TÓPICOS ESPECIAIS EM CIÊNCIA ANIMAL III

Bruno Borges Deminicis & Carla Braga Martins

Editora CAUFES
2014

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-61890-56-8
9 788561 890568

Bruno Borges Deminicis
Carla Braga Martins
(ORGANIZADORES)

Tópicos especiais em Ciência Animal III

1ª Edição

Alegre, ES

CAUFES

2014

©Copyright by Autores e Organizadores, Alegre (ES), 2014.

Todos os direitos reservados.

Revisão de Texto: Bruno Borges Deminicis & Carla Braga Martins.

Editora: CAUFES.

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)

(Biblioteca Setorial de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

T674 Tópicos especiais em Ciência Animal III / Bruno Borges Deminicis, Carla Braga Martins, organizadores. – Alegre, ES : CAUFES, 2014.

366 p. : il. ; 21x29,5 cm.

ISBN: 978-85-61890-56-8

1. Espírito Santo (Estado). 2. Medicina Veterinária. 3. Zootecnia. 4. Simpósio. 5. Pós-graduação. 6. Ciência. I. Deminicis, Bruno Borges. II. Martins, Carla Braga.

CDU: 619

VENDA PROIBIDA

REITOR

REINALDO CENTODUCATTE

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
JULIÃO SOARES DE SOUZA LIMA

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA
JOSEVANE CARVALHO CASTRO

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA
LOUISIANE DE CARVALHO NUNES

ORGANIZADORES DESTA OBRA
BRUNO BORGES DEMINICIS
CARLA BRAGA MARTINS

Sumário

Capítulo 1 - Métodos diretos e indiretos de avaliação do consumo por animais em pastagens 2
Capítulo 2 - Biotecnologia: aplicações na reprodução animal 16
Capítulo 3 - Manejo Reprodutivo em Ovinos e Caprinos 29
Capítulo 4- Métodos de amostragem quantitativa direta e indireta de plantas forrageiras e pastagens 39
Capítulo 5- Cipionato de estradiol e benzoato de estradiol em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em novilhas 51
Capítulo 6- Sistemas de criação em bovinocultura de corte 61
Capítulo 7- Lymnaea e fasciolose: aspectos biológicos e estudos experimentais dessa relação 73
Capítulo 8- Besouros Coprófagos: insetos benéficos a pecuária 83
Capítulo 9- Controle da mosca-do-chifre por Besouros Coprófagos 91
Capítulo 10- Valorização de resíduos vegetais mediante avaliação da bioatividade dos fitoconstituintes 99
Capítulo 11- Resistência e adaptação bacteriana aos antimicrobianos 111
Capítulo 12- Fatores que influenciam a diferenciação condrogênica das células-tronco mesenquimais da medula óssea e do tecido adiposo 125
Capítulo 13- Efeito do rbST na reprodução de fêmeas bovinas 134
Capítulo 14- Efeitos do Balanço Energético Negativo no pós-parto de vacas leiteiras e de corte 145
Capítulo 15- Aspectos epidemiológicos da interação de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) com resíduos antropogênicos no litoral capixaba 156
Capítulo 16- Metodologia para avaliação da performance muscular em equinos atletas 165
Capítulo 17- Carrapato de Bovinos *Rhipicephalus* (*Boophilus*) microplus, canestrini, 1888 (Acari: ixodidae) e sua sensibilidade a solventes 180
Capítulo 18- Leptospirose humana e canina — uma estreita relação 191
Capítulo 19- Princípios da nutrigenômica e seu emprego na nutrição animal do futuro 201
Capítulo 20- Imunonutrientes na alimentação animal 209
Capítulo 21- Aplicações da citogenética em ciência animal 222
Capítulo 22- Desafios farmacêuticos no desenvolvimento de produtos veterinários 231
Capítulo 24- Principais características biológicas de *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) e sua helmintofauna no Brasil 242
Capítulo 25- Cistoplastias utilizando biomateriais conservados 251
Capítulo 26- Distocias em éguas 262
Capítulo 27- Hipertensão arterial sistêmica em gatos 275
Capítulo 28- Alternativas naturais para controle do carrapato bovino 287
Capítulo 29- Aspectos Fisiológicos e comportamentais de peixes relacionados a agentes estressores 301
Capítulo 30- Aspectos nutricionais relacionados à utilização da proteína para peixes 312
Capítulo 31- Silagens de cana de açúcar in natura e com aditivos, para alimentação de ruminantes 322
Capítulo 32- "Ambiência e Bem-Estar Animal na Produção de Aves e Suínos" 332
Capítulo 33- Fertilização nitrogenada e orgânica líquida em pastagens 344
Capítulo 34- Atividade antileishmanial de alguns óleos voláteis 356

Prefácio

A Câmara de Coordenação do Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Espírito Santo com proposito de não estancar a coletânea "Tópicos especiais em Ciência Animal " decidiu que no ano de 2014 produziria sua continuidade, mesmo não realizando a Jornada Científica da Pós Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Espírito Santo realizada nos anos anteriores.

Desta forma o presente livro, obra cuidadosamente produzida como fruto do tranbalho de diversos autores, corresponde a uma compilação aprimorada do material por eles utilizado e extensivamente testado em disciplinas de graduação e de Pós-graduação ministradas na Universidade Federal do Espírito Santo. O material aqui apresentado tem como finalidade principal servir como texto fundamental de estudo sobre Ciência Animal, nas linhas de Pesquisa do Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Espírito Santo: 1)- Reprodução e Nutrição Animal e 2)- Diagnóstico e Terapêutica das Enfermidades Clínico-Cirúrgicas.

Seu público-alvo é, portanto, os alunos da Graduação e da Pós Graduação das áreas de Ciências Biológicas, Medicina Veterinária e Zootecnia.

O arquivo da presente obra está num formato aberto, o que permite um pleno uso dos textos e figuras, obviamente sempre respeitando o direito dos autores a terem os devidos créditos. Como sinal concreto de agradecimento, presenteamos a todos com esta obra.

Bruno Borges Demínicis & Carla Braga Martins

Capítulo 1 - Métodos diretos e indiretos de avaliação do consumo por animais em pastagens

Oliveira, A.P.G.[1]; Gomes, L.L.[1]; Marcelino, L.L.[1]; Cóser, A.C.[2]; Stradiotti Júnior, D.[2]; Vieira, B.C.R.[1]; Moreira, Y.R.[1]; Alfaiate, M.B.[4]

INTRODUÇÃO

A população mundial tem crescido substancialmente, acarretando um aumento anual de 3,0% na demanda por alimentos, entre os anos de 1993 e 2020 (BRADFORD, 1999; DELGADO et al., 1999), incluindo carne e leite. Neste sentido, deve-se ressaltar que em ambientes tropicais, a exploração pecuária, em especial de ruminantes destinados à produção, se baseia principalmente na utilização de pastagens como principal fonte de nutrientes para seu crescimento e desenvolvimento (MORENZ, 2004).

Em ambiente de pastagem, a caracterização da quantidade e qualidade da forragem consumida pelos animais (LOPES; AROEIRA e MALDONADO, 1997) possibilita a definição de técnicas de alimentação e produção animal.

O desempenho do animal em pastejo é determinado pelo consumo de forragem, sendo este influenciado por fatores relacionados ao próprio animal, ao pasto e às interações com o ambiente. Contudo, o consumo não pode ser determinado diretamente, sendo desenvolvidas várias metodologias para estimá-lo (CARVALHO et al., 2007; SILVA et al., 2009).

Definir uma metodologia adequada à avaliação de animais em pastagem torna-se uma tarefa difícil em função da influência dos fatores que afetam o desempenho do animal em ambiente de pastejo (BARROS et al., 2010).

Portanto, a escolha de um método eficiente para estimar o consumo depende de características da vegetação, do animal, disponibilidade de recursos e equipamentos, precisão desejada, observadores treinados, entre outros (SANTOS, 1997).

