Léo), Prof. Hubber e demais servidores}.

A todos da Clínica de Bovinos de Garanhuns-CBG pelas contribuições (Dr. José Augusto, Dr. Rodolfo Souto e demais servidores).

Ao laboratório Central Analítica do Departamento de Química Fundamental da UFPE, especialmente a Prof^a Ana Paula Siqueira Paim e Taciana Kunst pela parceria, amizade e auxílio nas análises.

A Caio Costa e Gilcifran Andrade pela cooperação, parceria, amizade e auxílio nas análises.

Aos animais, todo o meu respeito e eterno agradecimento.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária da UFRPE (especialmente a Andrea Alice, Paulo Lima, Cláudio Coutinho), por todos os ensinamentos e saber compartilhado.

Ao Centro de Apoio a Pesquisa – CENAPESQ (Patrícia Oliveira, Marcelo de Andrade, Dona Edna e demais servidores).

Ao Laboratório de Patologia Animal no Hospital Veterinário do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR), na Universidade Federal de Campina Grande (UFCG/Patos/PB).

A Universidade Federal Rural de Pernambuco e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária por ser na maior parte do tempo minha segunda casa e por proporcionar a oportunidade de realização profissional e pessoal.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pela concessão da bolsa.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente na realização de mais este sonho.

EPÍGRAFE

“A busca pela excelência não deve ser um objetivo, e sim, um hábito.”

(Aristóteles)

RESUMO

Um surto de ataxia enzoótica em cordeiros foi registrado no município de Garanhuns, região agreste do estado de Pernambuco, acometendo 18 ovinos (17 fêmeas e um macho). Os animais eram criados em sistema extensivo, sem fornecimento regular na suplementação mineral, alimentados com capim *Brachiaria sp.* e capim pangola (*Digitaria decumbens*) além de água à vontade. Os ovinos foram submetidos à avaliação clínica, exames laboratoriais e anatomopatológicos. O quadro clínico dos animais variou de uma semana a 15 dias, entre os sinais merecem destaque a apatia, anorexia, emagrecimento, anemia, mudança de coloração da lã, amaurose, incoordenação dos membros pélvicos, dificuldade na locomoção com fraqueza dos membros posteriores, posição de “cão sentado”, diminuição da resposta sensitiva e motora, quedas frequentes e dificuldade para ficar em estação e episódios de diarreia. Os valores séricos obtidos de Cu foi de $(6,88 \pm 4,31 \mu\text{mol/L})$, abaixo dos valores de referência $(9-15 \mu\text{mol/L})$, a concentração de Mo $(\leq 0,05 \mu\text{mol/L})$, enquanto a de Fe foi de $(44,02 \pm 28,51 \mu\text{mol/L})$ e Zn foi de $(16,13 \pm 7,87 \mu\text{mol/L})$, estavam dentro da faixa de normalidade para a espécie. Na análise de relação entre Fe, Zn e Cu dos cordeiros acometidos de ataxia enzoótica, evidenciam-se baixa relação negativa entre a concentração sérica de Fe com Cu ($r = -0,19$) e entre a concentração sérica de Zn com Cu ($r = -0,07$). Na histopatologia, foram observados vacuolização, presença de esferoides axonais e restos mielínicos, sendo estes fagocitados por macrófagos com citoplasma espumoso, além de discreta desmielinização da substância branca. A carência primária de Cu acarreta a ocorrência da AE na região Agreste Meridional do estado de Pernambuco, visto que a deficiência foi em consequência à insuficiente ingestão deste elemento traço pela dieta e não pela ação de antagonistas como o Fe, Zn e Mo. Além disto, a carência de Cu em ovinos criados na região agreste de Pernambuco é tema importante a ser considerada na nutrição mineral, devendo ser recomendado a suplementação adequada de Cu.

Objetivou-se avaliar os efeitos da inclusão de glicerina bruta contendo 80,5% de glicerol sobre os parâmetros sanguíneos de cordeiros em confinamento. Utilizaram-se 39 cordeiros mestiços, sem padrão de raça definido, machos não castrados, com quatro meses de idade e peso corporal inicial de $21 \text{ kg} \pm 0,8 \text{ Kg}$, distribuídos em blocos casualizado à quatro tratamentos e dez repetições com níveis de inclusão de 0, 6, 12 e 18% de glicerina bruta na matéria seca (MS) da dieta. Coletas de sangue foram realizadas para análise de diferentes biomarcadores no penúltimo dia de experimento. Não foram registrados efeitos significativos da inclusão de glicerina bruta em substituição do milho na dieta de cordeiros em relação aos diferentes biomarcadores do perfil proteico, mineral e da atividade enzimática. Quando ao perfil energético, identificou-se efeito significativo apenas para a concentração plasmática de glicose ($p = 0,0003$). Na análise de regressão da concentração de glicose plasmática de cordeiros, em função do nível de consumo de glicerina bruta associada à ureia em substituição ao milho, verificou-se que quanto maior a inclusão de glicerina bruta na dieta, maior a glicemia ($r = 0,92$; $p < 0,0001$). A quantidade crescente de glicerina bruta na dieta de cordeiros em crescimento em substituição ao milho tem caráter gliconeogênico, além de que não provoca alteração metabólica de parâmetros relacionados ao perfil energético, proteico, mineral e de atividade enzimática. A glicerina bruta pode ser fornecida até 18% por manter a eficiência de consumo e promover boa resposta metabólica.

Palavra chave: Biodiesel, diagnóstico, dietas, glicerina, hipocuprose, oligoelementos, pequenos ruminantes.

ABSTRACT

The outbreak enzootic ataxia in lambs was recorded in the municipality of Garanhuns, rugged region of the state of Pernambuco, involving 18 sheep (17 females and one male). The animals were raised in extensive system without regular supply in mineral supplementation, grass fed *Brachiaria* sp. and pangola grass (*Digitaria decumbens*) as well as water ad libitum. The sheep underwent clinical evaluation, laboratory and pathology. The clinical condition of the animals ranged from one week to 15 days, between the signs are noteworthy apathy, anorexia, weight loss, anemia, change in color of the wool, amaurosis, incoordination of the hind limbs, difficulty in locomotion with weakness of the hind limbs, position of "dog sitting", decreased sensory and motor responses, frequent falls and difficulty to stay in season and episodes of diarrhea. Serum values of Cu was (6.88 ± 4.31 mmol / L) below the reference range (9-15 mmol / L), the concentration of Mo ($\leq 0,05$ mmol / L), while the Fe was (44.02 ± 28.51 mmol / L) and Zn was (16.13 ± 7.87 mmol / L), were within the normal range for the species. In the analysis of the relation between Fe, Zn and Cu of affected lambs enzootic ataxia, evidence was low negative correlation between the serum concentration of Fe with Cu ($r = -0.19$) and between serum Zn Cu ($r = -0.07$). Histopathology vacuolization were observed, the presence of axonal spheroids and myelin debris, which are engulfed by macrophages with foamy cytoplasm, together with mild demyelination of the white matter. The primary deficiency of Cu causes the occurrence of AE in South Agreste region of Pernambuco state, since the deficiency was due to inadequate intake of this trace element in the diet and not by the action of antagonists such as Fe, Zn and Mo. In addition, the lack of Cu in sheep raised in the wild region of Pernambuco is important issue to be considered in mineral nutrition and should be recommended proper supplementation of Cu.

Objective was to evaluate the effects of crude glycerin inclusion containing 80.5% glycerol on the blood parameters of lambs in confinement. They were used 39 crossbred lambs without breed standard set, uncastrated male with four months of age and initial body weight of $21 \text{ kg} \pm 0.8 \text{ kg}$, distributed in randomized blocks with four treatments and ten repetitions with inclusion levels 0, 6, 12 and 18% crude glycerine in dry matter (DM) of the diet. Blood samples were taken for analysis of different biomarkers in the penultimate day of the experiment. significant effects of the inclusion of crude glycerin in place of corn in lambs diet for the different biomarkers of protein profile, mineral and enzyme activity were not registered. When the energy profile, it identified significant effect only for the plasma glucose concentration ($p = 0.0003$). In regression analysis of plasma glucose concentration lambs, depending on the level of consuming crude glycerine associated with urea replacing corn, it was found that the higher the inclusion of crude glycerin in the diet, increased blood glucose levels ($r = 0,92$, $p < .0001$). The increasing amount of crude glycerin in the diet of lambs growing replacing corn has gliconeogênico character, and that does not cause metabolic changes of parameters related to energy profile, protein, mineral and enzyme activity. The crude glycerin can be provided up to 18% for maintaining the fuel efficiency and promote good metabolic response.

Keyword: Biodiesel, diagnosis, diets, glycerin, hipocuprosis, small ruminants, trace elements.

LISTA DE FIGURAS E IMAGENS

- Figura 1.** Animal apresentando dificuldade em manter-se em estação, apresentando incoordenação e dificuldade de locomoção dos membros posteriores, em decorrência da Ataxia Enzoótica..... **51**
- Figura 2.** Representação gráfica da análise de correlação de Pearson entre as concentrações séricas de Fe com Cu e Zn com Cu de cordeiros acometidos de ataxia enzoótica na região agreste meridional de Pernambuco, Brasil..... **53**
- Figura 3.** Imagem A - Coloração em HE, evidenciando discreta vacuolização, escassos esferoides axonais e restos mielínicos sendo fagocitados por macrófagos com citoplasma espumoso (Células Gitter). Imagem B - Coloração histoquímica de luxol *fast-blue*, evidenciando áreas com discreta desmielinização (setas)..... **53**
- Figura 1.** Representação gráfica da análise de regressão da concentração de glicose plasmática de cordeiros, em função do nível de consumindo de glicerina bruta associada à ureia em substituição ao milho..... **77**
- Imagem 1.** Cordeiros distribuídos nos grupos experimentais com níveis de 0; 6; 12 e 18 % de inclusão de glicerina bruta, experimento realizado no Departamento de Zootecnia da UFRPE..... **66**
- Imagem 2.** Acondicionamento da glicerina bruta em tonel no Departamento de Zootecnia da UFRPE..... **67**
- Imagem 3.** Acondicionamento do concentrado utilizado no experimento e da Glicerina Bruta, evidenciando a inclusão da glicerina nos níveis de 0; 6; 12; e 18 %, experimento realizado no Departamento de Zootecnia da UFRPE..... **69**

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|-----------|
| Tabela 1. Estatística descritiva e valores de referência da concentração sérica de Cu, Fe e Zn de ovinos com surto de ataxia enzoótica criados no agreste meridional de Pernambuco, Brasil..... | 52 |
| Tabela 1. Composição físico-química da glicerina bruta..... | 67 |
| Tabela 2. Composição percentual dos ingredientes e composição química das dietas..... | 68 |
| Tabela 3. Valores médios, desvios-padrão e nível de significância (<i>p</i>) de parâmetros bioquímicos do sangue de cordeiros consumindo dietas contendo glicerina bruta associada à ureia em substituição ao milho..... | 75 |
| Tabela 4. Valores médios, desvios-padrão e nível de significância (<i>p</i>) de parâmetros de atividade enzimática e perfil mineral do sangue de cordeiros consumindo dietas contendo glicerina bruta associada à ureia em substituição ao milho..... | 76 |

LISTA DE ABREVIATURAS

AE – Ataxia Enzoótica

Ca - Cálcio

Cl – Cloro

Co – Cobalto

Cu – Cobre

Cu SOD – Superóxido dismutase de cobre

Fe – Ferro

GSH-Px – Glutationa peroxidase

I – Iodo

K – Potássio

Mg – Magnésio

Mn – Manganês

Mn SOD – Superóxido dismutase de manganês

Mo – Molibdênio

MRO – Metabólitos reativos de oxigênio

Na – Sódio

P – Fósforo

S – Enxofre

Se – Selênio

SNC – Sistema nervoso central

Zn – Zinco

Zn SOD – Superóxido dismutase de zinco

AGCC – Ácidos graxos de cadeia curta

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 15 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA..... | 18 |
| 2.1. CAPÍTULO I – Surto de ataxia enzoótica em cordeiros no agreste pernambucano..... | 18 |
| 2.2. CAPÍTULO II - Resposta metabólica de cordeiros alimentados com níveis crescentes de glicerina bruta..... | 22 |
| 2.2.1. Trabalhos realizados com uso de glicerol na dieta de ruminantes..... | 26 |
| 2.2.2. Perfil metabólico..... | 30 |
| 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 33 |
| 4. OBJETIVOS..... | 45 |
| 4.1. Objetivo 1..... | 45 |
| 4.2. Objetivo 2..... | 45 |
| 5. Surto de ataxia enzoótica em cordeiros no agreste pernambucano, Brasil..... | 46 |
| 6. Resposta metabólica de cordeiros alimentados com níveis crescentes de glicerina bruta..... | 63 |

1. INTRODUÇÃO

Na pecuária brasileira o rebanho de animais de produção, em específico os ruminantes, o Estado de Pernambuco é responsável pela produção de 1.920.075 milhões de bovinos (correspondendo a 7% da produção do NE), 9.101 mil bubalinos (correspondendo a 8% da produção do NE), de 2.058.122 milhões de caprinos (correspondendo a 25% da produção do NE) e de 1.924.342 milhões de ovinos (correspondendo a 19% da produção do NE) (IBGE, 2014).

Com a intensificação nos sistemas de criação, modificações do manejo, na alimentação, condição de stress entre outros fatores são evidenciadas nos sistemas de criação de animais de produção, devido ao aumento da demanda do mercado e em busca de uma maior rentabilidade econômica. Como consequência, surgem grandes riscos a ocorrência de transtornos nutricionais e metabólicos em função de desequilíbrios entre o aporte de nutrientes, capacidade de metabolização e o nível de produção.

As doenças metabólicas ou doenças da produção podem ser provocadas pelos desequilíbrios do organismo animal, metabolismo e egressos de nutrientes (glicídeos, proteínas, minerais e água) nas fezes, urina, leite e feto. Em sua maioria, estas doenças ou distúrbios nutricionais, minerais e metabólicos são de difícil percepção e limitam a produção dos animais, acarretando perdas econômicas na pecuária (WITTWER, 2000).

Os minerais estão envolvidos em quase todas as atividades metabólicas dos animais. São elementos de suma importância para o organismo, pois atua em funções importantes na estruturação celular, resposta imunológica, manutenção da vida, e produtividade dos animais. Porém, muitos animais consomem dietas deficitárias às suas necessidades, principalmente no que diz respeito aos minerais, contendo proporções desequilibradas entre si, sendo os alimentos pobres ou ricos em determinados elementos antagonistas (TOKARNIA et al., 2000).

Segundo ORTOLANI (2002), comumente diferentes animais podem apresentar carências ou excesso dos vários elementos minerais necessários ao organismo. Para compensar o desequilíbrio, antes que afete o organismo consideravelmente, uma série de mecanismos de homeostase do metabolismo entra em ação. Ainda segundo o autor, quando o balanço de um elemento estiver negativo (excreção maior que a absorção ou aporte e/ou disponibilidade na dieta não for suficiente), inicia-se o quadro da deficiência.

Em se tratando de outras regiões do estado de Pernambuco, como a região Agreste Meridional Pernambucano, onde está localizada a bacia leiteira do estado e também o

agronegócio de importante contingente de criação de caprinos e de ovinos, nunca foi registrado a ocorrência de surto de carência de Cu, quer seja primária ou secundária, ou mesmo se de origem congênita ou tardia na sua forma clínica. O registro de situações de enfermidades de ordem nutricional é relevante, uma vez que permite a comunidade científica divulgar o problema e possibilitar medidas consideráveis de controle, por meio de orientação técnica para a correção do problema.

Na alimentação dos ruminantes, algumas fontes de lipídeos podem ser utilizadas como fonte energética como o sebo animal, sementes de oleaginosas (algodão, o girassol e a soja), além do uso da glicerina bruta (GB), coproduto do processamento para a obtenção do biodiesel, por ser um precursor gliconeogênico (LÓPEZ et al., 2004). Segundo VARGAS et al. (2002) para suprir as necessidades energéticas e garantir o desempenho produtivo, é necessário assegurar uma adequada ingestão de energia. O fornecimento de fontes lipídicas na alimentação de animais de produção vem sendo utilizada na tentativa de aumentar a capacidade de absorção de vitaminas, fornecimento de ácidos graxos e precursores para regulação metabólica.

Tem sido preocupante a origem de subprodutos derivados de combustíveis renováveis e, entre estes, encontra-se o glicerol, um composto oriundo da produção de biodiesel, presente em plantas e sementes oleaginosas. A indústria absorve boa parte dessa produção sendo incapaz de utilizar integralmente o glicerol, e com o excedente, pesquisadores têm testado em dietas para ruminantes. Esse composto é um intermediário do metabolismo dos carboidratos e lipídios, podendo assim, contribuir com o adensamento energético da dieta (LAGE et al., 2010; ARAÚJO et al., 2013; CUNHA et al., 2014).

Em diversos estudos realizados é possível observar que a glicerina bruta pode ser incluída na dieta dos animais ruminantes, sem causar efeitos negativos sobre a fermentação ruminal, desempenho, características de carcaça e qualidade da carne, sendo necessário conhecer a composição da glicerina para a sua correta aplicação, pois quanto mais pura a glicerina, maior será a sua inclusão na dieta em substituição ao milho, no entanto, o seu custo pode ser mais elevado, em comparação aquela com menor teor de glicerol (CUNHA et al., 2014).

Além disso, avaliações do uso de glicerol para pequenos ruminantes são estudos recentes, sendo necessário aprofundá-los para recomendar com maior clareza, níveis adequados de inclusão e a relação quanto à pureza do subproduto oferecido (ARAÚJO et al., 2013). Portanto, os diferentes resultados encontrados na literatura podem ser devido aos

níveis de pureza da glicerina, ao teor de glicerol, teor de metanol e porcentagem de lipídeos que podem influenciar no desempenho dos animais.

Tendo em vista as modificações, adaptações e resposta metabólica que os animais podem ou não apresentar clinicamente, há uma necessidade real de maiores conhecimentos com relação ao status de mineralização de ovinos e a resposta metabólica ao fornecimento de glicerina líquida. Este trabalho teve como objetivo descrever um surto de ataxia enzoótica, bem como a resposta metabólica de cordeiros alimentados com diferentes níveis de glicerina líquida.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. CAPÍTULO I – SURTO DE ATAXIA ENZOÓTICA EM CORDEIROS NO AGRESTE PERNAMBUCANO, BRASIL

Os minerais, também conhecidos como cinzas, podem ser quantificados entre 2 a 5 % do peso vivo (PV) dependendo da espécie, raça, indivíduo, idade, sexo, tipo e nível de produção, adaptação do animal, nível e estrutura química do mineral no alimento e suas inter-relações com os outros nutrientes dietéticos. Através da análise dos minerais é possível detectar a presença de cerca de 36 elementos minerais, sendo 25 considerados como essenciais ao organismo (SPEARS, 1998).

Os minerais desempenham três funções essenciais no organismo animal, sendo a participação estrutural dos tecidos, como o Ca, P, Mg e Fe, que são componentes do tecido ósseo, além do S e P que são componentes de proteínas musculares; fisiológicas, como o Na, K, Ca e Mg, que atuam como eletrólito na manutenção do equilíbrio osmótico, balanço acidobásico e permeabilidade das membranas. Atuam também em funções catalíticas, como ativadores de processos enzimáticos, hormonais, estruturais de metaloenzimas e vitaminas. Além de serem importantes reguladores por atuarem em processos de regulação na replicação e diferenciação celular (Ca, Zn e I) (SUTTLE, 2010; TOKARNIA et al., 2010).

Segundo TOKARNIA et al. (2010), os minerais podem ser divididos em macroelementos (Ca, P, Mg, Na, K, Cl, S) e os oligoelementos (Cu, Fe, Zn, Mn, Co, Se, Mo e I). Segundo McDOWELL (2003), outros minerais, descobertos na década de 70, pode ser classificados como novos microminerais (Ar, Bo, Pb, Es, Li, Ni, Si e Va).

As deficiências de macrominerais em ruminantes mais importantes são a de P e Na, e Ca em bovinos de leite. Já nos microminerais, as mais importantes carências são as de Cu, Co, Zn, Se e Mo (TOKARNIA et al., 1988). As carências minerais para GONZÁLEZ (2000) podem ser estudadas a partir de análises de solo, forragens, porém para obter informações mais aproximadas do metabolismo mineral, é indicado a utilização da determinação principalmente no sangue e na urina.

Os minerais são importantes pela atuação nos mecanismos antioxidantes, estabilizando os radicais livres e mantendo a integridade funcional e estrutural das células (McDOWELL, 2003; SUTTLE, 2010). Este mecanismo presente no organismo é dependente de nutrientes essenciais, e atuam como co-fator enzimático na redução de metabólitos reativos de oxigênio,

produtos normais do metabolismo possuindo importante papel na migração de células fagocitárias durante a degradação bacteriana (KANeko et al, 2008).

