

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ**  
**CAMPUS MARECHAL CÂNDIDO RONDON**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MESTRADO EM ZOOTECNIA**

**KELI DAIANE CRISTINA LIBARDI**

**PERFIL METABÓLICO DE CORDEIROS SANTA INÊS TERMINADOS EM  
CONFINAMENTO**

**Marechal Cândido Rondon**

**2014**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ**  
**CAMPUS MARECHAL CÂNDIDO RONDON**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MESTRADO EM ZOOTECNIA**

**KELI DAIANE CRISTINA LIBARDI**

**PERFIL METABÓLICO DE CORDEIROS SANTA INÊS TERMINADOS EM  
CONFINAMENTO**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação *strictu sensu* em Zootecnia, Área de Concentração “Produção e Nutrição Animal” para obtenção do título de “Mestre em Zootecnia”.

Orientador: Ana Alix Mendes de Almeida Oliveira, DSc.

Coorientador: Patrícia Barcellos Costa, DSc.

**Marechal Cândido Rondon**

**2014**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ**  
**CAMPUS MARECHAL CÂNDIDO RONDON**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MESTRADO EM ZOOTECNIA**

**KELI DAIANE CRISTINA LIBARDI**

**PERFIL METABÓLICO DE CORDEIROS SANTA INÊS TERMINADOS EM  
CONFINAMENTO**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição e Alimentação Animal, para obtenção do título de “Mestre”.

Marechal Cândido Rondon, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Ana Alix Mendes de Almeida Oliveira, DSc. - Orientadora

---

Patrícia Barcellos Costa, DSc. - Coorientadora

---

Magali dos Santos Pozza, DSc. – Membro

---

Franciane Bárbieri Dias Senegalhe, DSc. – Membro

## **BIOGRAFIA**

KELI DAIANE CRISTINA LIBARDI – Filha de Airton Luiz Libardi e Solange Trevisan, nasceu em Planalto, Paraná, em 04 de maio de 1987 e concluiu o ensino médio em 2004, no Colégio Ideal em Cascavel – PR.

Em fevereiro de 2006, ingressou como graduanda no Curso de Medicina Veterinária, na União de Ensino do Sudoeste do Paraná (UNISEP), o qual concluiu em dezembro de 2010. Quando acadêmica, desenvolveu pesquisa na área de Patologia Clínica Veterinária com a linha de pesquisa Perfil Hematológico e Metabólico, orientada pelo Prof. Marcos Agenor Liston, de quem foi monitora no laboratório de Análises Clínicas do Hospital Veterinário - UNISEP.

Em março de 2011 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), em nível de Mestrado, na área de concentração Produção e Nutrição de Ruminantes.

No dia 28 de fevereiro de 2014, submeteu-se à banca de defesa da dissertação, sob a orientação da Prof. Dr<sup>a</sup>. Ana Alix Mendes de Almeida Oliveira e Coorientação da Prof. Dr<sup>a</sup>. Patrícia Barcellos Costa.

## DEDICATÓRIA

*Ao meu esposo João Ricardo e a minha joia rara  
João Victor, que são essenciais na minha vida e que  
me dão forças para seguir em frente, e que amo  
acima de tudo!*

## AGRADECIMENTOS

À minha família, João Ricardo pelo seu companheirismo, amor, carinho, apoio e incentivo, não deixando fraquejar nos momentos mais difíceis. És único, pelo exemplo de esposo e futuro pai.

Aos meus pais Airton e Solange, e aos meus irmãos, pelo carinho, amor e incentivo.

Aos meus sogros, que sempre estiveram presentes, pelo incentivo, apoio e carinho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, pela oportunidade de realização do mestrado.

Ao Núcleo de Estações Experimentais da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, pelo fornecimento dos animais e infraestrutura necessários à realização do experimento. E aos funcionários do NEE por todo o auxílio necessário para condução do experimento.

À minha professora e orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Patrícia Barcellos Costa pelos conhecimentos técnicos e científicos passados, pela amizade e confiança em mim depositada, por cada oportunidade, pela paciência e apoio durante o curso que sempre serão lembrados com carinho e admiração.

Às professoras Dr<sup>a</sup>. Ana Alix Mendes de Almeida Oliveira e Dr<sup>a</sup>. Magali dos Santos Pozza pelo auxílio, colaboração, sugestões e conhecimento transmitido durante todo o mestrado. À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Franciane Barbiéri Dias Senegalhe pela colaboração e sugestões.

Aos integrantes do Grupo de Estudos e Pesquisa em Produção de Ovinos – GEPPPO, Cristiani, Paula, Nivaldo, Heloíse, Kelly Lorscheiter, Poliana, Danieli, Marcelo, César, Renan, Ana Tereza, Jéssica Gabi, Andréia e Idiana pela colaboração durante todo o experimento que tornou este trabalho possível.

Às minhas colegas de mestrado e amigas Cristiani Cavilhão, Paula Hermes que estiveram comigo durante essa fase da vida, pelos momentos inesquecíveis, por toda ajuda durante o experimento, e pelas boas risadas. À minha colega e amiga Talita Giron pela amizade construída e apoio prestado nesses últimos anos, pelos momentos de alegria e de dificuldades.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para realização deste trabalho, muito obrigada.

## RESUMO

LIBARDI, KELI DAIANE CRISTINA. Mestrado em Zootecnia. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, fevereiro de 2014. **Perfil metabólico de cordeiros Santa Inês terminados em confinamento.** Orientadora: Dr<sup>a</sup>. Ana Alix Mendes de Almeida Oliveira.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito dos níveis de restrição alimentar seguido de realimentação sobre o perfil metabólico de cordeiros terminados em confinamento. Para tanto, foram utilizados 24 cordeiros Santa Inês, aos 20 kg de peso corporal, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado com 4 níveis de restrição (0, 20, 40 e 60%) e 6 repetições por tratamento. O experimento foi dividido em dois períodos distintos de 64 dias cada um, no primeiro denominado de restrição, os animais foram distribuídos nos tratamentos: sem restrição (consumo *ad libitum* com 10% de sobras), restrição de 20, 40 e 60% em relação ao consumo do tratamento controle. No segundo período, denominado de período de realimentação, o alimento foi ofertado *ad libitum* a todos os animais do experimento. Foram avaliadas as variáveis do perfil metabólico (proteico, energético, mineral e enzimático) ao início e ao final da restrição alimentar, e ao final do período de realimentação. Para a avaliação dos metabólitos sanguíneos do perfil metabólico nos animais, foram utilizados kits laboratoriais comerciais. Os dados foram submetidos ao teste F de análise de variância, quando detectadas diferenças significativas, a análise de regressão foi utilizada para estudo dos níveis de restrição alimentar, e teste Tukey para comparação entre coletas. Na ausência de efeito de tratamento foram calculadas médias referentes aos tratamentos 20, 40 e 60% de restrição nos três períodos de coleta. Todos os procedimentos estatísticos foram avaliados a 5% de probabilidade, pelo programa estatístico SISVAR (2003). Observou-se que os níveis de fósforo foram menores nos animais ao início do período de restrição alimentar; o mesmo ocorrendo para as concentrações de ureia, glicose e magnésio, as quais foram afetadas negativamente com o aumento do nível de restrição imposto. Já na fase final de restrição alimentar houve um decréscimo linear para as concentrações bioquímicas de ureia, glicose e fósforo; contrariamente, a concentração de colesterol aumentou linearmente no final do período restritivo. A restrição alimentar influenciou negativamente nas concentrações de triglicerídeos, glicose e creatinina, diferentemente, os valores de proteínas totais, albumina, ureia e colesterol apresentaram aumento significativo com o período restritivo. Já na realimentação, observou-se comportamento linear decrescente para ureia, glicose e magnésio. No segundo ensaio, verificou-se que as concentrações de proteínas totais, globulina, colesterol total, glicose, creatinina e fósforo apresentaram diferença ( $P < 0,05$ ) entre os períodos de

coleta. Os níveis de restrição alimentar afetaram o metabolismo proteico e interferiram também no metabolismo energético e mineral, e a realimentação resultou em alteração no metabolismo proteico e energético.

**Palavras-chave:** bioquímica clínica, jejum, nutrição, ovinos

## ABSTRACT

LIBARDI, KELI DAIANE CRISTINA. Master Course in Animal Science. Paraná West State University, 2014, February. **Metabolic profile of Santa Ines lambs feedlot.** Adviser: Dr. Ana Alix Mendes de Almeida Oliveira.