Dentre as diversas metodologias utilizadas para estimar o consumo de animais a pasto, destacam-se os métodos diretos e indiretos. Contudo, estimar o consumo de animais em ambiente de pastejo é uma atividade complexa, fazendo com que todos os métodos sejam limitados e passivos de erros (MINSON, 1990).

Por outro lado, cada método utilizado para estimativa do consumo animal é eficiente em determinada situação, podendo produzir resultados relevantes, desde que, suas limitações sejam conhecidas e consideradas. (ASTIGARRAGA, 1997).

Neste contexto, o objetivo do trabalho foi discutir, com base em revisão de literatura, os principais métodos de consumo diretos e indiretos em ambiente de pastagens, bem como, das limitações que permeiam cada um deles.

[1]Mestrandos do Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias - PPGCV do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, CCA/UFES, Alegre-ES, Email: anapaula.apgo@gmail.com
[2]Professor Visitante Nacional Sênior - PVNS, Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias - PPGCV, CCA/UFES, Alegre-ES. Bolsista da CAPES
[3]Professor do Departamento de Zootecnia, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, CCA/UFES, Alegre-ES
[4]Graduanda em Ciências Biológicas pelo Instituto Federal do Espírito Santo, Campus de Alegre

2. CONSUMO EM PASTEJO

Os herbívoros se alimentam de um recurso complexo e dinâmico, uma vez que uma mesma planta tem sua estrutura e composição modificadas ao longo do tempo em função da fenologia e resposta ao ambiente. Da mesma forma, os animais têm seu estado interno modificado ao longo do tempo, em função da evolução do nível de aprendizado em relação ao ambiente de pastejo (LACA, 2008).

Desta forma, o pasto é um ambiente heterogêneo, intimamente relacionado ao desempenho dos animais em pastejo, devendo ser compreendido a fim de possibilitar a escolha de métodos de criação que não restrinja as estratégias dos animais em pastejar. Desta forma, a metodologia do comportamento de pastejo tem por finalidade avaliar o consumo de animais, considerando variáveis, tais como, tempo de pastejo e características do bocado (BARROS et al., 2010).

Para estimar adequadamente o consumo de animais em pastagem é necessário um método que integre a qualidade da dieta selecionada e a quantidade consumida ao longo do dia (ASTIGARRAGA, 1997). Desta forma as diversas metodologias propostas são agrupadas em métodos diretos e indiretos (AROEIRA, 1997).

3. METODOS DE CONSUMO DIRETOS

O método de consumo direto pode ser obtido através da diferença de peso dos animais antes e após o pastejo, diferença de biomassa de pastagem (OLIVEIRA, 2003) e monitoramento do comportamento ingestivo, incluindo características do bocado, bem como, o tempo de pastejo (AROEIRA, 1997; ASTIGARRAGA, 1997).

Estas variáveis são determinadas por meio de observação ou com auxilio de sistemas automatizados acoplados aos cabrestos, capazes computar e armazenar dados referentes ao tempo total de pastejo e gasto com ruminação, bem como, número de bocados, movimentos mandibulares e “boli” ruminados (AROEIRA, 1997; ASTIGARRAGA, 1997).

3.1. Diferenças de peso do animal

Esta metodologia consiste na diferença entre o peso do animal antes e após o pastejo, considerando, perdas invisíveis ou respiração, perdas de peso em excreções, e ganho de peso decorrente da ingestão de água (OLIVEIRA, 2003).

Para o desenvolvimento desta técnica os animais devem permanecer com bolsas coletoras de excretas para evitar a perda de urina e fezes (MINSON, 1990).

O consumo pode ser medido utilizando-se a fórmula descrita por Allden e Whittaker (1970):

$$Consumo = \frac{(Peso\ final - Peso\ inicial) + perdas\ insensíveis\ de\ calor}{Tempo\ de\ pastejo\ (min)}$$

A ingestão de água durante o pastejo pode ser mensurada, segundo Astigarraga (1997) através da equação:

$$Consumo = (PV_{após} + F + U + P) - PV_{antes} - A$$

Onde: $PV_{após}$ = peso após o pastejo; F= peso das fezes; U= peso de urina; 217; P= perdas imperceptíveis de peso; PV_{antes}= peso registrado anterior ao pastejo; A= Ingestão de água durante a estimação do consumo.

Para determinar perdas insensíveis de calor utiliza-se uma focinheira que impeça o animal de pastejar e dessa forma, perca energia e peso, sem ingerir alimento. Os animais devem ser equipados com bolsas coletoras que podem ser improvisadas (BARROS et al., 2010) utilizando-se fraldas geriátricas fixadas no animal com fita adesiva.

A perda de peso metabólica (CARVALHO et al., 2007), que consiste nas perdas de peso do animal durante o pastejo em função da evaporação de H_2O e excreção de CO_2 e CH_4, é medida como perda de peso em período anterior ou posterior à entrada dos animais na pastagem.

As desvantagens desse método são a manutenção e condução dos animais com coletores, de modo a impedir a perda de excretas ou do próprio coletor e, possíveis alterações nos comportamentos normais do animal em função do uso de bolsas coletoras. Além disso, caso o animal beba água, é preciso descontar a quantidade ingerida, o que acaba gerando uma estimativa incorreta de perdas insensíveis (BARROS et al., 2010).

3.2. Diferença no peso da forragem

Este método, também chamado de agronômico (LASCANO et al., 1990), foi proposto por Reid, em 1996 e consiste em uma das metodologias mais antigas utilizadas no estudo da diferença de peso da forragem antes e após o pastejo (BARROS et al., 2010), considerando as perdas de forragem em função do pisoteio, deposição de fezes e correções para o crescimento da forragem (OLIVEIRA, 2003).

O método consiste em determinar o consumo animal por meio da diferença entre cortes realizados na pastagem antes e após o pastejo. Neste contexto, o consumo é calculado, segundo Barros (2010) utilizando-se a fórmula:

$$C = \frac{(Q1 - Q2)}{\text{(Número de animais x dias de pastejo)}}$$

Onde: C= Consumo; Q_1= quantidade de forragem anterior ao pastejo; Q_2= quantidade de forragem após o pastejo. a retirada dos animais.

Para estimar a disponibilidade de forragem em uma área total, utiliza-se o método de corte que consiste na coleta de amostras dentro da área total, utilizando-se quadrados de, por exemplo, $0{,}25m^2$. O número de amostras em cada área depende da variabilidade da vegetação e do grau de precisão exigido pelo pesquisador (BARROS et al., 2010). Contudo, esse total pode ser definido, segundo Gardner (1986), pela seguinte fórmula:

$$N = \frac{(K \times S^2)}{\text{(\% da média)}}$$

Onde: N= número de amostras; K = coeficiente de confiabilidade (ex: 1,6 para 90%); S^2 = variância da amostra; % da média = precisão requerida.

O corte deve ser feito rente ao solo e as amostras coletadas devem ser secadas em estufa para obtenção a matéria seca (MS) com a qual será feito a média (BARROS et al., 2010) e determinado o valor de MS por área.

Além do corte, pode-se fazer a estimativa visual da disponibilidade de forragem que consiste em inserir quadrados na pastagem, estimando visualmente a massa de matéria seca (MS) contida neles. Posteriormente, corta-se a amostra rente ao solo e leva à estufa para obter a real MS. Com os valores estimados e reais, faz-se a calibração através de uma equação de regressão. Por fim, são coletadas visualmente amostras, calculando a média que após ser substituída na equação de regressão fornece o valor real de MS que será transformado em MS/ha (GARDNER, 1967; CAMPBELL e ARNOLD, 1973).