O Cu é um microelemento essencial ao organismo por ter função estrutural e atuar nas células em diferentes processos bioquímicos, como respiração celular, síntese de tecidos conectivos, biossíntese de catecolaminas, metabolização do ferro, formação de pelos e lã, formação de elastina, colágeno, na formação de melanina e dos ossos (RADOSTITS et al., 2007; MOZAFFARI et al., 2009).

O Cu junto com o P são uma das mais importantes deficiências no que se refere aos ruminantes no Brasil. Alguns autores relatam que valores baixos de Cu podem ser encontrados em forrageiras, solo e fígado de ruminantes. Várias formas clínicas da deficiência de Cu têm sido diagnosticadas em bovinos, ovinos e caprinos de todas as regiões (McDOWELL, 2003; MARQUES et al. 2011).

A deficiência deste elemento é considerada como um grave problema nutricional em regiões tropicais (CARDOSO, 1997; MARQUES et al., 2003). Segundo RIET-CORREA et al., (2003), é uma enfermidade de animais criados à pasto, pela baixa disponibilidade de Cu nas pastagens, mesmo que a concentração esteja adequada a quantidade do elemento que pode ser absorvida pelo organismo é reduzida. Ainda segundo o autor, comumente pastagens deficientes em Cu são encontradas em solos arenosos, pobres em matéria orgânica e muito desgastados.

A carência de Cu pode ser de origem primária ou secundária, sendo a primária desencadeada quando o consumo do elemento na dieta é insuficiente, e secundária quando o consumo na dieta é suficiente porém a utilização do Cu pelos tecidos é comprometida (RADOSTITS et al., 2007). A carência de Cu ocorre pela ingestão de forragens com baixa concentração de Cu, pela presença de elementos antagonistas que diminuem a sua disponibilidade (Mo, S, Fe e Zn) ou pela interação de elementos que podem interferir isoladamente ou em associação formando com o Cu um complexo metálico insolúvel e indisponível (ORTOLANI, 2002; RADOSTITS et al., 2007; SUTTLE, 2010). No entanto, a carência de um ou mais minerais pode não acarretar sinais clínicos e nem mesmo perdas na produção, reconhecendo-se pelo menos três estágios diferentes: depleção nos tecidos; doença inaparente e doença clínica (RIET-CORREA, 2004).

A carência de Cu pode ser apresentada clinicamente com quadros de debilidade, perda da ondulação ou despigmentação da lã ou pelo preto, incoordenação dos membros posteriores, osteoporose, anemia, baixa imunidade, redução do crescimento, paraplegia e morte. As deficiências dos microelementos ainda podem ser caracterizadas de forma marginal, sendo de

difícil diagnóstico por muitas vezes não apresentarem os sinais clínicos característicos e ainda ter interações com vários outros elementos (SUTTLE 2010).

A carência de Cu pode ser expressa ao máximo na ataxia enzoótica, enfermidade que afeta cordeiros e cabritos até 180 dias de vida, sendo caracterizada pela desmielinização do sistema nervoso central, pelos sintomas de cambaleio dos membros posteriores e, em menor grau, dos anteriores, paralisia flácida ou espástica, incapacidade total de locomoção e morte (SANTOS et al., 2011). São descritos dois tipos de ataxia enzoótica, baseados no local da lesão e na cronologia do quadro clínico. A forma congênita é marcada pela destruição da substância branca cerebral e acomete neonatos nos primeiros dias de vida, e a forma tardia é caracterizada pelas lesões no tronco encefálico e tratos motores da medula espinhal, com ocorrência após a terceira semana de vida (SUTTLE, 2010).

Nos dois tipos de AE, há depleção de Cu no organismo tanto da fêmea prenhe como dos neonatos, o que acarreta mielinização imperfeita do sistema nervoso do recém-nascido devido à menor atividade da citocromo-C-oxidase, da ceramida-galactosil-transferase e da produção de fosfolípidos, importantes na síntese da mielina. O surgimento da ataxia enzoótica está ligado com a precocidade do processo carencial e com a cronologia da mielinização no feto, que se inicia no sistema nervoso central, no 96^o dia de gestação, com máxima atividade ao redor do 20^o dia que antecede o parto; seguido da medula espinhal e nervos periféricos, nos quais a mielina é mais depositada do final da gestação até o 30^o dia posterior ao parto (HOWELL e GOWTHORNE, 1987).

No Brasil a deficiência de Cu já foi pesquisada em várias regiões, tomando como base nas determinações de Cu no soro, fígado, forrageiras, nos sinais clínicos e em estudos histopatológicos (LOPES et al., 1980). Recentemente SILVA et al. (2014), diagnosticaram caprinos e bovinos com deficiência de Cu no Estado da Paraíba. Os caprinos apresentavam fraqueza evoluindo para paralisia dos quatro membros, decúbito permanente, tremores de cabeça, paralisia, valores séricos de cobre abaixo do normal e degeneração da mielina na medula. Os bovinos em relato, sendo quatro vacas, apresentaram um quadro de diarreia crônica (6 a 8 meses) em decorrência da carência de Cu, comprovada pela resposta positiva a suplementação de glicinato de Cu.

Grande parte dos distúrbios e deficiências minerais a campo está relacionada à deficiência clínica, apresentando sintomas típicos da carência de um elemento ou conjunto de elementos. Porém, a deficiência mineral marginal é mais prejudicial, pela falta de sinais clínicos, passando despercebido muitas vezes (SUTTLE, 2010).

Muitos fatores afetam a maneira como os nutrientes são absorvidos e utilizados pelos animais (SUTTLE, 2010). O desenvolvimento da deficiência depende tanto da sua concentração na dieta como das concentrações dos antagonistas que interferem com a absorção e a subsequente utilização para os processos metabólicos (VASQUEZ et al., 2001).

O capim braquiária está entre uma das forragens mais utilizada no Brasil e em específico os ovinos e caprinos ao pastar em locais com esta forragem, obtém quantidades adequadas de energia e níveis razoáveis de proteína e minerais. Porém, no período de seca as concentrações de proteína e de minerais diminuem, podendo atingir limiares críticos a vida animal (ORTOLANI, 1993).

No que se refere ao antagonismo entre elementos, o Fe é considerado como um dos principais antagonistas de Cu, pois o seu excesso interfere com a disponibilidade do último elemento citado. Esta interferência se dá pela ligação inicial do Fe ao sulfeto no rúmen, formando o sulfeto ferroso. Quando da passagem desta molécula no abomaso devido ao baixo pH, ocorre a troca de ligação do sulfeto com o Fe e a formação de sulfeto cúprico, composto estável e indisponível, porém pouco se sabe dos mecanismos envolvidos neste processo (SUTTLE, 2010).

Quanto maior for à quantidade de S disponível na dieta, maior será o antagonismo do Fe sobre o Cu para ruminantes (SUTTLE, 2010). Os solos e as forragens, segundo CARDOSO (1997), vêm sendo apontados como responsáveis pelo desencadeamento dos distúrbios minerais dos animais, pelo fato das pastagens utilizadas na alimentação dos animais possuírem baixo valor nutricional.

No Brasil há um bom conhecimento sobre as carências minerais em bovinos, assim como sobre as formas eficientes e econômicas de suplementação nesta espécie (McDOWELL, 2003; TOKARNIA et al., 2000). Em ovinos e caprinos há um limitado conhecimento sobre carências minerais e as suas formas corretas de suplementação. Na região semiárida do Nordeste rotineiramente é recomendada a utilização de misturas minerais tanto em animais a pasto quanto em animais confinados ou semiconfinados (RIET-CORREA, 2004).

2.2. CAPÍTULO II - RESPOSTA METABÓLICA DE CORDEIROS ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO NÍVEIS CRESCENTES DE GLICERINA LÍQUIDA

Desde 2004, o governo brasileiro criou o programa nacional de produção e uso do biodiesel, o que gerou oportunidades para o sistema de produção em ruminantes, pela possibilidade de utilização de farelos e tortas na alimentação desses animais, resultantes do processo de extração do óleo, que, na maioria dos casos, proporciona reduções nos custos de produção (NUNES et al., 2010).

Nesse cenário, a utilização de glicerina bruta, produto do biodiesel tem sido estudada como alternativa alimentar para ovinos e caprinos (BOMFIM et al., 2009; LAGE et al., 2010a; GOMES et al., 2011; PELLEGRIN et al., 2012; MARTINS et al., 2013; SANTOS et al., 2014; LAGE et al., 2014; BARROS et al., 2015; ROCHA et al., 2015; ANDRADE, 2015 e COSTA, 2015).

O termo glicerina bruta aplica-se aos produtos comerciais purificados, normalmente, contendo pelo menos 95% de glicerol. Em geral, esta glicerina contém cerca de 80% de glicerol, além de água, metanol e sais dissolvidos (DALMASO et al., 2014). Por ser um produto de baixo valor comercial, a glicerina bruta pode ser utilizada na dieta dos ruminantes, substituindo parte do milho e reduzindo assim o custo de produção do concentrado (KERR et al., 2007).

O biodiesel é um monoalquil éster de ácidos graxos, derivado de fontes renováveis, como por exemplo, os óleos vegetais e gorduras animais; sua obtenção se dá por processo de transesterificação de óleos vegetais e alcoóis, metanol ou etanol, por catálise básica. Este último processo utiliza o hidróxido de sódio ou potássio como catalisadores. A transesterificação pode ocorrer também pela esterificação na presença de catalisadores ácidos, ocorrendo à transformação de triglicerídeos em moléculas menores de ésteres de ácidos graxos, tendo a glicerina bruta como coproduto, contendo teores de glicerol entre 80 a 95 % (RAMOS et al., 2000).

Quando a glicerina é purificada na indústria, pode ser utilizadas ou aplicadas no uso em tabaco, alimentos, bebidas e cosméticos (PERES et al., 2005). Porém, processos complexos e de alto custo são necessários para que a glicerina alcance as exigências necessárias para estes fins, pelo fato da glicerina bruta apresentar certas impurezas (água, catalisador, impurezas dos reagentes, ácidos graxos, ésteres, etanol ou metanol e outras substâncias) (DINIZ, 2005).

Segundo MENTEN et al. (2009), a glicerina bruta gerada como coproduto da produção de biodiesel, pode ser adicionada a alimentação animal. O uso de glicerina bruta na alimentação animal foi alvo de estudos no passado na Europa. Porém, houve um novo interesse no uso da glicerina bruta na alimentação animal em decorrência do impulso na produção do biodiesel e a disponibilidade de grande quantidade do coproduto.

O custo de produção de animais confinados ainda é considerado alto. Dessa forma, é grande o interesse pelo uso de alimentos alternativos que possam substituir parte do concentrado fornecido, para reduzir o custo de produção sem prejudicar o consumo e o desempenho dos animais (LAGE et al., 2010). Ainda segundo os autores citados, para reduzir os custos da dieta de ruminantes, os teores adequados de glicerol ainda estão sendo estudados, necessitando, portanto, encontrar um nível adequado que possibilite a utilização do glicerol em dietas de ruminantes sem promover modificações orgânicas capazes de limitar o consumo voluntário, desempenho, ganho de peso, modificar a fisiologia de diferentes sistemas do organismo relacionados com a produção e reprodução. CHUNG et al. (2007) ressaltaram que estudos que avaliem as alterações do metabolismo com a inclusão desse alimento devem ser realizados para melhor elucidar esses efeitos.

Com a perspectiva de redução nos preços, a glicerina bruta tem surgido como opção para utilização como macroingrediente na dieta de cordeiros em terminação, em substituição a concentrados energéticos (KERR et al., 2007). Todavia, como a glicerina obtida do processo de transesterificação do óleo apresenta-se na forma bruta, com impurezas, metais pesados, excesso de lipídeos e metanol, os impactos no consumo, na digestibilidade dos componentes da dieta e no desempenho animal podem ser diferentes dos obtidos com a glicerina purificada, de custo mais elevado (LAGE et al., 2010)

Em ovinos diversos trabalhos avaliaram a utilização de glicerina na dieta e seus efeitos sobre a digestibilidade, desempenho, características de carcaça e qualidade da carne, não observando efeitos negativos nos parâmetros avaliados (GUNN et al., 2010a; GUNN et al., 2010b; LAGE et al., 2010; GOMES et al., 2011; BARROS, 2012; LAGE et al., 2014). O uso da glicerina na alimentação animal é uma saída, pois a mesma possui características interessantes como a alta energia disponível e o sabor adocicado, porém necessita-se de mais estudos quanto à toxicidade do metanol e teor de inclusão na dieta (DALMASO et al., 2014).

No Brasil, alguns trabalhos foram realizados com ovinos e caprinos avaliando o uso de glicerina bruta na dieta, entre eles, temos: BOMFIM et al., (2009,) que avaliaram as potencialidades da utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de caprinos e ovinos. LAGE et al. (2010a), avaliaram o uso de glicerina bruta na dieta de

cordeiros terminados em confinamento. GOMES et al. (2011), avaliaram o desempenho e características de carcaça de cordeiros alimentados com dietas suplementadas com glicerina da produção de biodiesel. PELLEGRIN et al. (2012), avaliaram a glicerina bruta no suplemento para cordeiros lactentes em pastejo de azevém. MARTINS et al. (2013), avaliaram o consumo, desempenho e metabólitos sanguíneos de ovelhas suplementadas com glicerol na dieta. SANTOS et al. (2014), verificaram a influência dos métodos de atordoamento com o bem-estar dos cordeiros alimentados com glicerina. LAGE et al (2014), verificaram as características de carcaça de cordeiros alimentados com glicerina bruta contaminados com altas concentrações de gordura bruta. BARROS et al. (2015), verificaram a influência da glicerina bruta na dieta de ovinos confinados: consumo, digestibilidade, desempenho, medidas morfométricas da carcaça e características da carne. ROCHA et al. (2015), verificaram o perfil de ácidos graxos, composição química e efeitos sensoriais de glicerina bruta no *longissimus* de mestiços Boer. Mais recentemente foram desenvolvidos dois trabalhos em Pernambuco, onde ANDRADE (2015), avaliou a utilização de glicerina bruta na dieta de ovinos em confinamento e COSTA (2015), que avaliou as características de carcaça e qualidade da carne de cordeiros alimentados com dietas contendo níveis crescentes de glicerina bruta.

O glicerol é um componente do metabolismo normal dos animais, sendo encontrado na circulação e nas células. Comercialmente chamado de glicerina bruta, o uso do glicerol na alimentação animal tem despertado interesse devido seu elevado teor energético (4.320 kcal de energia bruta por kg de glicerol puro), com alta eficiência de utilização pelos animais (MENTEN et al., 2009).

Atuando no metabolismo de carboidratos, o glicerol pode ser administrado em dietas para ruminantes como precursor gliconeogênico, contribuindo com o aporte energético de animais em balanço energético negativo. Mesmo com esse potencial, a pureza do glicerol produzido e a quantidade fornecida na dieta têm sido estudadas para que sejam estabelecidas quantidades de inclusão que não prejudiquem a saúde e a produtividade do animal (DALMASO et al., 2014). Devido essa característica metabólica, o glicerol apresenta potencial de uso como substrato gliconeogênico na alimentação de ruminantes, que pode contribuir com a prevenção de cetose em vacas leiteiras (CHUNG et al., 2007; DONKIN, 2008; OSBORNE et al., 2009).

A glicerina bruta é composta por glicerol que é absorvido pelo epitélio ruminal ou fermentado a ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no rúmen (ZAWADSKI et al., 2010), metabolizado no fígado e direcionado para a gliconeogênese pela ação da enzima glicerol

quinase, que o converte em glicose. A porção não absorvida é fermentada a propionato, e metabolizado a oxaloacetato, por meio do ciclo de Krebs no fígado, podendo também ser utilizado para formar glicose pela via gliconeogênica (KREHBIEL, 2008). Em um estudo realizado por ZAWADSKI et al. (2010), verificaram que o glicerol também pode ser convertido a ácido acético e butírico. Segundo KREHBIEL (2008), do glicerol consumido, 13% desaparecem do rúmen acompanhando a ingestão, 44% pela fermentação e 43% pela absorção através da parede ruminal.

O glicerol é importante precursor gliconeogênico amplamente conhecido por seu poder de atuar em diferentes etapas do metabolismo da glicose. Ao ser ingerido são vários os destinos metabólicos do glicerol, o destino irá depender do tecido alvo e do estado nutricional do animal, sendo destinado imediato para o ciclo de Krebs ou para o fornecimento de esqueleto carbônico para a gliconeogênese, para a transferência de equivalentes redutores do citosol para a mitocôndria – com a geração de 22 ATP, ou como precursor da síntese de triglicerídeos na síntese de novo de ácidos graxos ou como constituinte da molécula do triacilglicerol (KREHBIEL, 2008; DALMASO et al., 2014).

O glicerol absorvido pelo epitélio ruminal, será convertido à glicose no fígado e a enzima glicerol quinase converte glicerol e ATP em glicerol-3-fosfato e ADP à triose fosfato, para ser utilizado na glicólise ou na gliconeogênese, dependendo da condição metabólica do animal (KREHBIEL, 2008). O glicerol fermentado no rúmen é convertido a propionato e ao ser absorvido pela corrente sanguínea será metabolizado no fígado, sendo a principal via metabólica do ciclo do ácido carboxílico, onde o succinil-CoA após reações bioquímicas origina o oxaloacetato e este é convertido a fosfoenolpiruvato, que será utilizado para a formação de glicose na via gliconeogênica (ZAWADSKI et al., 2010).

Existem três enzimas de grande importância no metabolismo do glicerol, a glicerol quinase; glicerol-3-fosfato oxirredutase; glicerol-3-fosfato desidrogenase, que são moduladas principalmente pela insulina, corticosteroides e hormônios da tireoide, respectivamente. A enzima glicerol quinase, encontrada em grande parte no fígado e rins, pode realizar a oxidação do glicerol para obtenção de energia ou convertê-lo em glicose (DALMASO et al., 2014).

A glicerina possui natureza higroscópica, o que pode aumentar a capacidade de retenção de água das rações em ambientes de baixa umidade, além disso, melhorar a palatabilidade do concentrado devido ao seu aroma suave e sabor adocicado, além de aumentar o consumo de concentrado (ELAM et al., 2008).

Usando radioisótopos, BERGNER et al. (1995) constataram que a maior parte do carbono oriundo do glicerol é utilizada na síntese de propionato e, apenas 11% na síntese de CO₂, enquanto que a presença deste como metano, ácido láctico e acético produzidos é muito baixa, não sendo identificados neste estudo. Estes autores relatam ainda uma redução da incorporação de nitrogênio na proteína microbiana com aumento na suplementação de glicerol.

2.2.1. Trabalhos realizados com uso de glicerol na dieta de ruminantes

SCHRÖDER e SÜDEKUM, (1999) avaliaram a inclusão de glicerina sobre a digestibilidade da dieta oferecida a ovinos e vacas leiteiras. Os autores avaliaram dois teores de amido na dieta de ovinos e teores de glicerina bruta de 10, 15 ou 20% da MS da dieta. Quando a glicerina foi adicionada à dieta com baixo amido (40% de amido de trigo na MS) não houve efeito sobre as digestibilidades da matéria orgânica, do amido e da FDN, enquanto a inclusão de glicerina induziu queda na digestibilidade da FDN na dieta com alto amido (55% de amido de trigo na MS).

Esses autores também avaliaram o efeito da substituição de amido de trigo por glicerina na dieta de garrotes, usando quatro garrotes canulados no rúmen recebendo dietas com 40% de forragem e com 60% de concentrado peletizado contendo ou não 15% de glicerina. Não foi detectado efeito da glicerina sobre a digestibilidade, mas ocorreu queda na relação entre acetato e propionato no rúmen ($P < 0,05$) e aumento na concentração de butirato ($P < 0,05$) até três horas após a alimentação. Houve aumento induzido pela glicerina na ingestão de água, maior nos tratamentos com glicerina de baixa e média pureza.

GUNN et al. (2010b) avaliaram o desempenho de cordeiros castrados alimentados com dietas contendo 5, 10, 15 ou 20% de glicerina (87,5% de glicerol) e observaram que a ingestão de matéria seca e ganho médio diário nos primeiros 14 dias apresentou efeito quadrático, sendo que não houve diferença significativa no período total de confinamento. Os autores concluíram que cordeiros castrados alimentados com glicerina bruta em até 15% de inclusão, na matéria seca da dieta, podem obter melhores parâmetros de desempenho em confinamento.

RICO et al. (2012), em estudo in vitro, avaliaram a substituição de milho por glicerol desidratado, e observaram uma melhora da digestibilidade aparente da fibra em detergente neutro, sem alteração da síntese de proteína microbiana. Os autores recomendaram que a

inclusão de até 8% da matéria seca pode ser utilizada, sem prejudicar a fermentação ruminal e a digestibilidade da matéria seca e nutrientes.