The objective of this study was to evaluate levels of food restriction followed by refeeding on the metabolic profile of lambs finished in feedlot. For this purpose, 24 male sheep were used at 20 kg body weight in a randomized and four restriction levels (0, 20, 40 and 60%) and 6 replicates per treatment design. The experiment was divided into two distinct periods of 64 days each, at the first call restriction, the rats were assigned to treatments: no restriction (*ad libitum* consumption remains at 10%), restriction of 20, 40 and 60% compared to consumption of the control treatment. In the second period, called the period of refeeding, food was offered *ad libitum* to all animals in the experiment. The variables of the metabolic profile (protein, energy, mineral and enzyme) at the beginning and end of feed restriction and the end of the intake were evaluated. For the evaluation of blood metabolites of the metabolic profile in animals, commercial laboratory kits were used. Data were analyzed using the F test of analysis of variance, when detected significant differences, regression analysis was used to study the levels of food restriction, and Tukey test for comparison between samples. In the absence of treatment effect averages relating to treatments 20, 40 and 60% restriction were calculated in the three collection periods. All statistical procedures were evaluated at 5% probability by SISVAR (2003) statistical program. It was observed that phosphorus levels were lower in animals to start the period of feed restriction, the same occurring for concentrations of urea, glucose and magnesium, which were adversely affected with the increase in the level of restriction imposed. Already in the final stages of food restriction there was a linear decrease for biochemical concentrations of urea, glucose and phosphorus; contrary, cholesterol concentrations increased linearly at the end of the period. The end of food restriction on the initiation of the restriction, negatively influenced the concentrations of triglycerides, glucose and creatinine, unlike the values of total protein, albumin, urea and cholesterol showed a significant increase with the final restrictive period. Already on feedback, there was decreasing for urea, glucose and magnesium linear behavior. In the second trial, it was found that the concentrations of total protein, globulin, total cholesterol, glucose, creatinine and phosphorus showed differences ( $P < 0.05$ ) between collection periods. The levels of food restriction affect protein metabolism and also interfered in the energy and mineral metabolism, and feedback resulted in changes in protein and energy metabolism.

**Key-words: Keywords:** clinical biochemistry, fasting, nutrition, sheeps

## LISTA DE TABELAS

Tabela 01. Composição centesimal dos alimentos e bromatológica da dieta experimental.....	19
Tabela 02. Concentrações sanguíneas de proteínas totais, albumina, globulina, relação albumina/globulina (Alb/Glo), ureia, colesterol total, triglicerídeos, glicose, creatinina, fósforo e relação cálcio/fósforo e magnésio de cordeiros Santa Inês no início da restrição alimentar.....	23
Tabela 03. Concentrações sanguíneas de proteínas totais, albumina, globulina, relação albumina/globulina (Alb/Glo), ureia, colesterol total, triglicerídeos, glicose, creatinina, fósforo e relação cálcio/fósforo e magnésio de cordeiros Santa Inês ao final da restrição alimentar.....	25
Tabela 04. Concentrações médias de proteínas totais, albumina, globulina, relação albumina/globulina (Alb/Glo), triglicerídeos, creatinina, e cálcio de cordeiros Santa Inês no início e final do período de restrição alimentar .....	27
Tabela 05. Concentrações sanguíneas de proteínas totais, albumina, globulina, relação albumina/globulina (Alb/Glo), ureia, colesterol total, triglicerídeos, glicose, GGT, creatinina, cálcio, fósforo, relação cálcio/fósforo e magnésio de cordeiros Santa Inês submetidos à realimentação após período restritivo de alimentos .....	29
Tabela 06. Concentrações médias de proteínas totais, albumina, globulina, relação albumina/globulina (Alb/Glo), triglicerídeos, creatinina, e cálcio de cordeiros Santa Inês submetidos à restrição alimentar prévia seguida de realimentação.....	31
Tabela 07. Comparação entre as coletas para as concentrações médias de glicose, colesterol, ureia, GGT, Fósforo e magnésio em ovinos Santa Inês submetidos ao manejo para ganho compensatório.....	32

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO I.....</b>	<b>13</b>
1. INTRODUÇÃO.....	15
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
4. CONCLUSÕES.....	36
5. AGRADECIMENTOS.....	36
6. REFERÊNCIAS.....	37
7. ANEXO I .....	40

## **CAPÍTULO I**

### **PERFIL METABÓLICO DE CORDEIROS SANTA INÊS TERMINADOS EM CONFINAMENTO**

# PERFIL METABÓLICO DE CORDEIROS SANTA INÊS TERMINADOS EM CONFINAMENTO<sup>1</sup>

Keli Daiane Cristina Libardi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Artigo redigido com base nas normas de submissão da Revista Ciência Animal Brasileira

<sup>2</sup> Universidade Estadual do Oeste do Paraná. [keli\\_libardi@yahoo.com.br](mailto:keli_libardi@yahoo.com.br)

**Resumo:** Objetivou-se avaliar o perfil metabólico de 24 ovinos Santa Inês, fêmeas e machos inteiros, com peso vivo médio inicial de 20±1,25 Kg, submetidos à restrição alimentar seguida de realimentação em confinamento, distribuídos em quatro tratamentos com 0, 20, 40 ou 60% de restrição alimentar. Dois ensaios foram desenvolvidos, um referente à restrição e outro à realimentação. Para tanto, foi utilizado delineamento experimental inteiramente ao acaso, com quatro tratamentos e seis repetições. Observou-se que os níveis de fósforo foram menores nos animais ao início do período de restrição alimentar; o mesmo ocorrendo para as concentrações de ureia, glicose e magnésio, as quais foram afetadas negativamente com o aumento do nível de restrição imposto. Já na fase final de restrição alimentar, houve um decréscimo linear para as concentrações bioquímicas de ureia, glicose e fósforo; contrariamente, a concentração de colesterol aumentou linearmente no final do período restritivo. A restrição alimentar influenciou negativamente nas concentrações de triglicerídeos, glicose e creatinina, diferentemente, os valores de proteínas totais, albumina, ureia e colesterol apresentaram aumento significativo com o período restritivo. Já na realimentação, observou-se comportamento linear decrescente para ureia, glicose e magnésio. No segundo ensaio, verificou-se que as concentrações de proteínas totais, globulina, colesterol total, glicose, creatinina e fósforo apresentaram diferença ( $P < 0,05$ ) entre os períodos de coleta. Os níveis de restrição alimentar afetaram o metabolismo proteico e interferiram também no metabolismo energético e mineral, e a realimentação resultou em alteração no metabolismo proteico e energético.

**Palavras-chave:** bioquímica clínica, jejum, nutrição, ovinos

## METABOLIC PROFILE OF SANTA INES LAMBS FEEDLOT

**Abstract:** The objective of this study was to evaluate the metabolic profile of 24 Santa Inês lambs, twelve females and twelve males whole, with average weight of  $20 \pm 1,25$  kg, submitted to food restriction followed by refeeding in confinement, distributed in four treatments: 0, 20, 40 and 60% restriction food. Two tests were developed, one for restriction and one for refeeding. In this experiment a completely randomized design was used, with four treatments and 6 repetitions. It was observed that phosphorus levels were lower in animals to start the period of feed restriction, the same occurring for concentrations of urea, glucose and magnesium, which were adversely affected with the increase in the level of restriction imposed. Already in the final stages of food restriction there was a linear decrease for biochemical concentrations of urea, glucose and phosphorus; contrary, cholesterol concentrations increased linearly at the end of the period. The end of food restriction on the initiation of the restriction, negatively influenced the concentrations of triglycerides, glucose and creatinine, unlike the values of total protein, albumin, urea and cholesterol showed a significant increase with the final restrictive period. Already on feedback, there was decreasing for urea, glucose and magnesium linear behavior. In the second trial, it was found that the concentrations of total protein, globulin, total cholesterol, glucose, creatinine and phosphorus showed differences ( $P < 0.05$ ) between collection periods. The levels of food restriction affect protein metabolism and also interfered in the energy and mineral metabolism, and feedback resulted in changes in protein and energy metabolism.

**Keywords:** clinical biochemistry, fasting, nutrition, sheeps

## INTRODUÇÃO

Com um rebanho estimado em aproximadamente 17,7 milhões de cabeças (1), a criação de ovinos através da rentabilidade, rusticidade e constante desenvolvimento, é considerada uma atividade promissora no agronegócio brasileiro (2).

Em virtude da diversidade de climas e raças criadas no Brasil, distintos sistemas de produção podem ser utilizados, na ovinocultura o sistema de produção é fundamental para o sucesso da atividade. Entre os fatores imprescindíveis para a escolha do sistema está a alimentação, já que esta influencia no custo de produção, exigindo assim um aprofundamento nos conhecimentos do segmento nutricional.

Um dos fatores mais importantes na exploração agropecuária sustentável é reduzir os custos do produto final e como consequência, garantir a competitividade no mercado. De acordo com Yáñez (3), a utilização de restrições alimentares qualitativas ou quantitativas com o objetivo de se alcançar o crescimento compensatório, com redução no custo de produção, podem ser alternativas economicamente viáveis na criação de ruminantes.

A intensificação do emprego de dietas que reduzam o custo de produção pela diminuição do ciclo produtivo pode gerar um aumento na ocorrência de transtornos metabólicos nos animais, proporcionando desequilíbrio entre o ingresso de nutrientes no organismo, a capacidade de metabolizar esses componentes e os níveis de produção alcançados (4).

Com o planejamento do manejo nutricional, que visa o crescimento compensatório, reações adversas e irreversíveis ao desenvolvimento do animal são mínimas ou inexistentes. Após longa restrição alimentar, o crescimento compensatório passa a ter ação na base metabólica ou endócrina, além disso, afeta o crescimento e o ganho de peso dos animais por meio da diminuição na concentração de metabólitos e aumento na concentração de hormônio de crescimento (5, 6, 7).

