



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

REGIANE NASCIMENTO SANTOS

**RESPOSTA ESTRAL, DESENVOLVIMENTO FOLICULAR,
PERFIL HORMONAL E COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO
LEITE DE OVELHAS EM DIFERENTES ESTRATÉGIAS DE
SUPLEMENTAÇÃO**

Resposta estral, ...
2019 TS-PP-2019.00003



CPATSA-58554-1

019

p-2019.00003

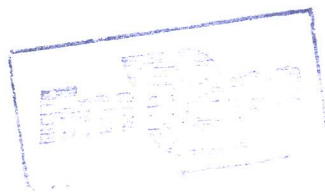
**PETROLINA
2019**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

REGIANE NASCIMENTO SANTOS

**RESPOSTA ESTRAL, DESENVOLVIMENTO FOLICULAR,
PERFIL HORMONAL E COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO
LEITE DE OVELHAS EM DIFERENTES ESTRATÉGIAS DE
SUPLEMENTAÇÃO**



**PETROLINA
2019**

REGIANE NASCIMENTO SANTOS

**RESPOSTA ESTRAL, DESENVOLVIMENTO FOLICULAR,
PERFIL HORMONAL E COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO
LEITE DE OVELHAS EM DIFERENTES ESTRATÉGIAS DE
SUPLEMENTAÇÃO**

Trabalho apresentado à Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF, Campus de Ciências Agrárias, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Maia Nogueira
Coorientador: Prof. Dr. Tadeu Vinhas Voltolini
Coorientador: Prof. Dr. Edilson Soares Lopes Júnior

**PETROLINA
2019**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

FOLHA DE APROVAÇÃO

Regiane Nascimento Santos

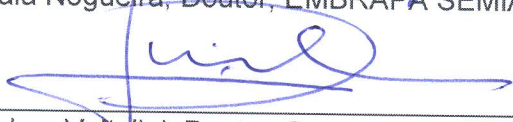
RESPOSTA ESTRAL, DESENVOLVIMENTO FOLICULAR,
PERFIL HORMONAL E COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO
LEITE DE OVELHAS EM DIFERENTES ESTRATÉGIAS DE
SUPLEMENTAÇÃO

Dissertação apresentada como requisito
parcial para a obtenção do título de Mestre
em Ciência Animal, pela Universidade
Federal do Vale do São Francisco.

Aprovada em: 27 de Fevereiro de 2019.

Banca examinadora


Daniel Maia Nogueira, Doutor, EMBRAPA SEMIÁRIDO


Tadeu Vinhas Voltolini, Doutor, EMBRAPA SEMIÁRIDO


Edilson Soares Lopes Júnior, Doutor, UNIVASF


Rodolfo de Moraes Peixoto, Doutor, IF Sertão

Dedico aos meus pais Josivaldo
Olímpio e Edna Jesus, a meu irmão
Fabrício do Nascimento, aos meus
familiares e amigos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser meu guia nessa jornada e me dar força para continuar todos os dias.

Aos meus pais e ao meu irmão, por permanecerem sempre ao meu lado nesse longo período, me incentivando a continuar.

Ao meu orientador, Dr. Daniel Maia Nogueira, pela oportunidade, dedicação, ensinamentos, acompanhamento e paciência.

Aos meus coorientadores Dr. Tadeu Vinhas Voltolini e o Dr. Edilson Soares Lopes Júnior, pelos ensinamentos para minha formação profissional e pessoal.

À Dr^a. Salete Alves de Moraes, por disponibilizar tempo e materiais que me auxiliaram nas práticas de campo e nas análises laboratoriais.

Ao Dr. Rodolfo de Moraes Peixoto, pelas sugestões que só acrescentaram qualidade a este estudo.

Aos meus familiares e amigos.

A Universidade Federal do Vale do São Francisco pela oportunidade de realização do curso de pós-graduação.

A Empresa de Pesquisa em Agropecuária – Embrapa Semiárido, pelo auxílio à pesquisa, com oportunidade de realização do experimento e análises, possibilitando crescimento pessoal e profissional.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Instituto Federal de Pernambuco – IFPE, por possibilitar a realização das análises físico-químicas do leite de ovelha.

Aos professores e funcionários do Curso de Pós-graduação em Ciência Animal (CPGCA) / UNIVASF, em especial à Assistente Administrativa Rosângela (Rosinha), pela disponibilidade e atenção.

Aos funcionários da Embrapa Semiárido, em especial seu João e seu Antônio, bem como a equipe de estagiários, em especial Alex, Airton, Ilana e Caíco, que me auxiliam no trabalho de campo.

À Alcides Amaral, por todo apoio e suporte laboratorial.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para esta conquista.

Obrigada!!

RESUMO

A ovinocultura de leite é uma alternativa pecuária para a região do Vale do São Francisco em Pernambuco. Objetivou-se com esse estudo avaliar o efeito da suplementação alimentar com diferentes fontes de energia, fornecidas antes da estação de monta e durante o período de lactação sobre a resposta estral, o desenvolvimento folicular, perfil hormonal, composição físico-química do leite e rendimento de queijos de ovelhas mestiças das raças Lacaune x Santa Inês. O estudo foi realizado na estação experimental da Embrapa Semiárido, em dois trabalhos experimentais, utilizando 60 ovelhas mestiças das raças Lacaune x Santa Inês. No Experimento 1 (n = 48), foi avaliado o efeito da sincronização do estro e/ou da suplementação de curta duração (9 dias) com diferentes fontes de energia antes da estação de monta sobre a resposta estral, desenvolvimento folicular e perfis hormonais. No experimento 2 (n = 12), foram avaliados os efeitos da suplementação de longa duração (63 dias) com diferentes fontes de energia durante o período de lactação sobre a produção e composição físico-química do leite de ovelhas e rendimento de queijos. Os tratamentos foram elaborados para conter três fontes de energia: pastagem de capim Tifton 85 (Pasto), milho em grão triturado (Milho) e caroço de algodão (Algodão). No Experimento 1, foi observado que a porcentagem de ovelhas em estro foi inferior no grupo Pasto em comparação aos demais tratamentos. Embora não havendo diferença significativa, foi observado que os grupos sincronizados e suplementados com milho ou caroço de algodão aumentaram a taxa de ovulação em 37,8 a 51,5% em comparação ao grupo que foi sincronizado exclusivamente. O número de folículos pré-ovulatórios foi inferior no grupo Pasto (16,7%) e comparação ao Sincronizado (66,7%), Milho (83,3%) e Algodão (91,0%). As concentrações de insulina e IGF-1 foram semelhantes entre os grupos experimentais. No Experimento 2, os resultados demonstram que não houve diferenças significativas entre os grupos Pasto, Milho e Algodão nas variáveis de produção média do leite de ovelha e no peso corporal inicial e final das ovelhas. Foram observadas diferenças significativas em componentes do leite de ovelha (proteína, sólidos não gordurosos, sais minerais e ponto de congelamento), exceto no teor de gordura. O leite dos animais do grupo Algodão apresentou melhor rendimento de queijo. Com isso, conclui-se que a suplementação alimentar de curta duração (9 dias) com milho ou caroço de algodão, associada à sincronização do estro, influencia positivamente no número de fêmeas em estro, no desenvolvimento folicular e na taxa de ovulação. Apesar da suplementação de longa duração não promover aumento na produção de leite dos grupos avaliados, a suplementação com caroço de algodão promove aumento da composição físico-química do leite de ovelhas e, consequentemente, maior rendimento dos queijos produzidos.

Palavras-chave: Leite de ovelha. Reprodução animal. Suplementação nutricional

ABSTRACT

Sheep's Milk production is an animal raising alternative for the region of the São Francisco Valley in Pernambuco. The objective of this study was to evaluate the effect of dietary supplementation with different energy sources, provided before the breeding season and during the lactation period on the estrous response, follicular development, hormonal profile, milk physical and chemical composition and yield of crossbred sheep cheeses of the Lacaune x Santa Inês breeds. The study was carried out at the experimental station of Embrapa Semiárido, in two experimental studies, using 60 crossbred ewes of Lacaune x Santa Inês breeds. In Experiment 1 (n = 48), the effect of estrus synchronization and/or short-term supplementation (9 days) with different sources of energy before the mating season on estrus response, follicular dynamics and hormonal profiles was evaluated. In the experiment 2 (n = 12), the effects of long-term supplementation (63 days) with different energy sources during the lactation period on the production and physical-chemical composition of sheep's milk and cheese yield were evaluated. The treatments were elaborated to contain three sources of energy: grazing of Tifton 85 (Pasture), crushed corn (Corn) and cotton seed (Cotton). In Experiment 1, it was observed that the percentage of estrus ewes was lower in the Pasture group when compared to the other treatments. Although there was no significant difference, it was observed that the groups synchronized and supplemented with corn or cotton seed increased the ovulation rate by 37.8% to 51.5% compared to the group that was synchronized exclusively. The number of preovulatory follicles was lower in the Pasture group (16.7%) when compared to Synchronized (66.7%), Maize (83.3%) and Cotton (91.0%). Insulin and IGF-1 concentrations were similar between the experimental groups. In Experiment 2, the results showed that there were no significant differences between Pasture, Maize and Cotton groups in the variables of sheep's milk production, and the initial and final body weight of the sheep. There were significant differences in components of sheep's milk (protein, non-fat solids, mineral and freezing point), except for fat content. The milk in Cotton group presented better cheese yield. Thus, short-term (9-day) feeding supplementation with corn or cottonseed, associated with estrus synchronization, has a positive influence on the number of females in estrus, follicular development and ovulation rate. Although long-term supplementation does not promote increased milk production in the evaluated groups, supplementation with cotton seeds promotes an increase in the physical-chemical composition of sheep's milk and, consequently, a higher yield of the cheeses produced.

Keyword: Animal reproduction. Nutritional supplementation. Sheep milk

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Página

Figura 1 - Modelo da dinâmica folicular na ovelha..	18
Figura 2 - Sincronização da onda folicular e suplementação alimentar para aumento da taxa de ovulação em ovelhas.	32
Figura 3 - Médias do peso corporal inicial e final das ovelhas Lacaune x Santa Inês submetidas a diferentes estratégias de suplementação antes da estação de monta.	40
Figura 4 - Média do número de a) folículos pequenos (2 a 3 mm), b) médios (>3 a <5 mm) e c) grandes (>5 mm) de ovelhas Lacaune x Santa Inês submetidas a diferentes estratégias de suplementação.	42
Figura 5 - Concentrações séricas de IGF-1, insulina e leptina em ovelhas mestiças Lacaune x Santa Inês submetidas a diferentes estratégias de suplementação.	44
Figura 6 - Médias da produção do leite de ovelhas mestiças Lacaune x Santa Inês submetidas a diferentes estratégias de suplementação, corrigido para 6,5% (gordura) e 5,8 (proteína).	46
Figura 7 - Médias do peso corporal inicial e final das ovelhas Lacaune x Santa Inês submetidas a diferentes estratégias de suplementação durante a lactação.	46

LISTA DE TABELAS

Página

Tabela 1- Comparação de valores médios (em %) dos componentes do leite de ovelha, vaca e cabra21

Tabela 2 - Composição centesimal (% da matéria seca - MS) e bromatológica dos concentrados e da forragem (% da MS) fornecidas a ovelhas Lacaune x Santa Inês.....30

Tabela 3 – Fêmeas em estro, taxa de ovulação, número e diâmetro de folículos pré-ovulatórios observados em ovelhas Lacaune x Santa Inês submetidas a diferentes estratégias de suplementação.41

Tabela 4 - Média do consumo do concentrado, do consumo do pasto e do consumo de matéria seca total de ovelhas Lacaune x Santa Inês submetidas a diferentes estratégias de suplementação.43

Tabela 5 - Custo da dieta, custo da sincronização do estro, custo do consumo da dieta, custo da sincronização e suplementação alimentar de ovelhas mestiças Lacaune X Santa Inês submetidas a diferentes estratégias de suplementação.45

Tabela 6 - Médias (\pm erro padrão) da composição físico-química do leite de ovelhas mestiças Lacaune x Santa Inês submetidas a diferentes estratégias de suplementação.....47

Tabela 7 - Média do consumo do concentrado, do consumo do pasto e do consumo de matéria seca total de ovelhas Lacaune x Santa Inês submetidas a diferentes estratégias de suplementação.48

Tabela 8 - Rendimento do queijo “coalho” do leite de ovelhas mestiças Lacaune x Santa Inês, suplementadas com diferentes fontes de energia no concentrado48

Tabela 9 - Custo da dieta, custo total pelo consumo, custo da produção de leite, custo do queijo e a relação custo/benefício do concentrado de ovelhas mestiças Lacaune x Santa Inês submetidas a diferentes estratégias de suplementação.49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de variância
CL	Corpo Lúteo
cm	Centímetro(s)
D	Dia
E ₂	Estradiol
eCG	Equine Chorionic Gonadotropin (Gonadotrofina coriônica equina)
FG	Folículo grande
FM	Folículo médio
FP	Folículo pequeno
FPO	Folículo pré-ovulatório
FSH	Follicle Stimulating Hormone (Hormônio folículo-estimulante)
g	Grama(s)
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormone (Hormônio liberador de gonadotofinas)
IBGE	Instituto Brasileiro Geográfico e Estatístico
IGF-1	Insulin-like Growth Factor 1 (Fator de crescimento semelhante à insulina 1)
Kg	Quilograma(s)
LH	Luteinizing Hormone (Hormônio luteinizante)
AMP	Acetato de medroxiprogesterona
mL	Mililitro(s)
mm	Milímetro(s)
nº	Número
Obs.	Observação
PG	Prostaglandina
SAS	Statistical Analyses System (Sistema de análises estatísticas)
UA	Unidade animal
UI	Unidade internacional
µm	Micrometro(s)

LISTA DE SIMBOLOS

mg	Miligrama(s)
MHZ	Mega-Hertz
°C	Graus Celsius
%	Porcentagem

SUMÁRIO

	Página
I. INTRODUÇÃO	15
II. DESENVOLVIMENTO	16
1. Revisão bibliográfica	16
1.1. Ovinocultura leiteira no Brasil	16
1.2. Fisiologia reprodutiva das fêmeas ovinas	17
1.3. Desenvolvimento folicular	18
1.4. Morfofisiologia da glândula mamária	20
1.5. Qualidade e composição do leite de ovelha	21
1.6. Suplementação de ovelhas	22
1.6.1. Período de suplementação	22
1.6.2. Suplementação com milho e caroço de algodão	23
1.6.3. Influência das dietas alimentares na produção e componentes do leite de ovelhas	24
2. Hipóteses	26
3. Justificativa	27
4. Objetivos	28
4.1. Objetivo geral	28
4.2. Objetivos específicos	28
5. Material e métodos	29
5.1. Aspectos éticos	29
5.2. Local de execução e características meteorológicas	29
5.3. Ensaios Experimentais	30
5.3.1. Experimento 1	30
5.3.1.1. Sincronização do estro	31
5.3.1.2. Observação do estro e monta natural	33
5.3.1.3. Coleta de sangue e dosagens hormonais (IGF-1, insulina e leptina)	33
5.3.1.4. Consumo alimentar	34
5.3.1.5. Análise do custo/benefício com alimentação	35
5.3.2. Experimento 2	36
5.3.2.1. Consumo alimentar	36
5.3.2.2. Análise da produção e composição físico-química do leite de ovelha	36
5.3.2.3. Análise do rendimento dos queijos do leite de ovelha	37

5.3.2.4. Análise do custo/benefício com alimentação	37
5.3.3. Análise estatística	38
6. Resultados	40
6.1. Experimento 1	40
6.2. Experimento 2	46
7. Discussão	50
7.1. Experimento 1	50
7.2. Experimento 2	56
III. CONCLUSÕES	60
IV. REFERÊNCIAS	61
V. ANEXO I	71
VI. ANEXO II	72

I. INTRODUÇÃO

No Brasil, existem aproximadamente, 13,7 milhões de ovinos, sendo a região Nordeste detentora do maior rebanho, com 9 milhões de cabeças (IBGE, 2017). Tradicionalmente, a produção de ovinos é destinada para comercialização de carne e pele, embora a produção de leite de ovelhas tenha sua importância. Pela primeira vez, foram divulgados os dados oficiais relacionados à produção de leite de ovelha no Brasil, onde a produção nacional está em torno de 1,7 mil litros, sendo a região sudeste (608 L) a maior produtora, destacando-se a região Nordeste como segunda maior produtora (538 L) de leite de ovelha (IBGE, 2017). Para que haja uma boa produção quantitativa e qualitativa de leite, a nutrição desempenha um papel crucial. A quantidade de energia em uma suplementação alimentar é o fator mais importante na relação entre nutrição e reprodução de ovinos, embora a proteína, os minerais e as vitaminas sejam também essenciais ao processo reprodutivo (SELAIVE; OSÓRIO, 2017). A súbita disponibilidade de boa nutrição e ingestão de níveis crescentes de energia pode aumentar da atividade ovariana e induzir a manifestação do estro (HABIBIZAD et al., 2015). Uma suplementação energética com carboidratos solúveis, como está presente no milho, pode fornecer uma rápida fonte disponível de energia para os microrganismos no rumem. Todavia, uma suplementação lipídica rica em óleos, como no caroço de algodão, também promove o aumento da densidade energética da dieta dos ruminantes, atendendo as exigências nutricionais dos animais (MAIA, 2011).

A suplementação alimentar de curta duração (nove dias), utilizando óleos vegetais como fonte de energia, durante a estação de monta, promove melhor concepção e maiores taxas de parição de ovelhas (HASHEM; EL-ZARKOUNY, 2014). Portanto, a qualidade dos volumosos, bem como, dietas alimentares com diferentes fontes de energia no concentrado para ovelhas em pastejo podem apresentar uma melhor relação benefício/custo, gerando maior quantidade de sólidos totais (extrato seco) no leite e melhor rendimento na fabricação de queijos.

II. DESENVOLVIMENTO

1. Revisão bibliográfica

1.1. Ovinocultura leiteira no Brasil

Pesquisas realizadas pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), que abrange todo território nacional, mostram que a ovinocultura é uma atividade que se difunde por todas as regiões brasileiras; sobressaindo a região Nordeste, como detentora do maior rebanho nacional (65,7 %) (IBGE, 2017). A ovinocultura é umas das principais atividades socioeconômicas de subsistência do Nordeste brasileiro, sendo fonte de renda para produtores rurais (VASCONCELOS et al., 2017). A região Nordeste encontra-se em uma posição de destaque na ovinocultura brasileira, possuindo potencial para expansão em sua cadeia produtiva (SELAIVE; OSÓRIO, 2017).

Consideradas incipientes no Brasil, dados oficiais de produção e comercialização foram, pela primeira vez, divulgados no censo agropecuário (IBGE, 2017); demonstrando que a ovinocultura leiteira cresce, cada vez mais, no país, tendo o leite de ovelha um caráter inovador, como um fator atrativo para novos produtores (CASTAÑARES et al., 2013; MERLIN JUNIOR et al., 2015). Contudo, as condições climáticas, sanitárias e nutricionais são fatores que influenciam tanto na produção, quanto na composição do leite de ovelha. A utilização de raças nativas cruzadas com raças especializadas para produção de leite pode promover uma melhor adaptação às variações climáticas, garantindo uma boa produção e qualidade do leite (RIBEIRO et al., 2007).

Avaliando o potencial leiteiro de ovelhas da raça Santa Inês, Ribeiro et al. (2007) observaram em ovelhas tratadas com ocitocina, alta produção de leite (2,23 kg/dia) e duração elevada do período lactacional (210 dias). Já a raça Lacaune, originária de regiões da França (FERREIRA et al., 2011), pode, de acordo com Merlin Junior et al. (2015), produzir até 4,5 litros de leite/dia, no pico de lactação, que ocorre cerca de 30 dias após o parto. Com a finalidade de avaliar a produção e a composição do leite de ovelhas Santa Inês e mestiças Lacaune e Santa Inês na região Sudeste do Brasil, Ferreira et al. (2011) observaram que os animais F1 apresentaram maior produção de leite e

concluíram que o produto do cruzamento de raças especializadas com raças nativas é mais produtivo. Diante disso, para obter crescimento na área é importante ter conhecimento sobre a atividade produtiva e reprodutiva da espécie.

1.2. Fisiologia reprodutiva das fêmeas ovinas

Nas fêmeas, a atividade reprodutiva se inicia com o primeiro estro, que ocorre durante a puberdade (LOBATO et al., 2013). O estro é o período que a fêmea manifesta receptividade sexual (OLIVEIRA et al., 2011), com duração de 20 a 36 horas (AL MANSUR et al., 2018) e, no final do estro, ocorre a ovulação, cerca de 24 a 27 horas após seu início (MONTEIRO; BICUDO; TOMA, 2010). O ciclo estral da ovelha ocorre em duas fases: A fase folicular, quando ocorre o desenvolvimento do folículo ovariano culminando ou não na ovulação; Na fase luteínica, caracterizada pelo desenvolvimento do corpo lúteo (CL) (SOUZA et al., 2015).

A fisiologia reprodutiva das fêmeas ovinas advém da interação de hormônios que atuam sobre os ovários, útero e glândulas mamárias (SOUZA et al., 2015). Iniciando pela secreção do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH). O GnRH estimula a produção das gonadotrofinas, ou seja, o hormônio folículo estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH), os quais são liberados pela adeno-hipófise.

As gonadotrofinas (LH e FSH) são necessárias para o crescimento folicular ovariano e ovulação (ADAMS; KHALID, 2016). Há também a secreção estrógenos (sintetizados pelos folículos ovarianos) e progestágenos (sintetizados pelo CL), ao quais são hormônios ovarianos (SOUZA et al., 2008) que participam da manifestação do estro e da prenhez.