AVILA-STAGNO et al. (2013) avaliando a inclusão de níveis crescentes de glicerol, (7, 14 e 21%) na dieta de cordeiros, não observaram diferenças significativas na digestibilidade dos nutrientes e emissão de CH₄, porém observaram redução linear da ingestão de matéria seca, com tendência para redução do ganho de peso diário e peso final, entretanto a eficiência alimentar foi mantida.

MARTINS et al. (2013) avaliaram o consumo, ganho em peso corporal e conversão alimentar de borregas alimentadas com dietas com ou sem glicerol, a adição de glicerol não alterou os parâmetros avaliados. Segundo os autores, esses resultados confirmam o alto valor energético do glicerol e sua palatabilidade quando adicionado em dietas para animais ruminantes, não havendo comprometimento no consumo e desempenho das borregas, podendo ser adicionado em 20% no concentrado de borregas como fonte energética.

Atualmente, em ruminantes devido à presença do glicerol, a glicerina tem se caracterizado como potencial e promissora fonte energética, principalmente em substituição a fontes ricas em amido (DONKIN, 2008; TERRÉ et al., 2011). Em dietas de elevado teor de concentrado, o intervalo para inclusão da glicerina estaria entre 10 a 15% na matéria seca (MS) da dieta (TERRÉ et al., 2011; PAIVA et al., 2015).

Os efeitos da glicerina sobre CMS ainda são contraditórios, porém os resultados de desempenho produtivo têm demonstrado que este é um alimento promissor. Assim, a glicerina apresenta-se como boa alternativa alimentar, especialmente em substituição ao milho da dieta de bovinos de corte e de leite, e seu nível de inclusão deverá ser pautado principalmente em função da qualidade da mesma e de uma análise econômica detalhada de sua inclusão ou não à dieta. Ainda, em função da qualidade variável da glicerina disponível no mercado, é necessário que além da padronização, haja um maior entendimento acerca do metabolismo ruminal da mesma, pois só assim será possível entender por quais mecanismos a glicerina altera o CMS (PAIVA et al., 2015).

Embora, sejam poucos os estudos na alimentação de pequenos ruminantes, particularmente na região semiárida do Nordeste, mais recentemente foram desenvolvidos estudos em Pernambuco com a utilização de glicerina bruta na dieta de cordeiros, verificando uso da glicerina bruta mais ureia em substituição ao milho na alimentação de ovinos (ANDRADE, 2015), verificando que a adição de glicerina bruta, contendo 80,5% de glicerol, pode ser incluída em até 18% da dieta de cordeiros por manter o consumo de matéria seca, digestibilidade, ganho de peso e a conversão de alimentos em níveis satisfatórios.

A produção de propionato via metabolismo do glicerol presente na dieta é um fator que também pode ter contribuído para a diminuição linear no consumo de MS. A diminuição no consumo de alimentos pela infusão de propionato no organismo de animais tem sido relatada na literatura (LAGE et al., 2010). Entre os produtos metabolizados no fígado dos ruminantes, o propionato é provavelmente o primeiro a sinalizar o término das refeições devido ao aumento de seu fluxo para o fígado (BENSON et al., 2002).

O fígado de ruminantes tem alta atividade de propionil CoA sintetase, necessária para ativação e subsequente metabolismo do propionato. Como resultado, o propionato é extensivamente metabolizado pelo fígado de ruminantes durante as refeições, o que aumenta a produção de ATP, em razão de sua utilização para produção de glicose, e sinaliza a saciedade (REYNOLDS, 1995; LAGE et al., 2010). Com o possível incremento de propionato no rúmen a partir do glicerol, houve maior aporte deste no fígado, o que pode ter contribuído para a saciedade e, conseqüentemente, para a menor ingestão de MS pelos animais. Provavelmente, o aumento na produção de propionato, a presença de lipídeos na dieta e a redução na digestibilidade da FDNcp contribuíram, em conjunto, para a redução no consumo de MS pelos animais (LAGE et al., 2010).

A inclusão de até 6% de glicerina bruta, contendo 36,20% de glicerol, na dieta de cordeiros em terminação, otimiza a conversão alimentar dos animais e reduz o custo do ganho de carcaça, quando o preço desse coproduto representa até 70% do preço do milho, mas compromete o consumo, a digestibilidade, as características quantitativas relacionadas à carcaça e ao desempenho dos animais (LAGE et al., 2010).

Trabalhos realizados em avaliação do efeito do glicerol sobre o ambiente ruminal (KHALILI et al., 1997; FERRARO, et al., 2009), observaram aumento nas concentrações de propionato e butirato em detrimento às de acetato. A fermentação da glicerina por diferentes microrganismos, de acordo com YAZDANI e GONZÁLES (2007) produz os ácidos propionico, succinico e fórmico, bem como butanol e etanol.

Para CLEEF et al. (2010), a utilização de até 30% de glicerina bruta na MS de dietas, não altera o ambiente ruminal favorável para ação dos microrganismos e, desta forma, não promove redução no consumo de maneira significativa. Portanto, os diferentes resultados encontrados na literatura podem ser devido aos níveis de pureza da glicerina, ao teor de glicerol, teor de metanol e porcentagem de lipídeos que podem influenciar no desempenho dos animais.

Em razão do potencial glicogênico do glicerol, a maioria dos estudos científicos publicados nas últimas décadas sobre o uso da glicerina (bidestilada) limitou sua aplicação no

tratamento de desordens metabólicas em vacas de leite de alta produção, utilizando-se baixos níveis na dieta (abaixo de 5%, base da MS) (DEFRAIN et al., 2004). O uso como macroingredientes, no entanto, é recente.

O fornecimento de glicerina a vacas no período pós-parto foi avaliado por CHUNG et al. (2007), onde observaram que a inclusão de glicerina proporcionou maiores teores de glicose e menores de β -hidroxibutirato circulantes no plasma sanguíneo das vacas que receberam glicerina comparado às que não receberam. WANG et al. (2009) obtiveram resultados similares adicionando glicerol à dieta de vacas com 4 a 63 dias em lactação, sendo verificado maiores concentrações de glicose no plasma, com balanço energético positivo, sendo observado também menor perda de peso dos animais alimentados com glicerol.

GUNN et al. (2010a) avaliaram a inclusão de 15, 30 ou 45% de glicerina com 89,5% de glicerol, na dieta de cordeiros e observaram que as concentrações séricas de glicose e insulina diminuíram com a inclusão de glicerina, podendo estar associado com a menor ingestão de matéria seca conforme a glicerina foi acrescentada na dieta. Outra possível explicação é que a diminuição das concentrações de amido nas dietas com maior teor de glicerina pode ter afetado a taxa de passagem, o que resulta em menor fermentação ruminal e maior absorção no intestino delgado.

O glicerol pode ainda atuar sobre a degradabilidade da fração protéica. PAGGI et al. (1999) relataram inibição de 20% da atividade proteolítica quando o glicerol foi utilizado, em diferentes dietas basais. Segundo LING e ARMSTEAD (1995), isso pode acarretar em efeitos positivos, uma vez que a degradação proteica ruminal reduz a eficiência de utilização da proteína em ruminantes. Além de servir como fonte de energia, o glicerol também pode ter efeitos positivos sobre a retenção de aminoácidos, inibindo a atividade das enzimas fosfoenolpiruvato carboxiquinase e glutamato desidrogenase, resultando em economia dos aminoácidos gliconeogênicos, favorecendo a deposição de proteína corporal (ANDRADE, 2015).

CHANJULA et al. (2014), avaliando os efeitos da suplementação dietética com glicerina na digestibilidade de nutrientes, fermentação ruminal, metabolitos sanguíneos e balanço de nitrogênio das cabras, verificaram que a média de glicemia, β -Hidroxibutirato e as concentrações de volume globular não foram afetadas ($p > 0,05$) pelos tratamentos dietéticos, enquanto que a concentração sérica de insulina aumentou linearmente ($p = 0,002$) com o aumento da quantidade de suplementação de glicerina bruta. O pH ruminal, amônia (NH_3), e a concentração de ureia foram alteradas por tratamentos dietéticos, exceto para 20 % de glicose, amônia e ureia foram menores ($P < 0,05$) do que para as dietas de 10 % de CGL, enquanto que

a diferença entre o dietas 0 %, 5% , e 20 % de glicose não foram significativos. A quantidade de absorção e retenção de nitrogênio foi semelhante entre os tratamentos. Com base neste estudo, os níveis de glicose até 20% em ração total pode ser eficientemente utilizados para cabras e este estudo elucida uma boa abordagem para explorar o uso da produção de biodiesel para a produção de cabra.

O fornecimento de glicerina para melhoria do desempenho em confinamento e nas características de carcaça de cordeiros, foi estudado por MUSSELMANN et al. (2008), sendo verificado que a inclusão de glicerina em até 15% não provoca redução do desempenho, mantendo a carcaça com qualidade desejável. Valores de inclusão superiores a este podem interferir no desempenho animal, como verificado por GUNN et al. (2010) ao observarem que a inclusão de glicerina bruta acima de 30% em dietas para cordeiros proporciona menor desempenho e carcaças de menor qualidade.

COSTA (2015) avaliou as características de carcaça e qualidade da carne de cordeiros alimentados com dietas contendo níveis crescentes de glicerina bruta, concluindo que a glicerina bruta (80,5 % de glicerol) pode substituir o milho sem que promova alterações nas principais características de carcaça de cordeiros, e também sem que influencie nas principais características qualitativas da carne de cordeiros, não alterando os parâmetros físico-químicos do músculo, porém favorecendo a sua composição química e perfil de ácidos graxos, melhorando o valor nutritivo da carne.

2.2.2. Perfil metabólico

O perfil metabólico foi inicialmente estudado e pesquisado por PAYNE et al., (1970), se referindo aos componentes hematológicos e bioquímicos específicos em vacas de leite, avaliando e diagnosticando distúrbios de origem nutricional e metabólica. Permitindo assim, acompanhar o organismo em seu aspecto energético, proteico, mineral, além dos funcionamentos hepático, hemático, endócrino e renal. Através de análises das concentrações sanguíneas dos metabólitos, avaliando assim seus desequilíbrios (GONZALEZ, 1997).

Segundo BALIKCI et al., (2007) alguns fatores como a nutrição, idade, sexo, genética, estado reprodutivo, influência ambiental, transporte e estresse podem comprometer o equilíbrio e os parâmetros hematológicos e bioquímicos. O estado de saúde e produtividade animal pode ser determinado pelo equilíbrio de fatores metabólicos, nutricionais, manejo, fatores ambientais e enfermidades. O perfil metabólico inclui parâmetros energéticos, proteicos, mineral, endócrino, atividade enzimática, entre outros (GONZALEZ, 2000; GONZÁLEZ et al., 2001; SMITH, 2006).

A composição bioquímica sanguínea reflete fielmente o estado metabólico do animal, avaliando lesões teciduais, transtornos em órgãos, adaptação do animal e desequilíbrios metabólicos ou nutricionais (GONZÁLEZ et al., 2001). Segundo o mesmo autor, a interpretação do perfil bioquímico é complexa, que seja na avaliação do rebanho ou do indivíduo, por conta dos mecanismos de controle dos metabólicos e a variação em seus níveis com relação às variáveis de raça, produção leiteira, sexo, manejo, clima, estresse, lactação, gestação e situação reprodutiva.

Nos ruminantes a maior parte dos carboidratos presentes no alimento são fermentados no rúmen, originando os ácidos graxos voláteis (acetato, propionato e butirato), sendo a principal fonte de energia para esses animais (KOZLOSKI, 2005).

Segundo GONZALEZ (2000), no perfil energético os indicadores mais utilizados são a glicose, o β -Hidroxibutirato e os ácidos graxos livres (AGLs). Ainda segundo o autor, o metabólito de eleição para o perfil energético são os AGLs, já que há uma resposta rápida a mudanças na alimentação, porém pode sofrer variações como a glicose, caso os animais não sejam habituados à manipulação. Segundo PAYNE e PAYNE (1987), o perfil energético pode ser determinado pela avaliação dos indicadores acima citados acrescidos do colesterol. Já CAMPOS et al. (2007) relatam que em ruminantes comumente é utilizada a determinação de AGNEs e β -Hidroxibutirato na avaliação do metabolismo energético.

A frutossamina é uma cetoamina formada pela união da glicose com o grupamento amina das proteínas, sua concentração sérica é controlada entre a síntese e eliminação de compostos proteicos e glicose. Além de estar relacionada com a meia-vida das proteínas totais e a albumina no soro (KANEKO et al., 2008). Segundo FILIPOVIC et al., (2011), as concentrações de frutossamina se relacionam com a concentração de glicose nas duas semanas anteriores a análise.

Os lipídeos no plasma sanguíneo podem ser classificados em colesterol, fosfolipídeos e triglicerídeos. O colesterol corresponde a 30 % do total de lipídeos no plasma, sendo o indicador mais adequado a ser determinado (GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2002). Os teores de colesterol no soro de ruminantes podem sofrer alteração devido a formulações da dieta, idade, sexo, raça e doenças hepáticas (ÖZPINAR e FIRAT, 2003). O aumento deste último indicador, em específico na lactação, tem sido atribuído à síntese de lipoproteínas plasmáticas (GONZÁLEZ e SILVA, 2006). A avaliação do colesterol sanguíneo, segundo GODOY et al., (2004), também auxilia nos desempenhos produtivo e reprodutivo dos animais (precursor de hormônios esteroides).

Os triglicerídeos são reservas de energia, além de serem os lipídeos mais abundantes na natureza, também chamados de gorduras neutras. Sua conformação é de uma molécula de glicerol e três de ácidos graxos (GONZÁLEZ e SILVA, 2006). Para CAMPOS et al. (2007), os triglicerídeos são fontes de ácidos graxos para a síntese de gordura do leite e seus níveis durante a lactação dependem diretamente do balanço energético negativo.

A determinação da glicose no sangue tem sido utilizada para estabelecer desordens nutricionais e metabólicas, porém podem não ocorrer mudanças significativas devido a ajustes na alimentação (PAYNE e PAYNE, 1987). A glicose produzida no fígado no período de transição, cerca de 50% da é proveniente da gliconeogênese a partir do propionato, sendo o restante da glicose produzida a partir de outros substratos endógenos, tais como o lactato, os aminoácidos e o glicerol (REYNOLDS et al., 2003). Outras fontes de glicose para ruminantes são utilizadas com os aminoácidos e lipídeos (SOEST, 1994). Para MUNDIM et al. (2007) a glicose é o indicador menos expressivo para determinação do perfil energético animal, já que há uma insensibilidade da glicemia a mudanças nutricionais e a sua sensibilidade ao estresse.

As proteínas são os componentes mais abundantes no plasma, desempenhando funções estruturais de células de órgãos e tecidos, manutenção da pressão colóide osmótica, catalisadores de reações bioquímicas equilíbrio acidobásico, processo de coagulação sanguínea, transporte de metabólitos e defesa do organismo (GONZÁLEZ e SILVA, 2006; ECKERSALL, 2008). A concentração das proteínas depende de vários fatores que estão ligados à condição de saúde do animal (JAIN, 1993). A diminuição das proteínas totais (PT) está relacionada a deficiências alimentares, excluindo causas patológicas (GONZÁLEZ et al., 2000). A interpretação da concentração das PT no perfil metabólico depende da alimentação, manejo, saúde e estado fisiológico do animal (CONTRERAS, et al., 2000).

Segundo PAYNE e PAYNE (1987), os dois principais indicadores utilizados na determinação do metabolismo proteico são a ureia (curto prazo) e a albumina (longo prazo). Para GONZALEZ (1997), no perfil proteico os indicadores mais utilizados são os níveis de PT, albumina, globulinas, hemoglobulinas e ureia.

A proteína mais abundante no plasma sanguíneo é a albumina (cerca de 50%), sua síntese é realizada no fígado. É uma importante reserva proteica, regula o pH sanguíneo, contribui na osmolaridade plasmática além de ser transportador de AGLs, Ca, metais, hormônios, bilirrubina e aminoácidos (GONZÁLEZ et al., 2001).

Desequilíbrios nos níveis de Albumina podem afetar o metabolismo do animal tanto em excesso (devido à desidratação, perda de fluidos) quanto na sua falta (devido a dano hepático crônico, déficit alimentar proteico e doenças renais), gerando um quadro de ascite

(GONZÁLEZ et al., 2001). Para CALDEIRA (2005), a albumina é um indicador de longos períodos de restrição proteica, sendo relacionada com o manejo alimentar por poder ter este acompanhamento a longos períodos.

A concentração no sangue da ureia é o metabólico sanguíneo mais estudado em relação ao perfil proteico de ruminantes (HERDT, 2000). Constitui um importante indicador proteico, por estar relacionada ao aporte proteico na alimentação, relação de energia e proteína na dieta, absorção de amônia no rúmen e metabolismo nos tecidos do animal (GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2002). Segundo ARAUJO (2009), parte da ureia é hidrolisada e desaminada gerando peptídeos e amônia livre no rúmen. A amônia é absorvida e metabolizada em ureia, sendo o restante incorporado à proteína microbiana do rúmen. A quantidade de amônia convertida em ureia está relacionada à quantidade de proteína degradada e a incorporação de amônia na proteína microbiana (quanto maior o consumo de proteína degradada, maior a concentração de ureia sérica) (HERDT, 2000). Além da ureia, tem-se utilizado análise da creatinina, a qual é derivada do catabolismo da creatina do metabolismo muscular, refletem ainda sobre a filtração renal e serve como indicador de alterações no funcionamento renal (GONZÁLEZ et al., 2000).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, G.P. **Utilização de glicerina bruta na dieta de ovinos em confinamento.** 2015. 48f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Recife, 2015.

ARAÚJO, A. S. C. **Estudo comparativo do perfil metabólico e hormonal de ovelhas com gestação única, gemelar e não gestantes alimentadas com dieta de alta densidade energética.** 2009. P. 212. Dissertação (Mestrado em Clínica médica veterinária) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

ARAÚJO, P.B., DE ANDRADE, R.DE P.X., FERREIRA, M. DE A., BATISTA, A.M.V., CARVALHO, C.C.D. & SOARES P.C. Efeito da substituição do feno de capim tifton (*Cynodon spp*) por casca de mamona (*Ricinus communis*) em dietas a base de palma forrageira (*Nopalea cochenilifera* Salm Dick) sobre o metabolismo energético, protéico e mineral em ovinos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 34, n. 4, p. 327-335, 2012.

AVILA-STAGNO, J.; CHAVES, A.V.; HE, M.L.; HARSTAD, O.M.; BEAUCHEMIN, K.A.; MCGINN, S.M.; McALLISTER, T.A. Effects of increasing concentrations of glycerol in concentrate diets on nutrient digestibility, methane emissions, growth, fatty acid profiles, and carcass traits of lambs. **Journal of Animal Science**, v.91, p. 829-837, 2013.

BALIKCI, E; YILDIZ, A; GURDOGAN, F. Investigation on Some Biochemical and Clinical parameters for Pregnancy Toxemia in Akkaraman Ewes. **Journal of Animals and Veterinary Advances**, v. 8, n. 7, p. 1268-1273, 2007.

BARROS, M. C. C.; MARQUES, J.A.; SILVA, F. F.; SILVA, R. R.; GUIMARÃES, G. S.; SILVA, L. L.; ARAÚJO, F. L. **Glicerina bruta na dieta de ovinos confinados: consumo, digestibilidade, desempenho, medidas morfométricas da carcaça e características da carne**. Seminário: Ciências Agrárias, Londrina, v. 36, n. 1, p. 453-466, jan./fev. 2015.

BARROS, M.C.C. **Glicerina bruta na dieta de ovinos confinados**. 2012. 81 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, Itapetinga, 2012.

BENSON, J.A.; REYNOLDS, C.K.; AIKMAN, P.C.; LUPOLI, B.; BEEVER, D.E. Effects of abomasal vegetable oil infusion on splanchnic nutrient metabolism in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.1804-1814, 2002.

BERGNER, H., C. KIJORA, Z. CERESNAKOVA, AND J. SZAKACS. In vitro studies on glycerol transformation by ruminal microorganisms. **Archiv für Tierernährung**, v. 48, p. 245-256, 1995.

BOMFIM, M. A. D.; SILVA, M. M. C.; SANTOS, S. F. Potencialidades da utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de caprinos e ovinos. **Revista Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v, 3, n. 4, p. 15-26, 2009.

CALDEIRA, R. M. Monitoramento e adequação do plano alimentar e do estado nutricional em ovelhas. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 100, n. 555, p. 125-139, 2005.