Para obter sucesso na melhoria dos plantéis e no retorno econômico da atividade, o uso do Perfil Metabólico (PM) é uma alternativa interessante, sendo evidenciado por muitos pesquisadores que a utilizam para fins econômicos e também na ampliação científica do exame (8).

O PM é o estudo de alguns componentes hematológicos e químicos que podem indicar problemas metabólicos e também mensurar o estado nutricional dos animais da propriedade (9). O desequilíbrio nutricional, assim como as doenças assintomáticas, pode colaborar para uma baixa produtividade do rebanho, causando prejuízos ao pecuarista (10).

O termo “Perfil Metabólico” foi criado e estudado inicialmente por Payne e colaboradores, em Compton, Inglaterra. No início, o teste foi desenvolvido com o intuito de estudar as chamadas doenças de produção e, em seguida utilizado como ferramenta para medicina de rebanho, evitando certos transtornos na fase produtiva (11). Nos últimos anos, as análises do perfil metabólico estão sendo utilizadas na avaliação e diagnóstico das doenças de produção, bem como na prevenção desses transtornos; e também na avaliação do balanço nutricional dos animais, além de ser um ótimo indicador dos processos adaptativos do organismo, no metabolismo energético, proteico e mineral.

De acordo com Contreras (12), o teste de PM é utilizado com a finalidade de contribuir para a avaliação do balanço nutricional, para a prevenção de transtornos subclínicos, e na verificação do desempenho tanto do indivíduo quanto de um rebanho. Quando há um desbalanço nutricional ou mesmo um transtorno metabólico, estes podem ser detectados por meio do uso de perfil bioquímico sanguíneo, no qual alguns metabólitos podem estar alterados. Por isso, deve-se observar o estado fisiológico do rebanho, a localização geográfica da propriedade, as características dos animais e fatores como estresse, dietas, manejo, raça e idade, pois o conjunto desses fatores faz com que a interpretação dos resultados seja complexa e em muitas vezes trazem resultados infiéis (9).

Wittwer (13) relata que os principais objetivos da avaliação do PM são avaliar a condição nutricional de um indivíduo ou de um rebanho, diagnosticar injúrias metabólicas, oferecer uma forma de controlar o balanço nutricional nos rebanhos e também dar uma condição favorável quanto à sanidade, além de ofertar o instrumento da avaliação metabólica para ensaios.

De acordo com Caldeira (14), o sangue é considerado o fluido mais indicado para determinação de indicadores do *status* nutricional ou metabólico, em virtude da facilidade de obtenção e também pela qualidade informada nos seus exames.

Herdt (15) relata ainda que, quando um rebanho sofre um desbalanço nutricional, isso pode ter sido gerado em decorrência da falta de aporte ou até mesmo da utilização ineficiente dos alimentos e conseqüentemente são incapazes de fornecer adequadamente as exigências de manutenção e produção. Quando esses desequilíbrios nutricionais forem de curta duração ou mesmo numa intensidade branda, as reservas corporais são mobilizadas como forma de compensar todo o metabolismo animal. No entanto, quando há um desequilíbrio moderado ou severo, ou mesmo longo, ocorre o esgotamento das reservas animais postergando algumas doenças metabólicas ou de produção.

O PM possui três variáveis (*status*) que representam as principais vias metabólicas no animal: energético, mineral e proteico. Para a representação do *status* energético de um animal ou de um rebanho, usam-se principalmente dosagens de glicose, beta-hidroxi-butarato, colesterol e ácidos graxos livres. O cálcio, o magnésio, o sódio, o fósforo inorgânico e o potássio representam os macrominerais e são os mais utilizados como indicadores do *status* mineral. Já na determinação do *status* proteico dos animais, são utilizadas as dosagens sanguíneas de hemoglobina, proteínas totais, globulinas, albumina e também a ureia (16).

Segundo González et al. (17) pode-se ainda complementar os testes de PM com dosagem de enzimas específicas como aspartato aminotransferase (AST), gama-glutamiltransferase (GGT), e glutamato desidrogenase (GDH), além da fosfatase alcalina (FA) e lactato desidrogenase (LDH). Pode-se também fazer uso de determinação hormonal que torna o PM ainda mais específico e fidedigno no diagnóstico de patologias reprodutivas ou metabólicas (17).

Nesse sentido, a restrição alimentar como prática de manejo nutricional pode refletir no perfil bioquímico e conseqüentemente no metabolismo dos ovinos, porém, os dados encontrados na literatura são escassos para essa prática, e mais estudos são necessários para compreender os efeitos da restrição alimentar seguida de ganho compensatório sobre o metabolismo de cordeiros submetidos a esse tipo de manejo. Dessa forma, esta pesquisa teve como objetivo avaliar o efeito do crescimento compensatório após o período de restrição alimentar, sobre o perfil metabólico de cordeiros terminados em confinamento.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Setor de Ovinocultura da Fazenda Experimental Prof. Dr. Antonio Carlos dos Santos Pessoa, localizado na Linha Guar, pertencente ao Núcleo de Estces Experimentais da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Marechal Cândido Rondon - PR. O clima desta região, segundo a classificação de Kppen pertence ao tipo Cfa, e caracteriza-se como subtropical com temperatura média, em meses mais quentes acima de 22 °C e em meses mais frios temperaturas inferiores a 18 °C, sem estação de seca (18).

O procedimento experimental foi realizado em concordância com as normas ticas e aprovado pela Comissão de tica e Biossegurança da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, sob protocolo de experimentação 01512.

Foram utilizados 24 cordeiros da raça Santa Inês, 12 machos não castrados e 12 fêmeas, nascidos durante o mês de fevereiro de 2012 e desmamados aos 60 dias de idade, distribuídos em delineamento experimental inteiramente casualizado com 4 níveis de restrição alimentar (0, 20, 40 e 60%) seguidos de um período de realimentação.

Ao atingirem 20 Kg de peso vivo ( $\pm 1,25$  Kg) e aproximadamente 73 dias de idade ( $\pm 11$  dias), os animais foram submetidos a sete dias de adaptação à dieta e s instalações providas de baias individuais de 2,0 m<sup>2</sup> com piso suspenso ripado, com bebedouros e comedouros. Nesse período, considerado a fase pré-experimental, o consumo foi calculado de forma que os animais pudessem desfrutar consumo voluntário com 10% de sobras.

A dieta experimental no tratamento sem restrição alimentar, constituída de 40% de volumoso e 60% de concentrado, sendo formulada para atender s exigências para ganho de 200 g/da segundo o NRC (19). Os alimentos foram fornecidos às 8 e 17h, na forma de dieta completa  base de feno de capim-tifton 85 triturado em partículas de 3 a 5 cm, milho modo, farelo de soja e mistura mineral (TABELA 1).

**TABELA 1.** Composição centesimal dos alimentos e bromatológica da dieta experimental

<b>Alimentos</b>	<b>Quantidades (%)</b>
Feno de Tifton 85	40,00
Farelo de Soja	23,40
Milho	36,00
Sal Mineral <sup>1</sup>	0,60
Total	100,00
<b>Composição Bromatológica (%)</b>	
Matéria Seca	96,28
Matéria Mineral	5,57
Fibra em Detergente Neutro	32,49
Proteína Bruta	18,06
Nutrientes Digestíveis Totais	77,35

<sup>1</sup>Composição do sal mineral: Cálcio 15%, fósforo 8%, magnésio 1,5%, potássio 0,10%, sódio 13%, enxofre 1,5%, manganês 0,13%, cobre 0,07%, zinco 0,25%.

O experimento foi dividido em dois períodos, cada um com 64 dias de duração. No primeiro período, os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro níveis de restrição alimentar, 0, 20, 40 e 60%. O fornecimento da dieta para os animais em restrição alimentar de 20, 40 e 60% foi determinado com base no consumo de matéria seca (MS) efetuado pelos animais com alimentação à vontade (0% de restrição), ou seja, 80%, 60% e 40% do consumo dos animais com alimentação *ad libitum*. Já no segundo período, chamado de período de realimentação, a dieta foi fornecida à vontade para todos os animais, independente da restrição anteriormente imposta.

As coletas sanguíneas foram realizadas às 8h com os animais em jejum, sendo que as mesmas foram feitas em três etapas do experimento: ao início da restrição, ao final da restrição e ao final da realimentação. Foram coletados 8 mL de sangue de cada animal através da venopunção da jugular com utilização de agulha 40X12. Uma fração do sangue (4 mL) foi inserida em sistema de tubos com vácuo (*vacutainer*®) com EDTA e outra fração (4 mL) em tubos com vácuo sem anticoagulante, respeitando essa ordem devido ao risco de formação de coágulo no caso de tubos com EDTA em relação aos sem anticoagulante (20). As amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas com gelo até a chegada ao laboratório.

As amostras foram processadas nos laboratórios do CMETL-Oeste do Curso de Zootecnia da UNIOESTE. O hemograma foi realizado, a partir da amostra de sangue total

com EDTA dentro de 24 horas após a coleta, com o auxílio do equipamento multiparamétrico do tipo Poch-100iV, que determinou a higidez dos animais pela determinação do número total de hemácias, hemoglobina, hematócrito e leucograma.