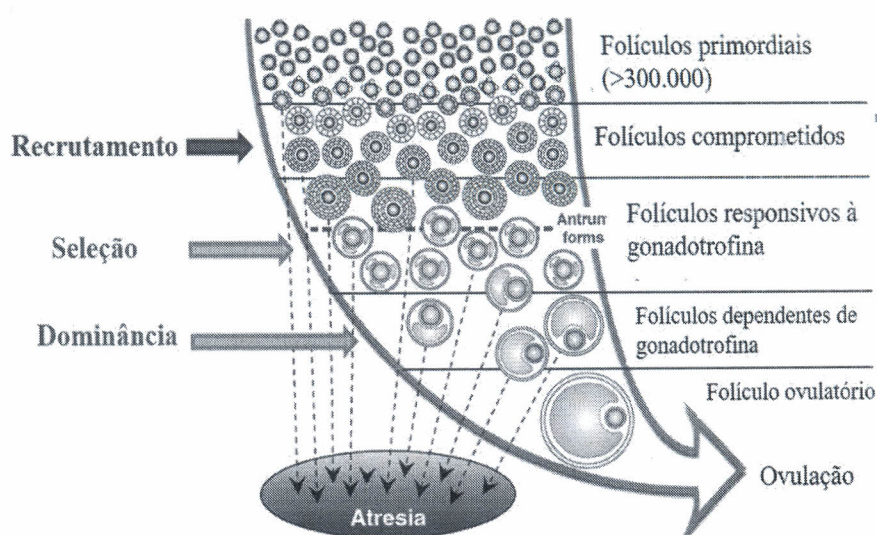
As ovelhas são consideradas poliéstricas estacionais de dias curtos (fotoperiódicas), ou seja, a manifestação do estro é estimulada quando há redução no número de horas de luz por dia (OLIVEIRA et al., 2011; LOBATO et al., 2013; OSÓRIO; SELAIVE, 2017). No entanto, em condições subtropicais, as ovelhas apresentam comportamento estral durante todo o ano (HAFEZ; HAFEZ, 2004; HASHEM; SALLAM, 2012). Por isso, o ciclo pode ser estimulado por

outros fatores, como a disponibilidade de alimentos, temperatura e interações sociais, como a presença de carneiros ou de ovelhas em estro (REKIK et al., 2015). E esses fatores vão influenciar na dinâmica folicular das ovelhas.

1.3. Desenvolvimento folicular

A dinâmica folicular envolve o contínuo processo de crescimento e regressão de folículos ovarianos que leva ao desenvolvimento do folículo pré-ovulatório. O crescimento folicular evolui de forma ondulatória ao longo do ciclo, com dois ou mais folículos, crescendo até 5 mm ou mais de diâmetro (GINTHER; KOT, 1994; MEDAN et al., 2003; SIMÕES et al., 2006). Scaramuzzi et al. (1993) apresentaram um modelo de foliculogênese na ovelha com cinco classes de folículos com base na sua dependência e sensibilidade às gonadotrofinas: i) Folículos primordiais, ii) Folículos comprometidos (Recrutados), iii) Folículos responsivos à gonadotrofina (Selecionados), iv) Folículos dependentes da gonadotrofina (Dominantes) e v) Folículos ovulatórios (Figura 1).

Figura 1 - Modelo da dinâmica folicular na ovelha. (Adaptado de Scaramuzzi et al., 2011).



Os folículos primordiais são pequenos (0,03 mm de diâmetro) e apresentam grandes quantidades (40,000 a 300,000) nos ovários (SCARAMUZZI et al., 1993). Nos ruminantes, há evidências que a formação da população folicular é completada durante a vida fetal (GARVERICK et al., 2010) e que estes folículos entram em processo de degeneração (atresia) ou são ovulados durante toda a vida reprodutiva do animal. Nos folículos primordiais, há poucas evidências de atresia e as taxas de renovação celular são extremamente baixas.

Os folículos deixam o estágio primordial do desenvolvimento em uma sequência ordenada. As principais mudanças neste estágio de desenvolvimento ocorrem no oócito, com desenvolvimento da zona pelúcida (SCARAMUZZI et al., 1993). Além disso, esses folículos formam duas ou três camadas de células da granulosa e as células da teca diferenciam-se do estroma circundante. Nos ovinos, os folículos comprometidos variam em diâmetro de 0,03 a 0,1 mm (SCARAMUZZI et al., 1993). Da mesma forma que os folículos primordiais, os folículos comprometidos não possuem cavidade antral e são folículos independentes de gonadotrofina (SCARAMUZZI et al., 2011). Contudo, os receptores de FSH podem ser identificados nas células da granulosa e as células da teca possuem receptores para o LH.

Os folículos responsivos à gonadotrofina são folículos pré-antrais grandes ou folículos antrais pequenos e médios, variando de 0,2 a 2,5 mm de diâmetro (SCARAMUZZI et al., 1993), os quais têm uma taxa crescente de atresia sem a presença de gonadotrofinas; nessa fase, as células da teca são responsivas ao LH, enquanto as células da granulosa são sensíveis ao FSH (SCARAMUZZI et al., 2011). À medida que o desenvolvimento do folículo progride, os folículos se tornam cada vez mais dependentes das gonadotrofinas, primeiro como folículos responsivos às gonadotrofinas e, depois, como folículos dependentes da gonadotrofina.

Para que um folículo avance da capacidade de resposta das gonadotrofinas à dependência de gonadotrofina, requer a presença de FSH. Durante este estágio, os folículos dependentes de gonadotrofina têm um diâmetro superior a 2,5 mm (SCARAMUZZI et al., 1993) e tornam-se atrésicos se as concentrações de FSH forem baixas. Para evitar atresia, as células da granulosa irão desenvolver receptores de LH (SCARAMUZZI et al., 2011). Com

suporte adequado de FSH, há um aumento adicional na atividade da aromatase e os folículos secretam o estradiol em quantidades crescentes (SCARAMUZZI; CAMPBELL, 1990). O número de folículos que passa de um estágio de desenvolvimento para o próximo estágio diminui a cada passo e uma alta taxa de atresia está associada ao surgimento de folículos ovulatórios.

1.4. Morfofisiologia da glândula mamária

As glândulas mamárias são formadas por um sistema de ductos, rodeados por tecido glandular, que produzem o leite. A glândula mamária é uma glândula exócrina do tipo apócrina, pois além do leite, parte da glândula espiralada/localizada na junção da derme, também é eliminada. O desenvolvimento mamário é influenciado por fatores fisiológicos e ambientais (FERREIRA et al., 2013). A glândula mamária das ovelhas se desenvolve, principalmente, durante a puberdade, prenhez (CASTAÑARES et al., 2013) e lactação, em resposta a exposições ambientais, nutricionais e hormonais (FERREIRA et al., 2013).

O hormônio do crescimento atua no desenvolvimento da glândula mamária. O estrogênio atua sobre o desenvolvimento dos ductos das glândulas mamárias e a progesterona promove formação dos alvéolos (GONZALEZ, 2001). No entanto, os principais hormônios envolvidos na lactação são a prolactina e a ocitocina.

A prolactina inicia e mantém a lactação (HAFEZ; HAFEZ, 2004). Estímulos sensoriais da amamentação e da ordenha são conduzidos ao hipotálamo, estimulando a produção e a liberação de prolactina pela hipófise anterior, continuando enquanto houver estímulo (COLVILLE; BASSERT, 2011). Por sua vez, a ocitocina, produzida no hipotálamo e liberada pela hipófise posterior, chega à glândula mamária e provoca contração das células mioepiteliais, que fica em torno dos alvéolos (unidades secretoras de leite), permitindo a descida do leite durante a amamentação ou ordenha (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

1.5. Qualidade e composição do leite de ovelha

Quando comparado ao de outras espécies (Tabela 1), percebe-se que o leite de ovelha possui maior concentração de sólidos totais, mostrando-se rico em lipídios e proteínas (MERLIN JUNIOR et al., 2015).

Tabela 1- Comparação de valores médios (em %) dos componentes do leite de ovelha, vaca e cabra

Composição (%)	Ovelha	Vaca	Cabra
Água	82,0	87,3	86,3
Gordura	6,3 – 8,5	3,5	4,2
Proteína	5,5 – 6,2	3,6	4,2
Extrato seco	17 – 20	9,0	8,9
Lactose	4,5	4,7	4,9
Minerais	0,9	0,7	0,8

Adaptado de Ordoñez, 2005; Park et al., 2007; Selaive, Osório, 2017.

Os lipídios estão presentes na forma de glóbulos, que, no leite de ovelha, são caracteristicamente abundantes em tamanhos inferiores a 3,5 μm , considerados os menores entre os ruminantes, fator vantajoso para promover melhor digestibilidade (PARK, 2009). Sua elevada proporção de ácidos graxos saturados de cadeia curta e média, também, melhoram a absorção de lactose, que facilita sua ingestão por indivíduos intolerantes à lactose (SELAIVE, OSÓRIO, 2017). A lactose está relacionada à regulação da pressão osmótica na glândula mamária (ZANELA et al., 2006), pois, no processo de síntese do leite, a lactose atrai água para o interior das células (SELAIVE, OSÓRIO, 2017).

Já seus componentes proteicos fornecem aminoácidos, necessários para o crescimento e o desenvolvimento. Além disso, as proteínas e peptídeos do leite de ovelha possuem funções fisiológicas mais específicas, que incluem atividade antibacteriana, como imunoglobulinas, lactoferrina, lactoperoxidase, lisozima, hormônios e fatores de crescimento (PARK, 2009).

O leite de ovelha apresenta muitos minerais, tais como: Ca, P, Mg, Zn, Fe e Cobre, os quais são elementos presentes em níveis mais elevados do que em

outras fêmeas ruminantes. Em relação às vitaminas, a maioria das conhecidas (A, B, C, D e E) está contida no leite de ovino (RAMOS; JUAREZ, 2003).

Fatores como raça, ordem de parição, condições de alimentação e manejo, características ambientais, localidade e estágio de lactação, influenciam na composição do leite de ovelha (PARK, 2009), sendo utilizado, principalmente, na fabricação de subprodutos lácteos; prática realizada desde os primórdios da domesticação dessa espécie. Observa-se que a produção de queijos é a principal forma de transformação do leite ovino (PELLEGRINI et al., 2013).

1.6. Suplementação de ovelhas

1.6.1. Período de suplementação

A nutrição pode afetar a taxa de ovulação por meio de dois efeitos: efeito estático e agudo. O efeito estático é conhecido como o efeito da suplementação alimentar de longa duração (3 a 6 semanas); e o efeito agudo é a suplementação de curta duração (inferior a 2 semanas).

Na prática, o efeito estático objetiva aumentar o aporte nutricional para promover aumento do peso corporal e melhoria da condição corporal do animal para o início da atividade reprodutiva. A suplementação alimentar de longa duração apresenta melhor desempenho reprodutivo em fêmeas de baixa condição corporal ($CC < 2,5$) e quase nenhuma resposta em fêmeas de condição corporal acima de 3,5 (NOGUEIRA et al., 2011). O melhor desempenho reprodutivo nas fêmeas mais magras acontece porque estas fêmeas ganham peso e melhoram a condição corporal, o que não acontece com as fêmeas que já estão em bom estado nutricional.

O efeito agudo é conhecido como o efeito da suplementação de curta duração, que, normalmente, reduz os custos financeiros, quando comparada à suplementação alimentar de longa duração. Alguns estudos (MOONMANEE; YAMMUEN-ART, 2015; SENOSY; MAHMOUD; ABDEL-RAHEEM, 2017) já demonstraram que a suplementação alimentar de curta duração (4 a 9 dias) pode aumentar a taxa de ovulação em ovelhas. Sendo relatado, também, que a suplementação de curta duração pode melhorar o desenvolvimento dos folículos

ovarianos e aumentar a taxa de ovulação (HARUNA et al., 2008). Contudo, outros autores relataram que há um efeito inconsistente da suplementação de curta duração para o aumento taxa de ovulação e que esse efeito positivo depende do desenvolvimento folicular no início da suplementação alimentar.

Com o estudo da dinâmica folicular ovariana por ultrassonografia em ovinos, foi possível demonstrar que a suplementação alimentar deve começar no momento de emergência da onda folicular ovulatória, entre 4 e 9 dias antes da ovulação (VIÑOLES et al., 2005). Para isso, o desenvolvimento folicular ovariano deve ser sincronizado para o mesmo momento do início da suplementação alimentar. Portanto, é possível aumentar a taxa ovulatória e, conseqüentemente, a prolificidade após uma suplementação alimentar entre 4 e 9 dias antes da ovulação. Senosy, Mahmoud e Abdel-Raheem (2017) observaram que a realização da suplementação alimentar de curta duração com dietas de alta energia (milho e farelo de caroço de algodão), juntamente com a sincronização de ovelhas, melhorou a atividade estral e aumentou a performance reprodutiva, através do aumento do diâmetro do folículo ovulatório, da duração do estro e a taxa de ovulação.

Durante esse período, observa-se aumento dos níveis plasmáticos de glicose, insulina, leptina e IGF-1 (VIÑOLES et al., 2005; SCARAMUZZI et al., 2006). Estes hormônios e metabólitos sinalizam os níveis de energia e, conseqüentemente, o estado nutricional dos animais. Nesse sentido, os animais com deficiência alimentar, normalmente, apresentam baixos níveis sanguíneos de glicose, insulina, leptina e IGF-1 (NOGUEIRA et al., 2016).

1.6.2. Suplementação com milho e caroço de algodão

A suplementação de dietas de alta energia com carboidratos, como amido de milho (*Zea mays*), pode fornecer uma fonte de energia rapidamente disponível para os microrganismos do rúmen (LANDAU et al., 1995). O milho foi relatado como parcialmente não degradável no rúmen das ovelhas (NOCEK; TAMMINGA, 1991), sendo que esse milho não degradável passará para o intestino delgado para ser digerido no restante do trato gastrointestinal, aumentando a taxa de entrada de glicose e outros substratos na corrente

sanguínea (LANDAU et al., 1997; BANCHERO et al., 2007). O fornecimento de diferentes níveis de energia na alimentação animal pode promover modificações na função ovariana, como foi observado por Blaxter e Wainman (1964) em ovelhas alimentadas com milho.

Já o caroço de algodão (*Gossypium hirsutum*) é um alimento que aumenta os teores proteicos da dieta, incrementa os valores de fibras (ROGÉRIO et al., 2004), além de ser rico em óleo vegetal, 20% da matéria seca (ROGÉRIO et al., 2003) e pode ser utilizado como suplemento alimentar para os animais em diversas condições, além de apresentar baixo custo, pois está disponível em diferentes épocas no ano. Entretanto, o algodoeiro possui um fator antinutricional: o gossipol (SOTO-BLANCO, 2008), que é tóxico para ruminantes e não ruminantes, quando presentes em grandes concentrações no organismo (ZHANG et al., 2007). Conhecido por promover infertilidade em machos (GIZEJEWSKI et al., 2008) e, nas fêmeas, os efeitos atrelados à ingestão excessiva do gossipol são: alterações no ciclo estral, redução da taxa de prenheze diminuição na taxa de desenvolvimento embrionário (SOTO-BLANCO, 2008), embora, as implicações em fêmeas ruminantes sejam controversas e escassas.

1.6.3. Influência das dietas alimentares na produção e componentes do leite de ovelhas

A alimentação é importante na produção e composição do leite, principalmente, o nível de energia ou o nível de ingestão de alimentos (CAJA, BOCQUIER, 2000), ou seja, existe uma correlação entre a produção de leite e o estado nutricional do animal. Durante a lactação, as exigências nutricionais são maiores (STRADIOTTO et al., 2010). Por isso, é necessário fornecer alimento em quantidade e qualidade suficientes para não afetar a produtividade (PRADIEÉ et al., 2010).

A condição nutricional durante a lactação afeta, diretamente, a quantidade de leite produzido (HÜBNER et al., 2007). A composição do leite de ovelha passa por grandes alterações, dependendo da disponibilidade de alimento, que promove mudanças metabólicas e endócrinas (SELAIVE, OSÓRIO, 2017).

A gordura e a proteína são os componentes do leite que mais variam em função das dietas fornecidas (BRITO et al., 2006). A quantidade de gordura do leite está diretamente relacionada ao manejo alimentar (CARNEIRO et al., 2015). O uso de diferentes tipos e níveis de gordura na dieta disponibiliza precursores, que vão influenciar na quantidade e composição da gordura no leite da ovelha (SAMPELAYO et al., 2007; CARNEIRO et al., 2015). A proteína é outro componente do leite, que o teor é influenciado pela disponibilidade de proteínas na dieta e dos aminoácidos absorvidos (PERUZZI et al., 2016).

O fornecimento do suplemento concentrado causa alterações na formação dos AGV's no rúmen, promovendo redução do pH ruminal e levando a produção de ácido graxo propiônico, que influencia na produção do leite e no teor de proteína (CORRÊIA et al., 2008). Sendo que o tipo de concentrado fornecido, também, irá influenciar.

O milho e o caroço de algodão são alimentos energéticos que melhoram o consumo de matéria seca e energia. O milho possui capacidade de modificar as concentrações de glicose (NOGUEIRA et al., 2016). Devido a sua composição, o milho não é degradado totalmente no rúmen; com isso, parte da digestão ocorre nos intestinos (MELLO; LAERTE, 2004). Um dos produtos finais gerados pela digestão do milho é a glicose (BERCHIELLI; PIRES; OLIVEIRA, 2006), promovendo aumento da taxa de entrada de glicose não degradada no rúmen na corrente sanguínea, sendo prontamente absorvida pelo animal (LANDAU et al., 1997). O caroço de algodão integral apresenta menor degradabilidade no rúmen, mas a degradação da proteína do caroço de algodão ocorre no rúmen, sendo baixa a quantidade de proteína não degradada que será digerida nos intestinos (CUNHA; MELOTTI; LUCCI, 1998). Portanto, pequena parte dos metabólitos em forma de peptídeos, aminoácidos e ácidos graxos voláteis provenientes da digestão microbiana do caroço de algodão são absorvidos no intestino delgado (COLVILLE, BASSERT, 2011). Além disso, o caroço de algodão é rico em gordura (SANTOS et al., 2018), e, pode, portanto, promover aumento nos níveis de glicose através do aumento da produção de ácido propionato no rúmen (MIRZAEI-ALAMOUTI et al., 2018).

Portanto, tendo conhecimento da importância das dietas alimentares na produção e composição do leite, deve-se atentar na elaboração das dietas, visando uma maior quantidade de sólidos totais.

2. Hipóteses

1. A suplementação de ovelhas com milho e/ou caroço de algodão promove um aumento das concentrações plasmáticas de insulina e IGF-1, bem como, melhora o desenvolvimento folicular e aumenta a taxa de ovulação.

2. A energia obtida, por meio, do caroço de algodão pode substituir o milho como fonte de energia para suplementação de ovelhas mestiças da raça Lacaune x Santa Inês e aumenta a quantidade de extrato seco no leite, promovendo maior rendimento na fabricação de queijos.

3. Justificativa

A ovinocultura de corte é uma atividade tradicionalmente realizada na região semiárida e a exploração de ovelhas com aptidão leiteira pode ser mais uma alternativa de renda para produtores rurais com maior disponibilidade de água. A utilização de animais com aptidões mistas permite que o produtor continue comercializando a carne e a pele, além disso, terá a oportunidade de investir na produção de leite e de seus derivados.

Na região semiárida do Nordeste brasileiro, não existem dados publicados sobre o efeito de suplementação alimentar de curta duração (9 dias) sobre os parâmetros produtivos e reprodutivos de ovelhas com aptidão leiteira. Além disso, foi observado que há carência de informações sobre o efeito de diferentes fontes de energia no concentrado de ovelhas durante o período de lactação.

4. Objetivos

4.1. Objetivo geral

Avaliar o efeito da suplementação alimentar com diferentes fontes de energia, fornecidas antes da estação de monta e durante o período de lactação sobre a resposta estral, o desenvolvimento folicular, perfil hormonal, composição físico-química do leite e rendimento de queijos de ovelhas mestiças das raças Lacaune x Santa Inês.

4.2. Objetivos específicos

- Avaliar o efeito de diferentes fontes de energia (milho versus caroço de algodão) na suplementação alimentar sobre o número de folículos pequenos, médios e grandes, atividade estral e taxa ovulatória de ovelhas com aptidão leiteira.
- Avaliar o efeito dessas fontes de energia sobre as concentrações plasmáticas de insulina leptina e IGF-1.
- Avaliar o efeito dessas diferentes fontes de energia sobre a produção total de leite, composição físico-química do leite e rendimento de queijos de ovelhas com aptidão leiteira.
- Avaliar se a energia obtida através do caroço de algodão pode substituir o milho como fonte de energia para suplementação de ovelhas com aptidão leiteira, mestiças das raças Lacaune x Santa Inês.

5. Material e métodos

5.1. Aspectos éticos

Os procedimentos realizados estavam em conformidade com as diretrizes sobre ética e bem-estar animal e foram, portanto, aprovados pelo Comitê de Ética da Embrapa Semiárido, registrado com nº 05/2017.

5.2. Local de execução e características meteorológicas

O presente estudo foi realizado no Campo Experimental de Bebedouro da Embrapa Semiárido, município de Petrolina-PE, (Latitude de 09°09'S e longitude 40°22'O). A precipitação média anual da região varia em torno de 567 mm, com temperatura variando de 24,2°C a 28,2°C e umidade relativa do ar anual variando de 66% a 71,5%. Durante o período experimental, as temperaturas variaram de 19,53°C e 32,31°C (média de 25,46°C), umidade relativa do ar variando de 39,47% a 87,67% (média 71,13%) e com evapotranspiração de referência (ET_o) de 4,58 mm.

Os animais foram mantidos em pastejo rotacionado de capim Tifton 85 (*Cynodon dactylon*), de 0,3 ha cada. O intervalo de esfoliação dos piquetes foi de 30 dias. A altura média no pré-pastejo e a altura no pós-pastejo foi 27,6 cm e 14,58 cm, respectivamente.

As massas de forragem no pré e pós-pastejo foram em média, respectivamente, de 4.250 Kg e 3.750 kg de MS/ha, enquanto que as densidades do dossel no pré-pastejo foram de 154 kg de MS/ha/cm. Durante o Experimento 1, as ovelhas permaneceram por nove dias em um piquete. No experimento 2, as ovelhas permaneceram por 21 dias em cada piquete, correspondente a cada período experimental, com taxa de lotação fixa.