CAMPOS, R.; GONZÁLEZ F.; COLDEBELLA, A.; LACERDA L. Indicadores do metabolismo energético no pós-parto de vacas leiteiras de alta produção e sua relação com a composição do leite. **Ciência Animal Brasileira**, v. 8, n. 2, p. 241-249, 2007.

CARDOSO, E.C. **Nutrição mineral em bubalinos e bovinos nos campos do Marajó, estado do Pará: cálcio, fósforo, cobre, cobalto, manganês, ferro e zinco**. Belém, 1997. 173 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Federal do Pará.

CHANJULA, P.; PAKDEECHANUAN, P.; WATTANASIT, S. Effects of Dietary Crude Glycerin Supplementation on Nutrient Digestibility, Ruminal Fermentation, Blood Metabolites, and Nitrogen Balance of Goats. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 27, n. 3, p. 365-374, 2014.

CHUNG, Y. H. RICO, D. E.; MARTINEZ, C. M.; CASSIDY, T. W; NOIROT, V.; AMES, A.; VARGA, G. A. Effects of feeding dry glycerin to early postpartum holstein dairy cows on lactation performance and metabolic profiles. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.5682-5891, 2007.

CLEEF, E.H.C.B.van et al. Consumo de matéria seca e desempenho de bovinos de corte alimentados com glicerina bruta. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 47., 2010, Salvador. **Anais...** Salvador: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2010. p.1-3.

CONTRERAS, P. A. PHIL, M. Indicadores do metabolismo proteico utilizados nos perfis metabólicos de rebanhos, In: GONZÁLEZ, H. D. **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre: CENTERLAB, 2000. p. 23-30.

COSTA, C.A. **Características de carcaça e qualidade da carne de cordeiros alimentados com dietas contendo níveis crescentes de glicerina bruta**. 2015. 73f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Recife, 2015.

CUNHA, C.M. **Qualidade da carne de cordeiros alimentados com dietas contendo teores crescentes de glicerina bruta**. Dissertação (Mestrado). 55 p. Universidade Federal da Grande Dourados, 2014.

DALMASO, A.C.; FERREIRA, V.B. MOUSQUER, C.J.; CASTRO, W.J.R.; SILVA FILHO, A.S.; SIMIONI, T.A.; HOFFMANN, A.; FERNANDES, G.A. Glicerina bruta de biodiesel na alimentação de ruminantes. **PUBVET**, v. 8, n. 12, Ed. 261, Art. 1733, 2014.

DEFRAIN, J. M. HIPPEN, A.R.; KALSCHEUR, K.F.; JARDON, P. W. Feeding glycerol to transition dairy cows: effects on blood metabolites and lactation performance. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.4195-4206, 2004.

DINIZ, G. **De coadjuvante a protagonista: glicerina bruta obtida na produção de biodiesel pode ter muitas aplicações**. Ciência Hoje On-line, Rio de Janeiro. Disponível em <<http://cienciahoje.uol.com.br/controlPanel/materia/view/3973>>.

DONKIN, S. S. Glycerol from biodiesel production: the new corn for dairy cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, p. 280-286, 2008.

ECKERSALL, P. D. Proteins, proteomics and the dysproteinemias, In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Eds.) **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. San Diego: Academic Press, 2008. p. 117-155.

ELAM, N. A., ENG, K. S., BECHTEL, B., HARRIS, J. M., & CROCKER, R. (2008). **Glycerol from biodiesel production: Considerations for feedlot steers**. Southwest Nutrition Conference. Tempe, AZ — USA.

FERRARO, S.M.; MENDOZA, G.D.; MIRANDA, L.A.; GUTIERREZ, C.G. In vitro gás production and ruminal fermentation of glycerol, propylene glycol and molasses. **Animal Feed Science Technology**, v.154, p.112–118, 2009.

FILIPOVIĆ, N.; STOJEVIĆ, Z.; MASEK, T.; MIKULEC, Z.; PRVANOVIC, N. Relationship between fructosamine with serum protein, albumin and glucose concentration in dairy ewes. **Small Ruminant Research**, v. 96, n. 1, p. 46-48, 2011.

GODOY, M. M.; ALVES, J. B.; MONTEIRO, A. L. G. VALÉRIO FILHO, W. V. Parâmetros reprodutivos e metabólicos de vacas da raça Guzerá suplementadas no pré e pós-parto. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 1, p. 103-111, 2004.

GOMES, M.A.B.; MORAES, G.V.; MATAVELI, M.; MACEDO, F.A.F.; CARNEIRO, T.C.; ROSSI, R.M. Performance and carcass characteristics of lambs fed on diets supplemented with glycerin from biodiesel production. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.10, p.2211-2219, 2011.

GONZALES, F.H.D.; JULIO, B.; PATINÕ, H.O; RIBEIRO, L.A. 2000. **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. UFRGS, Porto Alegre. 31p.

GONZÁLEZ, F. H. D. O perfil metabólico no estudo de doenças da produção em vacas leiteiras. **Arquivo da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, Porto Alegre, v. 25. N. 2, p. 13-33, 1997.

GONZÁLEZ, F. H. D. Uso do perfil metabólico no diagnóstico de doenças metabólico-nutricional em ruminantes. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; BARCELLOS, J. O. **Perfil metabólico em ruminantes seu uso e doenças nutricionais**. Porto Alegre, Brasil. Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000.

GONZÁLEZ, F. H. D.; DÜRR, J. W.; FONTANELI, R. S. (Eds.) **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2001. 77 p.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006, 357 p.

GONZÁLEZ, F.H.D; SCHEFFER, J.F.S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica metabólica e nutricional. In: **Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluidos corporais**/editado por Félix. H.D. González...[et. al.,]. – Porto Alegre, 2002.

GUNN, P. J.;SCHULTZ, A. F.; VAN EMON, M. L.; NEARY, M. K.; LEMENAGER, R. P.; PAS, C. P.; Lake,S. L. Effects of elevated crude glycerin concentrations on feedlot performance, carcass characteristics, and serum metabolite and hormone concentrations in finishing ewe and wether lambs. **The Professional Animal Scientist**, v.26, p.298-306, 2010a.

GUNN, P.J.; NEARY, M.K.; LEMENAGER, R.P.; LAKE, S.L. Effects of crude glycerin on performance and carcass characteristics of finishing wether lambs. **Journal of Animal Science**, v. 88, p. 1771-1776. 2010b.

HERDT, T. D. Ruminant adaptation to negative energy balance. Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. **The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, v. 2, n. 16, p. 215-230, 2000.

HOWELL, J.M.; GAWTHORNE, J.M. 1987. Copper in animal and man. Florida: CRC. v. 2, 140p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE, **Produção da Pecuária Municipal 2012**. Rio de Janeiro: IBGE, 2014.

JAIN, N.C. **Essentials of Veterinary Hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993, 417 p.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6 ed. Academic press, San Diego, 2008, 916 p.

KERR, B.J.; HONEYMAN, M.; LAMMERS, P. **Feeding bioenergy coproducts to swine: crude glycerol**. Ames: Iowa State University, 2007. Disponível em: <http://www.ipic.iastate.edu/publications/IPIC11b.pdf> 2007.

KHALILI, H., T. VARVIKKO, V. TOIVONEN, K. HISSA, AND M. SUVITIE. The effects of added glycerol or unprotected free fatty acids or a combination of the two on silage intake, milk production, rumen fermentation and diet digestibility in cows given grass silage based diets. **Agricultural and Food Science**, v. 6, p. 349–362, 1997.

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. Santa Maria: Editora UFSM, 2005, 140 p.

KREHBIEL, C. R. Ruminal and physiological metabolism of glycerin. **Journal of Animal Science**, v.86, p.392, 2008.

LAGE, J.F.; PAULINO, P.V.R.; PEREIRA, L.G.R.; DUARTE, M.S.; VALADARES FILHO, S.C.; OLIVEIRA, A.S.; SOUZA, N.K.P.; LIMA, J.C.M. Carcass characteristics of feedlot lambs fed crude glycerin contaminated with high concentrations of crude fat. **Meat Science**, v.96, p.108-113, 2014.

LAGE, J.F.; PAULINO, P.V.R.; PEREIRA, L.G.R.; VALADARES FILHO, S.C.; OLIVEIRA, A.S.; DETMANN, SOUZA, N.K.P.; LIMA, J.C.M. Glicerina bruta na dieta de cordeiros terminados em confinamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, n.9, p.1012-1020, 2010.

LING, J. R.; ARMSTEAD, I. P. The in vitro uptake and metabolism of peptides and amino acids by five species of rumen bacteria. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 78, p. 116–124, 1995.

LOPES, H.O.S.; FICHTNER, S.S.; JARDIN, E.C. et al. Teores de cobre e zinco em amostras de solos, forrageiras e tecido animal da micro-região Mato Grosso de Goiás, **Arquivos da Escola de Veterinária da UFMG**, v. 32, n.2, p. 151-159, 1980.

LÓPEZ S. E.; LÓPEZ J.; STUMPF JUNIOR, W. Parâmetros séricos de vacas leiteiras na fase inicial de lactação suplementadas com diferentes fontes de gordura. **Archivos latinoamericanos de producción animal**, v. 12, n. 3, p. 96-102, 2004.

MARQUES, A. V. S.; SOARES, P. C.; RIET-CORREA, F.; MOTA, I. O.; SILVA, T. L. A.; BORBA NETO, A. V.; SOARES, F. A. P.; ALENCAR, S. P. Teores séricos e hepáticos de cobre, ferro, molibdênio e zinco em ovinos e caprinos no estado de Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 5, p. 398-406, 2011.

MARQUES, A.P.; RIET-CORREA, F.; SOARES, M.P.; ORTOLANI, E.L.; GIULIODORI, M.J. Mortes súbitas em bovinos associadas à carência de cobre. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 23, n. 1, p. 21-32, 2003.

MARTINS, A.S.; KACHINSKI, M.B.; GALETTO, S.L.; MOLETTA, J.L.; LEAL, L.S. Consumo, desempenho e metabólitos sanguíneos de ovelhas suplementadas com glicerol na dieta. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n.17; p. 2013.

McDOWELL, L.R. **Minerais para ruminantes sob pastejo em regiões tropicais, enfatizando o Brasil**. Terceira edição, University of Florida, 92p., 1999.

MENTEN, J. F. M.; MIYADA, V. S.; BERENCHTEIN, B. **Glicerol na Alimentação Animal**. 2009. Disponível em: http://www.agrolink.com.br/downloads/glicerol_2009-03-13.pdf.

MENTEN, J.F.M.; PEREIRA, P.W.Z.; RACANICCI, A.M.C. Avaliação da glicerina proveniente do biodiesel como ingrediente para rações de frangos de corte. In: CONFERÊNCIA APINCO 2008 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2008, Santos. **Anais...** Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2008. p. 66.

MOZAFFARI, A.A. et al. **Industrial copper intoxication of Iranian fat-tailed sheep in Kerman province, Iran**. *Turkshi Journal of Veterinary and Animal*, v.33, p.113-119, 2009. Disponível em: <<http://journals.tubitak.gov.tr/veterinary/issues/vet-09-33-2/vet33-2-4-0705-8.pdf>>. Acesso em: 15 jan. 2016. doi: 10.3906/vet0705-8.

MUNDIM, A. V.; COSTA, A. S.; MUNDIM, S. A. P.; GUIMARÃES, E. C.; ESPINDOLA, F. S. Influências da ordem e estádios da lactação no perfil bioquímico sanguíneo de cabras da raça Saanen. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 2, p. 306-312, 2007.

MUSSELMAN, A.F.; VAN EMON, M.L.; GUN, P.J.; RUSK, C.P. Effects of crude glycerin on feedlot performance and carcass characteristics of market lambs. **American Society of Animal Science**, v.59, p.353-355, 2008.

ORTOLANI, E.L. 2002. Macro e **microelementos**, p.641-651. IN: SPINOSA, H.S.; GORNIK, S.L. & BERNADI, M.M. (EDS). *Farmacologia aplicada à medicina veterinária*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro-RG.

ORTOLANI, E.L. A importância dos minerais para bovinos. **Revista dos Criadores**, n. 766, p. 1-19, 1993.

OSBORNE, V. R. ;ODONGO, N. E.; CANT, J. P.; SWANSON, K. C.; McBRIDE, B. W. Effects of supplementing glycerol and soybean oil on drinking water on feed and water intake, energy balance of periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.698-707, 2009.

ÖZPINAR, A.; FIRAT, A. Y. S. Metabolic profile of pre-pregnancy, pregnancy and early lactation in multiple lambing sakiz ewes. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 47, n. 3, p. 139-143. 2003.

PAGGI, R. A.; FAY, J. P.; FERNANDEZ, H. M. Effect of short-chain acids and glycerol on the proteolytic activity of rumen fluid. **Animal Feed Science and Technology**, v. 78, p. 341-347, 1999.

PAIVA, P.G.; RENNÓ, F.P.; DEL VALLE, T.A.; JESUS, E.F.; SANTOS, F.C.R.; COSTA, A.G.B.V.B.; CABRAL, G.F.; ALMEIDA, G.F. Glicerina na alimentação de bovinos, **Science and animal health**, v. 3, n. 3, p. 31-55, 2015.

PAYNE, J. M.; DEW, S. M.; MANSTON, R.; FAULKS, M. The use of metabolic profile test in dairy herds. **The Veterinary Record**, v. 87, n. 6, p. 150-158, 1970.

PAYNE, J. M.; PAYNE, S. **The metabolic profile**. Oxford: Oxford University Press, 1987, 179p.

PELLEGRIN, A.C.R.; PIRES, C.C.; CARVALHO, S.; PACHECO, P.S.; PELEGRIN, L.F.V.; GRIEBLER, L.; VENTURINI, R.S. Glicerina bruta no suplemento para cordeiros lactentes em pastejo de azevém. **Ciência Rural**, v.42, n. 8, p. 1477 – 1482, 2012.

PERES, J.R.R.; FREITAS JUNIOR, E.; GAZZONI, D.L. Biocombustíveis. Uma oportunidade para o agronegócio brasileiro. Revista de Política **Agrícola**, Brasília, v. 1, p. 31-41, 2005.

RADOSTITIS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W.; CONSTABE, P. D. 2007. Clínica Veterinária - Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos. 10ª ed. Guanabara Koogan.

REYNOLDS, C.K. **Quantitative aspects of liver metabolism in ruminants.** In: ENGLEHARDT, W.V.; LEONHARD-MAREK, S.; BREVES, G. (Ed.). Ruminant physiology: digestion, metabolism, growth, and reproduction. Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag, 1995. p.351-372.

RICO, D. E.; CHUNG, Y. H.; MARTINEZ, C. M.; et al. Effects of partially replacing dietary starch with dry glycerol in a lactating cow diet on ruminal fermentation during continuous culture. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 3310-3317, 2012.

RIET-CORREA, F. Suplementação mineral em pequenos ruminantes no semi-árido. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v. 7, n. 2-3, p. 112-130, 2004.

RIET-CORREA, F.; TABOSA, I.M.; AZEVEDO, E.O. et al. Doenças dos ruminantes e eqüinos no semi-árido da Paraíba. **SemiÁrido em Foco**, Patos, 1(1): 2-86, 2003.

ROCHA, K.S.; PARENTE, H.N.; PARENTE, M.O.M.; FERREIRA, E.M.; ARAÚJO, J.S.; QUEIROGA, R.C.R.E.; MADRUGA, M.S.; BATISTA, A.S.M. Fatty acid profile, chemical composition, and sensory effects of crude glycerin on the longissimus dorsi of crossbred Boer goat kids. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.44, p.263-268, 2015.

SANTOS, N.V.M.; SARKIS, J.E.S.; GUERRA, J.L.; MAIORKA, P.C.; HORTELANI, M.A.; SILVA, F.F.; ORTOLANI, E.L. Avaliação epidemiológica, clínica, anátomopatológica e etiológica de surto de ataxia em cabritos e cordeiros. **Ciência Rural**, v. 36, n. 4, p. 1207-1213, 2006.

SANTOS, V.C.; EZEQUIEL, J.M.B.; D'AUREA, E.M.O.; FÁVARO, V.R.; SILVA, D.A.V.; HOMEM JUNIOR, A.C.; LAGE, J.F.; NEGRÃO, J.A. Influence of stunning methods on the welfare of glycerine-fed lambs. **Semina: Ciências Agrárias**, v.35, n.4, 2014.

SCHRÖDER, A., and K.-H. SÜDEKUM. 1999. Glycerol as a by-product of biodiesel production in diets for ruminants. In: New Horizons for an Old Crop. Proc. 10th Int. Rapeseed Congress, Canberra, Australia. Paper No. 241. N. Wratten and P. A. Salisbury, ed. The Regional Institute Ltd., Gosford, New South Wales, Australia.

SILVA, T.; AGUIAR, G.; CARVALHO, F.; SIMÕES, S.; MIRANDA NETO, E.; DANTAS, A.; SOARES, P.; RIET-CORREA, F. Outbreaks of copper deficiency in ruminants in the semiarid region of Paraíba, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 4, p. 1955-1960, 2014.

SILVA, T.R.; SIMÕES, S.V.D.; MIRANDA NETO, E.G.; PEREIRA FILHO, J.M.; ASSIS, A.C.O.; AGUIAR, G.M.N.; LIMA, F.A.; RIET-CORREA, F. 2011. Efeitos da suplementação com fósforo em caprinos no semiárido do Nordeste Brasileiro. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63 (5):1268-1271.

SMITH, B.P. **Medicina Interna de grandes animais** / Bradford. P. Smith. –3 ed. – Barueri, SP: Manoel, 2006.

SPEARS, J. W. Reevaluation of the metabolic essentiality of the minerals – Review. **Asian Australian Journal Animal Science**, v. 12, n. 6, p. :1002-1008, 1998.

SUTTLE, N. F. **Mineral Nutrition os Livestock**. 4 ed. Ed. Commonwealth Agricultural Bureaux International, Oxfordshire, UK, 2010. 579 p.

TERRÉ, M.; NUDA A.; CASADO A.; BACH, A. The use of glycerine in rations for light lamb during the fattening period. **Animal Feed Science Technology**, Amsterdam, v.164 p. 262-267, 2011.

TOKARNIA, C. H. DÖBEREINER, J., MORAES, SS. Situação atual e perspectivas da investigação sobre nutrição mineral em bovinos no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 8, p. 1-16. 1988.

TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P.V. Deficiências minerais em animais de fazenda, principalmente bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.20, n.3, p.127-138, 2000.

TOKARNIA, C.H.; PEIXOTO, P.V.; BARBOSA, J.D.B.; BRITO, M.F.; DÖBEREINER, J **Deficiências minerais em animais de produção**. Rio de Janeiro: Helianthus, 2010.

VARGAS L.H.; LANA, R.P.; JHAM, G.N. et al. Adição de lipídios na ração de vacas leiteiras: parâmetros fermentativos ruminais, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.1, p.522-529, 2002.

VASQUEZ, E.F.A.; HERRERA, A.P.N; SANTIAGO, G.S. Interação cobre, molibdênio e enxofre em ruminantes. **Ciência Rural**, v. 31, n. 6; p. 1101–1106, 2001.

WANG, C.;LIU, Q.; YANG, W. Z.; HUO, W. J.; DONG, K. H.; HUANG, Y. X.; YANG, X.M.; HE, D.C. Effects of glycerol on lactation performance, energy balance and metabolites in early lactation Holstein dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v.151, p.12-20, 2009.

WITWER, F. Diagnósticos dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; BARCELLOS, J.O; OSPINA, H.; RIBEIRO, L.A.O. **Perfil Metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000.

YAZDANI, S. S., AND R. GONZALEZ. Anaerobic fermentation of glycerol: A path to economic viability for the biofuel industry. **Current Opinion in Biotechnology**. v. 18, p. 213–219, 2007.

ZAWADSKI, F.; VALERO, M.V.; PRADO, I.V. **Uso de aditivos na dieta de bovinos de corte**. In: Prado, I.N. (Organizador). *Produção de Bovinos de Corte e Qualidade da Carne*. Maringá: Eduem, 2010.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO 1 – Caracterizar os aspectos clínicos da ataxia enzoótica e as concentração sérica de Cu, Fe, Zn e Mo, bem como os aspectos anatomopatológicos de cordeiros com ataxia enzoótica tardia.

4.2. OBJETIVO 2 – Avaliar a resposta metabólica (perfil energético, proteico, atividade enzimática e mineral) do efeito da inclusão de diferentes níveis de glicerina líquida na dieta de cordeiros.