Após as determinações, as amostras foram centrifugadas por 15 minutos a 3500 rpm para obtenção dos plasmas, conforme descrito por González et al. (17) e Thrall (20). Para obtenção do soro, as amostras sem EDTA também foram centrifugadas nas mesmas condições.

As amostras de soro e plasma foram acondicionadas em microtubos do tipo *ependorf* identificadas e congeladas em temperatura inferior a -20 °C até o momento da análise, conforme descrito por González et al. (17).

As análises bioquímicas foram realizadas após o descongelamento das amostras com soro e plasma em temperatura ambiente por aproximadamente 1 hora ou até que a amostra estivesse completamente descongelada. Posteriormente, foi realizada uma pré-agitação dos microtubos para evitar compactação no fundo dos recipientes dos componentes a serem avaliados. Todos os metabólitos analisados foram determinados em triplicada por meio de espectrofotometria.

A quantificação dos metabólitos proteicos: proteínas totais, albumina e ureia foram realizadas de acordo com métodos colorimétricos através de kits comerciais (Labtest®), por meio de técnicas de fotocolorimetria com o auxílio de um analisador Bioquímico Semiautomático Spectrum® - Celer. A globulina foi determinada por equação (Valor da amostra de proteínas totais subtraindo-se o valor da amostra de Albumina). A proteína total foi determinada pelo método de Biureto, a Albumina pelo reagente de Verde de Bromocresol e a Ureia pelo método de Berthelot.

O perfil energético, compreendido pelos metabólitos glicose, triglicerídeos, colesterol foi determinado pelo método enzimático de ponto final (Labtest Diagnóstica), pelo método descrito por Barham & Trinder (21) (Labtest Diagnóstica), pelo método enzimático colorimétrico de ponto final (Labtest Diagnóstica), respectivamente.

Já o cálcio sérico foi determinado pelo método púrpura de ftaleína (Labtest Diagnóstica SA, Brasil); o fósforo inorgânico sérico pelo método de molibdato de amônio (Labtest Diagnóstica SA, Brasil); e o magnésio sérico pelo método de magon sulfonado (Labtest Diagnóstica SA, Brasil). Com base nas concentrações séricas de albumina e globulina, do cálcio e do fósforo, foram obtidas as relações albumina:globulina e cálcio:fósforo, respectivamente.

Complementando o perfil metabólico dos animais avaliados no ensaio, foram determinados os níveis séricos de Creatinina e Gama glutamil transferase (GGT), pelo método cinético de dois pontos (Labtest Diagnóstica SA, Brasil) e pelo método cinético de Szasz Modificado (Bioclin), respectivamente.

Os dados foram submetidos ao teste F de análise de variância, quando detectadas diferenças significativas, a análise de regressão foi utilizada para estudo dos níveis de restrição alimentar, e teste Tukey para comparação entre coletas. Na ausência de efeito de tratamento foram calculadas médias referentes aos tratamentos 20, 40 e 60% de restrição nos três períodos de coleta estudados. Todos os procedimentos estatísticos foram avaliados a 5% de probabilidade, pelo programa estatístico SISVAR (22).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se que, após o período de 7 dias de adaptação as dietas experimentais de restrição alimentar, as concentrações de proteínas totais, albumina, globulinas, relação albumina/globulinas, colesterol, triglicerídeos, creatinina, cálcio e relação Ca/P (TABELA 2) não diferiram entre tratamentos. Os marcadores bioquímicos constituintes do perfil metabólico mantiveram-se de acordo com os padrões fisiológicos (23,24).

Foram verificados que as proteínas totais tiveram níveis inferiores quando comparadas com a literatura (6,0 a 7,9 g/dL) (12), este aspecto pode ser justificado pela menor eficiência metabólica na utilização das proteínas em animais jovens quando comparados a animais adultos. Contudo, em decorrência da adaptação dos animais ao manejo restritivo e também ao ambiente, esse aumento é aceitável.

Cavilhão (25) ao estudar o efeito da restrição alimentar em níveis semelhantes (0, 20, 40 e 60%) em cordeiros, observou que uma das possibilidades de manutenção de peso corporal dos animais pode estar aliada à não mobilização das reservas energéticas suficientes para suprir suas exigências de manutenção não atendidas pelo consumo da dieta nos níveis menos severos de restrição; o que pode ter colaborado para a manutenção das concentrações dos marcadores bioquímicos proteicos no início do período restritivo.

**TABELA 2.** Concentrações sanguíneas de proteínas totais, albumina, globulina, relação albumina/globulina (Alb:Glo), ureia, colesterol total, triglicerídeos, glicose, creatinina, fósforo e relação cálcio:fósforo e magnésio de cordeiros Santa Inês no início da restrição alimentar.

Variáveis	Níveis de restrição				Equação	R <sup>2</sup>	CV(%)
	0 %	20%	40%	60%			
Proteínas totais (g/dL)	5,93	5,86	5,67	6,11	NS	-	6,28
Albumina (g/dL)	2,90	2,90	3,06	2,82	NS	-	14,11
Globulinas (g/dL)	3,03	2,96	2,61	3,29	NS	-	19,43
Relação Alb:Glo	1,04	1,00	1,21	0,90	NS	-	31,34
Ureia (mg/dL)	31,98	26,21	24,59	20,18	31,297-0,181x	95,98	20,51
Colesterol (mg/dL)	53,84	56,00	53,23	56,96	NS	-	7,71
Triglicerídeos (mg/dL)	17,04	19,35	20,90	23,15	NS	-	17,84
Glicose (mg/dL)	81,99	80,32	76,63	74,33	82,32-0,133x	98,13	4,26
GGT (UI/L)	50,99	44,15	43,53	35,96	50,516-0,228x	92,22	3,74
Creatinina (mg/dL)	1,40	1,38	1,40	1,44	NS	-	8,31
Cálcio (mg/dL)	12,46	12,43	11,98	11,68	NS	-	6,23
Fósforo (mg/dL)	8,92	7,41	6,86	6,36	8,629-0,041x	91,87	17,99
Relação Ca:P	1,47	1,54	1,83	1,72	NS	-	19,64
Magnésio (mg/dL)	2,61	2,71	2,34	2,18	2,653+0,0014x-0,000166x <sup>2</sup>	87,40	7,61

NS = não significativo a 5% de probabilidade; R<sup>2</sup> = coeficiente de determinação; CV (%) = coeficiente de variação.

Observa-se na TABELA 2, que as concentrações de glicose circulantes nos animais decresceram com aumento dos níveis de restrição alimentar. Os teores de glicose encontraram-se próximos aos padrões de normalidade (50-80 mg/dL) recomendados por Kaneko et al. (23). De acordo com Kozloski (26), os ruminantes possuem uma versatilidade bioquímica em relação aos monogástricos por possuírem rotas metabólicas gliconeogênicas hepáticas alternativas para a manutenção dos níveis glicêmicos na circulação no período pós prandial e jejum. Além disso, a alta demanda de glicose para o crescimento animal pode tornar os níveis deste marcador bioquímico constante e sua oscilação pode estar relacionada ao estresse adaptativo (27,28).

O início da restrição alimentar também afetou negativamente as concentrações da ureia, entretanto, os valores não divergem dos preconizados por outros pesquisadores (17-43

mg/dL) (29). Tal resultado, possivelmente é decorrente do nível nutricional estabelecido durante a restrição. Para Wittwer et al. (30), esse efeito é melhor visualizado em animais ruminantes e pode ser diagnosticado precocemente devido à sensibilidade da ureia em relação às dietas com baixos teores proteicos.

Foi observado ainda um decréscimo de forma linear conforme o aumento da restrição alimentar para as concentrações da GGT, fato este evidenciado principalmente nos níveis de restrição de 40% e 60%. No entanto, os valores encontrados para a enzima GGT estiveram dentro dos padrões de normalidade (20-52 UI/L) descritos por Meyer & Harvey (29). Este decréscimo pode estar relacionado com o aumento da síntese proteica, a qual degrada a glutatona tecidual para utilizá-la na forma de cisteína na síntese de proteínas (31).

Da mesma forma, para o marcador bioquímico Fósforo houve redução linear significativa ( $P < 0,05$ ) no início da restrição alimentar. González (32) relata que os níveis de Fósforo nos ruminantes são variáveis, já que esses animais possuem uma eficiente forma de reciclagem via saliva e também em função da absorção do mineral no rúmen e intestinos. Situação semelhante foi evidenciada por Borburema et al. (33) que trabalhando com níveis de restrição alimentar em cordeiros num período de 42 dias, observaram valores equivalentes para concentrações de fósforo em animais jovens.

Os valores encontrados para as concentrações bioquímicas de Magnésio diferiram de maneira significativa ( $P < 0,05$ ) entre os diferentes níveis de restrição alimentar estudados no início do período. Apesar do efeito da restrição obtido sob o metabólito, o mesmo encontra-se dentro daqueles preconizados (2,2 a 2,9 mg/dL) por Kaneko et al. (23). Para González (32), os minerais possuem funções essenciais na homeostase animal, na estrutura de biomoléculas, participando como cofatores enzimáticos e na ação hormonal, e impreterivelmente no metabolismo dos animais. Thompson & Werner (34) reforçam ainda que os minerais possuem papel importante na nutrição, tendo em vista sua essencialidade na biossíntese de nutrientes, na utilização da energia e das proteínas.