Esta técnica não é destrutiva, sendo considerada simples, rápida e de custo reduzido. Contudo, segundo Barros et al. (2010, para que os valores sejam correlacionados de forma correta, é imprescindível um bom treinamento e a permanência do mesmo observador durante a avaliação Também é possível calcular a disponibilidade de forragem utilizando-se o método de rendimento comparativo, através do qual se atribui notas de 1 a 5 às amostras. Esta técnica é

realizada conforme a metodologia anterior, fazendo regressão entre o escore visual atribuído a amostra e a MS real (HAYDOCK e SHAW, 1975).

Caso o pastejo esteja sendo conduzido usando-se lotação contínua, há necessidade de incluir a taxa de crescimento da pastagem através do método de emparelhamento das gaiolas. Este método consiste na escolha aleatória de três quadrados semelhantes em produção e composição botânica dentro da área de estudo, sorteadas de modo que, um seja cortado rente ao solo, e o outro demarcado com estacas para possibilitar que o pastejo seja acessível e o último tenha proteção da gaiola (KINGLIMAN; MILES e MOTT, 1943; MORAES; MOOJEN e MARASCHIN, 1990).

A cada período de tempo, normalmente 14 ou 21 dias, são escolhidas duas novas áreas semelhantes à demarcada pelas estacas e uma amostra é cortada dentro da gaiola e transferida para área demarcada por estacas repetindo-se o processo (BARROS et al, 2010).
Por fim calcula-se a taxa de acúmulo conforme a fórmula descrita por Campbell (1966):

$$Taj = \frac{(Dgi-FGi-1)}{N}$$

Onde: Taj = taxa de acúmulo diário de MS no sub-periodo; DGi = quantidade de MS dentro da gaiola na data de amostragem; FGi-1 = quantidade de MS fora da gaiola na data de amostragem; n = número de dias transcorridos entre i e i-1.

As desvantagens dessa metodologia são os erros no número de amostras colhidas, taxa de crescimento e variabilidade da forragem, seletividade do pastejo e perda por pisoteio (PEREIRA, 1991; BARROS et al., 2010), levando ao pressuposto de que esse método é mais eficaz em períodos curtos de pastejo e pastagens homogêneas.

3.3. Tempo de pastejo

O tempo de pastejo refere-se ao tempo no qual o animal apreende e mastiga a forragem, considerando o período no qual o animal movimenta-se ao longo da pastagem de cabeça baixa a procura da dieta (CHACON; STOBBS e SANDLAND, 1976)

Esta variável, conforme Jamieson e Hodgson(1979) pode ser definida através de monitoramento contínuo ou uso de técnicas de amostragem aplicadas em intervalos representativos de tempo. Posteriormente, calcula-se a média das atividades realizadas durante o período avaliado (JAMIESON e HODGSON,1979).

Barros et al. (2010) relatam que ao avaliar o tempo de pastejo é necessário considerar determinados fatores relacionados ao animal, tais como, estado fisiológico, tamanho, sexo e idade (BARROS et al., 2010).

3.4. Número de bocados

O número de bocados compreende o ato do animal em aprender com os dentes a forragem (GIBB, 1998). O bocado no estrato superior permite a ingestão de forragem de alta qualidade e pouca massa, enquanto bocados na parte inferior do vegetal permite uma ingestão maior de massa com qualidade inferior, além de exigir do animal um gasto maior de energia (CARVALHO; PRACHE e DAMASCENO, 1999).

O número de bocados pode ser definido de forma automática ou visual, com auxílio de binóculos ou utilizando-se um vibracorder e dois contadores (CHACON; STOBBS e SANDLAND, 1976; FORBES, 1988), sendo que um funciona continuamente enquanto o outro somente é ativado junto com o vibracorder

O número de bocados deve ser medido em intervalos de dois minutos (ERLINGER; TOLLESON e BROWN, 1990) ou sessões de cinco minutos ao longo do dia (STOBBS, 1975).

Segundo Chacon; Stobbs e Sandland (1976) o número de bocados pode ser definido utilizando-se a equação:

$$N = Pd + Md + Mu + Ru$$

Onde: Pd = bocado de apreensão; Md = bocado de mastigação com cabeça baixa; Mu = bocado de mastigação com cabeça alta; Ru = bocado de ruminação.

3.5. Taxa de bocado

A taxa de bocado consiste no número de bocados em determinado período de tempo (BARROS et al., 2010), contado por meio de avaliação visual ou artefatos sensíveis a sons e movimentos mandibulares (LOPES, 2007) capazes de fornecer o tempo de pastejo, ruminação e outras atividades (CARVALHO; TRINDADE e MEZZALIRA, 2009).

A taxa de bocado pode ser calculada, segundo Hodgson (1985), através da seguinte forma:

$$GR = B / GT$$

Onde: GR= taxa de bocados; B = Número total de bocados; GT= tempo total de pastejo.

3.6. Profundidade do bocado

A profundidade do bocado consiste na diferença entre a altura da pastagem medida antes e após o pastejo (CARVALHO, 1997).

Os perfilhos são numerados, medidos e marcados com uma linha, ficando acessível à pastagem. Contudo, muitas vezes, os animais não pastejam nos perfilhos marcados, o que faz com que a técnica seja considerada trabalhosa (BARROS et al., 2010).

3.7. Tamanho de bocado

O tamanho do bocado refere-se à superfície horizontal da pastagem abrangida em um bocado, considerando área, massa e volume (GIBB, 1998).

Para medir o tamanho do bocado é necessário considerar características anatômicas como a largura da arcada dentária definida, segundo Illius e Gordon (1999), pela forma:

$$AD = 8{,}6\ M^{0{,}36}$$

Onde: AD= largura da arcada dentária em mm; M= massa corporal em kg.

Segundo Illius e Gordon (1999), a partir de AD determina-se a área potencial do bocado, através da forma:

$$AB = AD^{1{,}97}$$

Onde: AB= área de potencial de cada bocado.

A massa do bocado pode ser estimada pela técnica da dupla pesagem utilizando-se balanças de alta precisão. Esta metodologia tem sido bastante utilizada (PENNING e RUTTER, 2004; SILVA et al., 2007) devido à legislação em países desenvolvidos que restringe o uso práticas cirúrgicas em animais de pesquisa.

Segundo Jamieson e Hodgson (1979), a massa do bocado pode ser estimada pela expressão:

$$TB = I/B$$

Onde: I= a ingestão diária de forragem.

Segundo Gordon (1999), o volume do bocado é determinado utilizando-se a fórmula:

$$MB = P_f B \times AB \times DV_{ep}$$

Onde: MB= Massa do bocado; P_fB = a profundidade do bocado; AB= área de cada bocado; DV_{ep} = densidade volumétrica do estrato pastejado.

Outra forma de estimar o tamanho do bocado consiste na utilização do método *hand plucking* ou coleta manual, através do qual as coletas da pastagem são feitas com auxilio das mãos, imitando o bocado do animal (BOTH et al., 1999). Contudo, este método é viável apenas em pastagens homogêneas, sendo inapropriado para locais onde existem mais de uma espécie vegetal (McMENIMAN, 1998).

4. METODOS DE CONSUMO INDIRETOS

O método indireto é utilizado para estimar o consumo a partir da digestibilidade da dieta, com auxilio de bolsas coletoras de excretas. Esta metodologia possui várias limitações, tais como, alteração do comportamento de pastejo, desconforto aos animais, redução do consumo e possível subestimação da produção fecal em função de perdas do conteúdo, sendo, portanto menos recomendada (OLIVEIRA, 2003).

Uma alternativa menos laboriosa, com menor grau de interferência em relação as bolsas coletoras consiste no uso de indicadores para estimar a produção fecal (MORENZ, 2004).

4.1. Bolsas coletoras

As bolsas coletoras são sacolas presas aos animais objetivando medir a excreção fecal e urinária, de modo a obter um rápido resultado (BURNS; POND e FISHER, 1994).
Desta forma, o consumo é calculado, segundo Carvalho et al. (2007), pela fórmula:

$$C = (Pt2 + F + U + PM) - Pt1$$

Onde: Pt1= peso do animal antes do pastejo; Pt2= pesos do animal depois do pastejo; F= fezes; U= urina; PM= quantificação da perda de peso metabólica.