5. SURTO DE ATAXIA ENZOÓTICA EM CORDEIROS NO AGRESTE PERNAMBUCANO, BRASIL

Emanuel Felipe de OLIVEIRA FILHO¹, Pierre Castro SOARES^{2*}, José Augusto Bastos AFONSO³, Carla Lopes MENDONÇA³, Jobson Filipe de Paula CAJUEIRO³, Rodolfo José Cavalcanti SOUTO³, Daniel Nunes de Araújo GONÇALVES⁴, Antônio Flávio DANTAS⁵, Taciana Holanda KUNST⁶, Ana Paula Silveira PAIM⁶, José Claudio de Almeida SOUZA⁷

RESUMO

Um surto de ataxia enzoótica em cordeiros foi registrado no município de Garanhuns, região agreste do estado de Pernambuco, acometendo 18 ovinos (17 fêmeas e um macho). Os animais eram criados em sistema extensivo, sem fornecimento regular na suplementação mineral, alimentados com capim *Brachiaria sp.* e capim pangola (*Digitaria decumbens*) além de água à vontade. Os ovinos foram submetidos à avaliação clínica, exames laboratoriais e anatomopatológicos. O quadro clínico dos animais variou de uma semana a 15 dias, entre os sinais merecem destaque a apatia, anorexia, emagrecimento, anemia, mudança de coloração da lã, amaurose, incoordenação dos membros pélvicos, dificuldade na locomoção com fraqueza dos membros posteriores, posição de “cão sentado”, diminuição da resposta sensitiva e motora, quedas frequentes e dificuldade para ficar em estação e episódios de diarreia. Os valores séricos obtidos de Cu foi de (6,88±4,31 µmol/L), abaixo dos valores de referência (9-15 µmol/L), a concentração de Mo (≤0,05 µmol/L), enquanto a de Fe foi de (44,02±28,51 µmol/L) e Zn foi de (16,13±7,87 µmol/L), estavam dentro da faixa de normalidade para a espécie. Na análise de relação entre Fe, Zn e Cu dos cordeiros acometidos de ataxia enzoótica, evidenciam-se baixa relação negativa entre a concentração sérica de Fe com Cu (r= -0,19) e entre a concentração sérica de Zn com Cu (r= -0,07). Na histopatologia, foram observados vacuolização, presença de esferoides axonais e restos mielínicos, sendo estes fagocitados por macrófagos com citoplasma espumoso, além de discreta desmielinização da substância branca. A carência primária de Cu acarreta a ocorrência da AE na região Agreste Meridional do estado de Pernambuco, visto que a deficiência foi em consequência à insuficiente ingestão deste elemento traço pela dieta e não pela ação de antagonistas como o Fe, Zn e Mo. Além disto, a carência de Cu em ovinos criados na região agreste de Pernambuco é tema importante a ser considerada na nutrição mineral, devendo ser recomendado a suplementação adequada de Cu.

Palavras-chave: Carência mineral, hipocuprose, oligoelementos, pequenos ruminantes, minerais, diagnóstico.

¹ Mestrando do Programa de Pós-graduação em Ciência Veterinária/UFRPE

² Departamento de Medicina Veterinária/UFRPE. Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife, PE. CEP: 52171-900. E-mail: pcastro.pe@gmail.com (*Autor para correspondência)

³ Clínica de Bovinos de Garanhuns/UFRPE - Campus Garanhuns.

⁴ Doutorado do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal Tropical/UFRPE

⁵ Departamento de Medicina Veterinária/UFPE

⁶ Departamento de Química Fundamental/UFPE

⁷ Departamento de Medicina Veterinária UAG/UFRPE

ABSTRACT

The outbreak enzootic ataxia in lambs was recorded in the municipality of Garanhuns, rugged region of the state of Pernambuco, involving 18 sheep (17 females and one male). The animals were raised in extensive system without regular supply in mineral supplementation, grass fed *Brachiaria* sp. and pangola grass (*Digitaria decumbens*) as well as water ad libitum. The sheep underwent clinical evaluation, laboratory and pathology. The clinical condition of the animals ranged from one week to 15 days, between the signs are noteworthy apathy, anorexia, weight loss, anemia, change in color of the wool, amaurosis, incoordination of the hind limbs, difficulty in locomotion with weakness of the hind limbs, position of "dog sitting", decreased sensory and motor responses, frequent falls and difficulty to stay in season and episodes of diarrhea. Serum values of Cu was (6.88 ± 4.31 mmol / L) below the reference range (9-15 mmol / L), the concentration of Mo ($\leq 0,05$ mmol / L), while the Fe was (44.02 ± 28.51 mmol / L) and Zn was (16.13 ± 7.87 mmol / L), were within the normal range for the species. In the analysis of the relation between Fe, Zn and Cu of affected lambs enzootic ataxia, evidence was low negative correlation between the serum concentration of Fe with Cu ($r = -0.19$) and between serum Zn Cu ($r = -0.07$). Histopathology vacuolization were observed, the presence of axonal spheroids and myelin debris, which are engulfed by macrophages with foamy cytoplasm, together with mild demyelination of the white matter. The primary deficiency of Cu causes the occurrence of AE in South Agreste region of Pernambuco state, since the deficiency was due to inadequate intake of this trace element in the diet and not by the action of antagonists such as Fe, Zn and Mo. In addition, the lack of Cu in sheep raised in the wild region of Pernambuco is important issue to be considered in mineral nutrition and should be recommended proper supplementation of Cu.

Keywords: Diagnostics, hipocuprosis, mineral deficiency, minerals, small ruminants, trace elements.

INTRODUÇÃO

O cobre é um dos microelementos essenciais para os animais e plantas. É de suma importância na hematopoiese, metabolismo dos tecidos conectivos, formação da mielina e ossos, pigmentação, formação de lã e pelos, além de processos enzimáticos importantes como na citocromo C oxidase, superóxido dismutase, lisil oxidase, ceramida galactosil transferase, produção de fosfolípidos e dopamina beta hidroxilase (CAVALHEIRO e TRINDADE 1992; RADOSTITS et al. 2007).

Juntamente com o fósforo, o cobre é um dos minerais mais deficientes e de maior interesse em ruminantes, pois apresenta uma grande variação em seus sinais clínicos e extensa distribuição geográfica no Brasil e em outros países (MARQUES et al. 2003). A sua carência pode ser originada pelo menor aporte do nutriente na dieta, suplementação mineral inadequada, baixas concentrações nas forragens, solo ou maior presença de antagonistas (Fe, Mo, S e Zn) diminuindo assim a sua disponibilidade (ORTOLANI 2002; RIET-CORREA 2004).

A carência de cobre pode ser de origem primária ou secundária (dependendo do consumo do elemento na dieta ou da utilização do Cu pelos tecidos) e expressa ao máximo na Ataxia Enzoótica (AE) em cordeiros e cabritos, que acomete animais de até 180 dias de vida e é caracterizada pela desmielinização do sistema nervoso central, provocando sintomas de cambaleio dos membros posteriores e dos anteriores (em menor grau), paralisia flácida ou espástica, incapacidade total de locomoção e morte. São descritos dois tipos de ataxia enzoótica, baseados no local da lesão e na evolução clínica do quadro. A forma congênita é marcada pela destruição da substância branca cerebral e acomete neonatos nos primeiros dias de vida, a forma tardia é caracterizada pelas lesões no tronco encefálico e tratos motores da medula espinhal, com ocorrência após a terceira semana de vida (SANTOS et al., 2006).

No Nordeste do Brasil a carência de Cu foi pesquisada e diagnosticada inicialmente por TOKARNIA et al. (1966) em ovinos no Piauí, sendo a enfermidade caracterizada por respiração ruidosa, chamada de “ronca”. Outros surtos de AE foram diagnosticados em caprinos e ovinos no Agreste de Pernambuco (SANTOS et al., 2006), em ovinos no Rio Grande do Norte (SOUSA et al., 2009), em caprinos e ovinos no Sertão Pernambucano (MARQUES et al., 2011), foram encontrando níveis marginais de Cu ($9,85 \pm 2,71 \mu\text{mol/L}$ e em caprinos de $11,37 \pm 2,57 \mu\text{mol/L}$) e Zn ($11,9 \pm 6,07 \mu\text{mol/L}$ em ovinos e $11,79 \pm 7,42 \mu\text{mol/L}$ em caprinos). Recentemente, em um estudo realizado com caprinos e ovinos na região do Sertão Pernambucano, SILVA JÚNIOR et al. (2015), não constatou a carência de cobre, porém encontrou teores elevados de Fe, um dos importantes antagonistas do Cu. Outro estudo realizado em caprinos e bovinos na região semiárida da Paraíba (SILVA et al., 2014), evidenciou a AE e o quadro clínico de diarreia crônica nos bovinos. Em um segundo estudo com caprinos e ovinos criados no Estado da Paraíba realizado por SILVA et al. (De 2014 - dados não publicados), constatou-se concentrações séricas deficientes de Cu ($11,82 \pm 3,28 \mu\text{mol/L}$) em caprinos e ($10,97 \pm 3,61 \mu\text{mol/L}$) em ovinos, de Fe ($16,38 \pm 4,51 \mu\text{mol/L}$) em caprinos e ($25,41 \pm 9,76 \mu\text{mol/L}$) em ovinos, além de Zn ($8,30 \pm 1,91 \mu\text{mol/L}$) em caprinos e ($8,63 \pm 2,22 \mu\text{mol/L}$) em ovinos.

Em se tratando de outras regiões do estado de Pernambuco, como a região agreste meridional Pernambucano, onde está localizada a bacia leiteira do estado e também o agronegócio de importante contingente de criação de caprinos e de ovinos, nunca foi registrado a casuística de surto de carência de Cu, quer seja primária ou secundária, ou mesmo se de origem congênita ou tardia na sua forma clínica. O registro de situações de enfermidades de ordem nutricional é relevante, uma vez que permite a comunidade científica

divulgar o problema e possibilitar medidas consideráveis de controle, por meio de orientação técnica para a correção do problema.

Tendo em vista que as carências de um ou mais minerais pode não ser expressa em sinais clínicos ou em perdas na produção, havendo desta forma uma necessidade de maiores conhecimentos com relação ao status de mineralização de ovinos. Este trabalho teve como objetivo descrever um surto de carência de Cu em ovinos, em seus aspectos clínicos, anatomopatológicos e da quantificação das concentrações séricas de Cu e seus antagonistas em ovinos criados na região agreste do Estado de Pernambuco.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em uma propriedade localizada no município de Garanhuns, região Agreste Meridional do estado de Pernambuco. De um total de 70 animais da espécie ovina mestiços da raça Santa Inês foi informada que cinco animais estavam doentes apresentando dificuldade na locomoção, com andar desequilibrado e ficando em posição de “cão sentado”, tais episódios ocorreram em maio de 2014. Em abril de 2015, foram atendidos 18 animais, sendo 17 fêmeas e um macho atendidos na Clínica de Bovinos de Garanhuns (CBG – UFRPE). Tais animais tinham idade inferior a cinco meses e os sinais clínicos começaram a aparecer a partir de um mês de vida. Os animais eram criados em sistema extensivo, sem regularidade na suplementação mineral, alimentados com pastagem de capim *Brachiaria sp.* e capim pangola (*Digitaria decumbens*) e água *ad libitum*. Todos os animais foram avaliados levando em consideração o exame clínico, segundo RADOSTITS et al. (2007).

Realizaram-se coletas de sangue por venopunção jugular, em tubos siliconizados vacutainer®, sem anticoagulante, para obtenção de soro. As amostras foram mantidas à temperatura ambiente para retração do coágulo e obtenção de soro. Posteriormente foram encaminhadas ao Laboratório Clínico, da Clínica de Bovinos de Garanhuns (CBG – UFRPE) para procedimento de centrifugação, por período de 15 minutos a 500 g, alicotadas e armazenamento em ultrafreezer a -80.

Após necropsopia dos cinco animais, coletaram-se amostras do SNC, as quais foram acondicionadas em solução de formol neutro e tamponada a 10% e processadas pelos métodos histopatológicos de rotina e corados pela Hematoxilina–Eosina (HE). Amostras da medula espinhal foram processadas por meio de coloração por Luxol Fast Blue, com corte por

congelamento, permitindo caracterizar a mielinização, sendo tal procedimento realizado no Laboratório de Patologia Animal da UAMV/UFPA-Patos-PB.

As amostras de sangue foram submetidas à digestão por micro-ondas, onde cada amostra foi colocada em frasco digestor com cinco mililitros (ml) de ácido nítrico (HNO_3) e digerido no micro-ondas (MarsXpress – CEM Technology Inside®) durante 50 minutos (etapa 1: 110°C – 8 min, etapa 2: 170°C – 10 min, etapa 3: 170°C – 10 min). Posteriormente, adicionou-se um ml de água ultrapura Milli-Q para cada amostra analisada e em seguida armazenada em tubos cônicos de polietileno com capacidade para 15 mL. Os brancos analíticos foram preparados pelo mesmo procedimento, porém sem adição da amostra (NOMURA et al. 2005). As digestões das amostras foram realizadas no Laboratório de Química Analítica do Centro de Apoio à Pesquisa da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Os minerais avaliados foram: Cu, Fe, Zn e Mo. A determinação dos minerais foi realizada por espectrometria de absorção atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES), utilizando-se aparelho modelo ICP OES Optima 7000 DV (PerkinElmer, EUA®) com configuração axial, no Laboratório de Química Analítica do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco. Os parâmetros instrumentais e linhas analíticas empregados na determinação multielementar utilizando o ICP OES foram realizadas conforme padronização: Potência RF (kW) - 1,3; Vazão do gás de nebulização (L min⁻¹) - 0,8; Vazão do gás auxiliar (L min⁻¹) - 0,2; Vazão do gás do plasma (L min⁻¹) - 15; Taxa de aspiração da amostra (mL min⁻¹) - 1,0; Tempo de integração (s) - 8; Tempo de estabilização (s) - 20; Tempo de leitura (s) - 27; Número de replicatas - 3; Nebulizador – Concêntrico; Câmara de nebulização – Ciclônica; Comprimento de onda de detecção (nm): Cu 327,393; Fe 238,204; Zn 206,200; Mo 202,031. As amostras foram expressas em $\mu\text{mol/L}$.

As variáveis estudadas foram descritas por meio das respectivas medidas estatísticas: médias, medianas, desvios – padrão, percentis de 25 e 75. Realizou-se análise de correlação de Pearson para verificar o grau de relação entre os elementos traços, ao nível de 5 % de probabilidade. Os dados foram analisados por meio do programa computacional Statistical Analysis System (SAS, 2009).

RESULTADOS

Aspectos Clínicos

Os primeiros casos de Ataxia Enzoótica surgiram em maio de 2014. Os animais apresentavam no início da doença sinais de perda de acuidade visual, apatia, inapetência evoluindo para anorexia, três animais apresentaram amaurose, mesmo após a oferta da suplementação mineral, um animal manteve-se permanentemente cego, anemia, emagrecimento, mudança de coloração da lã, diminuição da resposta sensitiva e motora, dificuldade na locomoção com fraqueza dos membros posteriores (Figura 1), quedas frequentes e dificuldade para se manter em estação, incoordenação dos membros pélvicos, evoluindo para um quadro mais severo, ficando em posição de “cão sentado”. A maioria dos animais acometidos tinham idade média ≤ 60 dias. A evolução do quadro clínico variou entre uma semana e 15 dias. Muitos animais morreram na propriedade, sendo que dos 18 animais atendidos na Clínica de Bovinos de Garanhuns/UFRPE, cinco morreram em decorrência da evolução da carência mineral. Foi recomendada a suplementação mineral dos animais da propriedade, principalmente as matrizes, sendo suplementados com sal mineral específico para a espécie (Ovinofós: Cu – 350 mg/Kg; Fe – 700 mg/Kg; Zn – 2600 mg/Kg e Mo – 180 mg/Kg).



Figura 1. Animal apresentando dificuldade em manter-se em estação, apresentando incoordenação e dificuldade de locomoção dos membros posteriores, em decorrência da Ataxia Enzoótica.

Concentração de Cu, Fe, Zn e Mo

Os dados referentes às medidas de tendência central das concentrações de Cu, Fe e Zn estão expressos na Tabela 1. A concentração sérica de Cu foi de $6,88 \pm 4,31 \mu\text{mol/L}$, estando abaixo dos valores de referência ($9 - 15 \mu\text{mol/L}$), enquanto que a de Fe foi de $44,02 \pm 28,51 \mu\text{mol/L}$ e concentração sérica de Zn foi de $16,13 \pm 7,87 \mu\text{mol/L}$.

As concentrações de Mo foram extremamente baixas, verificando-se que apenas um animal apresentou concentração inferior a $0,05 \mu\text{mol/L}$, enquanto que para os demais, não foi possível determinar a concentração exata de Mo, uma vez que a curva de calibração não permitiu detecção de valores muito baixos (equação de linearidade da curva de calibração: $Y=13924x - 10618$; $R^2=0,9986$).

Na análise de relação entre Fe, Zn e Cu dos cordeiros acometidos de ataxia enzoótica, evidenciam-se baixa relação negativa entre a concentração sérica de Fe com Cu ($r = -0,19$) e entre a concentração sérica de Zn com Cu ($r = -0,07$). Tais relações estão expressas pela equação de linearidade e coeficiente de correlação de Pearson (r) na Figura 2.

Tabela 1 - Estatística descritiva e valores de referência da concentração sérica de Cu, Fe e Zn de ovinos com surto de ataxia enzoótica em cordeiros criados no agreste meridional de Pernambuco, Brasil

| Medidas de Tendência Central | Concentração sérica de Cu, Fe e Zn | | |
|----------------------------------|------------------------------------|------------------------------|--------------------------|
| | Cu ($\mu\text{mol/L}$) | Fe ($\mu\text{mol/L}$) | Zn ($\mu\text{mol/L}$) |
| Média | 6,88 | 44,02 | 16,13 |
| DP | 4,31 | 28,51 | 7,87 |
| Mediana | 7,46 | 36,43 | 13,87 |
| Inferior | 0,97 | 12,54 | 6,37 |
| Superior | 16,02 | 106,09 | 38,73 |
| Valor de referência ¹ | 9,0 - 15,0 ¹ | 34,6 \pm 1,25 ¹ | 12,3 - 18,5 ¹ |

¹Suttle (2010).

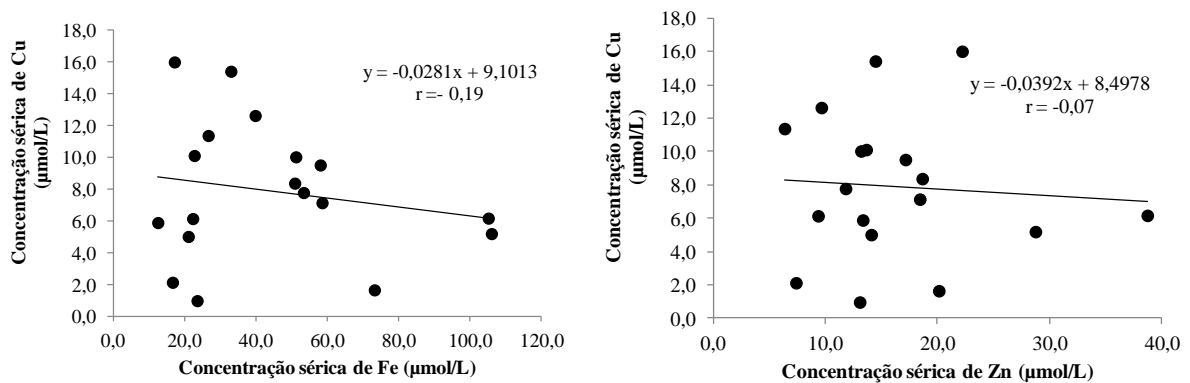


Figura 2. Representação gráfica da análise de correlação de Pearson entre as concentrações séricas de Fe com Cu e Zn com Cu de cordeiros acometidos de ataxia enzoótica na região agreste meridional de Pernambuco, Brasil.

Anatomopatologia

Na macroscopia não foram encontrados achados significativos. Na coloração em HE nos fragmentos de medula espinhal, substância branca, principalmente dos funículos ventrais, evidenciou-se discreta vacuolização, escassos esferoides axonais e restos mielínicos sendo fagocitados por macrófagos com citoplasma espumoso (Célula Gitter) (Figura 3 – Imagem A). Pela coloração histoquímica de luxol *fast-blue* (Figura 3 – Imagem B), verificou na substância branca, áreas com discreta desmielinização (Figura 3 – Imagem B).