Ao final da restrição alimentar, as concentrações de proteínas totais, albumina, globulinas, relação albumina/globulinas, triglicérides, creatinina, cálcio e magnésio não diferiram significativamente ( $P > 0,05$ ) nos níveis de restrição alimentar estudados (TABELA 3). Bezerra (35) relata em seus trabalhos que a deficiência de um ou mais nutrientes na alimentação pode ser refletida e monitorada através das concentrações séricas dos nutrientes. Entretanto, quando houver desequilíbrios curtos e brandos na dieta, o metabolismo animal sofre ajustes, utilizando as reservas corporais, como ocorreu para algumas variáveis no presente experimento. Para Ryan (36), períodos longos, ou até mesmo restrições severas,

esgotam substancialmente as reservas corporais, fazendo com que a compensação metabólica seja ineficiente ou nula.

**TABELA 3.** Concentrações sanguíneas de proteínas totais, albumina, globulina, relação albumina/globulina (Alb:Glo), ureia, colesterol total, triglicerídeos, glicose, creatinina, fósforo e relação cálcio:fósforo e magnésio de cordeiros Santa Inês ao final da restrição alimentar.

Variáveis	Níveis de restrição				Equação	R <sup>2</sup>	CV(%)
	0 %	20%	40%	60%			
Proteínas totais (g/dL)	6,39	6,81	6,42	7,01	NS	-	9,20
Albumina (g/dL)	3,39	3,70	3,34	3,75	NS	-	16,56
Globulinas (g/dL)	2,99	3,10	3,07	3,26	NS	-	16,86
Relação Alb:Glo	1,16	1,26	1,11	1,17	NS	-	28,79
Ureia (mg/dL)	42,15	35,12	32,85	26,65	41,50-0,243x	96,84	15,01
Colesterol (mg/dL)	54,94	58,59	59,91	62,51	55,87+0,120x	96,87	5,46
Triglicerídeos (mg/dL)	14,12	15,28	15,34	17,32	NS	-	17,46
Glicose (mg/dL)	80,91	74,96	70,25	67,14	80,227-0,230x	98,12	7,26
GGT (UI/L)	53,01	48,58	44,42	42,78	52,457-0,172x	97,32	2,83
Creatinina (mg/dL)	1,20	1,19	1,24	1,27	NS	-	7,23
Cálcio (mg/dL)	9,27	9,68	8,78	11,88	NS	-	24,35
Fósforo (mg/dL)	6,91	6,88	6,70	5,83	7,101-0,017x	75,38	9,72
Relação Ca:P	1,38	1,43	1,27	2,02	1,399-0,014x+0,00035x <sup>2</sup>	84,44	25,82
Magnésio (mg/dL)	2,45	2,18	2,43	2,29	NS	-	19,28

NS = não significativo a 5% de probabilidade; R<sup>2</sup> = coeficiente de determinação; CV (%) = coeficiente de variação.

Identificou-se no final do período de restrição alimentar uma queda significativa nos níveis ureia e glicose, de forma linear com o aumento no nível da restrição alimentar imposto, sendo mais evidente nos animais que sofreram ajuste negativo na dieta de 40 e 60%. Wittwer et al. (30) mencionam que em ruminantes, a diminuição dos níveis de ureia sanguínea pode estar relacionada à deficiência de compostos nitrogenados na dieta. Entretanto, as concentrações deste marcador bioquímico corroboram com o descrito pela literatura.

Apesar de haver diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) dentro dos níveis de restrição imposta no final do ensaio, as concentrações de glicose ficaram dentro do esperado e não divergiram de Kaneko et al. (23). Apesar da diminuição visível da glicemia, o organismo dos animais em jejum procurou se ajustar a homeostase energética de forma indireta, obtendo energia para a sua manutenção através da proteólise e da lipólise. Para González et al. (4), os níveis de glicose possuem poucas variações em decorrência de controles homeostáticos presentes no animal ruminante, principalmente envolvendo a regulação hormonal da insulina e do glucagon, e dos glicocorticóides, sobre o glicogênio e a gliconeogênese, respectivamente. Bezerra (35), avaliou o perfil metabólico em novilhas Sindi e Guzerá, submetidas à restrição de 0%, 20% e 40% e observou comportamento semelhante ao estudado neste experimento durante a restrição alimentar.

Ocorreram reduções significativas ( $P < 0,05$ ) nas concentrações de GGT com o aumento dos níveis de restrição alimentar, no entanto, permaneceram dentro do preconizado pela literatura (23) e que pode ser explicado pelo aumento de síntese proteica, assim como o ocorrido no início do ensaio experimental.

Durante a restrição alimentar, houve um decréscimo linear ( $P < 0,05$ ) para o Fósforo, fato este que pode ser explicado por se tratar de animais jovens com alta eficiência na absorção desse mineral e, conseqüentemente, alta taxa de mobilização e crescimento ósseo. De acordo com Kaneko et al. (23) os valores médios de Fósforo para espécie ovina se encontram entre 5,0 e 7,3 mg/dL, sendo que os valores encontrados neste período se comportaram semelhantes às concentrações obtidas no início do experimento. O efeito quadrático da relação cálcio/fósforo pode ser justificado pelo decréscimo no início da restrição alimentar, contudo não diverge do proposto por Kaneko et al. (23) e Radostits et al. (36).

Ainda que alguns metabólitos apresentaram decréscimo de suas concentrações, o colesterol teve uma elevação considerável com o aumento da restrição imposta no final do primeiro ensaio. De acordo com Ingraham & Kapiel (37), este comportamento ocorre devido à mobilização de gorduras de reserva, principalmente em casos de jejum prolongado.

Para Meyer & Harvey (29), os níveis de creatinina devem se apresentar entre 1,2 a 1,9 mg/dL, fato que não diverge dos encontrados tanto no início quanto no final da restrição alimentar. González et al. (4) relatam que as concentrações sanguíneas de creatinina são pouco afetadas pelo catabolismo da dieta e são proporcionais à deposição muscular.

Para Ryan (38), o estresse nutricional, decorrente de uma limitação de nutrientes fornecidos pelos alimentos, impede o animal de expressar seu potencial de crescimento e tem

consequências diretas no seu desempenho. Fenômeno este que pode ser explicado pelas baixas concentrações dos metabólitos proteicos e energéticos, o que resulta em baixa síntese proteica e deposição muscular.

Verifica-se, na TABELA 4, que os animais no início da restrição alimentar e no final da restrição apresentam valores estatisticamente semelhantes ( $P>0,05$ ) para as concentrações bioquímicas de: globulinas, relação albumina/globulina e cálcio. Observa-se que os valores de proteínas totais e albumina foram superiores ( $P<0,05$ ) no final da restrição, no entanto os níveis de triglicerídeos e creatinina foram superiores ( $P<0,05$ ) no início da restrição.

**TABELA 4.** Concentrações médias de proteínas totais, albumina, globulina, relação albumina/globulina (Alb/Glo), triglicerídeos, creatinina, e cálcio de cordeiros Santa Inês no início e final do período de restrição alimentar.

Variáveis	Períodos de restrição		CV(%)
	Início da restrição	Final da restrição	
	alimentar	alimentar	
Proteínas totais (g/dL)	5,88B	6,75A	8,87
Albumina (g/dL)	2,93B	3,60A	16,14
Globulinas (g/dL)	2,95	3,14	17,62
Relação Alb/Glo	1,04	1,18	28,50
Triglicerídeos (mg/dL)	21,13A	15,98B	16,71
Creatinina (mg/dL)	1,41A	1,23B	8,02
Cálcio (mg/dL)	11,38	10,11	20,30

Letras diferentes na mesma linha diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. CV (%) = coeficiente de variação.

Foi observado, ao final da restrição alimentar, um aumento das concentrações de proteínas totais e albumina, entretanto dentro das margens de referência (23). Este aumento da concentração sanguínea de proteínas totais e albumina no final da fase de restrição alimentar, já era esperado devido à função de reserva metabólica proteica da albumina, em que o organismo do animal pode recorrer para manutenção e regulação das funções orgânicas, como transporte de moléculas e hormônios (12). De acordo com González et al. (4), é necessário um período superior a um mês para que haja um decréscimo na concentração de albumina sanguínea em situações de déficit nutrição, o que é confirmado pelo período de 63 dias de jejum estabelecido.

O comportamento bioquímico dos triglicerídeos obtidos nesse experimento acompanharam os resultados obtidos por Costa et al. (28) e Maruta (39). Os valores encontrados para os triglicerídeos plasmáticos nos cordeiros foram inferiores na fase final da restrição alimentar, o que pode ser explicado pela baixa mobilização de reservas de gordura devido ao jejum prolongado sofrido pelos animais nesta fase.

Ao final da restrição alimentar, foi detectado um decréscimo nas concentrações de creatinina. González et al. (4) relata que, apesar de a creatinina não ser afetada intimamente pelo catabolismo das proteínas tissulares e da dieta, os valores podem diminuir em situações nas quais o organismo precise mobilizar reservas endógenas.