Muitos animais não se adaptam às bolsas coletoras de fezes (NASTIS e CORDESSE, 1996), uma vez que, estas podem ocasionar desconforto, em função do peso das fezes e/ou arreio das sacolas, acarretando alterações no comportamento e consumo. Além disso, pode haver perda de excrementos para fora da sacola (CARVALHO et al., 2007) e distorção nas patas traseiras em função do peso das fezes na bolsa coletora (BURNS et al., 1994), devendo portanto, ser esvaziada duas a três vezes ao longo do dia (McMENIMAN,1997).

Caso as bolsas coletoras sejam utilizadas em fêmeas é necessário prevenir a contaminação das fezes pela urina e mesmo em bolsas com fundo telado a concentração de nitrogênio fecal pode ser elevada em função da contaminação por resíduos urinários e, caso a urina seja em grande volume, como em bovinos, pode provocar a lavagem e o carreamento de certa quantidade de fezes (McMENIMAN,1997).

4.2. Fistulação esofágica e ruminal

Para coletar amostras da dieta selecionada em pastejo, utiliza-se a técnica da coleta de extrusa em cânulas de animais fistulados no rúmen ou no esôfago (SCHAUER; BOHNERT e GANSKOPP, 2005).

As amostras coletadas na fistulação esofágica são mais representativas em relação às de fistula ruminal. Porém, em condições de pastejo, esta última apresenta vantagens, tais como,

coleta de toda forragem consumida durante o pastejo e menores cuidados durante o procedimento de fistulação e coleta (THEURER, 1970).

As desvantagens dessa técnica consistem na necessidade de procedimento cirúrgico para implantação da cânula à fistula, abreviação da vida útil dos animais, bem como possíveis necroses, irritações e acúmulo de tecidos fibrosos nas extremidades da cânula (JONES e HARGREAVES, 1979).

Contudo, em países desenvolvidos, a legislação restringe o uso em pesquisa de animais cirurgicamente preparados (PENNING e RUTTER, 2004). Dessa forma, aconselha-se estimar a massa do bocado através da determinação direta da taxa de ingestão associada à taxa de bocados pela técnica de pesagem dos animais antes e após o pastejo, com o auxilio de balanças de alta precisão (CARVALHO et al., 2007).

4.3. Método dos indicadores

Indicadores são compostos utilizados para monitorar aspectos químicos e físicos, tais como, hidrólise, síntese e fluxo da digestão, sendo muito utilizados em ruminantes (OWENS e HANSON, 1992).

Este método é utilizado para determinar a relação entre a excreção fecal diária e a quantidade de matéria seca consumida (DETMANN, 1999). É um método mais simples quando comparado à utilização de bolsas coletoras, contudo é necessário cuidados no fornecimento dos indicadores para que a digesta esteja impregnada de modo correto e a excreção seja representativa (BARROS et al., 2010).

A determinação da excreção fecal por indicadores consiste na introdução de uma substância de referência (indicador) na dieta, devendo ser recuperada totalmente nas fezes (COELHO DA SILVA; CAMPOS e CONRAD, 1968). Desta forma, segundo Burns et al. 1994), a produção fecal é baseada na quantidade de um marcador fornecido ao animal e sua concentração nas fezes, conforme a equação:

$$\textit{Produção Fecal (g/dia)} = \frac{\textit{mg de marcador administrado ao animal}}{\textit{mg de marcador por g de fezes}}$$

Os indicadores externos permitem estimar o consumo individual diário dos animais, mas não permite estimar o consumo em períodos diferentes de 24 horas, como o consumo em uma refeição, pois a concentração fecal do indicador externo varia ao longo do tempo, sendo necessários vários dias para que ocorra a excreção total da dosagem fornecida (CARVALHO et al., 2007). Entre os indicadores externos, destacam-se o óxido crômico, os n-alcanos (MORENZ, 2004), o Itérbio, lignina isolada purificada e enriquecida (RODRIGUES et al., 2006) e dióxido de Titânio (TITGEMEYER et al., 2001)

Os indicadores internos são constituintes naturais das plantas, não sendo absorvidos ou digeridos pelos animais (LE DU e PENNING, 1982). Entre os marcadores internos, comumente são avaliados FDN-indigestível, cinzas insolúveis em ácido (BURNS; POND e FISHER, 1994) e lignina (SILVA, et al., 2006). Cutina, cromógeno, nitrogênio fecal e o ácido diaminopimélico (DAPA) são outros indicadores internos utilizados, porém existem poucos relatos na literatura sobre sua eficácia (VAN SOEST, 1994).

As principais dificuldades da realização desta técnica são a análise das substâncias, uma vez que muitas dessas não possuem identidade química (DOVE e MAYES, 1991) e o trabalho laborioso em função da necessidade de contenção e remoção dos animais da pastagem cada vez que o indicador é ministrado, a menos que os animais sejam treinados e permitam a

administração através de cânula no rúmen sem a necessidade de contenção (BURNS; POND e FISHER, 1994).

4.2.1. Óxido crômico

Entre os indicadores externos, o óxido crômico (Cr_2O_3), que consiste em um pó fino, insolúvel em água e levemente solúvel em álcalis e ácidos (MARAIS, 2000), é o mais utilizado, podendo ser fornecido por infusão contínua (BARROS et al., 2010), em dosagem conhecida de 5g/dose em horários pré-definidos, efetuando as coletas das fezes no mesmo horário das aplicações (MORENZ, 2004).

Entre as vantagens da utilização deste marcador, destacam-se o baixo custo e a simplicidade dos procedimentos analíticos (MORENZ et al., 2006).

O procedimento consiste na aplicação de duas doses diárias, de mesmo peso, em intervalos de tempo definidos, com coletas concomitantes (HOPPER; HOLLOWAY e BUTTS JR., 1978). A técnica tem duração de 10 dias, sendo que nos primeiros cinco dias a concentração do Cr_2O_3 nas fezes tende a atingir o ponto de equilíbrio (*steady state)* e, portanto, a coleta deve ser realizada nos últimos cinco dias (AROEIRA, 1997), a fim de se alcançar um platô de concentração nas fezes (OWENS e HANSON, 1992).

Posteriormente, a excreção fecal é calculada, segundo Smith e Reid (1955) pela fórmula:

$$\textit{Excreção fecal (g/dia)} = \frac{\textit{Indicador fornecido (g/dia)}}{\textit{Concentração do indicador nas fezes (g/gMS)}}$$

O óxido crômico também pode ser utilizado como cromo mordente, ligado à parede celular, sendo aplicado em dose pulso ou dose única com posterior amostragem fecal caracterizando a curva de excreção do indicador nas fezes (POND; BURNS e FISHER, 1995).

Várias são as desvantagens da utilização desse método, pois apesar de o óxido crômico ter baixa toxicidade, não é um material agradável para o manuseio (MALOSSINI et al., 1996), apresentando incompleta mixagem com a digesta, passagem mais rápida pelo rúmen quando comparado com as fibras e acúmulo em algumas partes do trato digestivo (DETMANN et al., 2001). A recuperação fecal é incompleta (SOARES et al., 2004) e apresenta irregularidade na excreção no decorrer do dia (MORENZ et al., 2006).

O Cr_2O_3 pode ocasionar estresse nos animais em função da aplicação do indicador, interferindo diretamente no consumo (AROEIRA, 1997). Além disso, as cápsulas podem ser regurgitadas, aumentando a variabilidade dos resultados (CARVALHO et al., 2007).

O fornecimento via ruminal e antes do pastejo, ou seja, uma vez ao dia, pode reduzir o estresse (CARVALHO et al., 2007). Neste caso, os erros de flutuação diária do óxido crômico, podem ser reduzidos pela coleta de várias amostras de fezes ao longo do dia, de modo que a amostra seja composta por sub-amostras (KOZLOSKI et al., 2006).