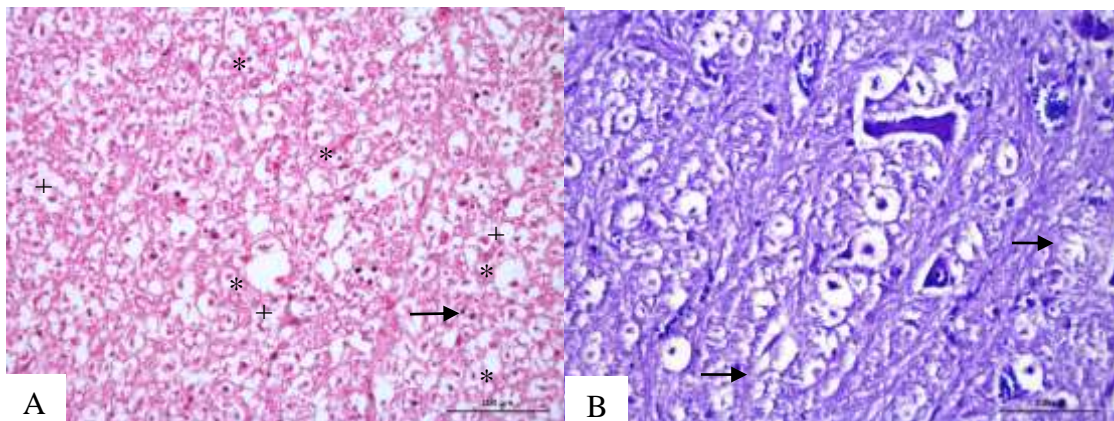


Figura 3. Imagem A - Coloração em HE, evidenciando discreta vacuolização (+), escassos esferoides axonais (seta) e restos mielínicos sendo fagocitados por macrófagos com citoplasma espumoso (célula Gitter) (*). Imagem B - Coloração histoquímica de luxol *fast-blue*, evidenciando áreas com discreta desmielinização (setas).

DISCUSSÃO

De acordo com os dados obtidos, verifica-se que o surto é característico da forma tardia da AE em ovinos. A AE pode ser congênita ou tardia. A forma congênita ocorre em fêmeas gestantes com carência dietética extrema de Cu, enquanto que na forma tardia, acometendo neonatos com maior idade, a partir de três semanas de vida (ZATTA E FRANK, 2007).

O aspecto clínico bem como o tempo de observação dos sinais clínicos verificados nos animais deste surto é coincidente com outros trabalhos já publicados (SANTOS et al. 2006; GUEDES et al., 2007; SOUSA et al., 2012; OZKUL et al., 2012; SILVA et al., 2014; OHFUJI, 2015). SANTOS et al. (2006) registraram a ocorrência de AE em cordeiros em Surubim, Pernambuco, e verificaram que os animais apresentaram leves tremores cutâneos, ranger dos dentes, diminuição da resposta sensitiva e motora, incoordenação dos membros posteriores, quedas frequentes, dificuldade para se manter em estação, andar “ajoelhado” e posição de “cão sentado”, paralisia dos membros, tendo os animais idade entre 30 e 45 dias. O fato de animais apresentarem sintomas que caracterizam uma dificuldade em se manterem em estação e com modificação de postura, como comumente é visto na AE, é caracterizada por espasticidade e presença de lesões no cerebelo (SANTOS et al., 2006).

SILVA et al. (2014), em seu estudo com caprinos e bovinos na Paraíba, constataram a presença da carência de Cu. Os caprinos estudados em cinco surtos apresentavam a sintomatologia clínica semelhante. Os animais inicialmente apresentaram-se com debilidade ou espasticidade e ataxia dos membros posteriores, evoluindo para os membros anteriores, levando ao quadro de decúbito permanente, incoordenação e dificuldade em permanecer em estação por longos períodos, paralisia flácida nos quatro membros, além de tremores de cabeça, bruxismo, diminuição do reflexo pupilar, ausência do reflexo anal e de deglutição, secreção nasal purulenta.

A presença de amaurose foi observada em três animais, sendo que um destes ficou cego, mesmo recebendo suplementação mineral específico para a espécie. Dos trabalhos publicados na região nordeste do Brasil, nenhum registra presença de amaurose nos animais em casos de AE tardia. Em nenhum dos animais avaliados por SANTOS et al. (2006) foi observada a presença dos seguintes sintomas: falta de consciência, amaurose, nistagmo, surdez cortical, diminuição do reflexo pupilar e anemia.

SILVA JÚNIOR et al. (2015) citam que poucos são os trabalhos desenvolvidos no Estado de Pernambuco relacionado à carência de cobre, sendo que as únicas deficiências

diagnosticadas em caprinos e ovinos no semiárido foram em animais em pastejo (RIET-CORREA, 2004; SANTOS et al., 2006). Já MARQUES et al. (2011), reportaram que os teores sérico e hepático de cobre eram em média inferiores aos limites considerados normais para a espécie, indicando a necessidade de suplementação deste mineral. O trabalho que melhor reporta a carência de Cu em pequenos ruminantes no estado de Pernambuco o de SANTOS et al. (2006), registrando carência secundária de Cu em cordeiros por ingestão excessiva de Fe, considerado um antagonico muito importante em áreas em que o solo é rico em Fe em Pernambuco. SILVA JÚNIOR et al. (2015), avaliando a concentração de Cu e antagonistas na região do Vale do São Francisco, em Petrolina, PE, não encontraram concentrações carentes de Cu, porém encontraram elevados valores mais elevados de Fe em ovinos.

Em relação às concentrações de Cu, Fe, Zn e Mo quantificados nos animais deste surto, a concentração sérica de Cu ($6,88 \mu\text{mol/L}$) encontra-se abaixo dos limites normais, enquanto que a de Fe ($44,02 \mu\text{mol/L}$) e de Zn ($16,13 \mu\text{mol/L}$) encontra nos limites considerados normais para a espécie ovina. Entretanto, as concentrações séricas de Mo foram extremamente baixas com valores inferiores a $0,05 \mu\text{mol/L}$. Verifica-se que tal concentração sérica de Cu foi inferior que os encontrados por OREGUI e BRAVO (1993), cujo intervalo variou de $10,94$ a $31,25 \mu\text{mol/L}$; GRACE (1983), com $12,6$ a $18,9 \mu\text{mol/L}$; SANTOS et al. (2006), com média de $12,9 \pm 1,3 \mu\text{mol/L}$; POTT et al. (1999), com média de $10,16 \mu\text{mol/L}$; e SOLAIMAN et al. (2001), com média de $18,11 \pm 0,63 \mu\text{mol/L}$ e KANEKO et al. (2008), com intervalo entre $9,13$ a $25,2 \mu\text{mol/L}$. Conforme descrito por SUTTLE (2010), valores séricos de 9 a $15 \mu\text{mol/L}$ são considerados como valores normais para ovinos.

Considerando dados reportados da região nordeste do Brasil, alguns grupos de pesquisadores com mineralogia em ruminantes registraram valores baixos na casuística de AE tardia, particularmente secundária por excesso de antagonistas, chamando atenção para o Fe, o qual participa fortemente da AE secundária em ovinos. SANTOS et al. (2006), encontraram valores médios de Cu plasmático de $12,9 \pm 1,3 \mu\text{mol/L}$ em surto de AE secundária ao excesso de Fe em ovinos no município de Surubim, PE.

MARQUES et al. (2011) registraram em ovinos e caprinos criados na região semiárida do estado de Pernambuco e abatidos nas épocas da chuva e seca concentração sérica de Cu com média de $9,85 \mu\text{mol/L}$, sendo esse resultado considerado como carência marginal de Cu (SUTTLE, 2010). Além disso, os autores recomendam a suplementação com Cu em animais a campo, tanto na seca quanto na chuva. Ainda segundo MARQUES et al. (2011), teores séricos de Cu e Zn em ovinos criados no sertão do estado de Pernambuco apresentam-se em

situação marginal, sendo importante fator de risco para a ocorrência de deficiência, tanto inaparente quanto clínica, com as consequentes perdas econômicas, devendo-se, portanto, oferecer suplementação adequada destes nutrientes. O período de seca é um importante fator sazonal que determina menor aporte sérico de Zn e hepático de Fe e Zn em ovinos criados no sertão do estado de Pernambuco (MARQUES et al., 2011). Considerando os teores de Fe, Zn e Mo encontrados, a deficiência de Cu na região estudada tem característica de deficiência marginal primária, já que não houve a interferência antagônicas destes elementos em relação ao Cu como nos estudos realizados por SANTOS et al. (2006) e MARQUES et al. (2011).

REZLER et al (2011) estudando ovinos preparados para exposição e alimentados com concentrado e ovinos criados a campo, encontraram concentração sérica de $10,38 \pm 1,53 \mu\text{mol/L}$ e $10,38 \pm 1,53 \mu\text{mol/L}$, respectivamente. SOUSA et al. (2012) encontraram valores médios de Cu plasmático de $5,9 \pm 1,1 \mu\text{mol/L}$ em surto de AE secundária ao excesso de Fe em ovinos no município de Mossoró, RN. SILVA et al. (2014) registraram AE em caprinos e ovinos no semiárido do estado da PB, registrando concentração sérica de $1,61$ e $1,29 \mu\text{mol/L}$. Não foi realizado análise de outros elementos traços considerados antagonistas, sem condições de definir se a carência era primária ou secundária, porém foi possível entender que a forma clínica da AE era tardia, pois um animal de 30 dias de vida foi atendido e avaliado. SILVA JÚNIOR et al. (2015), verificaram variação sexual e do período sazonal de ovinos criados no sertão do vale do São Francisco em Pernambuco, porém esta variação estava dentro dos valores de referência para a espécie. Os autores encontraram teores de Cu sérico em ovinos de $9,8$ a $10,7 \mu\text{mol/L}$, não verificando variação significativa entre os fatores estudados.

Em relação às concentrações de Fe e Zn, tem-se como valores de referência para Fe de $34,6 \pm 1,25 \mu\text{mol/L}$ e Zn de $12,3$ a $18,5 \mu\text{mol/L}$, segundo SUTTLE (2010). Já em relação ao Mo, tem-se registro de valores de média geral de $30,0 \pm 0,14 \mu\text{mol/L}$ em soro de ovinos criados na região sertão do estado de Pernambuco (MARQUES et al., 2011), e valores médios de $0,15 \pm 0,08 \mu\text{mol/L}$ em soro de ovinos criados no Vale do Rio São Francisco, PE (SILVA JÚNIOR et al., 2015).

De acordo com a análise dos dados, verifica-se que a respectiva carência de Cu é de natureza primária, visto que os valores de seus antagonistas se encontravam normais. Tal aspecto foi confirmado pela análise de correlação em que foi registrado baixo grau de correlação negativo entre o Fe com Cu ($r = - 0,19$; $p > 0,05$) e do Zn com Cu ($r = - 0,07$; $p > 0,05$). Tal análise reforça a condição que o problema se manifestou nestes ovinos que tiveram suas mães com deficiência nutricional, as quais certamente receberam dietas com

pastagem contendo baixa concentração de Cu, sem interferência direta de seus antagonistas, particularmente o Fe, como descrito por outros autores já citados, tanto em Pernambuco como em outros estados da região Nordeste (SANTOS et al., 2006; MARQUES et al., 2011; SOUSA et al., 2012).

Contrariamente aos dados obtidos por SANTOS et al. (2006) e SOUSA et al., (2012), neste estudo foi registrado carência de Cu sem a influência direta e significativa de seus antagonistas, particularmente o Fe. Assim sendo, até o presente momento não se tinha relatado a ocorrência de AE primária de Cu na região agreste do estado de Pernambuco, tornando este trabalho o pioneiro nesta caracterização. As causas de deficiência de minerais são relacionadas à baixa concentração de micronutrientes na dieta (deficiência primária) ou incapacidade do animal para absorver minerais da dieta, mesmo quando a concentração de micronutrientes na dieta é normal (deficiência secundária). A utilização de Cu a partir da dieta é grandemente inibida pelo consumo de antagonistas, tais como Fe, S, Mo, e Zn (SUTTLE, 2010; LÓPEZ-ALONSO, 2012).

Nas observações histopatológicas dos ovinos acometidos de AE neste surto, os achados também foram relatados por outros autores (BANTON et al., 1990; SANTOS et al., 2006; GUEDES et al., 2007; OZKUL et al., 2012; SILVA et al., 2014 e OHFUJI, 2015). As alterações observadas na medula espinhal apresentaram um padrão simétrico afetando as fibras nervosa, como também observado por BANTON et al. (1990). Tal como visto neste surto de AE, achados mais importantes são a degeneração dos axônios e da mielina no trato cerebelar e motor da medula espinhal (RADOSTITS et al., 2007).

OHFUJI (2015) resalta que animais com tecido medular com alteração em sua estrutura em casos de AE têm relação direta com alterações Wallerianas, em que é observada degeneração de fibras nervosas mielinizadas, caracterizadas por inchaço, fragmentação, desintegração em fragmentos ou mesmo perda de axônios e distensão das bainhas de mielina contendo macrófagos amorfos, número aumentado de astrócitos e proliferação capilar.

É importante considerar a sensibilidade que tem os cordeiros para desenvolver AE na carência primária de Cu, como foi constatado também, fato este explicado por ZATTA E FRANCK (2007). Que no período crítico do terço final da gestação, quando a mielina está sendo requerida mais rapidamente, a deficiência de Cu provoca uma diminuição da atividade da COX, que leva a inibição do metabolismo aeróbio e síntese de fosfolipídios. Assim, a síntese de mielina é inibida, de forma semelhante para os efeitos da ingestão excessiva de Zn, que compete com Cu com metalotioneína hepática.

GALLAGHER E REEVE (1971) relataram uma relação direta entre a perda da atividade da COX com a síntese prejudicada de fosfolipídios, que é dependente de um fornecimento de ATP. As mitocôndrias hepáticas tornam-se incapaz de sintetizar significativas quantidades de fosfolipídios. Segundo estes mesmos autores, uma diminuição moderada na COX, no entanto, não parecer ser crucial para a síntese de ATP, mas a deficiência de Cu pode afetar o transporte de ATP sintetizado a partir mitocôndria.

O motivo para a diminuição da síntese de mielina é a menor atividade da enzima respiratória citocromo-oxidase que tem de íons de cobre. A paralisia posterior observada e ataxia neste caso podem ser associadas aos danos degenerativos estabelecidos nos neurônios nos cornos ventrais da medula espinhal; condição que tem sido observado por diferentes pesquisadores. Esse tipo de neurônio contem quantidades elevadas desta enzima nas mitocôndrias. Essa é a razão pela qual eles são os mais vulneráveis quando existe deficiência de Cu (DINEV et al., 2005).

Para o correto diagnóstico e para compreender a influência de fatores relacionados com o meio ambiente, é necessário identificar os fatores condicionantes por determinações químicas (ZATTA e FRANCK, 2007), como neste caso foram quantificados alguns elementos, além do Cu, que tem ação conhecidamente antagônica. Estes autores reportam que o Mo, para ruminantes, é o elemento de maior interação no metabolismo do Cu, sendo importante determinar ambos. Mais uma vez, pela análise dos dados, reforça-se a condição de carência primária destes animais, uma vez que seus antagonistas (Fe, Zn e Mo) estiveram em valores normais e particularmente o Mo que teve dosagem muito baixa, considerando também o procedimento analítico de alto desempenho e sensibilidade para detecção de concentrações muito baixas dos elementos traços, como foi utilizado neste estudo.

CONCLUSÃO

Além das alterações histopatológicas encontradas no presente estudo, concomitantemente com os dados clínicos e quantificação de Cu e seus antagonistas, os dados registrados são amplamente suficientes para definir diagnóstico de AE tardia em cordeiros por carência primária de Cu.

A carência de Cu em ovinos criados na região agreste de Pernambuco é tema importante a ser considerada na nutrição mineral, devendo ser recomendado a suplementação de Cu, visto que a carência primária foi em consequência à insuficiente ingestão deste elemento traço pela dieta e não pela ação de antagonistas como o Fe e Zn.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BANTON, M.I., LOZANO-ALARCON, F., NICHOLSON, S.S., JOWETT, P.L.H., FLETCHER, J., OLCOTT, B.M. Enzootic ataxia in Louisiana goat kids. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v.2, p.70-73, 1990.

CAVALHEIRO, A. C. L.; TRINDADE, D. S. **Os minerais para bovinos e ovinos criados em pastejo**. Porto Alegre: Sagra-DC Luzzatto, 1992. 142 p.

DINEV, I., PETKOV, P., TODOROV, R., KANAKOV, D., BINEV, R., PETKOVA, P. Clinical and morphologic studies of neonatal enzootic ataxia in the goat kids II: pathomorphologic studies. **Trakia Journal of Sciences**, v.3, n.5, p.65-69, 2005.

GALLAGHER, C.H., REEVE, V.E. Copper deficiency in the rat. Effect on synthesis of phospholipids. **Australian Journal of Experimental Biology & Medical Science**, v. 49, p. 21-23, 1971.

GRACE N.D. **The mineral requirement of grazing ruminants**. Glaxo. New Zeland Ltd, Palmerston North. 1983. 150p.

GUEDES, K.M.R., RIET-CORREA, F., DANTAS, A.F., SIMÕES, S.V.D., MIRANDA NETO, E.G., NOBRE, V.M.T.; MEDEIROS, R.M.T.. Doenças do sistema nervoso central em caprinos e ovinos no semi-árido. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 27, n. 1, p. 29-38, 2007.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6 ed. Academic press, San Diedo, 2008, 916 p.

LÓPEZ-ALONSO, M. TraceMinerals and Livestock: Not TooMuch Not Too Little. ISRN **Veterinary Science**, v. 2012, Article ID 704825, 18 pages doi:10.5402/2012/704825, 2012.

MARQUES, A. V. S.; SOARES, P. C.; RIET-CORREA, F.; MOTA, I. O.; SILVA, T. L. A.; BORBA NETO, A. V.; SOARES, F. A. P.; ALENCAR, S. P. Teores séricos e hepáticos de cobre, ferro, molibdênio e zinco em ovinos e caprinos no estado de Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 5, p. 398-406, 2011.

MARQUES, A.P.; RIET-CORREA, F.; SOARES, M.P.; ORTOLANI, E.L.; GIULIODORI, M.J. Mortes súbitas em bovinos associadas à carência de cobre. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.23, n.1, p.21-32, 2003.

NOMURA C.S., SILVA C.S., NOGUEIRA A.R.A. & OLIVEIRA P.V. Bovine liver sample preparation and micro-homogeneity study for Cu and Zn determination by solid sampling electrothermal atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta*. v. 60, p.673-680, 2005.

OHFUJI, S. A spontaneous case of spinal cord degeneration in an adult dairy goat. **Comparative Clinical Pathology**, v. 24, p. 625–628, 2015.

OREGUI, L.M.; BRAVO, M.V. **El cobre, funciones y necesidades**, In: Fernandez M.A.G. (Ed.), *Patologia Relacionada con el Cobre: deficiencias e intoxicaciones*. Luzans Ediciones, Madrid. 1993. p.9-22.

ORTOLANI, E.L. Macro e microelementos. In: SPINOSA, H.S.; GORNIK, S.L. & BERNADI, M.M. (Eds). **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro. p. 641-651. 2002.

OZKUL, I.A.; ALCIGIR, G.; SEPICI-DINCEL, A.; YONGUC, A.D.; AKCORA, A.; TURKASLAN, J. Histopathological and biochemical findings of congenital copper deficiency: are these similar to those of caprine arthritis-encephalitis? **Journal of Veterinary Science**, v. 13, n. 1, p. 107-109, 2012.

POTT E.B., HENRY P.R., ZANETTI M.A., RAO P.V., HINDERBERGER E.J.; AMMERMAN C.B. Effects of high molybdenum concentration and duration of feeding time on molybdenum and copper metabolism in sheep. **Animal Feed Science and Technology**, v.79, p. 93-105, 1999.

RADOSTITIS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W.; CONSTABE, P. D. 2007. *Clínica Veterinária - Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos*. 10ª ed. Guanabara Koogan.

REZLER, U.; RIBEIRO, L.A.O.; DREYER, C.T.; LEHUGEUR, C.M.; CARNESELLA, S.; CECIM, M. Cobre sérico e enzimas relacionadas ao seu metabolismo em ovinos no Rio Grande do Sul. **Ars Veterinaria**, v.27, n.2, 080-084, 2011.

RIET-CORREA, F. Suplementação mineral em pequenos ruminantes no Semiárido. **Ciência Veterinária dos Trópicos**, v. 7, n. 2-3, p. 112-130, 2004.

SANTOS, N.V.M.; SARKIS, J.E.S.; GUERRA, J.L.; MAIORKA, P.C.; HORTELANI, M.A.; SILVA, F.F.; ORTOLANI, E.L. Avaliação epidemiológica, clínica, anatomopatológica e etiológica de surtos de ataxia em cabritos e cordeiros. **Ciência Rural**, v.36, n.4, p.1207-13, 2006.

SILVA, T.; AGUIAR, G.; CARVALHO, F.; SIMÕES, S.; MIRANDA NETO, E.; DANTAS, A.; SOARES, P.; RIET-CORREA, F. Outbreaks of copper deficiency in ruminants in the semiarid region of Paraíba, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 4, p. 1955-1960, 2014.

SILVA, T. R. Carência de macro e microelementos em caprinos, ovinos e bovinos nos estados da Paraíba e Pernambuco / Tatiane Rodrigues da Silva. – Recife, 2014. 56 f.: il. Tese (Doutorado em Ciência Veterinária) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina Veterinária, Recife, 2014.