5.3.Ensaaios Experimentais

5.3.1. Experimento 1

Foram utilizadas 48 ovelhas Lacaune x Santa Inês, mantidas em pasto irrigado de Tifton 85, sadias, cíclicas, não-gestantes, sendo 16 primíparas e 32 multíparas, com escore corporal com média inicial de 3,0 (escala de 1 a 5), e peso corporal de 36,48 ± 0,96 Kg/animal ao início do experimento.

As 48 ovelhas foram alocadas, homogeneamente em quatro grupos experimentais com 12 animais cada: i) Pasto: pastagem de capim Tifton 85 de forma exclusiva, sem suplementação concentrada e sem sincronização do estro; ii) Sincro: pastagem de Tifton 85, sem suplementação concentrada e com sincronização do estro; iii) Algodão: pastagem de Tifton 85, com suplementação concentrada a base de caroço de algodão e com sincronização do estro; iv) Milho: pastagem de Tifton 85, com suplementação concentrada a base de milho grão moído e com sincronização do estro. Os concentrados com caroço de algodão ou com milho (Tabela 2) foram fornecidos aos animais pela manhã na quantidade média de 300 g/animal/dia. Os animais tiveram acesso *ad libitum* a água e ao sal mineral.

Tabela 2 - Composição centesimal (% da matéria seca - MS) e bromatológica dos concentrados e da forragem (% da MS) fornecidas a ovelhas Lacaune x Santa Inês

Ingredientes	Milho	Algodão
	Composição centesimal	
Milho moído	88,0	47,9
Caroço de algodão integral	-	50,9
Farelo de soja	9,5	1,0
Ureia	1,5	0,1
Sal mineral*	1,0	0,1
	100	100

Nutrientes	Composição bromatológica		
	Pasto	Milho	Algodão
Matéria seca, % do ingrediente	89,56	83,94	85,19
Matéria mineral %	6,26	1,51	3,20
Proteína bruta	14,78	19,73	24,31
FDN	74,83	53,98	57,11
FDA	35,54	5,30	24,08
Estrato etéreo	1,92	4,14	11,26
DIVMS	55,90	70,86	65,62
NDT	52,58 ¹	74,88 ²	66,90 ²

FDN = Fibra de detergente neutro; FDA = Fibra de detergente ácido; NDT = Nutrientes digestíveis totais, DIVMS = Digestibilidade *in vitro* da matéria seca; *Sal mineral = Composição centesimal do sal mineral comercial Uniphos® P-45 Ovinos: Cálcio (g/kg): 220,0; Fósforo (g/kg): 45,0; Magnésio (mg/kg): 7,0; Enxofre (g/Kg): 8,0; Cloro (g/Kg): 180,0; Sódio (g/Kg): 90,0; Cobalto (mg/Kg): 29,0; Cobre (mg/Kg): 120,0; Iodo (mg/Kg): 30,0; Manganês (mg/Kg): 1.600,0; Selênio (mg/Kg): 9,0; Zinco (mg/Kg): 1.300,0; Ferro (mg/Kg): 1300,0; Flúor (mg/Kg): 650,0.¹NDT_{pasto}=83,79-(0,4171*FDN) ²NDT_{concentrado} =77,13-(0,425*FDA) (CAPPELLE et al., 2001). *Simulação de pastejo.

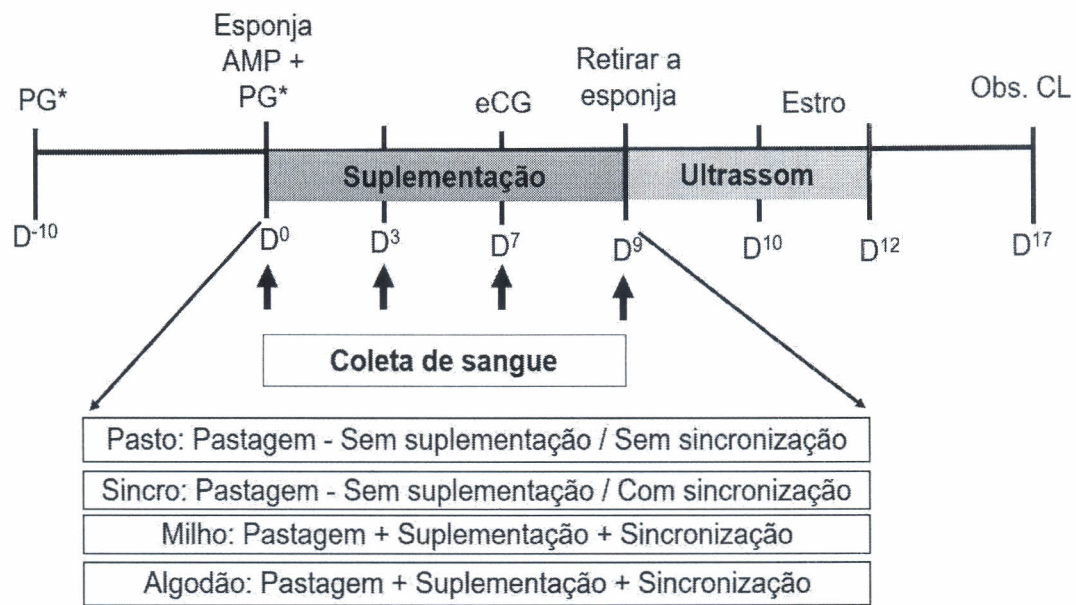
5.3.1.1. Sincronização do estro

Para a sincronização da onda folicular ovariana, foi usado um protocolo de sincronização do estro utilizado por Nogueira et al. (2017), sendo as ovelhas tratadas com duas injeções intramusculares de 100 µg de cloprostenol (Ciosin®, Ouro Fino Ltda, São Paulo, Brasil), intervaladas de 10 dias. No Dia 0 (dia da 2ª aplicação do cloprostenol), esponjas intravaginais impregnadas com 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (Progespon®, Schering-ploug, Brasil) foram introduzidas na porção cranial da vagina, onde permaneceram por 9 dias. No Dia 7, foi feita a aplicação de 100 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG – Folligon® 5000 UI, Intervet, Brasil). As esponjas foram removidas no Dia 9 (Figura 2). Desta forma, foi possível sincronizar o início do crescimento folicular com o início da suplementação alimentar.

Durante os dias 9, 10 e 11 (Figura 2), a dinâmica folicular ovariana foi monitorada por ultrassonografia, conforme descrito por Nogueira et al. (2016). As imagens ultrassonográficas ovarianas foram obtidas com um equipamento de ultrassonografia modo-B (Áquila Vet, Pie Medical, Holanda), equipado com um

transretal linear de 6 a 8 MHz de frequência, visando acompanhar a dinâmica folicular ao final dos tratamentos hormonais. O transdutor foi acoplado a um bastão plástico, possibilitando a manipulação da probe, externamente ao reto. Os exames foram capturados com auxílio de uma placa de captura de vídeo (EasyCapUsb 2.0) acoplada a um computador e, assim, os vídeos foram visualizados e editados utilizando o software “Ulead Vídeo Studio 8.0 SE DVD”. Os folículos ovarianos foram classificados em três categorias: pequenos (2 a 3 mm), médios (>3 e <5 mm) e grandes (>5 mm). O número total de corpos lúteos observados nos ovários foi contabilizado para determinar o número de ovulações ou taxa ovulatória.

Figura 2 - Sincronização da onda folicular e suplementação alimentar para aumento da taxa de ovulação em ovelhas. (Adaptado de Nogueira et al., 2017).
* PG = 100 µg de Cloprostenol.; AMP = Acetato de medroxiprogesterona; eCG= Gonadotrofina coriônica equina; CL = Corpo lúteo.



5.3.1.2. Observação do estro e monta natural

Utilizando machos adultos, as ovelhas foram observadas para a ocorrência de estro, a cada quatro horas, após a retirada das esponjas no Dia 9. A fêmea foi considerada em estro quando aceitou a monta pelo macho. As ovelhas identificadas em estro e cobertas pelos reprodutores foram separadas das demais para não interferirem nas próximas observações.

5.3.1.3. Coleta de sangue e dosagens hormonais (IGF-1, insulina e leptina)

Amostras de sangue foram coletadas durante os dias D0 (dia da colocação da esponja), D3, D7 e D9, pela manhã (Figura 2), antes da oferta da suplementação concentrada para as dosagens de insulina, leptina e IGF-1. As coletas de sangue foram realizadas por venopunção da jugular, com tubos de Vacutainer (10,0 mL) sem anticoagulante, para obtenção do soro. As amostras sanguíneas foram centrifugadas e o soro armazenado em três alíquotas de tubos de eppendorf e congelado para posterior análise laboratorial.

As dosagens hormonais foram determinadas pelo Setor de Comportamento e Bem-estar Animal do Laboratório de Reprodução e Melhoramento Genético Animal/Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, no Rio de Janeiro (UENF).

As concentrações de IGF-1 foram determinadas pela técnica imunoradiométrica (ensaio tipo “sanduiche”), utilizando o conjunto diagnóstico comercial da Beckman Coulter Laboratories (Prague, Czech Republic, 2016). As amostras e calibradores foram incubados em tubos revestidos com primeiro anticorpo monoclonal na presença do segundo anticorpo monoclonal marcado com ^{125}I . Após a incubação, o conteúdo dos tubos foi aspirado através de uma bomba a vácuo, exceto os tubos T (contagens totais) e a radioatividade ligada foi medida através do contador gama Wizard 2470.

As concentrações de insulina foram determinadas pela técnica radiomunoensaio utilizando o conjunto de diagnóstico comercial da EMD Millipore Corporation (Missouri, USA, 2011). As amostras e os calibradores foram

incubados em tubos não revestidos, foram adicionados o anticorpo e a insulina ^{125}I . Após a incubação, o conteúdo dos tubos foi aspirado através de uma bomba a vácuo, exceto os tubos T (contagens totais) e a radioatividade ligada foi medida através do contador gama Wizard 2470.

As concentrações de leptina foram determinadas pela técnica radiomunoensaio utilizando o conjunto diagnóstico comercial da EMD Millipore Corporation (Missouri, USA, 2015). As amostras e os calibradores foram incubados em tubos não revestidos, foram adicionados o anticorpo e insulina ^{125}I . Após a incubação, o conteúdo dos tubos foi aspirado através de uma bomba a vácuo, exceto os tubos T (contagens totais) e a radioatividade ligada foi medida através do contador gama Wizard 2470.

5.3.1.4. Consumo alimentar

Foram estimados o consumo de matéria seca total (CMS total) e o consumo de matéria seca de forragem (CMS for).

A determinação do consumo diário de matéria seca, foi realizada por meio da coleta total de sobras, onde, posteriormente, foi avaliada a diferença entre a quantidade de alimento fornecido pela quantidade das sobras do concentrado.

A estimativa do CMS total e CMS for foram realizadas com o uso do dióxido de titânio (marcador externo) para estimar a produção fecal. Foram fornecidos 2,0 g de dióxido de titânio por dia, por meio de cápsulas, durante 15 dias com 10 dias de adaptação e cinco dias de coleta, conforme descrito por Barros, Silva e Benedeti (2012). A coleta de fezes foi efetuada diretamente no reto do animal, pela manhã, antes do fornecimento da dieta.

O consumo de nutrientes digestíveis totais (CNDT) foi estimado pela diferença: $\text{CNDT} = \text{CNDT}_{\text{pasto}} + \text{CNDT}_{\text{conc}}$. O consumo de proteína bruta (CPB) foi estimado pela relação entre o consumo de proteína bruta do grupo não suplementado: $\text{CPB} = \text{CMS}_{\text{total}} \times \text{PB}_{\text{do pasto}}$; e, grupo suplementado: $\text{CPB} = (\text{CMS}_{\text{pasto}} \times \text{PB}_{\text{pasto}}) + (\text{CMS}_{\text{conc}} \times \text{PB}_{\text{conc}})$.

O material coletado (volumoso, concentrado e sobras) foi levado para avaliação químico-bromatológica no Laboratório de Nutrição Animal da Embrapa Semiárido. As determinações dos teores de matéria seca (MS), matéria mineral

(MM), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE) dos alimentos fornecidos e das sobras foram realizadas conforme as especificações descritas na AOAC (1995): matéria seca (MS; método 967.03), matéria mineral (MM; método 942.05), proteína (PB; método 981.10), extrato etéreo (EE; método 920.29). Foram estimados os teores de fibra em detergente neutro (FDN), segundo recomendações de Mertens (2002), e os teores de fibra em detergente ácido (FDA), obtidos conforme descrição de Van Soest et al. (1991). A digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) dos concentrados e da forragem (simulação de pastejo), foi realizada seguindo metodologia adaptada de Tilley e Terry (1963), demonstrados na Tabela 1.

5.3.1.5. Análise do custo/benefício com alimentação

Foi realizada a análise econômica considerando-se os valores dos ingredientes em cada dieta alimentar. Para o cálculo de custo da alimentação, considerou-se o preço por quilo de cada ingrediente e a proporção utilizada em cada dieta, da seguinte forma:

$$C = \text{Pro} \times \text{Pre}$$

Onde,

C: é o custo do ingrediente na dieta;

Pro: É a proporção de ingredientes utilizados na dieta;

Pre: É o preço por quilo de cada ingrediente.

Foi realizado o levantamento dos custos das dietas, da sincronização, do consumo e custo da sincronização e suplementação alimentar durante o experimento para cada animal para obter a relação custo/benefício (R\$/9 dias). Os valores atualizados foram estimados em novembro de 2018.

5.3.2. Experimento 2

Foram selecionadas 12 ovelhas mestiças das raças Lacaune x Santa Inês mantidas em pasto irrigado de Tifton 85, estando sadias, paridas de partos simples, em final de lactação com 11 a 20 semanas (produção inicial de 500 mL), sendo três ovelhas na primeira lactação e nove ovelhas na segunda ou mais lactações, escore corporal com média inicial de 2,75 (escala de 1 a 5) e peso corporal com média inicial de $43,08 \pm 4,3$ Kg/animal.

Após a parição as ovelhas foram agrupadas em três grupos experimentais, com delineamento experimental em quadrado latino quadruplo 3x3, realizado em três períodos com duração de 21 dias cada (16 dias de adaptação e cinco dias de coleta) e três dietas distintas, sendo: i) Pasto: pastagem de capim Tifton 85 e sem suplementação concentrada; ii) Algodão: pastagem de Tifton 85, com suplementação de caroço de algodão e iii) Milho: pastagem de Tifton 85, com suplementação de milho em grão triturado. A suplementação alimentar (Tabela 2) com caroço de algodão ou com milho foi fornecida aos animais pela manhã na quantidade média de 500 g/animal/dia, tendo acesso *ad libitum* a água e ao sal mineral. Para o controle do consumo e das sobras alimentares, as ovelhas foram mantidas em baias individuais, durante três horas após a realização da ordenha, sendo, posteriormente, liberadas para os piquetes.

5.3.2.1. Consumo alimentar

A determinação do consumo de (CMS total) e os consumo de matéria seca de forragem (CMS for) foi semelhante ao Experimento1.

5.3.2.2. Análise da produção e composição físico-química do leite de ovelha

Foi realizada a avaliação da produção e da composição físico-química do leite de ovelha, de maneira individual e coletiva, em cada um dos três grupos experimentais (Pasto, Algodão e Milho). Para determinar a produção de leite, as

ovelhas foram ordenhadas individualmente, por cinco dias consecutivos. A ordenha mecânica foi realizada até o total esgotamento dos tetos.

A produção de leite foi corrigida para 6,5% de gordura e 5,8% de proteína utilizando a equação descrita por Pulina; Macciotta e Nudda (2005):

$$GLC_{(6,5)} = PL (0,37 + (0,097 \times G))$$

$$GPLC_{(6,5; 5,8)} = PL (0,25 + (0,085 \times G) + (0,035 \times P))$$

Onde:

GLC, GPLC = Gordura (e proteína) do leite corrigida;

PL = Produção de leite (Kg);

G = Gordura no leite (%);

P = Proteína no leite (%).

O leite de cada animal foi pesado, em seguida, foram coletados 100 mL de amostras individuais de leite, colocados em recipientes apropriados, devidamente identificados, sendo armazenados para posteriores análises. Para determinar a composição físico-química do leite de ovelha, foi utilizado o analisador de leite Master Classic complete (AKSO, Brasil), sendo calibrado para ovinos, onde foram realizadas as análises de gordura, extrato seco desengordurado, densidade, proteínas, lactose, ponto de congelamento nos leites obtidos de cada animal.

5.3.2.3. Análise do rendimento dos queijos do leite de ovelha

Para determinar o rendimento dos queijos do tipo coalho, foram coletadas três amostras de leite provenientes de cada grupo experimental (Pasto, Algodão e Milho), sendo coletados 10 Litros de leite em cada período. O rendimento do queijo foi obtido calculando quantos litros de leite foram utilizados para cada Kg de queijo produzido, como descrito por Silveira; Abreu (2003). Os queijos do tipo coalho foram produzidos de forma artesanal na propriedade rural.

5.3.2.4. Análise do custo/benefício com alimentação

Foi realizada a análise econômica considerando-se os valores dos ingredientes em cada dieta alimentar e a de produção de leite e do queijo do leite

de ovelha. Para o cálculo de custo da alimentação, considerou-se o preço por quilo de cada ingrediente e a proporção utilizada em cada dieta, da seguinte forma:

$$C = \text{Pro} \times \text{Pre}$$

Onde,

C: é o custo do ingrediente na dieta;

Pro: É a proporção de ingredientes utilizados na dieta;

Pre: É o preço por quilo de cada ingrediente.

Foi realizado o levantamento do custo da alimentação durante o experimento para cada animal em relação ao valor de leite total produzido para obter a relação custo/benefício (R\$/63 dias). Foi considerado o custo do litro de leite de ovelha a R\$ 5,00, e o Kg do queijo a R\$ 40,00. Os valores foram estimados em novembro de 2018.

5.3.3. Análise estatística

Para ambos os experimentos, foi utilizado o pacote estatístico SAS University (2017) e as diferenças foram consideradas significativas quando $P < 0,05$. Os dados foram inicialmente submetidos ao teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov para, posteriormente, ser feita a análise de variância (ANOVA).

Experimento 1: Foi utilizado um delineamento em blocos casualizados, com quatro tratamentos e 12 repetições. Sendo utilizada a ANOVA, seguida do teste de Tukey, para comparar os efeitos dos grupos experimentais (dietas alimentares) para as seguintes variáveis: intervalo entre o fim da sincronização e o início do estro, máximo diâmetro folicular e número de ovulações, número de folículos pequenos, médios e grandes, concentrações séricas de insulina, leptina e IGH-1. Os dados em porcentagem foram submetidos ao Teste do Qui-quadrado.

Experimento 2: Foi utilizada a ANOVA, seguida do teste de Tukey, para comparar os efeitos dos grupos experimentais sobre a variação do peso corporal, escore de condição corporal, produção e composição físico-químicas do leite e

análises de consumo de matéria seca e de nutrientes das dietas. Para análise de rendimento dos queijos foi utilizado a estatística descritiva.

Tabela 3 – Fêmeas em estro, taxa de ovulação, número e diâmetro de folículos pré-ovulatórios observados em ovelhas Lacaune x Santa Inês submetidas a diferentes estratégias de suplementação.

Parâmetros	Grupos experimentais				P	EPM
	Pasto	Sincro	Milho	Algodão		
Fêmeas em estro,	16,7	66,7	83,3	91,0	0,0384	0,07
% (n)	(2/12) ^b	(8/12) ^a	(10/12) ^a	(10/11) ^a		
Taxa de ovulação (n)	0,16±0,11 ^b	0,66±0,14 ^a	0,91±0,14 ^a	1,00±0,13 ^a	0,0003	0,08
Ovelhas com FPO,	16,7	66,7	91,6	100,		
% (n)	(2/12) ^b	(8/12) ^a	(11/12) ^a	(11/11) ^a	0,0384	0,06
FPO (mm)*	5,65±0,25	5,82±0,16	5,84±0,18	5,75±0,10	0,9322	0,06

*FPO = Folículo pré-ovulatório. ^{a, b} Médias com letras minúsculas sobrescritas distintas indicam diferença significativa entre colunas (P<0,05).

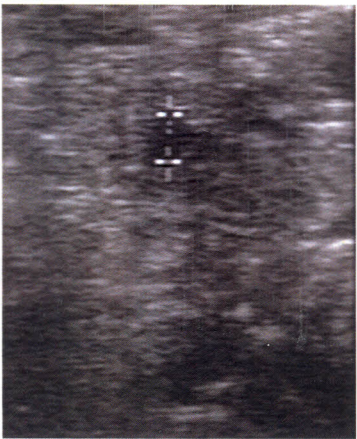
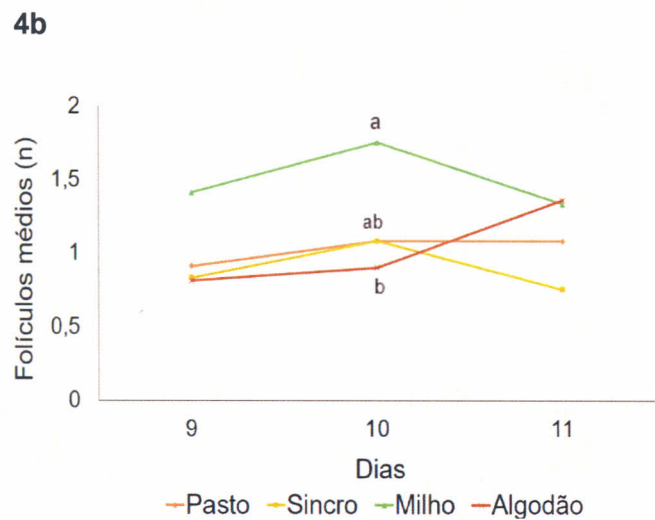
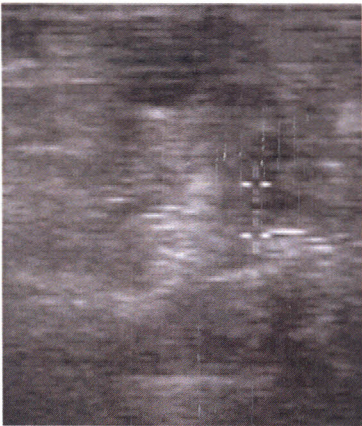
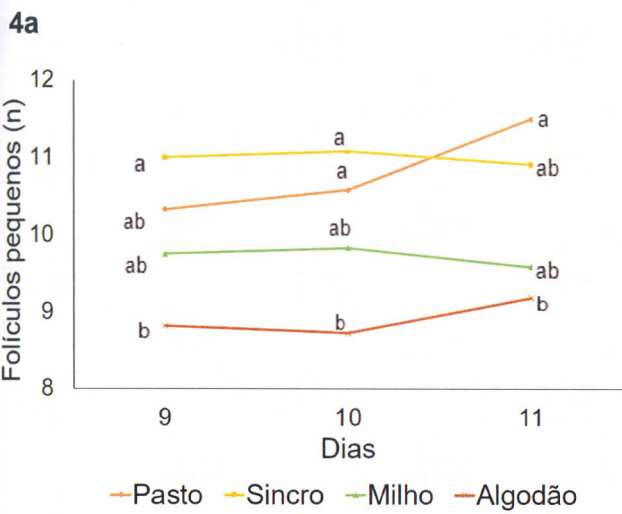
Embora sem haver diferença significativa, foi observado que os grupos sincronizados e suplementados com concentrado a base de milho ou caroço de algodão aumentaram a taxa de ovulação, em comparação ao grupo Sincro, que foi sincronizado exclusivamente. Foi observado que o grupo Algodão promoveu aumento não significativo de 51,5% e o grupo Milho aumentou em 37,8% a taxa de ovulação, quando comparados ao grupo Sincro.