Outro modo de fornecimento que também reduz o estresse consiste em misturar o indicador em um alimento concentrado peletizado (WANYOIKE e HOLMES, 1981), permitindo a associação do óxido crômico com a digesta (CARVALHO et al., 20007).

4.2.2. n-Alcanos

Os hidrocarbonetos alifáticos saturados ou n-alcanos de cadeia longa, constituintes naturais das ceras cuticulares de planta, são recomendados na estimativa de consumo de forragem por ruminantes (MAYES et al., 1986), pois apresentam mínima absorção, sua analise é simples e proporcionam resultados acurados (DOVE e MAYES,1996; GEDIR e HUDSON, 2000).

O método da utilização de n-alcanos consiste na utilização de um duplo aplicador, constituído de um n-alcano de cadeia ímpar, encontrado em plantas e um n-alcano comercial de cadeia par (DOVE e MAYES, 1991).

Os n-alcanos naturais possuem comprimento de cadeia entre C_{25} e C_{35} (GEDIR e HUDSON, 2000), sendo recuperado nas fezes conforme o comprimento da cadeia carbonada (OLIVEIRA, 2003).

Os n-alcanos sintéticos mais viáveis como indicadores externos são o dotriacontano (C_{32}) e o hexatriacontano (C_{36}), por apresentarem menor custo e serem mais fáceis de obter na forma pura (GEDIR e HUDSON, 2000).

Os n-alcanos são ministrados na forma de cápsulas de gelatina, alocadas no rúmem através de sonda ruminal (DOVE e MAYES, 1991), duas vezes ao dia, coletando as fezes conforme descrito para óxido crômico, ou cápsulas de liberação controlada (*Controlled Release Capsules-CRC*) em aplicação única no primeiro dia do experimento, coletando as fezes duas vezes ao dia, em horários pré-definidos (MONREZ, 2004). O consumo diário de matéria seca é obtido, segundo Dove e Mayes (1991), através da equação:

$$CMS\ (kg/dia) = [(Fi/Fp)*Dp]/[Hi-(Fi/Fp)*Hj]$$

Onde: CMS= Consumo de matéria seca; Fi = concentração do n-alcano de cadeia impar nas fezes; Fp = concentração do n-alcano de cadeia par nas fezes; Dp = dose diária administrada do n-alcano sintético de cadeia par; Hi = concentração do n-alcano de cadeia impar natural na forragem; Hj = concentração do n-alcano de cadeia par na forragem.

4.2.3. Itérbio

O Itérbio (Yb), metal pertencente à família dos lantanídeos, é um indicador externo que se associa fortemente às partículas da digesta (RODRIGUES et al., 2006), sendo mais palatável que o óxido crômico.

As vantagens da utilização do Itérbio são a produção nacional do indicador e período reduzido, em relação ao Cr_2O_3, para que a excreção alcance o equilíbrio BERCHIELLI et al., 2007).

As desvantagens dessa técnica são o alto custo com o equipamento de espectrometria no infravermelho para determinação do indicador e a necessidade de um grande número de amostras homogêneas em constituição química para calibração do equipamento (FONTANELI e FONTANELI, 2007).

4.2.4 Lignina isolada purificada e enriquecida - LIPE®

A lignina isolada purificada e enriquecida (LIPE®) é um indicador externo de digestibilidade (LANZETTA et al., 2009) desenvolvido especificamente para pesquisa.

A lignina Isolada Purificada e Enriquecida (LIPE) é um indicador isolado do *Eucaliptus grandis* e enriquecida com grupamentos fenólicos, não encontrados comumente na lignina da dieta animal, obtendo-se dessa forma, um hidroxifenilpropano modificado (SALIBA; RODRIGUEZ e PILO-VELOSO, 2003).

O LIPE® pode ser encontrado comercialmente na forma de cápsulas de 100, 250 ou 500 mg que devem ser aplicadas uma vez ao dia. Para obtenção de uma excreção uniforme é necessário um período de 48 horas, sendo que a coleta das fezes deve ser realizada em torno de cinco dias e quantificada por espectroscopia no infravermelho.

O indicador não apresenta irregularidade diurna na excreção em função de possuir propriedades físico-químicas estáveis (LIMA et al., 2008).

As estimativas de produção fecal e digestibilidade revelaram a eficiência da LIPE® como indicador externo, não apresentando diferenças estatísticas com relação à coleta total, além de

apresentar, conforme Saliba et al. (2003), as vantagens de curto período de adaptação e baixo custo.

Uma nova substância, denominada NANOLIPE, derivada da LIPE tem sido proposta como indicador para estimativa da produção fecal em gado leiteiro. Esta substância sofreu alterações físicoquímicas durante a fabricação do LIPE, garantindo uma redução significativa no tamanho das partículas do indicador, alcançando a escala nano e permitindo uma maior dispersão ao longo do trato digestivo. Dessa forma, o *Steady state* ou ponto de equilíbrio, é obtido mais rapidamente, reduzindo o tempo do experimento. (SALIBA et al., 2011).

4.2.5 Dióxido de titânio

O dióxido de titânio (TiO_2) é um indicador externo que deve ser fornecido de modo a não exceder 1% no produto final. As vantagens da utilização desse indicador são o fato de seu uso ser aprovado legalmente apresentando custo reduzido e sendo recuperado nas excreções fecais em torno de 95,5 a 101,5% (TITGEMEYER et al., 2001).

4.2.6 FDNi e cinzas insolúveis em ácido

A fibra indigestível ou insolúvel em detergente neutro (FDNi) é um indicador interno utilizado para determinação da digestibilidade da dieta e consumo da matéria seca, sendo um método simples, apesar de necessitar de animais fistulados no rúmen, apresentando elevada precisão (DETMANN et al., 2001).

A cinza insolúvel em ácido (CIA) é indicador interno composto por sílica, formada por dióxido de sílica, representando a fração mineral inerte e indispensável ao animal (Van Soest e Robertson, 1985), não sendo absorvida pelo sistema gastrointestinal. A CIA é o resíduo mineral remanescente após secagem da amostra, queima, fervura com ácido clorídrico (HCl), filtragem, lavagem e segunda queima em forno mufla (VAN KEULEN e YOUNG, 1977).

4.2.7 Lignina

A lignina é um componente da parede celular dos vegetais formado por três monômeros fenólicos condensados, alcool p-coumaril, alcool coniferil e alcool sinapil, formando uma malha complexa, sendo resistente à hidrólise e complexos enzimáticos do trato gastrointestinal de animais (FUKUSHIMA, 2003).

A utilização da lignina como indicador interno não é muito indicada devido variação diurna em sua concentração, requerendo amostragens múltiplas (BURNS et al., 1994) e a impossibilidade de recuperação total da substância nas fezes (MERCHEN, 1993).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Entre as técnicas indicadas para estimar o consumo em ambiente de pastagens, os métodos indiretos são os mais usados, sendo os indicadores os mais apontados para avaliar a relação entre excreção fecal diária e matéria seca consumida. Entre os indicadores, o óxido crômico é o mais simples e utilizado, porém requer um procedimento trabalhoso para determinar a digestibilidade, com procedimentos prolongados e invasivos, podendo gerar alto grau de estresse animal.

Os n-alcanos proporcionam menor variabilidade de concentração nas fezes, sendo necessário um menor número de coletas diárias e uma única administração diária, mas é um procedimento extremamente caro. O uso da técnica do LIPE® possibilita estimativas bem confiáveis do consumo sobre pastejo aliando a isso, menor grau de estresse aos animais por ter

menores períodos de administração e coleta de fezes podendo ser indicado para análise de consumo em pastagens. Além disso, apresenta as vantagens de curto período de adaptação e baixo custo.