SILVA JÚNIOR S.S.; ANTONELLI A.C.; SOARES G.W.N.; GOMES I.M.M.; ROCHA FILHO J.F. Determinação de cobre e outros minerais em caprinos e ovinos criados no sertão do vale do Rio São Francisco, Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n. 9, p. 767-774, 2015.

SOLAIMAN, S.G. et al. Effects of high copper supplements on performance, health, plasma copper and enzymes in goats. **Small Ruminant Research**, v.41, p.127-139, 2001.

SOUSA, I. K. F.; MINERVINO, A. H. H.; BARROS, I. O.; SOUSA, R. S.; CHAVES, D. F.; ARAUJO, C. A. S. C.; BARRÊTO JÚNIOR, R. A.; ORTOLANI, E. L. Surto de ataxia enzoótica em ovinos em Mossoró – RN. **Ciência Animal Brasileira**, v. 1, p. 134-139, 2009.

SOUSA, I.K.F.; MINERVINO, A.H.H.; SOUSA, R.S.; CHAVES, D.F.; SOARES, H.S.; BARROS, I.O.; ARAÚJO, C.A.S.C.; BARRÊTO JÚNIOR, R.A.; ORTOLANI, E.L. Copper Deficiency in Sheep with High Liver Iron Accumulation. **Veterinary Medicine International**, v. 2012, Article ID 207950, p. 4, 2012. doi:10.1155/2012/207950.

STATISTICAL ANALYSES SISTEM INSTITUTE, Inc 2009. **SAS user's guide**: Statistics Version, 2009. SAS, Cary, N. C.

SUTTLE, N. F. **Mineral Nutrition os Livestock**. 4 ed. Commonwealth Agricultural Bureaux International, Oxfordshire, UK, 2010. 579 p.

TOKARNIA, C. H.; DOBEREINER, J.; CANELLA, C. F. C.; GUIMARÃES, J. A. Ataxia enzoótica em cordeiros do Piauí. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 1, p. 375-382, 1966.

ZATTA, P., FRANK, A. Copper deficiency and neurological disorders in man and animals. **Brain Research Reviews**, v.54, p.19-33, 2007.

6. RESPOSTA METABÓLICA DE CORDEIROS ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO NÍVEIS CRESCENTES DE GLICERINA BRUTA EM SUBSTITUIÇÃO AO MILHO

Emanuel Felipe de Oliveira FILHO¹, Pierre Castro SOARES^{2*}, Caio Alves da COSTA³, Gilcifran Prestes de ANDRADE³, Francisco Fernando Ramos de CARVALHO⁴, Daniel Nunes de Araújo GONÇALVES⁵, Ângela Maria Vieira BATISTA⁴, Cleyton Charles Dantas CARVALHO⁶

RESUMO

Objetivou-se avaliar os efeitos da inclusão de glicerina bruta contendo 80,5% de glicerol sobre os parâmetros sanguíneos de cordeiros em confinamento. Utilizaram-se 39 cordeiros mestiços, sem padrão de raça definido, machos não castrados, com quatro meses de idade e peso corporal inicial de 21 kg \pm 0,8 Kg, distribuídos em blocos casualizado à quatro tratamentos e dez repetições com níveis de inclusão de 0, 6, 12 e 18% de glicerina bruta na matéria seca (MS) da dieta. Coletas de sangue foram realizadas para análise de diferentes biomarcadores no penúltimo dia de experimento. Não foram registrados efeitos significativos da inclusão de glicerina bruta em substituição do milho na dieta de cordeiros em relação aos diferentes biomarcadores do perfil proteico, mineral e da atividade enzimática. Quando ao perfil energético, identificou-se efeito significativo apenas para a concentração plasmática de glicose ($p=0,0003$). Na análise de regressão da concentração de glicose plasmática de cordeiros, em função do nível de consumo de glicerina bruta associada à ureia em substituição ao milho, verificou-se que quanto maior a inclusão de glicerina bruta na dieta, maior a glicemia ($r = 0,92$; $p<0001$). A quantidade crescente de glicerina bruta na dieta de cordeiros em crescimento em substituição ao milho tem caráter gliconeogênico, além de que não provoca alteração metabólica de parâmetros relacionados ao perfil energético, proteico, mineral e de atividade enzimática. A glicerina bruta pode ser fornecida até 18% por manter a eficiência de consumo e promover boa resposta metabólica.

Palavras-chave: Biodiesel, bioquímica clínica, glicerol, metabolismo, ovinos, subprodutos.

¹ Programa de Pós-graduação em Ciência Veterinária/UFRPE.

² Professor do Departamento de Medicina Veterinária/UFRPE. Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife, PE. CEP: 52171-900. E-mail: pcastro.pe@gmail.com (Autor para correspondência).

³ Programa de Pós-graduação em Zootecnia/UFRPE.

⁴ Professores do Departamento de Zootecnia/UFRPE.

⁵ Programa de Pós-graduação em Ciência Animal Tropical/UFRPE.

⁶ Médico Veterinário do Laboratório de Patologia Clínica/DMV/UFRPE.

ABSTRACT

Objective was to evaluate the effects of inclusion of crude glycerin containing 80.5% glycerol on the blood parameters of lambs in confinement. They were used 39 crossbred lambs without breed standard set, uncastrated male with four months of age and initial body weight of 21 kg \pm 0.8 kg, distributed in randomized blocks with four treatments and ten repetitions with inclusion levels 0, 6, 12 and 18% crude glycerine in dry matter (DM) of the diet. Blood samples were taken for analysis of different biomarkers in the penultimate day of the experiment. significant effects of the inclusion of crude glycerin in place of corn in lambs diet for the different biomarkers of protein profile, mineral and enzyme activity were not registered. When the energy profile, it identified significant effect only for the plasma glucose concentration ($p = 0.0003$). In regression analysis of plasma glucose concentration lambs, depending on the level of consuming crude glycerine associated with urea replacing corn, it was found that the higher the inclusion of crude glycerin in the diet, increased blood glucose levels ($r = 0,92$, $p < 0.0001$). The increasing amount of crude glycerin in the diet of lambs growing replacing corn has gliconeogênico character, and that does not cause metabolic changes of parameters related to energy profile, protein, mineral and enzyme activity. The crude glycerin can be provided up to 18% for maintaining the fuel efficiency and promote good metabolic response.

Index terms: Biodiesel, by-products, clinical chemistry, glycerol, metabolic, sheep.

INTRODUÇÃO

A expressão do crescimento da ovinocultura no Brasil vem ocorrendo nos últimos anos, como consequência da melhoria dos padrões genéticos, das boas práticas sanitárias, do adequado manejo alimentar e do bem estar animal, resultando no equilíbrio produtivo adequado. Práticas adequadas de manejo alimentar são cruciais para a melhoria na produção das ovinos, evitando o surgimento de distúrbios metabólicos (LIMA et al., 2016). Dessa forma, a utilização de alimentos alternativos torna-se uma opção para diminuir os custos e incrementar a produção do rebanho, trazendo ao produtor melhor retorno financeiro. Neste contexto, uma opção que tem sido alvo de muitas pesquisas é a utilização de co-produtos da indústria como componentes da dieta (ARAÚJO et al., 2012).

Entre os diversos subprodutos agroindustriais utilizados atualmente na alimentação de ruminantes, destacam-se aqueles oriundos da produção de biodiesel. A glicerina é o principal coproduto gerado na produção de biodiesel e, aproximadamente, 10 % do volume total de biodiesel produzido correspondem à glicerina (DASARI et al., 2005).

O grande interesse na utilização da glicerina bruta na alimentação animal é devido ao seu valor energético (MENTEN et al., 2008). Do ponto de vista nutricional, a glicerina tem surgido como uma fonte alimentar energética alternativa e promissora na alimentação animal,

podendo substituir em parte, os concentrados energéticos da ração, principalmente o milho (FÁVARO, 2010).

O glicerol é absorvido diretamente pelo epitélio ruminal, metabolizado no fígado e direcionado para a gliconeogênese pela ação da enzima glicerol quinase, que o converte em glicose. Parte do glicerol pode ser fermentada a propionato, no rúmen, que por sua vez é metabolizado a oxaloacetato, por meio do ciclo de Krebs, no fígado, e pode ser utilizado para formar glicose pela via gliconeogênica. Assim, a glicerina bruta apresenta potencial de aplicação como substrato gliconeogênico para ruminantes (KREHBIEL, 2008). Com a perspectiva de redução nos preços, este produto (GB), tem surgido como opção para utilização como macroingrediente na dieta de cordeiros em terminação, em substituição a concentrados energéticos (KERR et al., 2007).

Além de servir como fonte de energia, o glicerol também pode ter efeitos positivos sobre a retenção de aminoácidos, inibindo a atividade das enzimas fosfoenolpiruvato carboxiquinase e glutamato desidrogenase, resultando em economia dos aminoácidos gliconeogênicos, favorecendo a deposição de proteína corporal (CERRATE et al., 2006).

A dieta influencia diretamente o consumo e a digestibilidade dos nutrientes e, como consequência imediata, o desempenho dos animais, bem como a composição corporal e da carcaça. No aspecto da análise do perfil metabólico relacionado com a energia, proteína, minerais e atividade enzimática que reflete o funcionamento de diversos órgãos, muito pouco é conhecido a respeito da inclusão de GB na dieta de cordeiros em crescimento, em substituição de alguma fonte de energia, como o milho. Apenas um artigo foi desenvolvido caracterizando o comportamento de alguns biomarcadores do perfil energético em caprinos recebendo dietas com GB (CHANJULA, 2014), tendo trabalhos que reportam parâmetros de desempenho animal e características de carcaça, faltando estudos que reportem a resposta metabólica em ovinos.

Sendo assim, objetivou-se avaliar a resposta metabólica de cordeiros alimentados com níveis crescentes de glicerina bruta em substituição ao milho, sobre as características nos perfis energético, enzimático, proteico e mineral.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi executado no Setor de caprinos e ovinos da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), localizado no município de Recife, Pernambuco, e situado sob as coordenadas geográficas de 8°04'03''S e 34°55'00''W, no período de dezembro de

2014 a fevereiro de 2015. Foram utilizados 39 cordeiros machos, não castrados, sem padrão racial definido (SPRD), com quatro meses de idade e peso corporal médio inicial de $21,0 \pm 0,8$ kg, alojados em galpão desinfetado constituído de baias individuais, com dimensões de 1,0m x 1,8m, providos de bebedouros e comedouros individuais.



Imagem 1. Cordeiros distribuídos nos grupos experimentais com níveis de 0; 6; 12 e 18 % de inclusão de glicerina bruta, experimento realizado no Departamento de Zootecnia da UFRPE.

Antes do período de adaptação às dietas experimentais todos os animais foram identificados com brincos e submetidos à coleta de fezes para análise parasitológica, pela contagem de ovos por grama (OPG) e realização do controle de ecto e endoparasitos com uso de ivermectina. Os animais também foram imunizados contra clostridioses, suplementados com composto vitamínico ADE e tratados com quimioterápico a base de sulfonamida, como medida profilática contra coccidioses no período de adaptação.

Dois dias após a chegada ao galpão, os animais foram submetidos a jejum de 16 horas, pesados e distribuídos casualmente em quatro tratamentos, com dez repetições cada, para serem adaptados aos níveis de 0; 6; 12; e 18 % de inclusão de glicerina bruta, em substituição ao milho, na dieta. A glicerina bruta (Imagem 2) foi obtida da produção de biodiesel a partir do óleo do caroço de algodão na Unidade de Bioenergia do Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE), no município de Caetés, Pernambuco, e sua composição físico-química é apresentada na Tabela 1.



Imagem 2. Acondicionamento da glicerina bruta em tonel no Departamento de Zootecnia da UFRPE.

Tabela 1 – Composição físico-química da glicerina bruta

| Item | g/Kg ⁻¹ MS |
|--------------------------------------|-----------------------|
| Matéria Seca (g/Kg ⁻¹ MN) | 899,0 |
| Glicerol | 805,0 |
| Extrato Etéreo | 435,0 |
| Proteína Bruta | 16,0 |
| Matéria Mineral | 111,0 |
| Na | 53,0 |
| Metanol | 382,0 |
| Densidade (g/cm ³) | 0,97 |

O experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizados com período experimental de 90 dias, sendo os 24 primeiros destinados à adaptação dos animais às instalações, às dietas e ao manejo, e os 66 seguintes para coleta e avaliação de amostras e dados. A glicerina bruta foi misturada ao concentrado a fim de homogeneizar os ingredientes e as dietas fornecidas aos animais foram formuladas para serem isoproteicas, de forma a atender as exigências nutricionais de um cordeiro em crescimento, visando ganho médio diário de 0,250 kg, de acordo com as recomendações nutricionais do NRC (2007), conforme Tabela 2.

Tabela 2. Composição percentual dos ingredientes e composição química das dietas

| Ingredientes (%) | Níveis de Glicerina Bruta (%) | | | |
|--|-------------------------------|-------|-------|-------|
| | 0 | 6 | 12 | 18 |
| Feno de Tifton | 40,00 | 40,00 | 40,00 | 40,00 |
| Milho Grão | 40,35 | 34,10 | 27,85 | 21,60 |
| Farelo de Soja | 17,00 | 17,00 | 17,00 | 17,00 |
| Glicerina Bruta | 0,00 | 6,00 | 12,00 | 18,00 |
| Ureia:AS | 0,50 | 0,75 | 1,00 | 1,25 |
| Suplemento Mineral ¹ | 1,50 | 1,50 | 1,50 | 1,50 |
| Calcário Calcífico | 0,30 | 0,30 | 0,30 | 0,30 |
| Fosfato Bicálcico | 0,35 | 0,35 | 0,35 | 0,35 |
| Composição Química (g.kg-1 MS) | | | | |
| Matéria Seca (g.kg-1 MN) | 890,1 | 891,4 | 893,9 | 892,0 |
| Matéria Orgânica | 965,7 | 958,2 | 957,0 | 955,0 |
| Matéria Mineral | 47,8 | 52,9 | 55,4 | 56,0 |
| Proteína Bruta | 153,4 | 153,7 | 154,3 | 155,1 |
| Extrato Etéreo | 39,5 | 40,6 | 41,7 | 42,4 |
| Fibra em Detergente Neutro ² | 488,7 | 474,9 | 467,5 | 458,3 |
| Carboidratos Não Fibrosos | 290,8 | 286,0 | 283,5 | 279,2 |
| Nutrientes Digestíveis Totais ³ | 689,0 | 694,3 | 694,5 | 689,8 |

¹Níveis de garantia (nutrientes/kg): Cálcio-150g; Enxofre-12g; Fósforo-65g; Magnésio-6.000mg; Sódio-107g; Cobre-100mg; Cobalto-175mg; Ferro-1000mg; Flúor máximo-650mg; Iodo-175mg; Manganês-1440mg; Selênio-27mg e Zinco-6000mg. ²Fibra em Detergente Neutro foi corrigida para cinzas e proteínas. ³Estimado em ensaio de digestibilidade.

As dietas foram fornecidas na forma de mistura completa em comedouros individuais duas vezes ao dia, às 08h00 e às 16h00. Para estimar o consumo voluntário, as sobras foram recolhidas e pesadas antes de cada arraçoamento; em seguida, o consumo foi mensurado pela diferença entre a oferta de ração e sobra de cada animal. A quantidade fornecida foi ajustada a cada dois dias, baseada na ingestão voluntária do animal com estimativa de sobras de 10 %. Foram coletadas semanalmente amostras das dietas fornecidas e das sobras por animal e tratamento, bem como dos alimentos utilizados para formular as dietas, para posterior análise de controle bromatológico das dietas.



Imagem 3. Acondicionamento do concentrado utilizado no experimento e da Glicerina Bruta, evidenciando a inclusão da glicerina nos níveis de 0; 6; 12; e 18 %, experimento realizado no Departamento de Zootecnia da UFRPE.

A fim de avaliar o status energético e proteico, além do perfil enzimático e mineral dos animais, ao penúltimo dia do experimento foram realizadas colheitas de aproximadamente 8,0 ml de amostras de sangue, 8 horas após fornecimento das dietas, por punção da veia jugular em tubos *vacutainers*®, alguns contendo fluoreto de sódio e EDTA a 10% e outros sem anticoagulante com gel ativador da coagulação. As amostras com anticoagulante foram centrifugadas imediatamente após a colheita a 2.500 rpm para obtenção do plasma, enquanto que aquelas sem anticoagulante foram acondicionadas em caixa de isopor contendo gelo sintético por um período de 50 minutos antes de serem centrifugadas a 2.500 rpm para obtenção do soro.

As alíquotas de soro e plasma foram colocadas em tubos *ependorffs*® e armazenadas a temperatura de -20°C até às dosagens dos indicadores bioquímicos. Os biomarcadores avaliados foram: ureia, creatinina, ácido úrico, proteína total, albumina, globulina, glicose, frutossamina, colesterol, triglicérido, lactato, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), gamaglutaminotransferase (GGT), fosfatase alcalina (FA), cálcio, fósforo e magnésio. A concentração de globulina foi determinada pela diferença entre as concentrações séricas de proteína total e albumina. As determinações bioquímicas foram realizadas em analisador bioquímico automatizado LABMAX 240 (LABTEST), utilizando-se kits bioquímicos LABTEST.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com quatro tratamentos e dez repetições, sendo o peso inicial dos animais o critério para formação dos blocos. As variáveis estudadas foram interpretadas por meio de análises de variância e regressão em função dos níveis de inclusão de glicerina bruta, ao nível de significância de 5%, utilizando-se o procedimento estatístico GLM do pacote computacional SAS (2009) e as médias foram comparadas aplicando-se o teste Tukey ($P < 0,05$). Os tratamentos foram analisados segundo o modelo estatístico: $Y_{ijk} = m + A_i + e_{ij}$, onde: Y_{ij} = é a observação j , referente à glicerina i ; m = é a constante geral; A_i = é o efeito do nível de inclusão da glicerina i , $i = 0, 6, 12$ e 18% ; e_{ijk} = erro aleatório associado a cada observação Y_{ijk} .

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foram registrados efeitos significativos da inclusão de glicerina bruta em substituição do milho na dieta de cordeiros em relação aos diferentes biomarcadores do perfil proteico (Tabela 3), mineral e da atividade enzimática (Tabela 4). Quanto ao perfil energético, identificou-se efeito significativo para a concentração plasmática de glicose ($p = 0,0003$). Na análise de regressão da concentração de glicose plasmática de cordeiros, em função do nível de consumo de glicerina bruta associada à ureia em substituição ao milho, verificou-se que quanto maior a inclusão de glicerina bruta na dieta, maior a glicemia ($r = 0,92$; $p < 0,0001$) (Figura 1). Aos demais biomarcadores do perfil energético, não foram registrados efeitos, com nível de significância variando de $p = 0,6976$ para triglicerídeos (Tabela 3).

O perfil da glicemia facultou a compreensão de que ocorreu efetiva fermentação no ambiente ruminal para a melhor produção de propionato, com a inclusão de GB, refletindo na produção de glicose no fígado dos cordeiros que consumiram GB. Segundo KREHBIEL (2008), a GB é um coproduto com elevado potencial de aplicação gliconeogênica para ruminantes, pois o glicerol tem sua absorção pelo epitélio ruminal e é metabolizado no fígado, sendo direcionado para a gliconeogênese através da enzima glicerol quinase, tendo como resultado a conversão em glicose. Além disso, a porção do glicerol não absorvida pode sofrer fermentação e gerar o propionato no rúmen, sendo metabolizado e transformado em oxaloacetato pelo ciclo de Krebs no fígado, podendo formar a glicose pela via gliconeogênica. Este estudo comprova a glicerina como precursor gliconeogênico através do efeito linear que a glicose revelou, demonstrando que quanto maior o nível de participação da glicerina na dieta de cordeiros, maior será a gliconeogênese. Da produção total de glicose, cerca de 90% é de origem na gliconeogênese hepática, e segundo KOZLOSKI (2011), há uma alta correlação

entre consumo de energia digestível da dieta, absorção de propionato e síntese gliconeogênica no fígado.

Resultados semelhantes a este trabalho foram descritos por CHUNG et al. (2007), onde observaram que a inclusão de glicerina proporcionou maiores teores de glicose circulantes no plasma sanguíneo das vacas que receberam glicerina comparado às que não receberam. WANG et al. (2009) obtiveram resultados similares adicionando glicerol à dieta de vacas com 4 a 63 dias em lactação, sendo verificado maiores concentrações de glicose no plasma, com balanço energético positivo, sendo observado também menor perda de peso dos animais alimentados com glicerol.