No Dia 9 (Figura 4), observou-se maior número de folículos pequenos no grupo que foi apenas sincronizado (Sincro), sendo significativamente diferente ao grupo que recebeu a dieta contendo caroço de algodão (Algodão). Não foram observadas diferenças entre o grupo não sincronizado e não suplementado (Pasto) e o grupo sincronizado e suplementado com milho (Milho) em relação aos grupos Sincro e Algodão. Além disso, não foram observadas diferenças significativas no número de folículos médios e grandes entre os grupos.

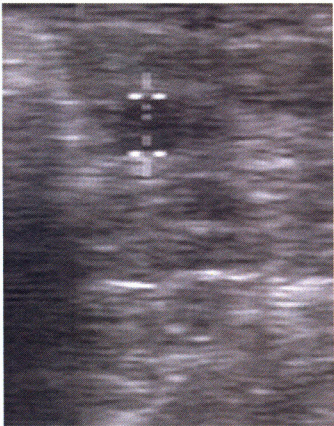
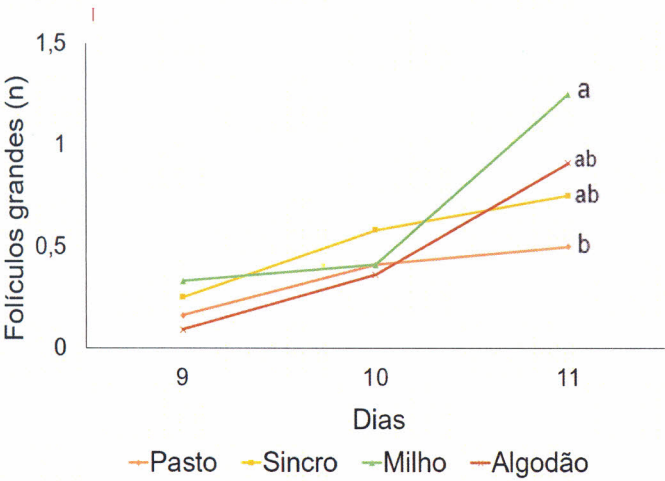
No Dia 10 (Figura 4), os grupos Pasto e Sincro, apresentaram um maior número de folículos pequenos que o grupo Algodão, porém, não houve diferenças significativas em relação ao grupo Milho. No tocante ao número de folículos médios, o grupo Milho apresentou diferenças significativas, apenas, em relação ao grupo Algodão. Não houve diferença no número de folículos grandes entre os grupos.

No Dia 11 (Figura 4), o grupo Pasto apresentou maior número de folículos pequenos em comparação ao grupo Algodão, embora, tenham sido semelhantes entre os demais grupos (Sincro e Milho). No Dia 11, não foram observadas diferenças entre os grupos em relação ao número de folículos médios. Já referente ao número de folículos grandes, o grupo Milho foi superior, apenas, ao grupo Pasto.

Figura 4 - Média do número de a) folículos pequenos (2 a 3 mm), b) médios (>3 a <5 mm) e c) grandes (>5 mm) de ovelhas Lacaune x Santa Inês submetidas a diferentes estratégias de suplementação.



4c



a, b Médias com letras minúsculas sobrescritas distintas indicam diferença significativa entre curvas ($P<0,05$).

Para as avaliações de consumo de matéria seca (CMS), observou-se que o CMS total foi superior ($P<0,05$) no grupo Algodão, em comparação aos demais grupos. Não houve diferença entre Pasto, Sincro e Algodão no CMS total (Tabela 4).

Tabela 4 - Média do consumo do concentrado, do consumo do pasto e do consumo de matéria seca total de ovelhas Lacaune x Santa Inês submetidas a diferentes estratégias de suplementação.

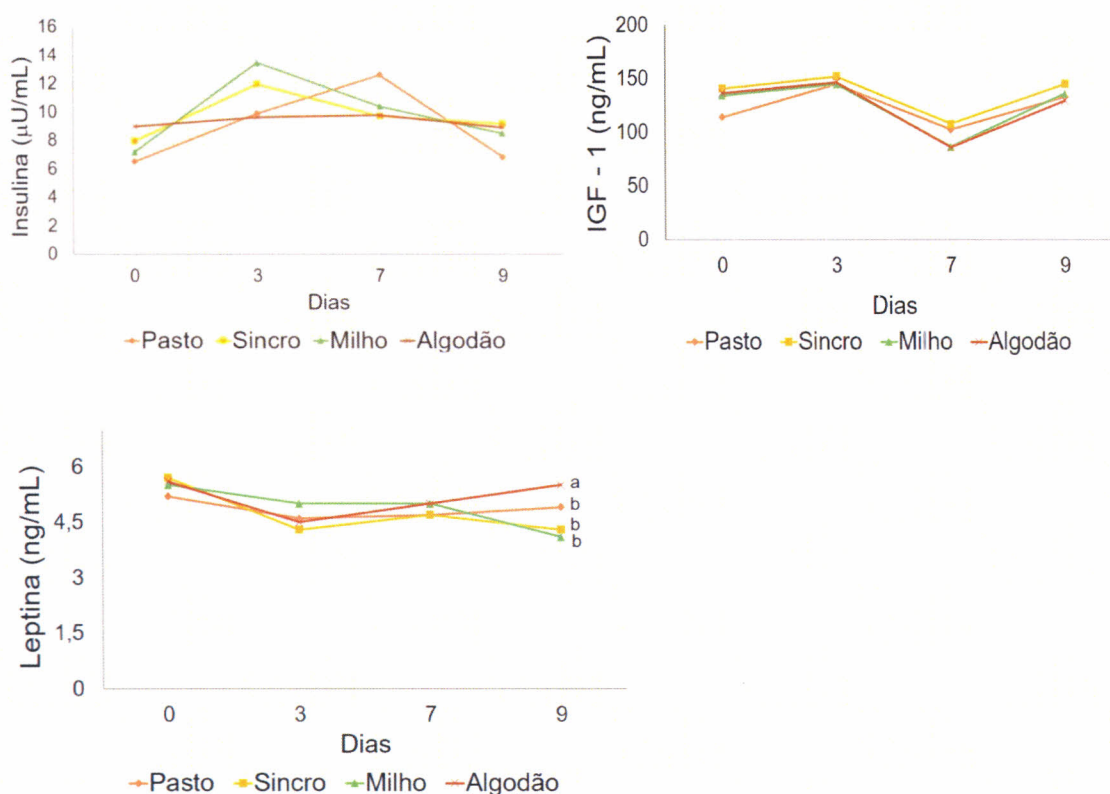
Consumo (Kg/dia)	Grupos experimentais				P	EPM
	Pasto	Sincro	Milho	Algodão		
CMS concentrado	0,00 ^b	0,00 ^b	0,300 ^a	0,300 ^a	<0,001	0,04
CMS pasto	0,919	0,851	0,803	0,829	0,8284	0,09
CMS total	0,898	0,830	1,04	1,12	0,0641	0,10
CPB	0,14 ^{bc}	0,13 ^c	0,18 ^{ab}	0,20 ^a	0,0042	0,01
CNDT	0,48 ^b	0,44 ^b	0,71 ^a	0,72 ^a	0,0003	0,06

CMS = Consumo de matéria seca. P = Probabilidade. EPM = Erro padrão da média. ^{a, b, c} Médias com letras minúsculas sobrescritas distintas indicam diferença significativa entre colunas ($P<0,05$).

O consumo de pasto não foi afetado pelos tratamentos ($P>0,05$). Os animais que receberam suplementação concentrada a base de caroço apresentaram maior ($P<0,05$) CPB em comparação com o Pasto e o Sincro. Os animais suplementados (Milho e Algodão) tiveram maior CNDT que Pasto e Sincro ($P<0,05$) (Tabela 4).

Na análise dos perfis hormonais das ovelhas, não foram observadas diferenças significativas ($P<0,05$), em relação aos níveis de IGF-1 e nos níveis de insulina dos grupos (Figura 5). No entanto, foi observada uma diferença significativa nas concentrações séricas de leptina no dia 09, onde, o grupo algodão apresentou concentrações, significativamente, maiores que os grupos Pasto, Sincro e Milho.

Figura 5 - Concentrações séricas de IGF-1, insulina e leptina em ovelhas mestiças Lacaune x Santa Inês submetidas a diferentes estratégias de suplementação.



a, b Médias com letras minúsculas sobrescritas distintas indicam diferença significativa entre curvas ($P<0,05$).

Observou-se que a dieta composta de caroço de algodão apresentou maior valor (Tabela 5) em comparação ao dos demais tratamentos (Pasto, Sincro e Milho).

Tabela 5 - Custo da dieta, custo da sincronização do estro, custo do consumo da dieta, custo da sincronização e suplementação alimentar de ovelhas mestiças Lacaune X Santa Inês submetidas a diferentes estratégias de suplementação.

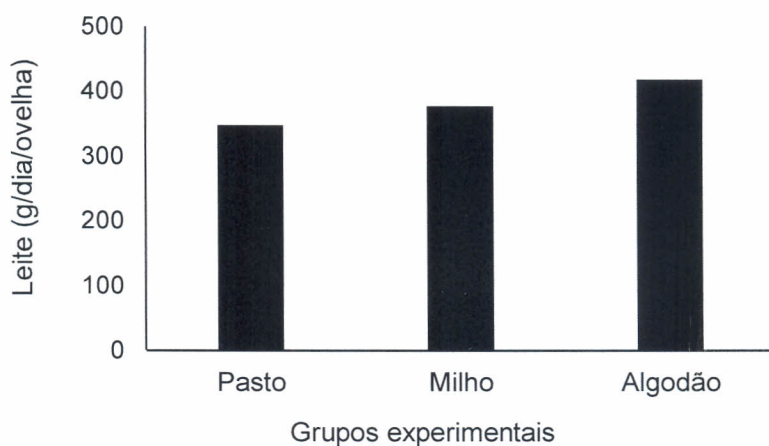
Custo	Grupos experimentais			
	Pasto	Sincro	Milho	Algodão
Dieta (R\$/Kg)	1,40	1,40	1,36	1,71
Sincronização (R\$/fêmea)	0,0	11,23	11,23	11,23
Consumo da dieta (R\$/9 dias/fêmea)	11,25	10,44	12,69	17,19
Sincro + dieta (R\$/fêmea)	0,0	21,67	23,92	28,42
Dieta em 45 dias (R\$/fêmea)*	56,25	52,20	63,45	76,95
Redução de custo (R\$/fêmea)*	-	30,53	39,53	48,53

Custo dos ingredientes: Volumoso = 1,40; Milho = 0,81; Soja = 1,84; Ureia = 2,50; Sal mineral = 1,80; Caroço de algodão: 1,73. *Custos e redução dos custos estimados para 45 dias de dieta.

6.2. Experimento 2

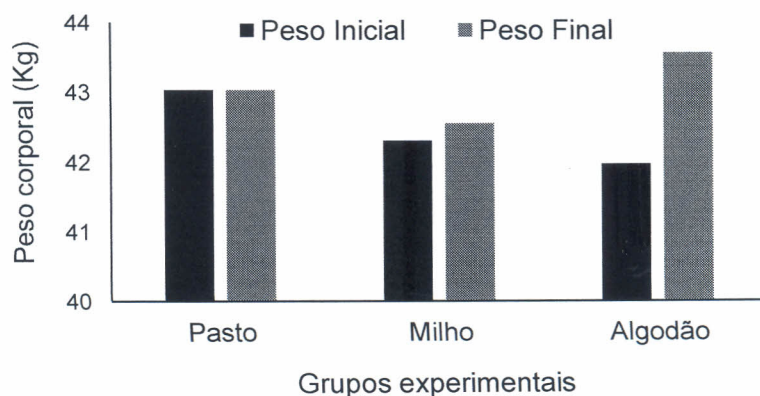
Não foram observadas diferenças significativas na produção de leite corrigida para gordura e proteína (PLCGP) (g/animal/dia) entre os grupos experimentais (Figura 6).

Figura 6 - Médias da produção do leite de ovelhas mestiças Lacaune x Santa Inês submetidas a diferentes estratégias de suplementação, corrigido para 6,5% (gordura) e 5,8 (proteína).



Os resultados obtidos no presente estudo demonstram que não houve diferenças significativas entre os grupos (Pasto, Milho e Algodão) para os pesos inicial e peso final das ovelhas (Figura 7).

Figura 7 - Médias do peso corporal inicial e final das ovelhas Lacaune x Santa Inês submetidas a diferentes estratégias de suplementação durante a lactação.



Foram observadas diferenças significativas em todos os componentes do leite de ovelha, exceto no teor de gordura. O leite do grupo Algodão apresentou maiores concentrações de extrato seco, proteína, minerais e lactose em comparação aos grupos Pasto e Milho (Tabela 6).

Tabela 6 - Médias (\pm erro padrão) da composição físico-química do leite de ovelhas mestiças Lacaune x Santa Inês submetidas a diferentes estratégias de suplementação.

Componentes (%)	Grupos experimentais			EPM	P
	Pasto	Milho	Algodão		
Gordura	6,5 \pm 0,49	6,5 \pm 0,59	7,36 \pm 0,73	0,60	0,2593
SNG	11,5 \pm 0,29 ^b	12,0 \pm 0,20 ^b	13,1 \pm 0,53 ^a	0,41	0,0036
Proteína	4,26 \pm 0,11 ^b	4,47 \pm 0,07 ^b	4,87 \pm 0,20 ^a	0,15	0,0037
Minerais	0,93 \pm 0,02 ^b	0,98 \pm 0,01 ^b	1,06 \pm 0,04 ^a	0,03	0,0038
Lactose	6,33 \pm 0,15 ^b	6,65 \pm 0,11 ^b	7,23 \pm 0,29 ^a	0,22	0,0038

SNG: Sólidos não gordurosos; P: Probabilidade; EPM = Erro padrão da média. ^{a, b} Médias com letras minúsculas sobrescritas distintas indicam diferença significativa entre colunas ($P < 0,05$).

Observou-se que o CMS total foi superior no grupo Algodão em comparação aos demais grupos (Tabela 7). O consumo de matéria seca de concentrado (CMS conc) foi maior para o Algodão em comparação com o milho. Observou-se, também, que a eficiência da ingestão se diferenciou entre todos os grupos, foi maior nos grupos Algodão e milho, quando comparado ao grupo Pasto (Tabela 7).

Tabela 7 - Média do consumo do concentrado, do consumo do pasto e do consumo de matéria seca total de ovelhas Lacaune x Santa Inês submetidas a diferentes estratégias de suplementação.

Consumo (Kg/dia)	Grupos experimentais			EPM	P
	Pasto	Milho	Algodão		
CMS concentrado	0,00 ^c	0,288 ^b	0,369 ^a	0,03	0,0496
CMS pasto	1,09 ^a	0,755 ^b	0,848 ^b	0,08	0,0045
CMS total	1,07	1,04	1,21	0,07	0,1152
CPB	0,17 ^b	0,18 ^b	0,22 ^a	0,01	0,0015
CNDT	0,58	0,62	0,69	0,03	0,0935
Eficiência de ingestão (KgMS/hs/pastejo)	0,12 ^b	0,15 ^a	0,17 ^a	0,01	0,0022
Eficiência de ruminação (KgMS/hs/ruminando)	0,21	0,17	0,21	0,02	0,2814

CMS = Consumo de matéria seca; P: Probabilidade; EPM = Erro padrão da média. ^{a, b, c} Médias com letras minúsculas sobrescritas distintas indicam diferença significativa entre colunas (P<0,05).

Os animais do grupo que recebeu a dieta com caroço de algodão apresentaram maior rendimento de queijo, onde, foram utilizados 4 litros de leite de ovelha para cada quilograma de queijo produzido, mostrando-se superior aos outros grupos.

Tabela 8 - Rendimento do queijo “coalho” do leite de ovelhas mestiças Lacaune x Santa Inês submetidas a diferentes estratégias de suplementação.

	Grupos experimentais		
	Pasto	Milho	Algodão
Leite utilizado (L)*	30	30	30
Queijo produzido (Kg)	5,53	5,50	7,50
Rendimento (L/Kg)	5,43	5,45	4,00

* Três amostras de 10 L de leite de ovelha, totalizando 30 L/tratamento.

Os custos gerados pelo investimento na suplementação alimentar das ovelhas, estão descritos na Tabela 9. Observou-se que, os custos gerados pela

simulação de compra do alimento volumoso (Pasto) foram superiores aos do Milho.

Tabela 9 - Custo da dieta, custo total pelo consumo, custo da produção de leite, custo do queijo e a relação custo/benefício do concentrado de ovelhas mestiças Lacaune x Santa Inês submetidas a diferentes estratégias de suplementação.

Custo	Grupos experimentais		
	Pasto	Milho	Algodão
Dieta (R\$/Kg)	1,40	1,36	1,71
Total pelo consumo (R\$/63)	93,87	85,68	129,78
Produção de leite (R\$/63 dias/fêmea)	109,25	118,75	131,60
Queijo (R\$)	221,20	220,00	300,00
Relação benefício/custo (%)	2,35	2,56	2,31

Custo dos ingredientes: Volumoso = 1,40; Milho = 0,81; Soja = 1,84; Ureia = 2,50; Sal mineral = 1,80; Caroco de algodão: 1,73. Leite = R\$ 5,00/L; Queijo = R\$ 40,00/Kg.

7. Discussão

7.1. Experimento 1

Este é o primeiro estudo que descreve o desenvolvimento folicular de ovelhas com aptidão leiteira, mantidas a pasto e suplementadas com diferentes fontes de energia antes da estação reprodutiva, em uma região semiárida do Submédio do São Francisco Pernambucano.

A indução do estro (sincronização do ciclo estral), por si só, é um método eficiente para melhorar o desempenho reprodutivo, com aumento das taxas de prenhez e prolificidade (HASANI et al., 2018). No entanto, a sincronização do estro associada à suplementação com caroço de algodão ou de milho promoveu uma tendência para aumento da taxa de ovulação em 51,5% e 37,8%, respectivamente, ambos quando comparados ao grupo sincronizado exclusivamente. O aporte adicional de 300g de suplementação de milho ou algodão durante 9 dias em animais submetidos à sincronização do estro pode aumentar a taxa de ovulação (NOGUEIRA et al., 2017).

No presente estudo, a maior taxa de ovulação nos grupos sincronizados e/ou suplementados com milho ou caroço de algodão está de acordo com os achados com Senosy, Mahmoud e Abdel-Raheem (2017), que observaram que ovelhas da raça Ossimi, submetidas a suplementação de curta duração (4 dias), apresentaram aumento na taxa de ovulação ($2,3 \pm 0,1$) nos grupos suplementados, ao comparar com ovelhas sem o suplemento concentrado ($1,2 \pm 0,3$). Segundo os mesmos autores, após a suplementação nutricional, a maior taxa de ovulação ocorre devido ao aumento da secreção de LH.

Estudando o impacto reprodutivo de uma suplementação proteica de curto prazo (8 dias), antes da inseminação de ovelhas da raça Merino, Errandonea et al. (2018) observaram que o suplemento alimentar aumentou a taxa de ovulação tanto nas ovelhas que tiveram indução do estro ($1,35 \pm 0,48$), quanto nas que apresentaram estro espontâneo ($1,30 \pm 0,45$). De acordo com esses autores, a suplementação promove aumento de hormônios e outros metabolitos sanguíneos (glicose, insulina e leptina), no momento que ocorre a seleção dos folículos ovulatórios promovendo aumento na taxa de ovulação.

Estudos prévios sugerem que a suplementação energética de curto prazo durante a estação de monta, associada à sincronização do estro atua sobre os parâmetros metabólicos, hormonais e na atividade ovariana das ovelhas (MOONMANEE, YAMMUEN-ART, 2015; SENOSY, MAHMOUD E ABDEL-RAHEEM, 2017). Por exemplo, Habibizad et al. (2015) observaram que ovelhas alimentadas com dietas de alta energia a curto (6 dias) e longo prazo (16 dias) apresentaram um maior ($P < 0,05$) número de folículos grandes que os grupos não suplementados.