Verificou-se, durante o período de realimentação (TABELA 5), comportamento linear decrescente para as concentrações de ureia, glicose e magnésio, no entanto não houve efeito significativo ( $P < 0,05$ ) para as concentrações de proteínas totais, albumina, globulina, relação albumina/globulina, colesterol, triglicerídeos, creatinina, cálcio, fósforo e relação cálcio/fósforo.

**TABELA 5.** Concentrações sanguíneas de proteínas totais, albumina, globulina, relação albumina/globulina (Alb:Glo), ureia, colesterol total, triglicerídeos, glicose, GGT, creatinina, cálcio, fósforo, relação cálcio:fósforo e magnésio de cordeiros Santa Inês submetidos à realimentação após período restritivo de alimentos.

Variáveis	Restrição Prévia				Equação	R <sup>2</sup>	CV(%)
	0 %	20%	40%	60%			
Proteínas totais (g/dL)	5,87	5,46	5,49	5,93	NS	-	8,43
Albumina (g/dL)	3,17	3,21	3,13	3,10	NS	-	14,82
Globulinas (g/dL)	2,70	2,24	2,35	2,83	NS	-	20,20
Relação Alb:Glo	1,19	1,72	1,38	1,10	NS	-	41,09
Ureia (mg/dL)	42,50	35,47	33,17	27,00	41,858-0,243x	96,84	14,86
Colesterol (mg/dL)	48,23	48,97	49,72	46,09	NS	-	7,87
Triglicerídeos (mg/dL)	14,42	15,58	15,64	17,62	NS	-	17,13
Glicose (mg/dL)	85,84	82,34	77,28	76,44	85,47-0,166x	94,16	3,26
GGT (UI/L)	53,21	48,78	44,91	42,98	52,657-0,172x	97,32	2,82
Creatinina (mg/dL)	1,50	1,49	1,54	1,57	NS	-	5,81
Cálcio (mg/dL)	9,44	8,34	8,80	9,21	NS	-	20,20
Fósforo (mg/dL)	8,81	8,75	9,38	8,88	NS	-	22,36
Relação Ca:P	1,07	0,98	1,04	1,16	NS	-	33,78
Magnésio (mg/dL)	3,02	2,70	2,43	2,35	2,969-0,011x	94,52	15,20

NS = não significativo a 5% de probabilidade; R<sup>2</sup> = coeficiente de determinação; CV (%) = coeficiente de variação.

Assim como o ocorrido no início e no final da restrição alimentar, houve efeito significativo ( $P > 0,05$ ) para os níveis de GGT, sendo que os valores apresentaram-se dentro dos limites de normalidade (23). Esse efeito já era esperado devido principalmente à adaptação metabólica dos animais à dieta e também aos níveis de alimentação impostos (40).

Na realimentação, foram observadas diferenças estatísticas ( $P < 0,05$ ) no comportamento das concentrações de glicose, ureia e magnésio, conforme a restrição imposta previamente. Assim que submetidos à realimentação, os animais recuperaram seus valores de glicose e ureia, de forma linear, entretanto, não obtiveram valores similares quando comparados entre os níveis restritivos. Hoch et al. (41) e Bezerra (35) também detectaram que a concentração de ureia e glicose do plasma recuperam seus valores durante o período de realimentação.

O manejo restritivo prévio foi possivelmente responsável pela redução linear ( $P < 0,05$ ) dos valores encontrados para o marcador mineral magnésio na realimentação. González & Scheffer (24), relatam que não há um controle intrínseco e rigoroso do magnésio no organismo animal, sendo assim, sua concentração sérica reflete diretamente o nível nutricional da dieta. Os animais possuem uma marcada individualidade para o crescimento e essa diferença pode ser devida simplesmente ao apetite, portanto, a redução linear apresentados neste experimento pode ser indicativa de fatores intrínsecos do indivíduo, como também carência ou não aproveitamento desse mineral na dieta.

Os valores encontrados para os Triglicerídeos durante a realimentação não divergiram dos padrões fisiológicos (9-30 mg/dL) relatados por Kaneko et al. (23). Para Bazin & Brisson (42), durante o crescimento animal ocorre um declínio na concentração plasmática lipídica, principalmente em virtude do desmame, pois a energia adquirida pela alimentação à base de leite é substituída por outra fonte energética na forma de ácidos graxos voláteis e que são absorvidos no rúmen.

Portanto, animais que se adaptam ao metabolismo proteico e energético precocemente conseguem aproveitar melhor os alimentos impostos. Todo esse processo depende diretamente da ingestão de alimentos, e é regulado de forma intrínseca via hormônios insulina, imunoglobulinas e hormônio do crescimento; resultando em menor demanda energética e síntese de proteína muscular, acarretando, por fim, na queda do crescimento animal (41).

Vários fatores podem influenciar o perfil metabólico e em consequência, o ganho compensatório; entre eles, o grau de maturidade em que se encontram os animais (43), além da severidade e duração da restrição (44).

Observa-se na TABELA 6 que os animais no final da restrição alimentar e no final da realimentação apresentam valores estatisticamente semelhantes ( $P > 0,05$ ) para as concentrações bioquímicas de: relação albumina:globulinas, triglicerídeos e cálcio. Durante a realimentação detectou-se valores superiores ( $P < 0,05$ ) quando comparados com o final da restrição para a creatinina; no entanto, as concentrações de proteínas totais e globulinas durante a restrição alimentar mostraram-se maiores ( $P < 0,05$ ) quando comparadas com o período de realimentação.

**TABELA 6.** Concentrações médias de proteínas totais, albumina, globulina, relação albumina/globulina (Alb/Glo), triglicerídeos, creatinina, e cálcio de cordeiros Santa Inês submetidos à restrição alimentar prévia seguida de realimentação

Variáveis	Períodos de coleta		CV(%)
	Final da restrição alimentar	Final da realimentação	
Proteínas totais (g/dL)	6,75A	5,63B	9,42
Albumina (g/dL)	3,60	3,15	16,16
Globulinas (g/dL)	3,14A	2,48B	19,42
Relação Alb/Glo	1,18	1,34	33,05
Triglicerídeos (mg/dL)	15,98	16,28	16,27
Creatinina (mg/dL)	1,23B	1,53A	6,48
Cálcio (mg/dL)	10,11	8,92	25,85

Letras diferentes na mesma linha diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. CV (%) = coeficiente de variação.

Os valores menores das proteínas totais e globulinas ao final da realimentação, como indicadores do perfil proteico, já eram esperados, uma vez que durante este período os animais receberam alimentação “*ad libitum*”. As proteínas sanguíneas são sintetizadas principalmente pelo fígado, sendo que a taxa de síntese está diretamente relacionada ao estado nutricional do animal (17), portanto, animais que sofreram algum tipo de manejo restritivo, com posterior realimentação, podem apresentar uma queda no perfil proteico em decorrência do aumento da oferta e do consumo alimentar pelos animais (7).

Na TABELA 7 observa-se que as médias das concentrações sanguíneas de glicose, colesterol, ureia, GGT, Fósforo, magnésio e relação Ca:P apresentaram diferenças estatísticas ( $P > 0,05$ ) entre as coletas realizadas.

**TABELA 7.** Comparação entre as coletas para as concentrações médias de glicose, colesterol, ureia, GGT, Fósforo, magnésio e relação Ca:P em ovinos Santa Inês submetidos ao manejo para ganho compensatório.

Coletas	Níveis de restrição			
	0%	20%	40%	60%
<b>Glicose</b>				
Início da Restrição	81,99	80,32	76,63A	74,33A
Final da Restrição	80,91	74,96	70,25B	67,14B
Final Realimentação	85,84	82,34	77,28A	76,44A
CV (%)	5,55	6,87	2,91	3,41
<b>Colesterol</b>				
Início da Restrição	53,84A	56,00A	53,23B	56,96A
Final da Restrição	54,94A	58,59A	59,91A	62,51A
Final Realimentação	48,23B	48,97B	49,72B	46,09B
CV(%)	4,38	7,73	7,89	7,15
<b>Ureia</b>				
Início da Restrição	31,98B	26,21	24,59B	20,18B
Final da Restrição	42,15A	35,12	32,82A	26,65A
Final Realimentação	42,50A	35,47	33,17A	27,00A
CV(%)	14,29	20,86	14,00	14,93
<b>GGT</b>				
Início da Restrição	50,99	44,15B	43,53	35,96B
Final da Restrição	53,01	48,58A	44,71	42,78A
Final Realimentação	53,21	48,78A	44,91	42,98A
CV(%)	2,89	2,64	2,63	4,35
<b>Fósforo</b>				
Início da Restrição	8,92A	7,41AB	6,86AB	6,36B
Final da Restrição	6,91B	6,88B	6,70B	5,83B
Final Realimentação	8,81AB	8,75A	9,38A	8,88A
CV(%)	15,57	13,63	22,95	22,21
<b>Magnésio</b>				
Início da Restrição	2,61	2,71A	2,34	2,18
Final da Restrição	2,45	2,18B	2,43	2,29
Final Realimentação	3,02	2,70A	2,43	2,35
CV (%)	14,40	11,34	19,45	12,38
<b>Relação Ca/P</b>				
Início da Restrição	1,47A	1,54A	1,83A	1,72AB
Final da Restrição	1,34AB	1,43A	1,31AB	2,02A
Final Realimentação	1,07B	0,98B	1,04B	1,16B
CV(%)	15,86	21,88	25,71	31,50

Letras diferentes na mesma coluna diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. CV (%) = coeficiente de variação.