GUNN et al. (2010a) avaliaram a inclusão de 15, 30 ou 45% de glicerina com 89,5% de glicerol, na dieta de cordeiros e observaram que as concentrações séricas de glicose e insulina diminuíram com a inclusão de glicerina, podendo estar associado com a menor ingestão de matéria seca conforme a glicerina foi acrescentada na dieta. Outra possível explicação é que a diminuição das concentrações de amido nas dietas com maior teor de glicerina pode ter afetado a taxa de passagem, o que resulta em menor fermentação ruminal e maior absorção no intestino delgado. Em relação aos dados destes autores, houve um diferencial nos níveis de oferta de GB, quando neste estudo o menor nível foi de 15% de GB, e este nível foi limitante para o consumo de nutrientes apresentando uma resposta metabólica inferior aos dados no presente estudo.

DEFRAIN et al. (2004), em seu estudo sobre o efeito do glicerol em vacas leiteiras, observaram que não houve diferenças no período pré-parto quanto aos níveis de glicose, insulina e AGNE's. Porém no pós-parto, foram verificados menores teores de glicose, quando o glicerol for incluído como fonte exclusiva na alimentação, tornando assim desfavorável seu uso. Porém, segundo CHUNG et al. (2007), maiores pesquisas são necessárias para elucidar melhor este mecanismo, já que a utilização da glicerina tende a gerar um índice glicêmico maior.

Os valores de frutossamina se apresentaram acima dos valores de referência, fato que pode ser relacionado ao aumento da glicose, já que os níveis de albumina estão dentro dos valores de referência (KANEKO et al., 2008). Este fato pode ser justificado já que a frutossamina por ser formada na reação não enzimática da glicose com grupos aminas das proteínas (albumina e IgG), além de ser uma cetamina estável, sua concentração sérica é controlada pelo balanço entre síntese e eliminação de compostos proteicos e de glicose (FILIPOVIC et al., 2011).

Segundo FERNANDES et al. (2012), as concentrações de colesterol podem se elevar caso ocorra uma mobilização de reservas lipídicas ocasionadas em situação de déficit energético, o presente estudo sugere que este fato não ocorreu, já que as concentrações séricas do colesterol se encontram dentro dos valores de referência (KANEKO et al., 2008).

O fígado tem a capacidade de sintetizar apenas cerca de 15% de triglicerídeos, sendo a sua maior produção a nível de tecido adiposo. O presente estudo constatou que a glicerina não interferiu nas concentrações e síntese de triglicerídeos, já que estes compostos estão dentro dos valores de referência (KANEKO et al., 2008). A condição adequada dos parâmetros para avaliar o perfil energético neste experimento está relacionada com os dados de consumo de nutrientes, digestibilidade e desempenho destes animais, em que ANDRADE (2015) verificou haver influência da respectiva dieta no consumo de matéria seca, sugerindo que o glicerol aumentou a eficiência de utilização de energia da dieta pelos micro-organismos no rúmen e organismo animal, e que inclusão até 18% de glicerina bruta parece não ter causado danos ou modificações severas no ambiente ruminal ao ponto de prejudicar o consumo dos animais (ANDRADE, 2015).

Em estudo realizado com cabras, CHANJULA et al. (2014) avaliaram os efeitos da suplementação dietética com glicerina na digestibilidade de nutrientes, fermentação ruminal, metabolitos sanguíneos e balanço de nitrogênio, verificaram que a média de glicemia e as concentrações de volume globular não foram afetadas ($p>0,05$) pelos tratamentos dietéticos, enquanto que a concentração sérica de insulina aumentou linearmente ($p=0,002$) com o aumento da quantidade de suplementação de glicerina bruta. Neste artigo, verifica-se que, embora não tenha havido influência da inclusão de GB, os dados revelam aumento nas médias da concentração plasmática de glicose conforme foi registrado neste estudo. Com base no estudo de CHANJULA et al. (2014), os níveis de glicose até 20% em ração total pode ser eficientemente utilizados para cabras e este estudo elucida uma boa abordagem para explorar o uso da produção de biodiesel para a produção de cabra.

No perfil proteico a ureia, ácido úrico, proteína total, albumina e globulina não foram influenciadas à medida que se substitui milho por glicerina bruta ($P>0,05$), além de que os valores se mantiveram dentro dos valores de referência para a espécie (KANEKO et al., 2008). Evidenciando, assim, que a utilização da GB não acarreta em efeitos deletérios a nível hepático e em outros órgãos, não causa modificações na utilização dos nutrientes pelos microrganismos no rúmen e proteína microbiana ou dietética, além de não alterar a disponibilidade de aminoácidos na síntese proteica (WITTWER, 2000). Avaliando os dados de consumo de proteína bruta destes animais (ANDRADE, 2015), e o perfil dos marcadores

do perfil proteico, apresentou efeito quadrático ($P < 0,05$), onde pode ser observado aumento no consumo de proteína bruta até o nível de 10,8% para estimativa de consumo máximo de 241,55 g/dia, que pode ser explicado pelo aumento do CMS até o nível 10,9% de substituição, já que as dietas foram isoproteicas.

Considerando a resposta metabólica destes animais, os dados aqui apresentados estão coincidentes com o que relatou ANDRADE (2015), em que o glicerol pode ter fornecido energia suficiente aos micro-organismos ruminais para degradação de fontes nitrogenadas, bem como aproveitamento deste nitrogênio para a síntese de proteína microbiana. KOZLOSKI (2011) afirma que entre 60 a 95% dos compostos nitrogenados que são digeridos no abomaso e absorvidos no intestino delgado são oriundos da proteína microbiana formada no rúmen, que só é possível de ser produzida quando houver disponibilidade de energia aos micro-organismos. Os micro-organismos do rumem destes animais utilizaram efetivamente boa parte do nitrogênio disponível no rúmen para a síntese proteica microbiana, já que a concentração de ureia no sangue sinalizou normalidade do fígado. Sabe-se que a concentração sanguínea de ureia reflete diretamente o aporte proteico na ração, a relação energia-proteína da dieta, bem como é resultado da absorção de amônia do rúmen e do metabolismo proteico nos tecidos do animal (ARAÚJO et al., 2012).

O perfil enzimático não foi influenciado com a substituição do milho pela glicerina bruta ($P > 0,05$), embora tenha sido observada menor atividade da ALT e aumento da atividade da GGT, evidenciando uma maior participação hepática no metabolismo do organismo, já que a glicerina fornecida é altamente energética. Porém este aumento não provocou efeito em função dos diferentes níveis de GB na dieta, evidenciando o adequado funcionamento do fígado, mesmo para os animais que receberam maior nível de GB.

O perfil mineral não sofreu influência da inclusão de GB na dieta, embora seja possível constatar que a concentração de Ca estava inferior aos valores de referência para a espécie ovina e que o P encontrava-se acima, configurando uma relação Ca:P também diferenciada. O P é um elemento importante no metabolismo celular, tendo a participação direta em alguns mecanismos no metabolismo energético, carboidratos, lipídios, proteínas e ácidos nucleicos. Os resultados encontrados sugerem que a utilização da glicerina aumenta a concentração de fósforo pela atuação do elemento nos mecanismos bioquímicos energéticos (BACILA, 2003). Os níveis de P séricos são mais altos em animais em fase de crescimento do que em adultos, pela rápida mobilização do tecido ósseo, o que foi comprovado no presente estudo, pois os animais tinham em média quatro meses de idade, o que corrobora com a literatura (KANEKO et al., 2008). Importante considerar o comportamento do Ca em

cordeiros recebendo dietas com GB, uma vez que o Ca pode sofrer uma maior utilização e absorção pelo organismo, haja vista que a homeostase do Ca pode ter relação direta com o maior consumo de Ca pela dieta, mas também pode estar relacionado a interferência de componentes que sejam capazes de antagoniza-lo, tornando-o indisponível (GONZÁLEZ, 2006).

Mesmo diante do perfil mineral observado neste experimento, os níveis de GB ofertados não foram suficientes para desencadear síndromes metabólicas graves, uma vez que o desempenho animal não foi comprometido. Com isso o seu uso é indicado como componente na dieta de cordeiros em substituição a outras fontes energéticas.

Tabela 3. Valores médios, desvios-padrão e nível de significância (*p*) de parâmetros bioquímicos do sangue de cordeiros consumindo dietas contendo glicerina bruta associada à ureia em substituição ao milho

| Parâmetros | Níveis de glicerina bruta (% da MS) | | | | P-valor | | Valores de Referência |
|------------------------|-------------------------------------|--------------|--------------|--------------|---------|------------|----------------------------|
| | 0 | 6 | 12 | 18 | Linear | Quadrático | |
| | Perfil Proteico | | | | | | |
| Ureia (mmol/L) | 3,15±0,30 | 2,92±0,54 | 3,04±0,59 | 2,91±0,02 | 0,6033 | 0,7612 | 2,86 – 7,14 ¹ |
| Creatinina (µmol/L) | 42,71±17,54 | 38,13±6,10 | 33,55±11,44 | 38,13±6,10 | 0,1657 | 0,2212 | 106,0 – 168,0 ¹ |
| Ácido úrico (mmol/L) | 3,57±1,19 | 2,38±1,19 | 2,38±1,78 | 1,78±0,59 | 0,2177 | 0,3481 | 0,0 – 113,0 ¹ |
| Proteína Total (g/L) | 73,7±9,9 | 74,7±6,2 | 76,8±10,7 | 73,4±8,0 | 0,4450 | 0,4410 | 60 - 79 ¹ |
| Albumina (g/L) | 29,1±3,7 | 29,5±2,2 | 29,7±4,1 | 29,3±3,1 | 0,6561 | 0,6807 | 24 – 30,0 ¹ |
| Globulina (g/L) | 44,7±6,9 | 45,2±4,9 | 47,1±6,9 | 44,1±5,5 | 0,3905 | 0,3752 | 35 - 57 ¹ |
| Perfil Energético | | | | | | | |
| Glicose (mmol/L) | 2,42±0,38 | 3,27±0,98 | 3,16±0,69 | 3,88±0,75 | 0,0039 | 0,8402 | 2,78-4,44 ¹ |
| Frutosamina (µmol/L) | 181,33±16,46 | 179,91±10,94 | 183,81±19,58 | 176,16±14,48 | 0,6497 | 0,5299 | 172,0±2,0 ² |
| Colesterol (mg/dL) | 1,51±0,33 | 1,60±0,30 | 1,59±0,37 | 1,67±0,24 | 0,7144 | 0,9453 | 1,35 – 1,97 ¹ |
| Triglicerídeos (mg/dl) | 0,20±0,06 | 0,19±0,05 | 0,22±0,07 | 0,19±0,03 | 0,6976 | 0,7010 | 0,10 – 0,34 ¹ |
| Lactato (mmol/L) | 4,17±1,17 | 5,45±1,80 | 5,11±1,39 | 5,31±1,20 | 0,1471 | 0,2803 | 1,0 – 1,33 ¹ |

Fonte: ¹Kaneko et al. (2008); ²Cantley (1991)

Tabela 4. Valores médios, desvios-padrão e nível de significância (*p*) de parâmetros de atividade enzimática e perfil mineral do sangue de cordeiros consumindo dietas contendo glicerina bruta associada à ureia em substituição ao milho

| Parâmetros | Níveis de glicerina bruta (%MS) | | | | P-valor | | Valores de Referência |
|---------------|---------------------------------|--------------|--------------|--------------|---------|------------|-------------------------|
| | 0 | 6 | 12 | 18 | Linear | Quadrático | |
| | Atividade Enzimática | | | | | | |
| ALT (U/L) | 17,41±5,09 | 16,33±3,77 | 13,17±3,91 | 12,88±4,66 | 0,3007 | 0,7549 | 30,0±4,0 ¹ |
| AST (U/L) | 138,67±31,08 | 141,43±20,05 | 149,28±21,73 | 153,43±36,12 | 0,7767 | 0,9450 | 60-280 ¹ |
| GGT (U/L) | 75,84±13,57 | 66,89±10,35 | 79,83±10,51 | 72,64±8,98 | 0,8910 | 0,8214 | 20-52 ¹ |
| FA (U/L) | 438,51±224,71 | 361,61±98,47 | 282,31±79,43 | 287,37±94,90 | 0,1231 | 0,4005 | 68-387 ¹ |
| | Perfil Mineral | | | | | | |
| Ca (mmol/L) | 1,83±0,24 | 1,56±0,38 | 1,82±0,33 | 1,61±0,43 | 0,6272 | 0,7594 | 2,88-3,20 ¹ |
| P (mmol/L) | 2,97±0,55 | 3,14±0,66 | 3,11±0,67 | 2,75±0,65 | 0,4219 | 0,2004 | 1,62 -2,36 ¹ |
| Ca:P (mmol/L) | 0,63±0,11 | 0,52±0,17 | 0,60±0,13 | 0,60±0,15 | 0,3003 | 0,2748 | 1:4-1:6 ² |
| Mg (mmol/L) | 1,34±0,25 | 1,19±0,24 | 1,24±0,22 | 1,13±0,17 | 0,4933 | 0,8199 | 0,31-0,90 ¹ |

Fonte: ¹Kaneko et al. (2008), ²Barioni et al (2001).

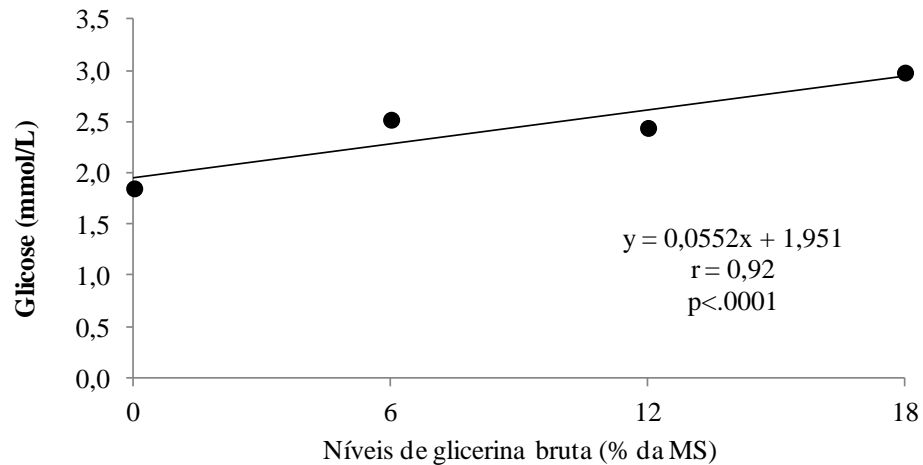


Figura 1. Representação gráfica da análise de regressão da concentração de glicose plasmática de cordeiros, em função do nível de consumo de glicerina bruta associada à ureia em substituição ao milho.

CONCLUSÃO

As concentrações plasmáticas de glicose sofrem influência linear positiva pela quantidade crescente de glicerina bruta na dieta de cordeiros em crescimento em substituição ao milho, sendo, portanto com ação gliconeogênica, além de que a inclusão de glicerina na dieta não provoca alteração metabólica de demais parâmetros relacionados ao perfil energético, proteico, mineral e de atividade enzimática. A glicerina bruta pode ser fornecida até 18% por manter a eficiência de consumo e promover boa resposta metabólica.

AGRADECIMENTOS

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pela concessão da bolsa e aquisição de equipamento bioquímico automatizado LABMAX 240 por meio de aprovação de Projeto Pró-Equipamento/CAPES/UFRPE. Ao Departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, pela experimentação e processamento das amostras de composição físico-química das dietas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, G.P. **Utilização de glicerina bruta na dieta de ovinos em confinamento**. 2015. 48f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Recife, 2015.

ARAÚJO P.B., DE ANDRADE R.DE P.X., FERREIRA M. DE A., BATISTA A.M.V., CARVALHO C.C.D. & SOARES P.C. Efeito da substituição do feno de capim tifton (*Cynodon* spp) por casca de mamona (*Ricinus communis*) em dietas a base de palma forrageira (*Nopalea cochenilifera* Salm Dick) sobre o metabolismo energético, protéico e mineral em ovinos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 34, n. 4, p. 327-335, 2012.

BACILA, M. **Bioquímica Veterinária**. 2ª Edição, ROBE, 2003.

CERRATE, S.; YAN, F.; WANG, C.; COTO, C.; SACAKLI, P.; WALDROUP, P.W. Evaluation of glycerine from biodiesel production as a feed ingredient for broilers. **International Journal of Poultry Science**, v.5, n.11, p.1001-1007, 2006.

CHANJULA, P.; PAKDEECHANUAN, P.; WATTANASIT, S. Effects of Dietary Crude Glycerin Supplementation on Nutrient Digestibility, Ruminal Fermentation, Blood Metabolites, and Nitrogen Balance of Goats. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 27, n. 3, p. 365-374, 2014.

CHUNG, Y.H. et al. Effect of feeding dry glycerin to early postpartum Holstein dairy cows on milk production and metabolic profiles. **Journal of Dairy Science**, v.90, n.12, p.5682-5691, 2007.

DASARI, M.A.; KIATSIMKUL, P.P.; SUTTERLIN, W.R.; SUPPES, G.J.. Low-pressure hydrogenolysis of glycerol to propylene glycol. **Applied Catalysis A: General**, EUA, v. 281, n.1, p. 225-231, jan. 2005.

DEFRAIN, J.M.; HIPPEN, R.; KALSCHEUR, K.F.; et al. Feeding glycerol to transition dairy cows: effects on blood metabolites and lactation performance. **Journal of Dairy Science**, v.87,n.12, p. 4195–4206, 2004.

FÁVARO, V.R. **Utilização de glicerina, subproduto do biodiesel, na alimentação de ovinos**. 2010. 59 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias –Unesp, Jaboticabal, 2010.

FERNANDES, S.R.; MONTEIRO, A.L.G.; DITTRICH, R.L. et al. Early weaning and concentrate supplementation on the performance and metabolic profile of grazing lambs. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, n.5, p.1292, 2012.

FILIPOVIĆ, N.; STOJEVIC, Z.; MASEK, T.; MIKULEC, Z.; PRVANOVIĆ, N. Relationship between fructosamine with serum protein, albumin and glucose concentration in dairy ewes. **Small Ruminant Research**, v. 96, n. 1, p. 46-48, 2011.

GONZÁLEZ, F. H. D. Uso do perfil metabólico no diagnóstico de doenças metabólico-nutricional em ruminantes. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; BARCELLOS, J. O. **Perfil metabólico em ruminantes seu uso e doenças nutricionais**. Porto Alegre, Brasil. Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000.

GONZÁLEZ, F.H.D.; SILVA, S.C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006.

GUNN, P. J.;SCHULTZ, A. F.; VAN EMON, M. L.; NEARY, M. K.; LEMENAGER, R. P.; PAS, C. P.; Lake,S. L. Effects of elevated crude glycerin concentrations on feedlot performance, carcass characteristics, and serum metabolite and hormone concentrations in finishing ewe and wether lambs. **The Professional Animal Scientist**, v.26, p.298-306, 2010.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6th ed. Academic Press, San Diego, 2008. 916p.

KERR, B. J.; WEBER, T. E.; DOZIER, W. A.; KIDD, M. T. Digestible and metabolizable energy content of crude glycerin originating from different sources in nursery. **Journal Animal Science**, v. 87, p. 4042–4049, 2009.

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos Ruminantes**. Santa Maria: Editora Santa Maria, 3ªed. 2011.

KREHBIEL, C. R. Ruminal and physiological metabolism of glycerin. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.392, 2008.

LIMA, E.H.F.; MENDONÇA, C.L.; CAJUEIRO, J.F.P.; CARVALHO, C.C.D.; SOARES, P.C.; SOUTO, R.J.C.; DRUMMOND, A.R.F.; AFONSO, J.A.B. Efeito da monensina sódica sobre o perfil metabólico de ovelhas antes e após o parto. **Ciência Animal Brasileira**, v.17, n.1, p. 105-118, 2016.

MENTEN, J.F.M.; MIYADA, V.S.; BERENCHTEIN, B.. **Glicerol na alimentação animal. In: Simpósio sobre Manejo e Nutrição de Aves e Suínos**, 2008, Campinas, SP. Simpósio sobre Manejo e Nutrição de Aves e Suínos. 2008, Campinas. Anais. Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2008. p.101-114.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. Ed. Washington: National Academy Press, 2007. 381 p.

TRABUE, S.; SCOGGIN, K.; S.; RASMUSSEN, M.A.; REILLY, P.J., Ruminal fermentation of propylene glycol and glycerol. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 7043-7051, 2007.

WANG, C.;LIU, Q.; YANG, W. Z.; HUO, W. J.; DONG, K. H.; HUANG, Y. X.; YANG, X.M.; HE, D.C. Effects of glycerol on lactation performance, energy balance and metabolites in early lactation Holstein dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v.151, p.12-20, 2009.

WITTWER, F. Diagnósticos dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; BARCELLOS, J.O; OSPINA, H.; RIBEIRO, L.A.O. **Perfil Metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais.** Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000.