Já, Senosy et al. (2013) observaram diferenças significativas, somente em relação ao número folículos pequenos da primeira onda folicular de ovelhas suplementadas com alfafa, trigo, milho e soja. Segundo esses autores, a suplementação promove aumento no número dos folículos em crescimento, no entanto, após emergência de nova onda ovulatória, apenas alguns continuam a crescer e se tornam médios e grandes, sendo esse crescimento influenciado pelo aumento de hormônios e metabolitos sanguíneos, obtidos por meio da suplementação nutricional, ou seja, a suplementação nutricional apresenta ação imediata sobre o desenvolvimento folicular mediado por ação direta da glicose e de hormônios metabólicos (VIÑALES et al., 2005).

No entanto, Nogueira et al. (2017) não observaram aumento do número de folículos recrutados e selecionados, havendo aumento da taxa de ovulação pela redução da taxa de atresia dos folículos dominantes. Esse fato pode ser explicado pela mudança dos receptores de membrana das células da granulosa, que desenvolvem receptores de LH, alterando a dependência de FSH para LH (SCARAMUZZI et al., 2011), levando, com isso, à menor atresia e maior sobrevivência de folículos grandes (NOGUEIRA et al., 2017), permitindo número maior de folículos ovulatórios com consequente maior taxa de ovulação.

O efeito da suplementação nutricional sobre o desenvolvimento folicular ocorre devido a aumento nas concentrações de hormônios e outros metabolitos sanguíneos (glicose, insulina e leptina) que atuam diretamente a nível ovariano (VIÑALES et al., 2005). Segundo, Errandonea et al. (2018), a suplementação antes da monta ou inseminação, melhora o crescimento e o desenvolvimento dos folículos sensíveis à gonadotrofina em ovelhas em boa condição corporal, genética ou metabolicamente mais adequada.

Apesar do maior número de folículos pequenos (Figura 4a) e médios (Figura 4b) observados nos grupos Pasto, Sincro e Milho, houve maior número de folículos grandes nos grupos suplementados com milho, e uma disposição para mais folículos grandes no grupo suplementado com Algodão, em relação ao grupo, apenas sincronizado (Figura 4c). Isso sugere que a suplementação exerceu influência sobre o desenvolvimento folicular independente da sincronização. Os autores que relatam um aumento do número de folículos explicam que, a energia dietética estimula diretamente a foliculogênese em folículos recrutados e selecionados, e este efeito pode ser mediado pelas mudanças nas concentrações metabólicas e hormonais (HABIBIZAD et al., 2015). Que foi visualizado no presente estudo, pois o consumo de NDT (energia), foi maior pelas ovelhas dos grupos Milho e algodão (Tabela 4), que as ovelhas dos grupos Pasto e Sincro.

A energia é o principal componente da dieta que estimula a foliculogênese (SCARAMUZZI; BROWN; DUPOINT, 2010). O milho e o caroço de algodão são alimentos energéticos que melhoram o consumo de matéria seca e energia. O milho possui capacidade de modificar as concentrações de glicose e hormônios metabólicos, que influencia no desenvolvimento folicular (NOGUEIRA et al., 2016). Devido a sua composição, o milho não é degradado totalmente no rúmen. Com isso, parte da digestão ocorre nos intestinos (MELLO; LAERTE, 2004). Um dos produtos finais gerados pela digestão do milho é a glicose (BERCHIELLI; PIRES; OLIVEIRA, 2006), promovendo aumento da taxa de entrada de glicose não degradada no rúmen na corrente sanguínea, sendo prontamente absorvida pelo animal (LANDAU et al., 1997). Nos ovários das ovelhas, a entrada da glicose ocorre por meio de receptores de membrana GLUT1 e GLUT4 presentes na células granulosa e da teca em ovelhas (SCARAMUZZI; BROWN; DUPONT, 2010).

Sobre as dietas com caroço de algodão, não foram encontrados estudos relacionados à suplementação nutricional de curto prazo nem sobre a atuação do caroço de algodão no desenvolvimento folicular e perfis hormonais de ovinos leiteiros. Em estudo realizado em bovinos, Cunha, Melotti e Lucci (1998) observaram que a degradabilidade do caroço de algodão integral (linter) é menor no rúmen, mas a degradação da proteína do caroço de algodão ocorre no rúmen, sendo baixa a quantidade de proteína não-degradável que será digerida nos

intestinos. Portanto, pequena parte dos metabólitos em forma de peptídeos, aminoácidos e ácidos graxos voláteis provenientes da digestão microbiana do caroço de algodão são absorvidos no intestino delgado (COLVILLE, BASSERT, 2011), sendo utilizados pelos ovários para o desenvolvimento folicular.

A digestão pós-ruminal de amido pode ser melhorada quando aumenta o suprimento de proteína para o duodeno (BRANCO et al., 2001). Além disso, o caroço de algodão é rico em gordura (SANTOS et al., 2018). Alimentos ricos em gordura podem promover aumento nos níveis de glicose por meio do aumento da produção de ácido propiônico no rúmen (MIRZAEI-ALAMOUTI et al., 2018).

Quando realizada de maneira estratégica a suplementação alimentar maximiza o consumo e a digestibilidade da forragem (GERON et al., 2012). No presente estudo, a dieta contendo caroço de algodão recebeu uma parcela de milho triturado, explicando o maior consumo significativo de MS do grupo suplementado com caroço de algodão em comparação aos demais grupos. Portanto, a ingestão alimentar das ovelhas de 0,850 a 1,01 Kg em MS está de acordo aos estabelecidos para o “flushing” de ovelhas com peso médio entre 40 a 50 Kg/PV (NRC, 2006).

Estudos sugerem que, a suplementação alimentar pode promover alterações no diâmetro folicular (MOONMANEE, YAMMUEN-ART, 2015). Contudo, neste trabalho, a suplementação não promoveu ($P > 0,05$) alteração do diâmetro folicular entre os grupos experimentais (Tabela 3), corroborando com os resultados de Senosy et al. (2013), onde o tamanho máximo de folículos grandes não diferiu entre o grupo controle (5,6 mm) e as ovelhas que receberam suplementação alimentar de alta energia (5,9 mm). De forma semelhante, Mahmoud et al., (2012) não observaram diferença significativa para o diâmetro dos folículos pré-ovulatórios no grupo de ovelhas suplementadas ($5,8 \pm 0,08$ mm) em comparação às ovelhas não suplementadas ($5,03 \pm 0,01$ mm). Isso ocorre porque o efeito da suplementação nutricional de curto prazo no desenvolvimento folicular não é mediado por um aumento nas concentrações de FSH, mas pelo aumento das concentrações de glicose, insulina, IGF-1 e leptina, que atuam diretamente no ovário (VIÑOLES et al., 2005; SENOSY et al., 2013; NOGUEIRA et al., 2016; ERRANDONEA et al., 2018).

No desenvolvimento folicular, a insulina estimula a proliferação de células da granulosa, a atividade da aromatase (enzima que converte andrógenos em

estrógenos), a produção de esteroides, sendo, também, um fator regulador da maturação oocitária (CHAVES et al., 2011). A insulina regula o transporte de glicose através da ligação a receptores no folículo (HABIBIZAD et al., 2015). Contudo, o aumento das concentrações de insulina ocorre imediatamente após a ingestão alimentar, quando há aumento das concentrações de glicose. Portanto, os níveis sanguíneos de glicose, normalmente, são menores durante o jejum (SILVA et al., 2016), período em que foi realizada a coleta de sangue das ovelhas no presente estudo, desta forma, podendo ser uma explicação para a não alteração da glicemia sérica.

Nas ovelhas, o IGF-I promove principalmente a proliferação de células da granulosa de folículos pequenos, e estimula a secreção de progesterona pelas células da granulosa em folículos grandes (SILVA; FIGUEIREDO; HURK, 2009). Então, o IGF-I atua sobre a esteroidogênese e o crescimento do oócito, e, também, modula os efeitos do FSH e do LH (MELO et al.; 2017), aumentando a responsividade da FSH às células da granulosa (SILVA; FIGUEIREDO; HURK, 2009). No entanto, as baixas concentrações de IGF-1 observadas, podem ser relacionadas com frequência pulsátil de LH, durante a fase de recuperação do balaço energético (SILVA et al., 2016).

A leptina, produzida pelo tecido adiposo (RODRIGUES; CRUZ; MACEDO JUNIOR, 2012), é um dos sinalizadores periféricos mais importantes, que junto com a insulina, regulam a homeostase energética e alertam o hipotálamo sobre o estado nutricional do organismo dos mamíferos (RODRIGUES; CRUZ; MACEDO JUNIOR, 2012; QUI et al., 2018). A leptina também atua no controle hipotalâmico da atividade reprodutiva com a produção de GnRH (TSUNEDA et al., 2017), e, periféricamente nas gônadas (SILVA et al., 2016), variando de acordo com o balaço energético. Além disso, foi observado que o aumento das reservas energéticas ou da disponibilidade de alimento, mostram-se como um sinal de equilíbrio energético positivo, promovendo aumento das concentrações de leptina, estimulando a secreção de neuropeptídeos reguladores, que reduzem a ingestão de alimentos, e estimulam o aumento da secreção de GnRH, melhorando a atividade reprodutiva (GUZMÁN et al., 2019).

Financeiramente, a realização da *suplementação de curta duração junto* a indução do estro (sincronização do ciclo estral), apresentam uma relevante redução dos custos, quando comparados a gastos gerados com a

suplementação durante a estação reprodutiva, normalmente, com duração de 45 dias (Tabela 5).

Por esses fatores, a hipótese do presente estudo foi parcialmente aceita, pois, a suplementação de ovelhas com milho e/ou caroço de algodão, não promoveu aumento nas concentrações plasmáticas de insulina e IGF-1, mas promoveu um aumento da concentração de leptina no dia 9 da suplementação com caroço de algodão (Figura 5). Além disso, houve melhora no desenvolvimento folicular e aumento na taxa de ovulação.

Finalmente, os achados do presente estudo são de extrema relevância, pois, a suplementação nutricional de curto prazo ("focus feeding") compõe uma estratégia para melhorar a eficiência reprodutiva dos rebanhos ovinos (VIÑOLES; MEIKLE; MARTIN, 2009).

7.2. Experimento 2

A suplementação nutricional modificou a composição físico-química do leite. O teor de gordura foi o único parâmetro que não deferiu entre os tratamentos, embora, a quantidade de gordura presente no leite de ovelha possa variar, significativamente, de acordo com os compostos nas dietas fornecidas as ovelhas (PERUZZI et al., 2016). A semelhança ($P>0,05$) no teor de gordura entre os grupos experimentais pode ser explicada porque a gordura é maior no período final da lactação, período em que foram realizadas as coletas das amostras, estando todos os grupos com uma alta concentração lipídica no leite.

Outra possível justificativa é a eficiência de ruminação que foi semelhante entre os grupos avaliados, variando de 0,17 a 0,21 kg de MS/h (Tabela 07).

No presente trabalho, as concentrações de gordura no leite estão de acordo aos obtidos por Fava, Külkamp-Guerreiro e Pinto (2014), que analisaram físico-quimicamente o leite de ovelhas de diferentes propriedades e observaram teores de gordura variando de 7,99 a 8,28%. Esses valores, são superiores, aos observados por Ribeiro et al. (2007), ao analisarem o leite de ovelhas Santa Inês tratadas com ocitocina, que apresentaram 5,84% de gordura. Contudo, os dados, estão de acordo aos observados por Brito et al. (2006), ao avaliarem ovelhas da raça Lacaune, alimentadas com silagem de milho e pasto verde (tifon, aveia e azevém), do início ao fim da lactação, sendo que, no período final da lactação, os níveis de gordura do leite estavam em 7,02%. Outro fator que pode afetar o teor de gordura é a quantidade do concentrado fornecido.

Segundo Carneiro et al. (2015), um elevado teor de concentrado na dieta reduz a produção de ácido acético, sendo este ácido graxo volátil (AGV) o principal precursor lipogênico. A menor produção desse ácido promove menor modificação no teor de gordura do leite. Ainda segundo esses autores, a variação do teor de gordura pode ocorrer de acordo com o volumoso fornecido, no entanto, no presente estudo este efeito não foi observado pois as dietas proporcionaram semelhante eficiência de ruminação.

No presente estudo, o teor de proteína foi superior no leite das ovelhas suplementadas com caroço de algodão. Isso pode ser justificado pelos níveis elevados de proteína na dieta com caroço de algodão, o que levou a um maior consumo de proteína. Porém, o teor de proteína, neste estudo, foi inferior ao

obtido por Fava, Kulkamp-Guerreiro e Pinto (2014), que analisaram o leite de ovelhas de diferentes propriedades e obtiveram nas análises físico-químicas, 5,25 a 5,27% de proteína. As proteínas presentes no leite são sintetizadas a partir da suplementação proteica da dieta, parte circulante no plasma sanguíneo, sendo o restante sintetizado na glândula mamária (SELAIVE, OSÓRIO, 2017).

Já em relação aos teores da lactose no presente estudo, observa-se que houve influência da dieta sobre sua concentração, pois, a proporção do concentrado na dieta promove aumento na produção de ácido propiônico no rúmen, que é precursor da formação de glicose no fígado e na glândula mamária (PRADIEÉ et al., 2010). A quantidade de glicose circulante, por sua vez, influencia na síntese da lactose, que é produzida a partir da glicose no sangue; o tecido mamário isomeriza-a em galactose e liga-a a outras glicoses para formar uma molécula de lactose (ORDÓÑEZ, 2005).

Para fins comerciais, o leite de ovelha é, principalmente, transformado em queijo (CAJA, BOCQUIER, 2000). O queijo do tipo coalho artesanal é o produto fresco maturado, obtido através da separação do soro após a coagulação do leite (ORDÓÑEZ, 2005). A produção do queijo, também, é influenciada pelo tipo de volumoso fornecido ao animal. O pasto, com alta relação fibra/energia, aumenta o teor de gordura e melhora a qualidade do queijo (MERLIN JUNIOR et al., 2015). No presente estudo, o rendimento de queijo mostrou-se semelhante ao observado por Emediato (2007), que forneceu, para ovinos da raça Bergamácia, dietas contendo farelo de algodão e milho moído e observou, nesse grupo, um rendimento de queijo do tipo prato de 5,91 L leite/Kg e queijo do tipo Roquefort de 7,34 L leite/Kg. Vale ressaltar que o rendimento de 4,0 a 5,45 litros de leite de ovelha para cada quilo de queijo produzido é expressivamente maior quando comparado ao rendimento dos queijos de cabra, que se utiliza normalmente de 10,0 a 11,0 litros de leite para 1,0 kg de queijo produzido (RAIMUNDO et al., 2015).

Neste estudo, a produção individual e total do leite de ovelhas não aumentou após o fornecimento das dietas contendo milho e caroço de algodão, provavelmente, porque as ovelhas estavam no final de lactação. A produção e a composição do leite sofrem influência do estágio da lactação (início e final da lactação), pois apresentam um perfil inverso ao da produção de leite (LEMONS et

al., 2013). Após o pico de lactação, que ocorre entre a terceira a quinta semana de lactação, a produção de leite diminui rapidamente (BENCINE, 2001).

Em comparação com os dados do presente estudo, Vasconcelos et al. (2017) avaliaram a produção de leite de ovelhas da raça Rabo Largo e observaram maior produção individual de leite das ovelhas. Todavia, não foi observado diferença entre o lote suplementado (1,13 kg leite/dia) com leucena e milho triturado, e o lote que não recebeu suplementação concentrada (1,0 kg leite/dia). No trabalho desses autores, a produção de leite foi avaliada por 10 semanas, iniciando após o período colostrado.

Silveira et al. (2017), ao avaliarem as características produtivas de ovelhas da raça Lacaune em diferentes estágios de lactação, observaram a maior produção no décimo dia de lactação com a média de leite produzido de 1,50 L/dia, reduzindo para 0,67 L/dia aos 90 dias e para 0,096 L/dia aos 150 dias de lactação. Já Ribeiro et al. (2007) observaram uma média de produção total de 0,82 Kg leite/dia para os ovinos da raça Santa Inês que receberam ocitocina, superior aos que não receberam ocitocina (0,54 Kg leite/dia).

Não foram encontradas publicações com o uso de algodão na suplementação de ovelhas em lactação. Todavia, segundo Melo et al. (2006), a suplementação de vacas holandesas com caroço de algodão não promove alterações na produção de leite, embora haja aumento nos componentes do leite, como gordura e proteína. Esses resultados semelhantes na produção de leite e na porcentagem de gordura no leite após a suplementação com caroço de algodão corroboram com os resultados do nosso trabalho, pois a produção de leite não diferiu entre os grupos.

De acordo com o NRC (2007), ovelhas em período de lactação com peso corporal entre 40 e 50 Kg devem consumir entre 1,09 a 1,26 Kg/dia. No presente estudo, o grupo Algodão apresentou maior CMS e melhor eficiência de ingestão, justificando a variação na composição físico-química do leite de ovelha e no rendimento do queijo.

A ingestão de matéria seca aumenta com o avanço da lactação, elevando a produção de leite e a necessidade energética do animal (JOY et al., 2014). Para obtenção de energia, os ruminantes dependem de micro-organismos (bactérias e protozoários) que produzem enzimas que decompõem o alimento na digestão fermentativa e, posteriormente, convertem em ácidos graxos voláteis

(AGV's), ou seja, a fonte energética dos ruminantes (COLVILLE, BASSERT, 2010). Por isso, a quantidade de fibra na dieta, também, é essencial para manter o equilíbrio adequado da fermentação ruminal (DIAS et al., 2001), e, consequentemente, à saúde do animal (CARNEIRO et al., 2015).

Durante a lactação, há, também, mobilização energética para síntese do leite (JOY et al., 2014). Consequentemente, a maior produção de leite é decorrente da maior reserva de energia que o animal tenha (VASCONCELOS et al., 2017). No presente estudo, a suplementação alimentar iniciou-se no período final da lactação, o que pode explicar a manutenção no peso corporal das ovelhas. Esses mesmos resultados foram observados por Joy et al. (2014), que, ao analisar ovelhas da raça Ojinegra de Teruel, não observaram alteração do peso para os animais que receberam suplementação com concentrado. Alterações no peso podem, também, ser observados em animais de alta produção, já que o requerimento nutricional é maior do que a sua capacidade de ingestão (SELAIVE; OSÓRIO, 2017). Essa alteração de peso não é observada em ovelhas com produção mediana e baixa.

A hipótese que a energia obtida por meio do caroço de algodão pode substituir o milho como fonte de energia para suplementação de ovelhas mestiças da raça Lacaune x Santa Inês e aumenta a quantidade de extrato seco no leite, promovendo maior rendimento na fabricação de queijos, foi aceita, pois os animais que receberam a dieta com o caroço de algodão apresentaram maior rendimento de queijo.

III. CONCLUSÕES

A suplementação alimentar de curta duração (9 dias) com milho ou caroço de algodão, associada à sincronização do estro, influencia positivamente no número de fêmeas em estro, no desenvolvimento folicular e na taxa de ovulação.

Apesar da suplementação com milho ou caroço de algodão não promover aumento na produção de leite, a suplementação com caroço de algodão proporciona maior rendimento dos queijos produzidos por ovelhas mestiças Lacaune x Santa Inês. Contudo, o milho tenha apresentado a melhor relação benefício/custo devendo ser a principal escolha para o produtor.

IV. REFERÊNCIAS

- ADAMS, J.; KHALID, M. Ewe reproduction: stimulation and synchronisation. **Livestock**, v. 21, n. 4, p. 236-239, 2016.
- AL MANSUR, M. A.; ALAM, M. G. S.; JHA, P. K.; RIMON, M. A.; NAHER, N.; BARI, F. Y. Productive and reproductive performances of Sheep at field level of Rajshahi and Mymensingh District of Bangladesh. **Asian Journal of Medical and Biological Research**, v. 4, n. 1, p. 63-68, 2018.
- BANCHERO, G. E.; QUINTANS, G.; VAZQUEZ, A.; GIGENA, F.; LA MANNA, A.; LINDSAY, D. R.; MILTON, J. T. B. Effect of supplementation of ewes with barley or maize during the last week of pregnancy on colostrum production. **The Animal Consortium**, v. 1, p. 625-630, 2007.
- BARROS, L. V.; SILVA, A. G.; BENEDETI, P.D.B. Avaliação do dióxido de titânio em amostras fecais. In: DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S. C. et al. Métodos para análises de alimentos, Visconde do Rio Branco, MG: Suprema, p. 205-214, 2012.
- BENCINE, R. Factors affecting the quality of ewe's milk. In: **Proceedings of The 7th Great Lakes Dairy Sheep Symposium, Wisconsin, USA**. 2001. p. 52-83.
- BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. Nutrição de ruminantes. Jaboticabal: FUNEP, 583p. 2006.
- BLAXTER, K. L.; WAINMAN, F. W. The utilization of the energy of different rations by sheep and cattle for maintenance and for fattening. **The Journal of Agricultural Science**, v. 63, n. 01, p. 113-128, 1964.
- BRANCO, A. F.; ALCALDE, C. R.; MAIA, F. J.; ALMEIDA, D.; BRITO, K. C. G.; FERREIRA, R. A. Efeitos da fonte de proteína da dieta sobre a digestão de amido em bovinos. **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 4, p. 953-959, 2001.
- BRITO, M. A.; GONZALEZ, F. H.D.; RIBEIRO, L. A. O.; CAMPOS, R.; LACERDA, L. D. A.; BARBOSA, P. R.; BERGMANN, G. P. Composição do sangue e do leite em ovinos leiteiros do sul do Brasil: variações na gestação e na lactação. **Ciência rural**. Santa Maria. Vol. 36, n. 3, p. 942-948, 2006.
- CABONI, P.; MURGIA, A.; PORCU, A.; MANIS, C.; IBBA, I.; CONTU, M.; SCANO, P. A Metabolomics comparison between sheep's and goat's milk. **Food Research International**, 2018.
- CAJA, G.; BOCQUIER, F. Effects of nutrition on the composition of sheep's milk. **Cahiers Options Méditerranéennes**, v. 52, p. 59-74, 2000.
- CAPPELLE, E. R.; VALADARES FILHO, S. C.; SILVA, J. F. C.; CECON, P. R. Estimativas do valor energético a partir de características químicas e bromatológicas dos alimentos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 6, p. 1837-1856, 2001.