6. REFERÊNCIAS

ALLDEN, W. G.; WHITTAKER, M. C. D. The determinants of herbage intake by grazing sheep: The interrelationship of factors influencing herbage intake and availability. Australian Journal of Agricultural Research, v. 21, n. 5, p. 755-766, 1970.

AROEIRA, L. J. M. Estimativas de consumo de gramíneas tropicais. In: SIMPOSIO INTERNACIONAL DE DIGESTIBILIDADE EM RUMINANTES, 1997, Lavras-MG. Anais..., Lavras-MG: UFLA/FAEPE, 1997. p. 127-163.

ASTIGARRAGA, L. Tecnicas para la medición del consumo de ruminantes en pastoreo. In: SIMPÓSIO SOBRE AVALIAÇÃO DE PASTAGENS COM ANIMAIS, 1997, Maringá. Anais... Maringá: Cooper Graf. Artes Gráficas Ltda, 1997. p.1-23.

BARROS, C. S.; DITTRICH, J. R.; MONTEIRO, A. L. G.; PINTO, S.; WARPECHOWSKI, M. B. Técnicas para estudos de consumo de alimentos por ruminantes em pastejo: revisão. Scientia Agraria Paranaensis, v. 9, n. 2, p. 5-24, 2010.

BOTH, M. C.; SILVA, M. A.; FISCHER, V.; SEIDEL, E. Utilização da técnica de coleta manual para estimativa de consumo de forragens por ovinos em pastejo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 26, 1999, Porto Alegre, Anais... Porto Alegre: UFRS, 1999. p.82.

BRADFORD, E. Animal agriculture and global food supply. In: COUNCIL FOR AGRICULTURAL SCIENCE AND TECHNOLOGY, 135., 1999, Ames, Anais… Ames: TASK FORCE REPORT, 1999.

BURNS, J. C., POND, K. R., FISHER, D. S. Measurement of forage intake. In: FAHEY JÚNIOR, G. (Ed.). Forage quality evaluation and utilization. Madison: American Society of Agronomy: 1994. p. 494-532.

CAMPBELL, N. A; ARNOLD, G. W. The visual assessment of pasture yield. Aust. J. Expt. Agric. Anim. Husb. v. 13, n. 62, p. 263-67, 1973.

CARVALHO, P. C. F. A estrutura da pastagem e o comportamento ingestivo de ruminantes em pastejo. In: SIMPÓSIO SOBRE AVALIAÇÃO DE PASTAGENS COM ANIMAIS, 1997, Maringá. Anais... Maringá: UEM, 1997. p. 25-52.

CARVALHO, P. F. C.; PRACHE, S.; DAMASCENO, J. C. O processo de pastejo: desafios da procura e apreensão da forragem pelo herbívoro. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 26., 1999, Porto Alegre, Anais... 1999.

CARVALHO, P. C. F.; KOZLOSKI, G. V.; RIBEIRO FILHO, H. M. N.; REFFATTI, M. V.; GENRO, T. C. M.; EUCLIDES, V. P. B. Avanços metodológicos na determinação do consumo de ruminantes em pastejo. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 36, p.51-170, 2007.

CARVALHO, P. C. F.; TINDADE, J. K.; MEZZALIRA, J. C.;. Do bocado ao pastoreio de precisão: compreendendo a interface planta-animal para explorar a multi-funcionalidade das pastagens. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 46., 2009, Maringá. Anais.... Maringá: SBZ, 2009. p. 109-122.

CHACÓN, E.; STOBBS, T. H.; SANDLAND, R. L. Estimation of herbage consumption by grazing using measurements of eating behaviour. Journal of the British Grassland Society, v. 31, n. 2, p. 81-87, 1976.

COELHO DA SILVA, J. F.; CAMPOS, J.; CONRAD, J. H. Uso do óxido crômico na determinação da digestibilidade. Experientiae, v. 8, n. 1, p.1-23, 1968.

DELGADO, C.; ROSEGRANT, M.; STEINFELD, H.; EHUI, S.; COURBOIS, C. Livestock to 2020: the next food revolution. Washington, D. C: International Food Policy Research Institute, 1999. (Food, Agriculture and the Environment Discussion Paper, 28).

DETMANN, E. Cromo e constituintes da forragem como indicadores, consumo e parâmetros ruminais em novilhos mestiços, suplementados, durante o período das águas. 1999. 115 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 1999.

DETMANN, E.; CECON, P. R.; PAULINO, M. F.; ZERVOUDAKIS, J. T.; VALADARES FILHO, S. C.; ARAÚJO, C. V. Estimação de parâmetros da cinética de trânsito de partículas em bovinos sob pastejo por diferentes sequencias amostrais. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 30, n. 1, p.220-230, 2001.

DOVE, H.; MAYES, R. W. Plant wax components: A new approach to estimating intake and diet composition in herbivores. Journal of Nutrition, v.126, n. 1, p. 13-26, 1996.

DOVE, H.; MAYES, R. W. The use of plant wax alkanes as marker substances in studies of the nutritional herbivores – A review. Australian J. Agric. Research, v. 42, n. 6, p. 913-952, 1991.

ERLINGER, L. L.; TOLLESON, D. R.; BROWN, C. J. Comparison of bite, biting rate and grazing time of beef heifers from herds distinguished by mature size and rate of maturity. Journal of Animal Science, v. 68, n. 11, p.3578-3587, 1990.

FORBES, T. D. A. Researching the plant-animal interface: The investigation on ingestive behaviour in grazing animals. Journal of Animal Science, v. 66, n. 9 p.2369-2379, 1988.

FUKUSHIMA, R. S.; HATFIELD, R. D. Composição fenólica de ligninas dioxano determinadas pela reação oxidativa com o nitrobenzeno. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 38, n. 3, p. 373-378, 2003.

GARDNER, A. L. Estudio sobre los métodos agronómicos para la evaluación de las pasturas. Montevideo: Instituto Interamericano de Ciências Agrícolas, 1967. 80p.

GEDIR, J. V.; HUDSON, R. J. Estimating dry mattre digestibility and intake in wapiti (*Cervus elaphus canadensis*), using the double n-alkane ratio technique. Small Ruminat Research, v. 36: 57-62, 2000.

GIBB, M. Animal grazing/intake terminology and definitions. In: PASTURE ECOLOGY AND ANIMAL INTAKE, 3, 1996, Dublín. Anais... Dublín, 1998. p. 21-37.

HAYDOCK, K. P.; SHAW, N. H. The comparative yield method for estimating dry matter yield of pasture. Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry, v. 15, p. 63-70, 1975.

HODGSON, J. The significance of sward characteristics in the manegement of temperate sown pastures. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 20., 1985, Kioto. Anais… Kioto, 1985. p.63-65.

HOPPER, J. T.; HOLLOWAY, J. W.; BUTTS JR., W. T. Animal variation in chromiun sesquioxide excretion patterns of grazing cows. Journal of Animal Science, v. 46, n. 4, p.1098-1102, 1978.

ILLIUS, A. W.; GORDON, I. J. The physiological ecology of mammalian herbivory. In: JUNG, H.J.G., FAHEY JR., G.C. (Eds.). Nutritional Ecology of herbivores. Proceedings of the Vth INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE NUTRITION OF HERBIVORES. San Antonio, USA, 1999. 71-96 p.

JAMIESON, W. S.; HODGSON, J. The effect of variation in sward characteristics upon the ingestive behaviour and herbage intake of calves and lambs under a continuos stocking management. Grass Forage Science, v. 34, n. 4, p.273-82, 1979.

KINGLIMAN, D. L.; MILES, S. R.; MOTT, G. O. The cage method for determining consumption and yield of pasture herbage. Journal of American. Society of Agronomy, v. 35: n.9, p.739-46, 1943.