O comportamento bioquímico da glicose obtidos nesse experimento acompanharam os resultados obtidos por Costa et al. (28) e Maruta (39), sendo evidenciadas diferenças estatísticas entre as coletas principalmente nos níveis 40% e 60% de restrição alimentar. Os

menores valores para este marcador foram encontrados ao final da restrição alimentar para ambas as restrições, as quais tiveram efeito significativo. Bezerra (35) afirma que, entre as possíveis mudanças provocadas pelo regime alimentar, está a redução do ácido propiônico no fígado, o que provoca mudanças na neoglicogênese pela utilização de glicerol, lactato, alguns aminoácidos e, conseqüentemente, diminuição na glicemia dos animais. Durante esse período, a principal fonte de energia do organismo animal pode ser advinda de ácidos graxos não esterificados (45).

De acordo com Bezerra (35), havendo uma redução da glicose sanguínea, os animais mobilizam ácidos graxos do tecido gorduroso durante a restrição alimentar, permitindo que o uso de proteína e energia seja poupado. No entanto, quando este manejo for prolongado ou até mesmo muito severo, pode haver mobilização muscular para reaver energia e com isso, o animal cessa o seu desenvolvimento. Apesar do decréscimo nos valores de glicose ao final da restrição alimentar para os animais com 40 e 60% de restrição, os cordeiros não apresentaram queda no ganho de peso, o que nos permite concluir que os níveis restritivos adotados não foram severos a ponto de afetar a homeostase dos animais.

Os níveis glicêmicos no período de realimentação aumentaram em relação ao período de restrição alimentar. Se por um lado, o manejo restritivo obteve resultados significativos sobre o perfil energético, por outro, a realimentação gerou imediata recuperação do *status* energético. Maruta (39) afirma que esse resultado pode indicar forte correlação com uma marcante gliconeogênese, acompanhada da redução da lipólise e da produção B-hidroxibutirato na via cetogênica.

O perfil energético teve diferença estatística entre as coletas para o colesterol em todos os níveis estudados neste experimento. O comportamento diminuído do colesterol ao final da realimentação se deve provavelmente ao bom aporte proteico na dieta, uma vez que houve baixa necessidade de mobilização de reservas lipídicas durante esse período. Corroborando os resultados encontrados neste estudo, Borburema et al. (33) também encontraram diferença ( $P < 0,05$ ) entre os períodos de coleta.

A concentração sanguínea de colesterol aumentou com o prolongamento da restrição alimentar em todos os níveis estudados. Apesar desse aumento significativo, o metabólito encontrou-se dentro dos valores descritos por Meyer & Harvey (29), ou seja, 52-76 mg/dL. Situação semelhante foi relatada por Borburema et al. (33) que, trabalhando com ovinos Santa Inês jovens e objetivando comparar níveis de restrição alimentar, observaram comportamento similar entre as coletas. Este aspecto pode ser justificado pela mobilização hepática dos ácidos graxos livres, os quais podem seguir duas rotas: (1) entrar para a mitocôndria dos hepatócitos

e serem oxidados ou (2) alocar-se no citosol e serem esterificados formando triglicerídeos, lipoproteínas, que são utilizadas como fontes energéticas no organismo animal (15).

Em suma, pode se afirmar que a mobilização dos ácidos graxos livres durante a restrição alimentar foi responsável pelo aumento do colesterol no final desse período e que a severidade do manejo restritivo não afetou de forma substancial os mecanismos de regulação, gerando um transtorno produtivo.

Para o marcador ureia foram constatadas neste experimento, diferenças estatísticas entre as coletas para os níveis 0, 40 e 60% de restrição alimentar. Como a amônia de origem alimentar foi provavelmente baixa, este aumento nas concentrações metabólicas da ureia, tanto no final da restrição quanto ao final da realimentação, pode ser explicado pela mobilização de aminoácidos e proteólise para geração de energia no animal, e também pela degradação de proteínas microbianas, o que também foi evidenciado por Rule et al. (46) e Maruta (39).

Avaliando as coletas nos períodos restritivos iniciais e finais e na realimentação, observa-se que apenas os níveis de 20 e 60% apresentaram diferença estatística ( $P < 0,05$ ) para a enzima GGT, no entanto, todos os valores para este marcador apresentaram-se dentro dos preconizados para a espécie (23). Este resultado sugere que a enzima contribuiu de forma indireta para a síntese proteica, a qual interferiu na manutenção das concentrações de grande parte dos marcadores proteicos.

Em relação ao marcador fósforo, todos os níveis alimentares impostos apresentaram diferença estatística ( $P < 0,05$ ) entre as coletas. As concentrações séricas do fósforo reduziram ( $P < 0,05$ ) com o final do manejo restritivo em relação ao início da restrição e também em relação à realimentação. Possivelmente, a causa dessa redução pode estar relacionada à disponibilidade e ingestão de minerais na dieta devido à restrição, o que foi evidenciado também por Bezerra (35) e Borburema et al. (33). Os autores afirmam ainda que a deficiência prolongada do fósforo pode acarretar um baixo desenvolvimento corporal, afetando o desempenho produtivo.

A concentração de Magnésio, encontrada neste experimento, sofreu interferência das coletas somente para os animais que receberam 20% de restrição na alimentação. Resultado semelhante foi encontrado por Borburema (33) ao estudar o efeito das coletas e níveis restritivos em ovinos Santa Inês.

Verifica-se também, na TABELA 7, que os valores encontrados para a relação Ca/P apresentaram diferenças estatísticas ( $P < 0,05$ ) entre as coletas para todos os níveis alimentares estudados. Essa diferença estatística entre as coletas já era esperada, uma vez que os animais

envolvidos no experimento eram jovens em fase de crescimento, o que torna os valores de Cálcio e Fósforo oscilantes e conseqüentemente a relação Ca/P. González (32) afirma que apesar dos ruminantes possuírem controle endócrino eficiente sobre as concentrações de cálcio, o mesmo não acontece no caso dos minerais Fósforo e Magnésio, que necessitam ser suplementados via alimentação e são regulados pelos níveis minerais presentes no alimento e também pela quantidade do mineral ingerido na dieta pelo indivíduo.

## **CONCLUSÃO**

O manejo, visando à indução de ganho compensatório de cordeiros Santa Inês terminados em confinamento, interfere nas sínteses de metabólitos importantes para o crescimento animal, elevando os níveis séricos de precursores para síntese proteica, como a glicose e ureia.

O uso da restrição alimentar como alternativa nutricional, demonstrou que os animais suportaram bem o período de restrição, sem a presença de transtornos metabólicos ou mesmo distúrbios que pudessem afetar a produtividade.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Laboratório Labtest Diagnóstica SA, pelo apoio e fornecimento dos kits de reagentes, fomentando a pesquisa animal.

## REFERÊNCIAS

1. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística [Home Page na internet]. Rebanho ovino – efetivo por Região. [acesso em 03 jan 2014]. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>
2. Madruga MS, Sousa WH, Rosales MD, Cunha MDG, Ramos JLF. Qualidade da carne de cordeiros Santa Inês terminados em diferentes dietas. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2005; 344 (1): 309-315.
3. Yáñez EA. Desenvolvimento relativo dos tecidos e características da carcaça de cabritos Saanen, com diferentes pesos e níveis nutricionais. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista. Tese [Doutorado em Zootecnia]. Universidade Estadual Paulista, 2002.
4. González FHD, Barcellos JO, Ospina H, Ribeiro LAO. Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2000.
5. Blum JW, Schnyder W, Kunz PL, et al. Reduced and compensatory growth: Endocrine and metabolic changes during feed restriction and refeeding in steers. *Journal of Nutrition*. 1985; 115: 417.
6. Hayden JM, Williams JE, Collier RJ. Plasma growth hormone, insulinlike growth factor, insulin, and thyroid hormone association with body protein and fat accretion in steers undergoing compensatory gain after dietary energy restriction. *Journal of Animal Science*. 1993; 71: 3327–3338.
7. Hornick JL, Van Eenaeme C, Diez , et al. Different periods of feed restriction before compensatory growth in Belgian Blue bulls: II. Plasma metabolites and hormones. *Journal of Animal Science*. 1998; 76: 260-271.
8. Peixoto LAO, Osório MTM. Perfil metabólico proteico e energético na avaliação do desempenho reprodutivo em ruminantes. *Revista Brasileira de Agrociência*. 2007; 13 (3): 299-304.
9. Payne JM, Payne S. *The metabolic profile test*. Oxford: oxford University Press; 1987.
10. Smith BP. *Medicina Interna de Grandes Animais*. 3.ed. São Paulo: Manole; 2006.
11. Payne JM, Dew SM, Manston R, et al. The use of metabolic profile test in dairy herds. *The Veterinary Record*. 1970; 87:150-158.
12. Contreras P. Indicadores do metabolismo proteico utilizado nos perfis metabólicos de rebanhos. In: González HD, Barcellos J, Patinõ HO, Ribeiro LAO. Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. 2000. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2000. p.23-30.
13. Wittwer F. Empleo de los perfiles metabólicos en el diagnostico de desbalances metabólicos nutricionales en el ganado. *Buiatria*. 1995; 2: 16-20.
14. Caldeira RM. Monitorização da adequação do plano alimentar e do estado nutricional em ovelhas. *Revista Portuguesa de Medicina Veterinária*. 2005; 100 (555-556): 125-139.
15. Herdt HH. *The Veterinary Clinics of North America: food animal practice*. 2000; 16(2): 408.
16. González FHD. O perfil metabólico no estudo de doenças da produção em vacas leiteiras. *Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS*. 1997; 25:13-33.
17. González FHD, Borges JB, Cecim M. Uso de provas de campo e laboratório clínico em doenças metabólicas e ruminais dos bovinos. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2000.
18. Instituto Agronômico do Paraná. *Cartas Climáticas do Paraná* [acesso em 02 jan 2014]. Disponível em: <http://www.iapar.br>
19. National Research Council – NRC. *Nutrient requirement of small ruminants: Sheep, goats, cervids and new camelids*. Washington: National Academy Press; 2007.
20. Thrall MA. *Hematologia e bioquímica clínica veterinária*. São Paulo: Editora Roca; 2007.
21. Barham D, Trinder P. An Improved colour reagent for the determination of blood glucose by the oxidase system. *Analyst*. 1972; 97:142-145.