CARNEIRO, W. P.; RAMOS, J. P. F.; PIMENTA FILHO, E. C.; MOURA, J. F. P. Utilização de Carboidratos não Fibrosos na Alimentação de Cabras Leiteiras: Composição e Perfil Lipídico. **Revista Científica de Produção Animal**, v. 17, n. 1, p. 50-60, 2015.

CASTAÑARES, N.; COLITTI, M.; NUDDA, A.; STEFANON, B.; PULINA, G. Dynamics of mammary secretory cells in lactating dairy ewes. **Small ruminant research**, v. 113, n. 1, p. 251-253, 2013.

CHAVES, R. N.; SARAIVA, M. V. A.; ALVES, A. M. C. V.; FIGUEIREDO, J. R. Implicações da insulina na função ovariana e desenvolvimento embrionário. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 5, n. 2, p. 136-146, 2011.

COLVILLE, T.; BASSERT, J. M. Anatomia e Fisiologia Clínica para Medicina Veterinária. Elsevier Health Sciences, 2011.

CORRÊIA, G. F.; OSORIO, M. T. M.; PERDIGÓN, F.; SOSA, L.; KREMER, R.; OSÓRIO, J. C. S.; SILVA, J. G. C.; LOPES, P. R. S. Produção e composição química do leite de ovelhas Corriedale com diferentes níveis de suplementação aos 100 dias de lactação. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 14, n. 2, 2008.

CUNHA, J. A.; MELOTTI, L.; LUCCI, C. S. Degradabilidade no rúmen da matéria seca e da proteína do caroço integral e do farelo de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) pela técnica dos sacos de náilon in situ com bovinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 35, n. 2, p. 96-100, 1998.

DIAS, A. M. A.; BATISTA, A. M. V.; FERREIRA, M. A.; LIRA, M. A.; SAMPAIO, I. B. M. Efeito do estágio vegetativo do sorgo (*Sorghum bicolor*, (L.) Moench) sobre a composição química da silagem, consumo, produção e teor de gordura do leite para vacas em lactação, em comparação à silagem de milho (*Zeamays* (L.)). **Revista brasileira de zootecnia**, v. 30, n. 6S, p. 2086-2092, 2001.

EMEDIATO, R. M. D. S. Efeito da gordura protegida sobre parâmetros produtivos de ovelhas da raça Bergamácia e na elaboração de queijos. Tese (Doutorado) Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP. 95 f. 2007.

EMEDIATO, R. M. D. S.; SIQUEIRA, E. R. D.; STRADIOTTO, M. D. M.; MAESTÁ, S. A.; GONÇALVES, H. C. Desempenho de ovelhas da raça Bergamácia alimentadas com dieta contendo gordura protegida. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 1812-1818, 2009.

ERRANDONEA, N.; FIERRO, S.; VIÑOLES, C.; GIL, J.; BANCHERO, G.; OLIVERA-MUZANTE, J. Short term protein supplementation during a long interval prostaglandin-based protocol for timed AI in sheep. **Theriogenology**, v. 114, p. 34-39, 2018.

FAVA, L. W.; KÜLKAMP-GUERREIRO, I. C.; PINTO, A. T. Rendimento de coalhada obtida a partir de leite fresco, resfriado e congelado de ovelhas da raça Lacaune e caracterização física do soro obtido. **Ciência rural**. Santa Maria. Vol. 44, n. 5, p. 937-942, 2014.

FERREIRA, A. M.; BISLEV, S. L.; BENDIXEN, E.; ALMEIDA, A. M. The mammary gland in domestic ruminants: A systems biology perspective. **Journal of proteomics**, v. 94, p. 110-123, 2013.

FERREIRA, M.; BORGES, I.; MACEDO JÚNIOR, G. L.; RODRIGUEZ, N. M.; PENNA, C. F. A. M.; SOUZA, M. R.; GOMES, M. G. T.; SOUZA, F. A.; CAVALCANTI, L. F. Produção e composição do leite de ovelhas Santa Inês e mestiças Lacaune e Santa Inês e desenvolvimento de seus cordeiros. Embrapa Caprinos e Ovinos-Artigo em periódico indexado (ALICE), 2011.

GAMARRA, G.; PONSART, C.; LACAZE, S.; LE GUIENNE, B.; DELOCHE, M. C.; MONNIAUX, D.; PONTER, A. A. Short term dietary propylene glycol supplementation affects circulating metabolic hormones, progesterone concentrations and follicular growth in dairy heifers. **Livestock Science**, v. 162, p. 240-251, 2014.

GARVERICK, H. A.; JUENGEL, J. L.; SMITH, P.; HEATH, D. A.; BURKHART, M. N.; PERRY, G. A.; SMITH, M. F.; McNATTY, K. P. Development of the ovary and ontogeny of mRNA and protein for P450 aromatase (arom) and estrogen receptors (ER) α and β during early fetal life in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 117, n. 1-2, p. 24-33, 2010.

GERON, L. J. V.; MEXIA, A. A.; GARCIA, J.; ZEOULA, L. M.; GARCIA, R. R. F.; MOURA, D. C. Desempenho de cordeiros em terminação suplementados com caroço de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) e grão de milho moído (*Zea mays* L.). **Archives of Veterinary Science**, v. 17, n. 4, 2012.

GINTHER, O. J.; KOT, K. Follicular dynamics during the ovulatory season in goats. **Theriogenology**, v. 42, n. 6, p. 987-1001, 1994.

GIZEJEWSKI, Z.; SZAFRANSKA, B.; STEPLEWSKI, Z.; PANASIEWICZ, G.; CIERESZKO, A.; KOPROWSKI, H. Cottonseed feeding delivers sufficient quantities of gossypol as a male deer contraceptive. **European Journal of wildlife research**, v. 54, n. 3, p. 469-477, 2008.

GONZALEZ, F. H. D. Composição bioquímica do leite e hormônios da lactação. Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo em vacas leiteiras. Porto Alegre: UFRGS. p. 5-21, 2001.

GUZMÁN, A.; HERNÁNDEZ-CORONADO, C. G.; ROSALES-TORRES, A. M.; HERNÁNDEZ-MEDRANO, J. H. Leptin regulates neuropeptides associated with food intake and GnRH secretion. **Annales d'endocrinologie**. Elsevier Masson, v. 80, n. 1, p. 38-46, 2019.

HABIBIZAD, J.; RIASI, A.; KOHRAM, H.; RAHMANI, H. R. Effect of long-term or short-term supplementation of high energy or high energy-protein diets on ovarian follicles and blood metabolites and hormones in ewes. **Small Ruminant Research**, v. 132, p. 37-43, 2015.

HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. **Reprodução animal**. Manole, 2004.

HARUNA, S.; KUROIWA, T.; LU, W.; ZABULI, J.; TANAKA, T.; KAMOMAE, H. The effects of short-term nutritional stimulus before and after the luteolysis on metabolic status, reproductive hormones and ovarian activity in goats. **Journal of Reproduction and Development**, Tokyo, v. 55, n. 1, p. 39-44, 2008.

HASANI, N.; EBRAHIMI, M.; GHASEMI-PANAHI, B.; HOSSEINKHANI, A. Evaluating reproductive performance of three estrus synchronization protocols in Ghezel ewes. **Theriogenology**, v. 122, p. 9-13, 2018.

HASHEM, N. M.; SALLAM, S. M. A. Sexual and ovarian activity of crossbred ewes fed different types of roughage during seasonal anestrus. **Small ruminant research**, v. 107, n. 2-3, p. 136-140, 2012.

HASHEM, N.; EL-ZARKOUNY, S. Effect of short-term supplementation with rumen-protected fat during the late luteal phase on reproduction and metabolism of ewes. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 98, n. 1, p. 65-71, 2014.

HÜBNER, C. H.; PIRES, C. C.; GALVANI, D. B.; CARVALHO, S.; WOMMER, T. P. Consumo de nutrientes, produção e composição do leite de ovelhas alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de fibra em detergente neutro. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 6, p. 1882-1888, 2007.

IBGE - Instituto Brasileiro De Geografia. Censo agropecuário. Rio de Janeiro: IBGE, v. 7, p.1-108, 2017.

JOY, M.; RIPOLL-BOSCH, R.; SANZ, A.; MOLINO, F.; BLASCO, I.; ÁLVAREZ-RODRÍGUEZ, J. Effects of concentrate supplementation on forage intake, metabolic profile and milk fatty acid composition of unselected ewes raising lambs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 187, p. 19-29, 2014.

LANDAU, S.; BOR, A.; LEIBOVICH, H.; ZOREF, Z.; NITSAN, Z.; MADAR, Z. The effect of ruminal starch degradability in the diet of Booroola crossbred ewes on induced ovulation rate and prolificacy. **Animal Reproduction Science**, v. 38, n. 1-2, p. 97-108, 1995.

LANDAU, S.; ZOREF, Z.; NITSAN, Z.; MADAR, Z. The influence of extruding corn grain in diets fed to Finn × Awassi crossbred ewes during late pregnancy on birth weight of lambs. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 77, n. 1, p. 141-147, 1997.

LEMONS, V. F.; GUARANÁ, E. L.; AFONSO, J. A.; FAGLIARI, J. J.; SILVA, P.; SOARES, P. C.; MENDONÇA, C. L. Proteinograma do soro lácteo de ovelhas da

raça Santa Inês em diferentes fases de lactação. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, p. 807-812, 2013.

LOBATO, E.; FERRO, R. A. C.; SANTOS, K. J. G.; COSTA, M. A.; FERRO, D. A. C.; SANTOS, A. Fisiologia reprodutiva de ovinos. **PUBVET**, Londrina, V. 7, N. 15, Ed. 238, Art. 1573, 2013.

MAHMOUD, G. B.; ABDEL-RAHEEM, S. M.; SENOSY, W.; DERAR, R. I. Impact of a short period-energy supplementation on the ovarian follicular dynamics, blood metabolites and sex hormones in ewes. **Journal of Agricultural Economics**. Dev., v. 1, n. 6, p. 145-152, 2012.

MAIA, M. O. Efeito da adição de diferentes fontes de óleo vegetal na dieta de ovinos sobre o desempenho, a composição e o perfil de ácidos graxos na carne e no leite. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2011.

MEDAN, M. S.; WATANABE, G.; SASAKI, K.; SHARAWY, S.; GROOME, N. P.; TAYA, K. Ovarian dynamics and their associations with peripheral concentrations of gonadotropins, ovarian steroids, and inhibin during the estrous cycle in goats. **Biology of reproduction**, v. 69, n. 1, p. 57-63, 2003.

MELLO, R.; LAERTE, J. N. Fracionamento dos carboidratos e proteínas de silagens de milho, sorgo e girassol. **Ciência Rural**, v. 34, n. 5, 2004.

MELO, A. A. S.; FARIA, M. A.; VÉRAS, A. S. C.; LIRA, M. A.; LIMA, L. E.; PESSOA, R. A. S.; AZEVEDO, M. Desempenho leiteiro de vacas alimentadas com caroço de algodão em dieta à base de palma forrageira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 7, p. 1165-1171, 2006.

MELO, A. N.; SANTOS JÚNIOR, E. R.; SILVA, D. F.; ADRIÃO, M.; PORTO, A. L. F.; WISCHARAL, A. Expressão do mRNA para IGF-2 em oócitos e células do cumulus extraídos de folículos antrais e pré-antrais de ovelhas nativas do Estado de Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 5. 2017.

MERLIN JUNIOR, I. A.; COSTA, R. G.; COSTA, L. G.; LUDOVICO, A.; REGO, F. C. D. A.; ARAGON-ALEGRO, L. C.; SANTANA, E. H. W. D. Ovinocultura leiteira no brasil: aspectos e fatores relacionados à composição, ao consumo e à legislação. **Colloquium Agrariae**, v. 11, n. 2. p.38-53, 2015.

MIRZAEI-ALAMOUTI, H.; MOHAMMADI, Z.; SHAHIR, M. H.; VAZIRIGO HAR, M.; MANSOURYAR, M. Effects of short-term feeding of different sources of fatty acids in pre-mating diets on reproductive performance and blood metabolites of fat-tailed Iranian Afshari ewes. **Theriogenology**, v. 113, p. 85-91, 2018.

MONTEIRO, C.D., BICUDO, S.D. e TOMA, H.S. Puberdade em fêmeas ovinas. **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 21, Ed. 126, Art. 856, 2010.

MOONMANEE, T.; YAMMUEN-ART, S. Relationships among Feed Intake, Blood Metabolites, Follicle Size and Progesterone Concentration in Ewes Exhibiting or

Not Exhibiting Estrus after Estrous Synchronization in the Tropics. **Agriculture and Agricultural Science Procedia**, v. 5, p. 151-158, 2015.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrients requirements of sheep. 2006.

NOCEK, J. E.; TAMMINGA, S. Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 10, p. 3598-3629, 1991.

NOGUEIRA, D. M. et al. Produção de caprinos e ovinos no Semiárido. Manejo reprodutivo (Capítulo 16). In: VOLTOLINI, T.V. (Editor). Embrapa Semiárido, 2011.

NOGUEIRA, D. M.; CAVALIERI, J.; FITZPATRICK, L. A.; GUMMOW, B.; BLACHE, D.; PARKER, A. J. Effect of hormonal synchronisation and/or short-term supplementation with maize on follicular dynamics and hormone profiles in goats during the non-breeding season. *Anim Reprod Sci*, v. 171, p. 87-97, 2016.

NOGUEIRA, D. M.; ESHTAEB, A.; CAVALIERI, J.; FITZPATRICK, L. A.; GUMMOW, B.; BLACHE, D.; PARKER, A. J. Short-term supplementation with maize increases ovulation rate in goats when dietary metabolizable energy provides requirements for both maintenance and 1.5 times maintenance. *Theriogenology*, v. 89, p. 97-105, 2017.

OLIVEIRA, R. V.; XIMENES, F.; MENDES, C.; FIGUEIREDO, R.; PASSOS, C. Manual de criação de caprinos e ovinos. Brasília: Codevasf, 2011.

ORDOÑEZ, J. A. Tecnologia de alimentos: Alimentos de origem animal. Artmed, 2005.

PARK, Y. W. Bioactive components in milk and dairy products. John Wiley & Sons, 2009.

PARK, Y.; JUÁREZ, M.; RAMOS, M.; HAENLEIN, G. F. W. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. **Small ruminant research**, v. 68, n. 1, p. 88-113, 2007.

PELLEGRINI, L. G.; GUSSO, A. P.; CASSANEGO, D. B.; MATTANNA, P.; RICHARDS, N. S. P. S. Caracterização físico-química e perfil lipídico de queijos produzidos com leite ovino. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 68, n. 394, p. 11-18, 2013.

PERUZZI, A. Z.; MONREAL, A. C. D.; CARAMALAC, S. M.; CARAMALAC, S. M. Produção leiteira e análise centesimal do leite de ovelhas da raça Santa Inês. **Revista Agrarian**, v.9, n.32, p. 182-191, 2016.

PRADIEÉ, J.; GONÇALVES, M.; KESSLER, J. D.; VILANOVA, M. S.; ARNONI, R. K.; ESTEVES, R. M. G.; FERREIRA, O. G. L.; CORRÊA; OSÓRIO, M. T. M.; OSÓRIO, J. C. S. Produção e composição química do leite de ovelhas Texel

alimentadas com diferentes fontes de óleo na ração. **PUBVET**, v. 4, p. Art. 816-822, 2010.

PULINA, G.; MACCIOTTA, N.; NUDDA, A. Milk composition and feeding in the Italian dairy sheep. **Italian Journal of Animal Science**, v. 4, n. sup1, p. 5-14, 2005.

QIU, J.; WAGNER, E. J.; RONNEKLEIV, O. K.; KELLY, M. J. Insulin and leptin excite anorexigenic pro-opiomelanocortin neurones via activation of TRPC 5 channels. **Journal of neuroendocrinology**, v. 30, n. 2, p. e12501, 2018.

RAIMUNDO, A. J. F.; CABRITA, A.; LARANJEIRA, C.; OLIVEIRA, A.; DIAS, I.; CRISTINA, J. Efeitos do tipo de salga no valor do pH, na concentração de sal e no rendimento de um queijo de cabra curado. **Revista da UIIPS**, v. 3, n. 4, p. 84-99, 2015.

RAMOS, M.; JUAREZ, M. Sheep milk. **Encyclopedia of dairy sciences**, v. 4, p. 2539-2545, 2003.

REKIK, M.; HAILE, A.; MEKURIAW, Z.; ABIEBIE, A.; RISCHKOWSKY, B.; SALEM, I. B. Review of the reproductive performances of sheep breeds in Ethiopia: Documenting existing knowledge and identifying priority research needs. 2015.

RIBEIRO, L. C.; PÉREZ, J. R. O.; CARVALHO, P. H. A.; SILVA, F. F.; MUNIZ, J. A.; OLIVEIRA JÚNIOR, G. M.; SOUZA, N. V. Produção, composição e rendimento em queijo do leite de ovelhas Santa Inês tratadas com ocitocina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 2, p. 438-444, 2007.

RODRIGUES, V. J. C., CRUZ, W. F. G. e MACEDO JUNIOR, G. L. Fontes de energia oriundas de carboidratos e lipídios no flushing de ovelhas. **PUBVET**, Londrina, V. 6, N. 19, Ed. 206, Art. 1376, 2012.

ROGÉRIO, M. C. P.; BORGES, I.; SANTIAGO, G. S.; TEIXEIRA, D. A. B. Uso do caroço de algodão na alimentação de ruminantes. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 6, n. 1, 2003.

ROGÉRIO, M. C. P.; BORGES, I.; TEIXEIRA, D. A. B.; RODRIGUEZ, N. M.; GONÇALVES, L. C. Effect of level of whole cottonseed on digestibility of dietary fiber in sheep. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 5, p. 665-670, 2004.

SAID, S. B.; LOMET, D.; CHESNEAU, D.; LARDIC, L.; CANEPA, S.; GUILLAUME, D.; BRIANT, C.; FABRE-NYS, C.; CARATY, A. Differential estradiol requirement for the induction of estrus behavior and the luteinizing hormone surge in two breeds of sheep. **Biology of reproduction**, v. 76, n. 4, p. 673-680, 2007.

SALMAN, A. K. D.; COSTA, R. B. Ação hormonal da leptina em ruminantes. Embrapa Rondônia-Documentos (INFOTECA-E), 2006.

SAMPELAYO, M. S.; CHILLIARD, Y.; SCHMIDELY, P.; BOZA, J. Influence of type of diet on the fat constituents of goat and sheep milk. **Small Ruminant Research**, v. 68, n. 1-2, p. 42-63, 2007.

SANTOS, R. N.; NOGUEIRA, G. D. S.; FERREIRA, J. D. S.; VOLTOLINI, T.; NOGUEIRA, D. M. Produção de leite e rendimento de queijo de ovelhas mestiças Lacaune e Santa Inês suplementadas com diferentes fontes de energia: dados preliminares. In: **Embrapa Semiárido-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: JORNADA DE INTEGRAÇÃO DA PÓS-GRADUAÇÃO DA EMBRAPA SEMIÁRIDO, 3., 2018, Petrolina. Anais. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2018.

SAS INSTITUTE. UNIVERSITY EDITION, Versão 3.71 (Basic Edition). SAS/IML® 14.1: user's guide. Cary, NC, 2017.

SAUNDERS, G. D. A.; ALVES, N. G.; PÉREZ, J. R. O.; SOUZA, J. C. D.; MUNIZ, J. A.; NETO, J. Efeito da sobre alimentação com fontes de proteína de diferentes degradabilidades sobre a ovulação em ovelhas Santa Inês. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2010.

SCARAMUZZI R.J.; BROWN H.M.; DUPONT J.; *Nutritional and metabolic mechanisms in the ovary and their role in mediating the effects of diet on folliculogenesis: a perspective*. *Reprod Domest Anim*, p.45:32–41, 2010.

SCARAMUZZI, R. J.; ADAMS, N. R.; BAIRD, D. T.; CAMPBELL, B. K.; DOWNING, J. A.; FINDLAY, J. K.; HENDERSON, K. M.; MARTIN, G. B.; McNATTY, K. P.; McNATTY A. S.; TSONIS, C. G. A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 5, n. 5, p. 459-478, 1993.

SCARAMUZZI, R. J.; BAIRD, D. T.; CAMPBELL, B. K.; DRIANCOUR, M.A.; DUPONT, J.; FORTUNE, J. E.; GILCHRIST, R. B.; MARTIN, G. B.; McNATTY, K. P.; McNATTY, A. S.; MONGET, P.; MONNIAUX, D.; VIÑOLES, C.; WEBB, R. Regulation of folliculogenesis and the determination of ovulation rate in ruminants. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 23, n. 3, p. 444-467, 2011.

SCARAMUZZI, R. J.; CAMPBELL, B. K. Physiological regulation of ovulation rate in the ewe: a new look at an old problem. **Reproductive Physiology of Merino Sheep—Concepts and Consequences**. (Eds CM Oldham, GB Martin and IV Purvis.) pp, p. 71-84, 1990.

SCARAMUZZI, R. J.; CAMPBELL, B. K.; DOWNING, J. A.; KENDALL, N. R.; KHALID, M.; MUÑOZ-GUTIÉRREZ, M.; SOMCHIT, A. A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. *Reproduction Nutrition and Development*, v. 46, n. 4, p. 339-354, 2006.

SELAIVE, A. B.; OSÓRIO, J. C. S. *Produção De Ovinos No Brasil*. 1. Ed. São Paulo: Roca, 2017.

SENOSY, W.; ABDEL-RAHEEM, S. M.; ABD-ALLAH, M.; FAHMY, S.; HASSAN, E. H.; DERAR, R. I. Effect of transient high-energy diets just after ovulation on ovarian performance and metabolic status in cyclic ewes. **Small ruminant research**, v. 109, n. 2-3, p. 152-155, 2013.

SENOSY, W.; MAHMOUD, G. B.; ABDEL-RAHEEM, Sh M. Influence of short-term energy supplementation on estrus, ovarian activity, and blood biochemistry in Ossimi ewes synchronized with fluorogestone acetate in the subtropics. **Theriogenology**, v. 88, p. 152-157, 2017.