KOZLOSKI, G.V.; PEREZ NETO, D.; OLIVEIRA L. MAIXNER, A. R.; LEITE, D. T.; MACCARI, M.; BRONDANI, I. L.; SANCHEZ, L. M. B.; QUADROS, F. L .F. Uso do óxido de cromo como indicador da excreção fecal de bovinos em pastejo: variação das estimativas em função do horário de amostragem. Ciência Rural, v.36, n.2, p.599-603, 2006.

LANZETTA, V. A. S.; REZENDE, A. S. C. de; SALIBA, E. de O. S.; LANA, A. M. Q.; RODRIGUEZ, N. M.; MOSS, P. C. B. Validação do Lipe® como método para determinar a digestibilidade dos nutrientes em equinos. Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v.38, n.1, p.69-74, 2009.

LASCANO, C. E. Metodologia para medir consumo bajo pastoreo. In: RUIZ, M. E; RIUZ, A. (Eds) Nutrición de Ruminantes: Guia metodologia de investigación. San José, Costa Rica: IICA-ALPA-RISPAL, 1990. 149-157 p.

LE DU, Y. L. P; PENNING, P. D. Animal based techniques for estimating herbage intake. In: LEAVER, J.D. (Ed.) Herbage intake Handbook. Hurley, UK: British Grassland Society, 1982. 1037-1075 p.

LIPPKE, H. Estimation of forage intake by ruminants on pasture. Crop Science Society of America, v. 42, N. 3, p. 869-872, 2002.

LOPES, F. C. F.; AROEIRA, L. J. M.; MALDONADO, H. Avaliação qualitativa e dois métodos de amostragem em pastagens de capim-elefante (*Pennisetum purpureum, Schum.*). Pasturas Tropicales, v. 19, n. 3, p. 36-41, 1997.

LOPES, F. C. F. Métodos para estimativas do Consumo de Forrageiras Tropicais por Vacas em Lactação em Condição de Pastejo. In: SIMPÓSIO MINEIRO DE NUTRIÇÃO DE GADO DE LEITE., 4., 2007, Belo Horizonte. Anais.... Belo Horizonte: UFMG, 2007. p. 83-170.

MARAIS, J. P. Use of markers. In: D'MELOO, J.P.F. (Ed) Farm animal metabolism and nutrition. Wallingford: CAB international, 2000. 255-277 p.

MERCHEN, N. R. Digestion, absorcion y excretion en los rumiantes. In.: CHURCH D. C. (Ed.) El Rumiante: Fisiologia digestiva y nutrición. Zaragoza: Editorial Acribia, 1993, p.191-223.

McMENIMAN, N. P. Methods of estimating intake of grazing animals. In: SIMPÓSIO SOBRE TÓPICOS ESPECIAIS EM ZOOTECNIA, 33., 1997. Juiz de Fora. Anais... Juiz de Fora:SBZ, 1997, p.133-168.

MINSON, D. J. Forage in ruminant nutrition. San Diego: Academic Press. 1990. 483p.

MORAES, A. D. E.; MOOJEN, E. L.; MARASCHIN, G. E. Comparação de métodos de taxas de crescimento em uma pastagem submetida a diferentes pressões de pastejo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 27., 1990. Campinas. Anais... Campinas: SBZ, 1990. p.332.

MORENZ, M. J. F. Metodologias de estimativa do consumo e aplicação do modelo *cncps* (cornell net carbohydrate and protein system), em vacas leiteiras em pastagem de capim-elefante (*pennisetum purpureum* schum., cv. Napier). 2004. 120 f. Tese (Doutorado em Produção animal)- Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes-RJ, 2004.

MORENZ, M. J. F.; DA SILVA, J. F. C.; AROEIRA, L. J. M.; DERESZ, F.; VÁSQUEZ, H. M.; PACIULLO, D. S. C.; LOPES, F. C. F.; ELYAS, A. C. W.; DETMANN, E. Óxido de cromo e alcanos na estimativa do consumo de forragem de vacas em lactação em condições de pastejo. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 35, n. 4, p.1535-1542, 2006.

OLIVEIRA, D. E. Uso da técnica dos n-alcanos para medir o aporte de nutrientes através de estimativas do consumo de forragem em bovinos. 2003. 129f. Tese (doutorado)- Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, São Paulo, 2003.

OWENS, F. N.; HANSON. C. F. External and internal markers for appraising site and extent of digestion in ruminants.Journal of Dairy Science, v. 75, n. 9 p. 2605-2617, 1992.

PENNING, P. D.; RUTTER, S. M. Ingestive behavior. In: PENNING, P.D. (Ed.). Herbage intake handbook. Reading: The British Grassland Society, 2004.191p.

PEREIRA, J. M. Utilização do consumo e a composição da dieta na avaliação de pastagens. In: REUNIÃO ANUAL SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. SEMINÁRIO DE AVALIAÇÃO DE PASTAGENS, 28., 1991, João Pessoa. Anais... João Pessoa: SBZ, 1991. p. 68.

PRACHE, S.; PEYRAUD, J. Préhensibilité de l'herbe pâturée chez les bovins et les ovins. INRA Productions Animales, v.10, n. 5, p.377-390. 1997.

POND, K. R.; BURNS, J .C.; FISHER, D. S. Intake monitoring systems: eletronic and markers. Raleigh: Department of Animal Science. 1995. 15p.

RODRIGUEZ, N. M. Uso de indicadores para estimativa de consumo a pasto e digestibilidade. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43., 2006, João Pessoa. Anais... João Pessoa: SBZ, 2006. p.323-352.

ROOK, A. J. Principles of foraging and grazing behaviour. In: HOPKINS, A. (Ed.) Grass, its production and utilization. Blackwell Science Ltda, 2000. 229-246 p.

SALIBA, E. O. S.; BARBOSA, G. S. S. C.; RODRIGUEZ, N. M.; COUTO FILHO, C. C. C.; MOREIRA, G. R.; GONÇALVES, N. C.; SILVA, F. A.; Utilization of nanotechnology to the development of a marker of fecal output in dairy cattle. In: 8TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE NUTRITION OF HERBIVORES, 8., 2011, Aberystwyth, Wales, UK. Anais…UK: Advances in Animal Biosciences, 2011.

SALIBA, E. O. S.; RODRIGUEZ, N.M.; PILÓ-VELOSO, D. Estudo comparativo da digestibilidade pela técnica da coleta total com lignina purificada como indicador de digestibilidade para ovinos em experimento com feno de Tifton 85. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. Anais... Santa Maria: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2003. (CD-ROM).

SALIBA, E. O. S.; RODRIGUEZ, N. M.; PILO-VELOSO, D. Purified lignin extraded from Eucalyptus grandis (PELI), used as an external marker in digestibility trials in various animal species. In: WORLD CONFERENCE ON ANIMAL PRODUCTION, 9., Porto Alegre, 2003. Anais... Porto Alegre: WAAP/ALPA/SBZ/UFRGS, 2003.

SCHAUER, C. S.; BOHNERT, D. W.; GANSKOPP, D. C.Influence of protein supplementation frequency on cows consuming low-quality forage:performance,grazing behavior, and variation in supplement intake. Journal of Animal Science, v.83, p.1715-1725, 2005.

SILVA, F. F.; SÁ, J. F.; SCHIO, A. R.; ÍTAVO, L. C. V.; SILVA, R. R.; MATEUS, R. G. Suplementação a pasto: disponibilidade e qualidade x níveis de suplementação x desempenho. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 38, p.371-389, 2009.

SOARES, J. P. G.; BERCHIELLI, T. T.; AROEIRA, L. J. M.; DERESZ, F.; VERNEQUE, R. S. Estimativas de consumo de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum), fornecido picado para vacas lactantes utilizando a técnica do óxido de cromo. Revista Brasileira de Zootecnia, v.33, n.3, p.811-820, 2004.

STOBBS, T. H. The effect of plant structure on the intake of tropical pastures. III. Influence of fertilizer nitrogen of the size of bite harvested by jersey cows grazing *Setaria anceps* cv. kazungula swards. Australian Journal of Agricultural Research, v. 26, n. 6, p. 997-1007, 1975.