22. Ferreira D. SISVAR software: versão 4.6. Lavras: DEX/UFLA, 2003. Software.
23. Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss M.. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5th ed. San Diego: Academic Press; 1997.
24. González FHD, Scheffer JFS. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: González FHD, CAMPOS, R. *Anais do I Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da região Sul do Brasil*. Porto Alegre: Gráfica da UFRGS. 2003; p.73-89.
25. Cavilhão C. Restrição alimentar em cordeiros terminados em confinamento. Marechal Cândido Rondon: Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Dissertação [Mestrado em Zootecnia]. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2013.
26. Kozloski GV. *Bioquímica dos ruminantes*. 3. ed. Santa Maria: UFSM; 2011.
27. Kerr MG. *Exames laboratoriais em medicina veterinária. Bioquímica clínica e hematologia*. 2. ed. São Paulo: Roca, 2003.
28. Costa PB, Queiroz AC, Rodrigues MT, Magalhães ALR, Zorzi K, Mello R, Silva MMC, Alves NG. Perfil metabólico e desenvolvimento da glândula mamária de novilhas leiteiras sob manejo para crescimento compensatório. *R. Bras. Zootec*. 2012; 41(2): 360-366.
29. Meyer DJ, Harvey JW. *Veterinary laboratory medicine: interpretation & diagnosis*. 2.ed. Philadelphia: Saunders, 2004.
30. Wittwer F, Reyes JM, Opitz H, et al. Determinación de úrea en muestras de leche de rebaños bovinos para el diagnóstico de desbalance nutricional. *Arch. Med. Vet*. 1993; 25: 165-172.
31. Tateishi N, Higashi T, Naruse A, et al. Rat liver glutathione: possible role as a reservoir of cysteine. *J. Nut*. 1977; 107:51-60.
32. González FHD. Indicadores sanguíneos do metabolismo mineral em ruminantes. In: González, FHD, Barcellos J, Patinõ HO, Ribeiro LA. *Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais*. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2000.
33. Borburema JB, Cezar MF, Marques DD, Cunha MGG, Pereira Filho JM, Sousa WH, Furtado DA, Costa RG. Efeito do regime alimentar sobre o perfil metabólico de ovinos Santa Inês em confinamento. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*. 2012; 64 (4): 983-990.
34. Thompson DJ, Werner JC. Cálcio, fósforo e flúor na nutrição animal. In: *Simpósio Latino-Americano sobre pesquisa em nutrição mineral de ruminantes em pastagens, 1976*, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte : UFMG/UFV/EPAMIG, 1976.
35. Bezerra LR. Restrição alimentar e ganho compensatório em novilhas das raças Sindi e Guzerá. Areia: UFPB. Tese [Doutorado em Zootecnia]. Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal da Paraíba; 2009.
36. Radostits OM, Gay CC, Blood DC, et al. *Clínica Veterinária – Um tratado de Doenças de Bovinos, Ovinos, Suínos, Caprinos e Equinos*. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.
37. Ingraham RH, Kap1el LC. Metabolic profile testing. *Vet. Clin. N. Amer.: Food Anim. Pract* 1988; 4: 391-411.
38. Ryan WJ. Compensatory growth in cattle and sheep. *Nutrition Abstracts Reviews*. 1990; 60 (4): 653-664.
39. Maruta CA. Perfil metabólico e ruminal de garrotes submetidos às condições de alimentação normal, jejum e realimentação. Tese [Doutorado em Medicina Veterinária]. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo; 2005.
40. Johnson DE, Ferrell CLE, Jenkins TG. The history of energetic efficiency research: Where have we been and where are we going? *Journal Animal Science*. 2003; 81:E27-E38.
41. Hoch T, Begon C, Cassar-Malek I, Picard B, Savary-Auzeloux I. Mecanismos et consequences de la croissance compensatrice chez les ruminants. *INRA Productions Animales* 2003; 16 (1): 49-59.

42. Bazin RC, Brisson GJ. Plasma Lipids, ketone bodies, and glucose concentrations in calves fed high-and low-fat milk replacers. *Journal of Dairy Science*. 1976; 59 (7) 1301-1305.
43. Almeida TRV, Perez JRO, Chlad M, et al. Desempenho e tamanho de vísceras de cordeiros Santa Inês após ganho Compensatório. *Rev. Bras. Zootec*. 2011; 40: 616-621.
44. Homem Junior AC, Silva Sobrinho AG, Yamamoto SM, et al. Ganho compensatório em cordeiras na fase de recria: desempenho e medidas biométricas. *Rev. Bras. Zootec*. 2007; 36: 111-119.
45. Yambayamba ES, Price MA, Foxcroft GR. Hormonal status, metabolic changes, and resting metabolic rate in beef heifers undergoing compensatory growth. *Journal of Animal Science*. 1996; 74: 57-69.
46. Rule DC, Beitz DC, Boer G, Lyle RR, Trenkle AH, Young JW. Changes in hormone metabolite concentrations in plasma of steers during a prolonged fast. *Journal of Animal Science*. 1985; 61 (4): 868-875.

## ANEXO I

### DIRETRIZES PARA AUTORES – REVISTA CIÊNCIA ANIMAL BRASILEIRA

Os trabalhos podem ser redigidos em português ou inglês. Os nomes dos autores, bem como a filiação institucional de cada um dos mesmos, devem ser inseridos nos campos adequados a serem preenchidos durante a submissão e não devem aparecer no arquivo. Ciência Animal Brasileira sugere que o número máximo de autores por artigo seja 6 (seis). Artigos com número superior a 6 (seis) serão considerados exceções e avaliados pelo Conselho Editorial e, se necessário, solicitada a correção. O não atendimento de tal proposta pode implicar em recusa de sua publicação. Sugere-se um número máximo de 20 páginas e as figuras, gráficos e tabelas devem ser colocados no corpo do texto onde forem citados. É importante ressaltar que pesquisas feitas com animais devem citar a aprovação da pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisas com Animais da instituição onde o trabalho foi realizado. A falta dessa aprovação impede a publicação do artigo. Os textos devem ser organizados da seguinte forma:

Para submissões em português:

**Título em português:** Fonte Times New Roman 14, caixa alta, centrado, negrito;

**Resumo:** Fonte Times New Roman 11, espaço 1, justificado, com um máximo de 200 palavras;

**Palavras-chave:** idem, e no máximo 5 palavras chave;

**Título em inglês** (obrigatório): Fonte Times New Roman 12, caixa alta, centrado;

**Abstract** (obrigatório): Fonte Times New Roman 11, espaço 1, justificado;

**Keywords:** idem

**Introdução:** Fonte Times new Roman 12, justificado, espaçamento 1,5;

**Material e Métodos:** Fonte Times new Roman 12, justificado, espaçamento 1,5;

**Resultados:** Fonte Times new Roman 12, justificado, espaçamento 1,5;

**Discussão:** Fonte Times new Roman 12, justificado, espaçamento 1,5 (Os tópicos Resultados e Discussão podem ser apresentados juntos dependendo das especificidades da área);

**Conclusões:** Fonte Times new Roman 12, justificado, espaçamento 1,5;

**Agradecimentos:** (opcional) Fonte Times new Roman 12, justificado, espaçamento 1,5;

**Referências** (e não bibliografia): Usar fonte Times New Roman 11, espaço 1 entre linhas e colocar espaço 6 pontos acima e abaixo do parágrafo. As referências devem ser numeradas na ordem em que aparecem no texto. A lista completa de referências, no final do artigo, devem estar de acordo com o estilo Vancouver.