SILVA, J. R. V.; FIGUEIREDO, J. R.; HURK, R. V. D. Involvement of growth hormone (GH) and insulin-like growth factor (IGF) system in ovarian folliculogenesis. **Theriogenology**, v. 71, n. 8, p. 1193-1208, 2009.

SILVA, V. L.; BORGES, I.; ARAÚJO, A.; COSTA, H.; MESSIAS FILHO, F.; INÁCIO, D. F.; PAIVA, P. D. A.; ANCÂNTARA, P. B. X. Importância da nutrição energética e proteica sobre a reprodução em ruminantes. **Revista Acta Kariri-Pesquisa e Desenvolvimento**, v. 1, n. 1, 2016.

SILVEIRA, P.R.; ABREU, L.R. Rendimento e composição físico-química do queijo prato elaborado com leite pasteurizado pelo sistema HTST e injeção direta de vapor. **Ciência e Agrotecnologia**, v.27, p.1340-1347, 2003.

SILVEIRA, R. F.; COSTA, P. T.; FERNANDES, T. A.; MOREIRA, S. M.; SILVEIRA, I. D. B.; MORAES, R. E; LIMA GONZALEZ, H. Características produtivas e comportamentais de ovelhas Lacaune em diferentes estádios de lactação. **Revista Electrónica de Veterinária**, v. 18, n. 9, p. 1-11, 2017.

SIMÕES, J.; ALMEIDA, J. C.; VALENTIM, R.; BARIL, G.; AZEVEDO, J.; FONTES, P.; MASCARENHAS, R. Follicular dynamics in Serrana goats. **Animal Reproduction Science**, v. 95, n. 1-2, p. 16-26, Sep 2006.

SOTO-BLANCO, B. Gossipol e fatores antinutricionais da soja. **Toxicologia Aplicada à Veterinária. Manole, São Paulo**, p. 531-545, 2008.

SOUSA, R. T.; GONÇALVES, J. L.; FONTELES, N. L. O.; SANTOS, C. M.; RICCI, G. D.; FERNANDES, F. E. P.; BOMFIM, M. A. D. Características reprodutivas de ovelhas Morada Nova e Somalis Brasileira. **PUBVET**, v. 9, p. 467-501, 2015.

SOUZA, M. I. L., GRESSLER, L.; ALEXANDRINO, M.; URIBE-VELÁSQUEZ, L. F. Interrelationships of nutrition, metabolic hormones and reproduction of female sheep. **CES Medicina Veterinaria y Zootecnia**, v. 9, n. 2, p. 248-261, 2014.

SOUZA, M. I. L.; URIBE-VELÁSQUEZ, L. F.; OBA, E.; SÁ FILHO, O. G.; RAMOS, A. A. SECREÇÃO DE ESTERÓIDES OVARIANOS, EM OVELHAS MISTIÇAS DE RAÇAS EXPLORADAS PARA CORTE, EM DISTINTOS MOMENTOS REPRODUTIVOS, NO ESTADO DE SÃO PAULO. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 4, p. 1107-1113, 2008.

STRADIOTTO, M. D. M.; SIQUEIRA, E. R. D.; EMEDIATO, R. M. D. S.; MAESTÁ, S. A.; MARTINS, M. B. Efeito da gordura protegida sobre a produção e composição do leite em ovelhas da raça Bergamácia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 1154-1160, 2010.

TSUNEDA, P. P.; HATAMOTO-ZERVOUDAKIS, L. K.; JÚNIOR, M. F. D.; SILVA, L. E. S.; DELBEM, R. A.; MOTHEO, T. F. Efeitos da nutrição materna sobre o desenvolvimento e performance reprodutiva da prole de ruminantes. **Investigação**, v. 16, n. 1, 2017.

VASCONCELOS, A. M. D.; CARVALHO, F. C. D.; COSTA, A. P. D.; LOBO, R. N. B.; RAMALHO, R. C. Production and milk composition of sheep maintained in tropical region. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 18, n. 1, p. 174-182, 2017.

VIÑOLES, C.; FORSBERG, M.; MARTIN, G. B.; CAJARVILLE, C.; REPETTO, J.; MEIKLE, A. Short-term nutritional supplementation of ewes in low body condition affects follicle development due to an increase in glucose and metabolic hormones. *Reproduction*, v. 129, n. 3, p. 299-309, 2005.

VIÑOLES, C.; MEIKLE, A.; MARTIN, G. B. Short-term nutritional treatments grazing legumes or feeding concentrates increase prolificacy in Corriedale ewes. **Animal Reproduction Science**, v. 113, n. 1-4, p. 82-92, 2009.

ZANELA, M. B.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M. E. R.; STUMPF JUNIOR, W.; ZANELA, C.; MARQUES, L. T.; MARTINS, P. R. G. Qualidade do leite em sistemas de produção na região Sul do Rio Grande do Sul. *Pesquisa agropecuária brasileira*: 1977. Brasília. Vol. 41, n. 1 (jan. 2006), p. 153-159, 2006.

ZHANG, W.J.; Xu, Z. R.; Pan, X. L.; Yan, X. H.; Wang, Y. B. Advances in gossypol toxicity and processing effects of whole cottonseed in dairy cows feeding. **Livestock Science**, v. 111, n. 1, p. 1-9, 2007.

V. ANEXO I



**EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA
CENTRO DE PESQUISAS DO TRÓPICO SEMIÁRIDO – EMBRAPA SEMIÁRIDO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA**

CERTIFICADO

APROVADO!
Regiane

Certificamos que a proposta intitulada "*Efeito de diferentes fontes de energia no concentrado de ovelhas em pastejo sobre os parâmetros reprodutivos e composição físico-química do leite*", registrada com o nº 05/2017, sob a responsabilidade de Daniel Maia Nogueira - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Embrapa Semiárido, em reunião de 10/07/2017.

Finalidade	() Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	11/07/2017 a 30/12/2019
Espécie/linhagem/raça	Ovis aries – Ovinos mestiços, Lacaune X Santa Inês
Nº de animais	51(cinquenta e um)
Peso/Idade	35 a 50kg /18 a 48 meses
Sexo	Machos e fêmeas
Origem	Campo Experimental de Bebedouro – ovinos de corte

Josir Laine Aparecida Veschi
 Coordenadora
 CEUA EmbrapaSemiárido

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro de Pesquisa do Trópico Semiárido
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
Rodovia BR 428, km 152. Zona Rural
Caixa Postal 23 – CEP 56302-970 Petrolina PE
Telefone (87) 3866 3600 Fax (87) 3866 3815
www.embrapa.br/semiarido
E-mail: cpntsa.ceua@embrapa.br*

VI. ANEXO II

**Artigo completo submetido ao periódico científico
Revista Brasileira de Zootecnia**

**Physicochemical composition of the milk and the yield of
cheese from sheep supplemented with different energy sources**

Regiane Nascimento Santos; George Henrique Melo de Sá
Marquim Ferraz Nogueira; Daniel Maia Nogueira; Tadeu Vinhas
Voltolini; Edilson Soares Lopes Júnior

Physicochemical composition of the milk and the yield of cheese from sheep supplemented with different energy sources

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effects of nutritional supplementation with different energy sources during the lactation period on the production and physicochemical composition of the milk and the yield of cheese from sheep. The study was carried out at the experimental station of Embrapa Semiárido, using 12 crossbred ewes of Lacaune x Santa Inês. The treatments were elaborated to contain three sources of energy and were given during 63 days of supplementation: grazing of Tifton 85 (Pasture), crushed corn (Corn) and cottonseed (Cotton). Analysis of Variance (ANOVA) was used, followed by the Tukey test and the differences were considered significant when $P < 0.05$. The results showed that there were no significant differences ($P < 0.05$) between Pasture, Corn and Cottonseed groups for the sheep's milk production and the initial and final body weight of the sheep. There were significant differences ($P < 0.05$) in components of sheep milk (protein, lactose, non-fat solids, mineral and freezing point), but there was no difference ($P > 0.05$) for fat content. The milk in Cottonseed group presented better cheese yield, however, the diet containing corn presented the best benefit/cost ratio. Although long-term supplementation does not promote increased milk production in the evaluated groups, supplementation with cottonseed promotes an increase in the physicochemical composition of the milk and, consequently, a higher yield of the cheeses produced. However, the diet containing corn shows the best cost-benefit relationship and is expected to be the main diet to be chosen by sheep producers.

INTRODUCTION

The Northeastern region of Brazil stands out in sheep farming, as it owns approximately 65.7% of the national herd and is the second largest producer of sheep milk (538 L) in the country (IBGE, 2017). Nevertheless, dairy sheep farming still is a growing area in Brazil (Peruzzi et al., 2016). An additional topic of interest for the production of small ruminants is the fact that it offers excellent possibilities of economic

profitability, which is particularly important for arid and semi-arid regions (Sampelayo et al., 2007).

Sheep milk has elevated levels of protein, fat, minerals and vitamins, standing out for its high nutritional value, when compared to the milk of other domestic species (Balthazar et al., 2017). However, sheep milk is rarely consumed “in natura” (Blagitz et al., 2013). Due to its high total solids content, sheep milk is excellent for producing dairy products, such as cheese and yoghurt (Ribeiro et al., 2007), that can be consumed by people with lactose intolerance (Selaive and Osório, 2017).

The kind of supplementation that the sheep are given, may influence the yield and quality of their milk (Santos et al., 2017) as well as, in consequence, the quality of all derivatives. Corn is commonly used as nutritional supplementation for sheep, as it has a high energy content (Paes, 2006). Cottonseed is a great option for nutritional supplementation of sheep, as it provides the animal with protein and energy (Rógerio et al., 2004). Appropriate animal nutrition allows for high yield with maximum levels of protein and fat, which are the main ingredients to determine the quality of the produced cheese (Sampelayo et al., 2007).

It was observed that there is no information on the effects of different energy sources in concentrate for dairy sheep in the semi-arid region of Northeastern Brazil. We hypothesized that nutritional supplementation with cottonseed or corn might increase the amount of dry extract in the milk, thus increasing the yield in cheese manufacture. Therefore, the present study aimed to evaluate of the effects of supplementation with different energy sources during the lactation period on the physicochemical composition of the milk and the yield of cheese of Lacaune x Santa Inês crossbred ewes.

MATERIALS AND METHODS

Ethical aspects

All procedures were carried out in accordance to the guidelines for ethics and animal well-being. Research on animals was conducted according to the institutional committee on animal use 05/2017.

Location

The present study was carried out at Bebedouro Experimental Field, in the municipality of Petrolina, Pernambuco state, (09°09'S of latitude, 40°22'O of longitude). Average annual rainfall in the region is about 567 mm, temperatures vary from 24.2°C to 28.2°C, and annual relative humidity ranges from 66% to 71.5%.

Experimental design

For the experiment, 12 Lacaune x Santa Inês crossbred ewes were selected and held on irrigated Tifton 85 pasture. All animals were healthy, with single lamb deliveries, and at the end of lactation period (initial yield 500 mL). Three ewes were in their first lactation, the other nine had had two or more lactations. The body score varied from 2.75 to 4.0 (scale from 1 to 5) and the body weight was 42.3 ± 1.3 Kg animal⁻¹ at the beginning of the experiment.

After lambing, the ewes were allocated in three experimental groups, in a Latin Square experimental design (3x3), carried out in three periods of 21 days each (16 days of adaptation and five days of data collection). Animals were allocated in three experimental groups: i) Pasture: grazing on Tifton 85 grass without concentrate

supplementation; ii) Cottonseed: grazing on Tifton 85 grass with cottonseed supplementation; iii) Corn: grazing on Tifton 85 grass with ground corn supplementation. The feed supplementation with cottonseed or with corn was offered in the mornings at an average of 500 g animal⁻¹ day, and was calculated to meet, together with the pasture, the amount of total digestible nutrients (TDN) and crude protein, according to NRC (2007), as described in Table 1, granting *ad libitum* access to water and mineral salt. In order to control consumption and leftover feed, the sheep were kept in individual stalls for three hours after milking, with water and mineral salt *ad libitum*, and only then released to the pickets.

Feed consumption

Total dry matter intake (DMI) and forage dry matter intake (DMI) was estimated. The daily dry matter intake was determined by collecting all leftovers and assessing the difference between provided feed and concentrate leftovers.

For the estimation of total DMI and forage DMI, titanium dioxide was used as external marker to estimate fecal excretion. Titanium dioxide was provided in 2.0g capsules on a daily basis for a period of 15 days, with 10 days of adaptation and five days of data collection, as described by Barros et al. (2012). Fecal collection was performed directly from the rectum of the animal, in the morning, before feeding.

The total digestible nutrient intake (TDNI) was estimated by the difference: TDNI = TDNI pasture + TDNI concentrate. Crude protein intake (CPI) was estimated by the relation between the crude protein intake of the not supplemented flock: CPI = total DMI x CP of the pasture and the supplemented flock: CPI = (DMI forage x CP forage) + (DMI conc x CP conc).

The collected material (forage, concentrate and leftovers) was taken to the Laboratory for Animal Nutrition at Embrapa Semiárido for chemical-bromatological assessment. The determination of the levels of dry matter (DM), mineral matter (MM), organic matter (OM), crude protein (CP) and ethereal extract (EE) of the feed and the leftovers was carried out in accordance to the specifications described in AOAC (1995): dry matter (DM; method 967.03), mineral matter (MM; method 942.05), protein (CP; method 981.10), ethereal extract (EE; method 920.29). The fiber content in neutral detergent (FND) was estimated following the recommendations of Mertens (2002), and the fiber content in acid detergent (FAD) was obtained according to the description by Van Soest et al. (1991), and can be seen in Table 1.

Analysis of yield and physicochemical composition of sheep milk

The evaluation of yield and physicochemical composition of sheep milk was carried out individually as well as collectively, for each of the three experimental groups (Pasture, Cottonseed, and Corn). To determine milk yield, the ewes were milked individually, for five consecutive days. The mechanical milking was continued until the complete emptying of the udder.

The milk yield was corrected for 6.5% fat and 5.8% protein, using the equation described by Pulina et al. (2005):

$$\text{FCM (6.5)} = M (0.37 + (0.097F))$$

$$\text{FPCM (6.5; 5.8)} = M (0.25 + (0.085F) + (0.035P))$$

Where:

FCM, FPCM = Fat (and protein) corrected milk;

M = Milk yield (Kg);

F = Milk fat content (%);

P = Milk protein content (%).

The milk from each animal was weighed, where after 100 mL individual milk samples were collected, placed in identified Falcon tubes, and stored for posterior analysis. To determine the physicochemical composition of the sheep milk, a milk analyzer Master Classic, brand AKSO Brasil, calibrated for sheep, was used, where all analyses for fat, defatted dry extract, density, proteins, lactose, and freezing point were performed with the milk samples obtained from each animal.

Analysis of yield of cheeses made from sheep milk

To determine the yield of rennet cheese, three milk samples of 10 liters were collected from each experimental flock (Pasture, Cottonseed, and Corn), in each period. The cheese yield was obtained by calculating how many liters of milk were needed for producing each Kg of cheese, as described by Silveira and Abreu (2003). The rennet cheese was hand-produced on the local farm, by separating the milk serum after the coagulation of the milk (Ordóñez et al., 2005).

Cost-benefit analysis of feed

An economical analysis was carried out considering the cost of ingredients for each ingredients of the diet as well as for the milk production. For the calculation of feed cost, the per-Kg price of each ingredient was considered, as well as its proportion in each

diet, as follows: $C = \text{Pro} \times \text{Pri}$. Where C is the cost of the diet ingredient; Pro: is the proportion of ingredients used in the diet; Pri: is the price per Kg of each ingredient.

A survey of feed cost during the experiment was carried out for each experimental group with respect to the value of the produced milk in order to obtain the cost/benefit ratio (R\$ 63 days⁻¹). The cost of a liter of sheep milk was considered at R\$ 5.00, and the one of cheese at R\$ 40.00 per Kg. These values were estimated in November 2018.

Data analyses.

A quadruple 3x3 Latin Square design was used, with 12 animals and 36 observations for each variable. Initially, data were submitted to the Kolmogorov-Smirnov normality test, and afterwards an analysis of variance (ANOVA) was carried out. The ANOVA, followed by a Tukey test, was used to compare the effects of the experimental groups on the variation of body weight, yield and physicochemical composition of the milk, and for consumption analyses of dry matter and nutrients in the diets. The Statistical Software SAS University (2017) was used, and the differences were considered significant when $P < 0.05$. Descriptive statistics was used for analysis of cheese yield and cost-benefit relationship.

The statistical model used was:

$$Y_{ijk} = \mu + P_i + A_j + T_k + E_{ijkl}$$

in which Y_{ijk} = is the dependent variable; μ = is the overall mean; P = is the effect of period; A = is the effect of animal; T = is the effect of treatment (diet); and E_{ijk} is the random error effect.

RESULTS

No significant differences ($P > 0.05$) for fat- and protein-corrected milk yield (FPCM) ($\text{g animal}^{-1}\text{day}$) were observed between the experimental groups (Figure 1). Significant differences ($P < 0.05$) were observed for all components of the sheep milk, except for the fat content. The milk from the Cottonseed group showed higher concentrations ($P < 0.05$) of dry extract, protein, minerals and lactose when compared to the Pasture and Corn groups (Table 2).

The results obtained in the present study show that there were no significant differences ($P < 0.05$) between the groups (Pasture, Corn, and Cottonseed) for initial and final weight of the ewes (Figure 2).

It was observed that the total DMI was higher ($P < 0.05$) in the Cottonseed group when compared to the other two groups (Table 3). The consumption of concentrate dry matter (DMI conc) was higher for Cottonseed than for Corn group. Furthermore, it was observed that the ingestion efficiency differed between all groups, being highest for Cottonseed, followed by Corn, and least for Pasture group (Table 3).

The yield for rennet cheese is shown in Table 4. The animals in the Cottonseed group achieved the highest cheese yield, with 4.0 liters of sheep milk for each kilogram of manufactured cheese, being therefore better than the other groups. For the Pasture group, 5.43 liters of sheep milk were needed, and for the Corn group 5.45 liters for each Kg of manufactured cheese (Table 4).

The costs generated by the investment in the feed supplementation for the ewes are described in Table 5. It was observed that the generated costs for the purchase of the forage (Pasture) was higher than the ones for Corn.

DISCUSSION

The results showed that the nutritional supplementation modified the physicochemical composition of the milk. In the physicochemical analysis of the sheep milk, the fat content was the only parameter that did not differ among the treatments (Table 2). Nevertheless, the fat content in sheep milk may vary significantly according to the compounds in diets provided to sheep (Peruzzi et al., 2016). The similarity ($P > 0.05$) in fat content among the experimental groups may be explained as the fat content is higher at the end of the lactation period, which was when the samples were collected, and when all ewes produce high lipid concentration in the milk. Another possible explanation would be the ruminating efficiency, which was similar between the evaluated groups, varying from 0.17 to 0.21 Kg^{-1} of DM h^{-1} (Table 3).

In the present study, the concentrations of fat in the milk are in accordance with those found by Fava et al. (2014), who reported physicochemical analyses of sheep milk from different farms and observed fat content varying from 7.99 to 8.28%. These values are higher than the ones observed by Ribeiro et al. (2007), who analyzed the milk of Santa Inês ewes treated with oxytocin, which presented 5.84% of fat. Howsoever, the data are consistent with the ones found by Brito et al. (2006), who assessed Lacaune sheep, fed corn silage and green pasture (Tifton, oats and ryegrass) from the beginning to the end of lactation, being that during the final lactation period the milk fat content was at 7.02%. Yet another factor that may influence the fat content is the quantity of provided concentrate.

According to Carneiro et al. (2015), a high level of concentrate in the diet reduces the production of acetic acid, being that this volatile fatty acid (VFA) is the main precursor for lipogenesis. A lesser production of this acid results in lesser change in the

fat content of milk. Still according to these authors, a variation in fat content may occur due to the forage provided in the diet.

In the present study, the protein content was higher in the milk of ewes supplemented with cottonseed. This may be explained by the high levels of protein in the cottonseed group, which led to a higher intake of protein. However, the protein content found in the present study was lower than the one found by Fava et al. (2014), who analyzed sheep milk from different farms and obtained 5.25 to 5.27% protein in the physicochemical analyses. The proteins present in milk are synthesized from the dietary protein supplementation, in part circulating in the blood plasma, the rest being synthesized in the mammary gland (Selaive and Osório, 2017).

In relation to the lactose content, the present study observed that there was an influence of the diet on its concentration, seeing that the proportion of concentrate in the diet promotes an increased production of propionic acid in the rumen, which is a precursor of glucose formation in the liver and in the mammary gland (Pradieé et al., 2010). The amount of circulating glucose, on the other hand, influences the synthesis of lactose, which is produced from the glucose in the blood; the mammary tissue isomerizes it to galactose and binds it to other glucoses to form a lactose molecule (Ordóñez et al., 2005).

The higher yield of cheese from animals supplemented with cottonseed (Table 4) may be explained by greater composition of non-fat solids for the Cottonseed flock when compared to the other experimental group (Table 2).

The cheese production is also influenced by the type and quality of the bulky feed offered to the animal. Pasture with a high fiber/energy relationship increases the fat content and enhances the cheese quality (Merlin Junior et al., 2015). In the present study, the cheese yield was similar to the one achieved by Emediato (2007), who provided

Bergamacia sheep with diets containing cottonseed meal and ground corn and observed a yield of 5.91 L milk Kg⁻¹ cheese for “Prato” type cheese (Brazilian soft cheese) and a yield of 7.34 L⁻¹ milk Kg⁻¹ cheese for Roquefort type cheese. It is noteworthy that the yield of 4.0 to 5.45 liters of sheep milk (Table 4) for each kilogram of manufactured cheese is significantly higher than the yield of goat cheese, which usually is of 10.00 to 11.00 liters of goat milk for each kilogram of cheese (Raimundo et al., 2015).

In the present study, the individual as well as the overall sheep milk production (Figure 1) did not increase with the supply of diets including corn and cottonseed, most probably because the ewes were in the final stage of lactation. Milk production as well as milk composition are influenced by the stage of lactation (beginning or the end of lactation period) as they present inverse curves during the period (Lemos et al., 2013). The peak in the lactation curve occurs between the third and fifth week of lactation and after this the milk production decreases rapidly (Bencine, 2001).

In comparison to the data of the present study, Vasconcelos et al. (2017) assessed the milk yield of Rabo Largo sheep and observed a greater individual milk yield. However, no difference was observed between the flock supplemented with leucaena and ground corn (1.13 kg milk⁻¹ day) and the flock that did not receive concentrate supplementation (1.0 kg milk⁻¹ day). According to the same authors, the milk yield was evaluated during a period of 10 weeks, starting after the colostral period.

When assessing the milk yield of ewes Lacaune and Santa Inês, pure and crossbred, Ferreira et al. (2011) observed that ½ LacauneX½ Santa Inês ewes (1.55 L milk⁻¹ day) produced larger quantities of milk than ¾ Lacaune ewes (1.33 L milk⁻¹ day) and pure Santa Inês ewes (1.0 L milk⁻¹ day). Silveira et al. (2017) evaluated the productive performance of Lacaune ewes at different stages of lactation and found the greatest productivity on the tenth day of lactation with an average yield of 1.5 L milk⁻¹ day,

decreasing to $0.67 \text{ L}^{-1} \text{ day}$ at 90 days and $0.096 \text{ L}^{-1} \text{ day}$ at 150 days of lactation. In addition, Ribeiro et al. (2007) observed a mean total milk production of $0.82 \text{ Kg milk}^{-1} \text{ day}$ for Santa Inês ewes receiving oxytocin, comparatively higher than the one of ewes that did not receive oxytocin ($0.54 \text{ Kg milk}^{-1} \text{ day}$).

No publications were found on the use of cottonseed as supplementation for lactating ewes. However, according to Melo et al. (2006), although supplementation of Holstein cows with cottonseed does not result in changes in milk yield, there is an increase in milk components, such as fat and protein. These results of similar milk yield and percentage of milk fat after cottonseed supplementation corroborate the findings of our present work, seeing that the milk yield did not differ among groups (Figure 1).

According to NRC (2007), lactating ewes with a body weight between 40 and 50 Kg^{-1} should ingest between 1.09 and $1.26 \text{ Kg}^{-1} \text{ day}$ of dry matter. In the present study, the highest DMI and the greater intake efficiency (Table 3) in the Cottonseed group explains the higher physicochemical composition of the sheep milk (Table 2) and in cheese yield (Table 4) in the Cottonseed group compared to the other groups.

The dry matter intake increases with advancing lactation, elevating the production of milk as well as the energetic needs of the animal (Joy et al. 2014). To obtain energy, ruminants depend on micro-organisms (bacteria and protozoa) that produce enzymes which decompose the food in fermentative digestion and afterwards convert in volatile fatty acids (VFA), the energy source of ruminants (Colville and Bassert, 2011). Therefore, the quantity of fiber in the diet is also essential for maintaining the appropriate balance of the ruminal fermentation (Dias et al., 2001), and hence the animal health (Carneiro et al., 2015).

During lactation, there is an energy mobilization for milk synthesis (Joy et al., 2014), therefore, a greater production of milk will result from a greater energy reserve that the animal may have (Vasconcelos et al., 2017). In the present study, the nutritional supplementation started during the last stage of lactation, which might explain the maintenance on body weight of the animals (Figure 2). However, when compared to the Pasture group, the animals supplemented with corn and cottonseed showed a non-significant ($P > 0.05$) increase in weight due to the greater contribution of protein and energy in these diets. Similar results were obtained by Joy et al. (2014), who analyzed Ojinegra de Turuel sheep and did not observe changes in the weight of animals supplemented with concentrate.

Body weight changes may also be observed in highly productive animals, seeing that their nutritional needs are greater than their ingestive capacity (Selaive and Osório, 2017). These changes are not seen in sheep with medium or low production.

The hypothesis, that the energy obtained from cottonseed could substitute corn as energy source for supplementation of Lacaune x Santa Inês crossbred sheep, and increase the quantity of dry extract in the milk, thus allowing higher cheese yield, was accepted, seeing that the animals from cottonseed group showed greater cheese yield.

CONCLUSIONS

The supplementation with cottonseed promotes an increase in the physicochemical composition of the milk of Lacaune x Santa Inês crossbred ewes and, consequently, a greater yield of manufactured cheeses. However, the corn diet shows the best cost-benefit relationship and is expected to be the main diet to be chosen by sheep

producers.

REFERENCES

- AOAC - Association of Official Analytical Chemists. 1995. Official methods of analysis of the Association of the Analytical Chemists. 16th ed. Washington.
- Balthazar, C. F.; Pimentel, T. C.; Ferrão, L. L.; Almada, C. N.; Santillo, A.; Albenzio, M.; Mollakhalili, N.; Mortaavian, A. M.; Nascimento, J. S.; Silva, M. C.; Freiras, M. Q.; Sant'ana, A. S.; Granato, D. and Cruz, A. G. 2017. Sheep milk: Physico chemical characteristics and relevance for functional food development. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 16:247-262.
- Barros, L. V.; Silva, A. G. and Benedeti, P. D. B. 2012. Avaliação do dióxido de titânio em amostras fecais. p. 205-214. In: Métodos para análises de alimentos.
- Bencine, R. 2001. Factors affecting the quality of ewe's milk. p. 52-83. In: Proceedings of The 7th Great Lakes Dairy Sheep Symposium, Wisconsin, USA.
- Blagitz, M. G.; Batista, C. F.; Gomes, V.; Souza, F. N. and Libera, A. M. M. D. 2013. Características físico-químicas e celularidade do leite de ovelhas Santa Inês em diferentes estágios de lactação. *Ciência Animal Brasileira* 14:454-461.
- Brito, M. A.; Gonzalez, F. H.D.; Ribeiro, L. A. O.; Campos, R.; Lacerda, L. D. A.; Barbosa, P. R. and Bergmann, G. P. 2006. Composição do sangue e do leite em ovinos leiteiros do sul do Brasil: variações na gestação e na lactação. *Ciência rural*. Santa Maria 36:942-948.
- Caja, G. and Bocquier, F. 2000. Effects of nutrition on the composition of sheep's milk. *Cahiers Options Méditerranéennes* 52:59-74.
- Carneiro, W. P.; Ramos, J. P. F.; Pimenta Filho, E. C. and Moura, J. F. P. 2015. Utilização de Carboidratos não Fibrosos na Alimentação de Cabras Leiteiras: Composição e Perfil Lipídico. *Revista Científica de Produção Animal* 17:50-60.
- Colville, T. and Bassert, J. M. 2011. Anatomia e Fisiologia Clínica para Medicina Veterinária. Elsevier Health Sciences.
- Dias, A. M. A.; Batista, A. M. V.; Ferreira, M. A.; Lira, M. A. and Sampaio, I. B. M. 2001. Efeito do estágio vegetativo do sorgo (*Sorghum bicolor*, (L.) Moench) sobre a composição química da silagem, consumo, produção e teor de gordura do leite para vacas em lactação, em comparação à silagem de milho (*Zeamays* (L.)). *Revista Brasileira de Zootecnia* 30:2086-2092.
- Emediato, R. M. D. S. 2007. Efeito da gordura protegida sobre parâmetros produtivos de ovelhas da raça Bergamácia e na elaboração de queijos. 95 f. Tese (D.Sc.). Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil.
- Fava, L. W.; Kulkamp-Guerreiro, I. C. and Pinto, A. T. 2014. Rendimento de coalhada obtida a partir de leite fresco, resfriado e congelado de ovelhas da raça Lacaune e caracterização física do soro obtido. *Ciência rural* 44:937-942.
- Ferreira, M. I. C., Borges, I., Macedo Junior, G. L., Rodriguez, N. M., Penna, C. F. A. M., Souza, M. R. and Cavalcanti, L. F. 2011. Produção e composição do leite de ovelhas Santa Inês e mestiças Lacaune e Santa Inês e desenvolvimento de seus cordeiros. Embrapa Caprinos e Ovinos - Artigo em periódico indexado (ALICE).
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e estatística. 2017. Censo Agropecuário: resultados preliminares. 7:1-108.
- Joy, M.; Ripoll-Bosch, R.; Sanz, A.; Molino, F.; Blasco, I. and Álvarez-Rodríguez, J. 2014. Effects of concentrate supplementation on forage intake, metabolic profile and

- milk fatty acid composition of unselected ewes raising lambs. *Animal Feed Science and Technology* 187:19-29.
- Lemos, V. F., Guaraná, E. L., Afonso, J. A., Fagliari, J. J., Silva, P., Soares, P. C. and Mendonça, C. L. 2013. Proteinograma do soro lácteo de ovelhas da raça Santa Inês em diferentes fases de lactação. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 33:807-812.
- Melo, A. A. S.; Faria, M. A.; Vêras, A. S. C.; Lira, M. A.; Lima, L. E.; Pessoa, R. A. S. and Azevedo, M. 2006. Desempenho leiteiro de vacas alimentadas com caroço de algodão em dieta à base de palma forrageira. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 41:1165-1171.
- Merlin Junior, I. A.; Costa, R. G.; Costa, L. G.; Ludovico, A.; Rego, F. C. D. A.; Aragon-Alegro, L. C. and Santana, E. H. W. D. 2015. Ovinocultura leiteira no brasil: aspectos e fatores relacionados à composição, ao consumo e à legislação. *Colloquium Agrariae* 11:38-53.
- Mertens, D. R. 2002. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beaker or crucibles: collaborative study. *Journal of AOAC International* 85:1217-1240.
- NRC - National Research Council. 2007. Nutrients requirements of sheep.
- Ordoñez, J. A. Rodriguez, M. I. C., Sanz, M. L. G., Minguillón, G. D. G. F., Perales, L. H. and Cortecero, M. D. S. 2005. Tecnologia de alimentos: alimentos de origem animal. Porto Alegre.
- Paes, M. C. D. 2006. Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho. Sete Lagoas, MG: Embrapa Milho e Sorgo.
- Peruzzi, A. Z.; Monreal, A. C. D.; Caramalac, S. M. and Caramalac, S. M. 2016. Produção leiteira e análise centesimal do leite de ovelhas da raça Santa Inês. *Revista Agrarian* 9:182-191.
- Pradieé, J.; Gonçalves, M.; Kessler, J. D.; Vilanova, M. S.; Arnoni, R. K.; Esteves, R. M. G.; Ferreira, O. G. L.; Corrêa; Osório, M. T. M. and Osório, J. C. S. 2010. Produção e composição química do leite de ovelhas Texel alimentadas com diferentes fontes de óleo na ração. *PUBVET* 4:816-822.
- Pulina, G., Macciotta, N. and Nudda, A. 2005. Milk composition and feeding in the Italian dairy sheep. *Italian Journal of Animal Science*, 4:5-14.
- Raimundo, A. J. F.; Cabrita, A.; Laranjeira, C.; Oliveira, A.; Dias, I. and Cristina, J. 2015. Efeitos do tipo de salga no valor do pH, na concentração de sal e no rendimento de um queijo de cabra curado. *Revista da UIIPS* 3:84-99.
- Ribeiro, L. C., Pérez, J. R. O., Carvalho, P. H. A., Silva, F. F., Muniz, J. A., Oliveira Júnior, G. M. and Souza, N. V. 2007. Produção, composição e rendimento em queijo do leite de ovelhas Santa Inês tratadas com ocitocina. *Revista Brasileira de Zootecnia* 36:438-444.
- Rogério, M. C. P., Borges, I., Teixeira, D. A. B., Rodriguez, N. M. and Gonçalves, L. C. 2004. Efeito do nível de caroço de algodão sobre a digestibilidade da fibra dietética do feno de Tifton 85 (*Cynodon spp.*) em ovinos Effect of level of whole cottonseed on digestibility of dietary fiber in sheep. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 56:665-670.
- Sampelayo, M. S., Chilliard, Y., Schmidely, P. and Boza, J. 2007. Influence of type of diet on the fat constituents of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research* 68:42-63.
- Santos, M. P., Godoy, M. M., Souza, C. L., Assis, R. M. and Sena, C. V. B. 2017. Desempenhos produtivo e reprodutivo de ovelhas Santa Inês alimentadas com dietas suplementadas com gordura protegida no pós-parto. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 52:548-556.

SAS INSTITUTE. 2017. SAS/IML® 14.1: user's guide. Cary, NC,

Selaive, A. B. and Osório, J. C. S. 2017. Produção de ovinos no Brasil. 1. Ed. Roca. São Paulo, SP.

Silveira, P.R. and Abreu, L.R. 2003. Rendimento e composição físico-química do queijo prato elaborado com leite pasteurizado pelo sistema HTST e injeção direta de vapor. *Ciência e Agrotecnologia* 27:1340-1347.

Silveira, R. F.; Costa, P. T.; Fernandes, T. A.; Moreira, S. M.; Silveira, I. D. B.; Moraes, R. E and Gonzalez, H. L. 2017. Características produtivas e comportamentais de ovelhas Lacaune em diferentes estádios de lactação. *Revista Electrónica de Veterinária* 18:1-11.

Van Soest, PV, Robertson, J. B. and Lewis, B. A. 1991. Métodos para fibra dietética, fibra em detergente neutro e polissacarídeos não-amidos em relação à nutrição animal. *Journal of dairy science* 74:3583-3597.

Vasconcelos, A. M. D.; Carvalho, F. C. D.; Costa, A. P. D.; Lobo, R. N. B. and Ramalho, R. C. 2017. Production and milk composition of sheep amaintained in tropical region. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal* 18:174-182.

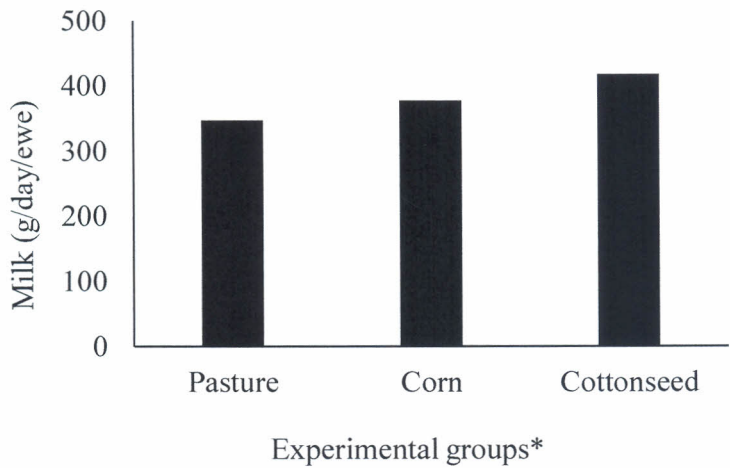


Figure 1 – Mean of milk production of crossbred ewes Lacaune x Santa Inês supplemented with different energy sources, corrected for 6.5% (fat) and 5.8 (protein).

*There were no differences ($P > 0.05$) in the sheep milk production among groups.

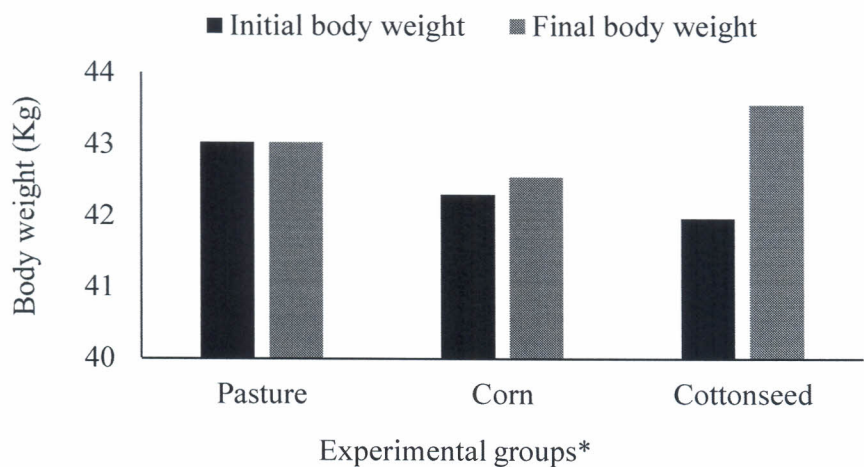


Figure 2 – Mean of body weight of crossbred ewes Lacaune x Santa Inês supplemented with different energy sources. *There were no differences ($P > 0.05$) in the body weight among groups.

Table 1 – Centesimal composition and bromatology of concentrates and of forage (% DM) provided to Lacaune x Santa Inês crossbred sheep.

Ingredients/Nutrients	Corn	Cottonseed	
	Centesimal composition (g kg ⁻¹ dry matter)		
Ground corn	880		479
Whole cottonseed	-		500
Soybean meal	95		10
Urea	15		1
Mineral salts*	10		10
	100		100
	Bromatology composition (g kg ⁻¹ dry matter)		
	Pasture	Corn	Cottonseed
Dry matter ¹	895.6	839.4	851.9

Crude protein ²	147.8	197.3	243.1
NDF ²	748.3	539.8	571.1
ADF ²	355.4	53.0	240.8
Ether extract ²	19.2	41.4	112.6
IVDMD	559.0	708.6	656.2
TDNI**	525.8	748.8	669.0

¹ percent as fed. ²dry matter percentage. NDF = Neutral detergent Fiber; ADF = Acid detergent Fiber; IVDMD = in vitro dry matter digestibility; TDNI = Total digestible nutrient intake. *Mineral salts = Centesimal composition of commercial mineral salt Uniphos® P-45 sheep: Calcium (g kg⁻¹): 220.0; Phosphorus (g kg⁻¹): 45.0; Magnesium (mg kg⁻¹): 7.0; Sulfur (g kg⁻¹): 8.0; Chlorine (g kg⁻¹): 180.0; Sodium (g kg⁻¹): 90.0; Cobalt (mg kg⁻¹): 29.0; Copper (mg kg⁻¹): 120.0; Iodine (mg kg⁻¹): 30.0; Manganese (mg kg⁻¹): 1.600.0; Selenium (mg Kg⁻¹): 9.0; Zinc (mg kg⁻¹): 1.300.0; Iron (mg kg⁻¹): 1.300.0; Fluor (mg kg⁻¹): 650.0. **TDNI forage = 83.79-(0.4171FND) TDNI concentrate = 77.13-(0.425FAD) (CAPPELLE et al., 2001).

Table 2 - Mean (\pm SEM) of physicochemical composition of the milk of crossbred ewes Lacaune x Santa Inês supplemented with different energy sources.

Components (%)	Experimental groups			S.E.M.	P-value
	Pasture	Corn	Cottonseed		
Fat	6.5 \pm 0.49	6.5 \pm 0.59	7.36 \pm 0.73	0.60	0.2593
NFS	11.5 \pm 0.29b	12.0 \pm 0.20b	13.1 \pm 0.53a	0.41	0.0036
Protein	4.26 \pm 0.11b	4.47 \pm 0.07b	4.87 \pm 0.20a	0.15	0.0037
Minerals	0.93 \pm 0.02b	0.98 \pm 0.01b	1.06 \pm 0.04a	0.03	0.0038
Lactose	6.33 \pm 0.15b	6.65 \pm 0.11b	7.23 \pm 0.29a	0.22	0.0038

NFS = Non-fat solids; P = Probability; S.E.M = Standard error of the mean. Mean with different letters (a,b) in the same row differ ($P < 0.05$).

Table 3 – Mean of concentrate intake, pasture intake and total dry matter intake of ewes Lacaune x Santa Inês supplemented with different energy sources.

Intake (kg day ⁻¹)	Experimental groups			S.E.M.	P-value
	Pasture	Corn	Cottonseed		
DMI Concentrate	0.00c	0.288b	0.369a	0.03	0.0496
DMI forage	1.09a	0.755b	0.848b	0.08	0.0045
DMI total	1.07	1.04	1.21	0.07	0.1152
CPI	0.17b	0.18b	0.22a	0.01	0.0015
TDNI	0.58	0.62	0.69	0.03	0.0935
Intake efficiency (Kg ⁻¹ DM h ⁻¹)	0.12b	0.15a	0.17a	0.01	0.0022
Rumination efficiency (Kg ⁻¹ DM h ⁻¹)	0.21	0.17	0.21	0.02	0.2814

DMI = Dry matter intake; CPI = Crude protein intake; TDNI = Total digestible nutrient intake; P = Probability; S.E.M = Standard error of the mean. Mean with different letters (a,b,c) in the same row differ (P < 0.05).

Table 4 – Yield of rennet cheese of milk ewes Lacaune x Santa Inês supplemented with different energy sources.

	Experimental groups		
	Pasture	Corn	Cottonseed
Milk used (L ⁻¹)*	30	30	30
Cheese yield (kg ⁻¹)	5.53	5.50	7.50
Yields (L kg ⁻¹)	5.43	5.45	4.00

*Three milk samples of 10 L⁻¹ of sheep's milk, totaling 30 L⁻¹ / treatment.

Table 5 - Cost of diet, total cost of consumption, cost of milk production, cost of cheese and cost/benefit ratio of ewes Lacaune x Santa Inês supplemented with different energy sources.

Cost	Experimental groups		
	Pasture	Corn	Cottonseed

Diet (R\$ kg ⁻¹)	1.40	1.36	1.71
Total cost of consumption (R\$ 63 days ⁻¹)	93.87	85.68	129.78
Milk yield (R\$ 63 days ⁻¹ ewe ⁻¹)	109.25	118.75	131.60
Cheese (R\$)	221.20	220.00	300.00
Cost/benefit ratio (%)	2.35	2.56	2.31

Cost of ingredients: Forage = R\$ 1.40 kg⁻¹; Corn = R\$ 0.81 kg⁻¹; Soy = R\$ 1.84 kg⁻¹; Urea = R\$2.50 kg⁻¹; mineral salt = R\$1.80 kg⁻¹; Cottonseed: R\$1.73 kg⁻¹. Milk = R\$ 5.00 L⁻¹; Cheese = R\$ 40.00 kg⁻¹.