TITGEMEYER, E. C. Design and interpretation of nutrient digestion studies. Journal Animal Science, v.75, p.2235-2247, 1997.

VAN KEUREN, J.; YOUNG, B. A. Evaluation of Acid insoluble ash as a natural markers in ruminant digestibility studies. Journal of Animal Science, v.44, n.2, p.282-287, 1977.

Capítulo 2 - Biotecnologia: aplicações na reprodução animal

Vieira, B.C.R.[1]; Moreira, Y.R.[1]; Souza, M.H.[1]; Alfaiate[1], M.B.; Oliveira[1] A.P.G.[1]; Oliveira, M.C.[3]; Moreira, G.R.[2]; Costa, F.Q.[4], Deminicis B.B.[2]

INTRODUÇÃO

Graças à descoberta da estrutura do DNA por Watson e Crick em 1953, o avanço da biologia molecular desencadeou a identificação de polimorfismos em vários sítios genômicos proporcionando a seleção e o melhoramento das espécies de forma mais eficiente (ABAD et al., 2014).

Por décadas os cientistas buscaram conhecer os aspectos embrionários e fisiológicos relacionados à reprodução animal (PEREIRA; FREITAS, 2009), com o objetivo de produzir animais geneticamente superiores, para um aumento do desempenho reprodutivo dos mesmos (MILAZZOTTO et al., 2008).

Com isso, várias biotecnologias foram desenvolvidas (PEREIRA; FREITAS, 2009) para promover o desenvolvimento científico (VIEIRA, 2012). Independente da biotécnica utilizada, para que esta obtenha sucesso quanto ao seu objetivo, necessita-se de cuidados sanitários, mão-de-obra capacitada e bons progenitores.

Neste capítulo, serão abordadas algumas biotecnologias e suas aplicações na reprodução animal.

2. Princípio básico: ácido desoxirribonucleico

A estrutura da dupla hélice do ácido desoxirribonucleico (DNA) (figura 1) foi revela em 1953 por Watson e Crick, informação esta, responsável pela revolução molecular (JEFFREYS, 2005). O DNA é considerado o material genético celular (GRIFFITHS et al., 2002), o qual contém o gene, sendo este, responsável pela codificação de um produto funcional (JOAQUIM; EL-HANI, 2010).

Trata-se de uma molécula longa formada por duas cadeias de polinucleotídeos enrolados de forma helicoidal estando transversalmente ligados por meio de pontes de hidrogênio (GRIFFITHS et al., 2002; WISCHRAL; GOMES FILHO, 2009) além de ser antiparalela, ou seja, as duas fitas correm em direção opostas conforme a determinação das ligações entre os agrupamentos fosfatos e açúcares que compõem cada fita (SADAVA et al., 2009; WISCHRAL; GOMES FILHO, 2009).

O DNA é orientado para importantes funções celulares, dentre elas a duplicação. Nesse evento, cada filamento da dupla fita de DNA serve como molde para a síntese de um novo filamento complementar, sendo assim, semicorservativa (TORRES et al., 2004) (figura 2). Em sua forma de dupla fita, o DNA é altamente estável e muito resistente, mantendo-se inalterado nas mais variadas condições do meio (OLIVEIRA et al., 2007a).

[1]Mestrandos do Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias - PPGCV do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, CCA/UFES, Alegre-ES, Email: barbaravieira.biologia@gmail.com
[2]Professor do Programa de Ciências Veterinárias, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, CCA/UFES, Alegre-ES
[3]Graduando em Zootecnia pela Universidade Federal do Espírito Santo, CCA/UFES, Alegre-ES
[4]5Médica Veterinária, D.Sc. Profª da Universidade Iguaçu - UNIG - Itaperuna/RJ, Email: nandaqcvet@gmail.com

A base nitrogenada citosina une-se à guanina (C-G), assim como, a base nitrogenada adenina une-se à timina (A-T), formando duas cadeias complementares (bifilamentar) (TORRES et al., 2004). Dessa forma, a citosina forma pontes com a guanina (ligações de três pontes de hidrogênio) e a adenina forma pontes com a timina (ligações de duas pontes de hidrogênio) (GRIFFITHS et al., 2002) (figura 3).

As bases nitrogenadas adenina e guanina apresentam em sua estrutura dois anéis carbônicos, sendo denominadas purinas (figura 4), já a citosina e a timina apresentam um anel carbônico, sendo chamadas de pirimidinas (GRIFFITHS et al., 2002) (figura 5).

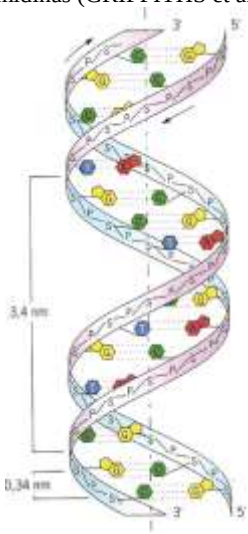

Figura 1. Estrutura da dupla fita de DNA proposta por Watson e Crick em 1953. Fonte: Micklos et al. (2005).

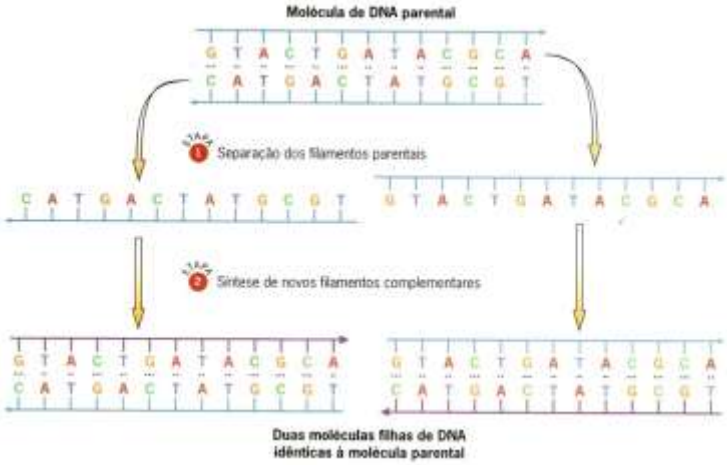

Figura 2. Duplicação semicorservativa do DNA. Fonte: Snustad e Simmons (2008).

Os nucleotídeos são formados por três constituintes básicos: um agrupamento fosfato (PO_4), uma base nitrogenada e uma molécula de açúcar (desoxirribose) (GRIFFITHS et a.l, 2002; TORRES et al., 2004) (figura 5) e são unidos por ligações fosfodiéster (SADAVA et al., 2009; WISCHRAL; GOMES FILHO, 2009).

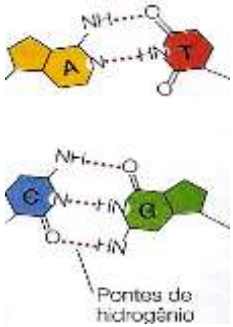

Figura 3. Ligações de pontes de hidrogênio entre as bases nitrogenadas. Fonte: Sadava et al. (2009)

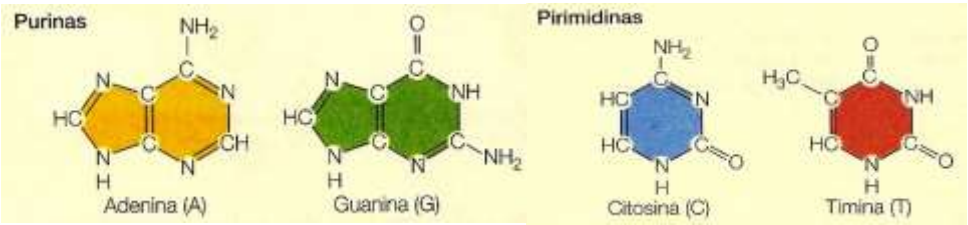

Figura 4. Estrutura das purinas, Fonte: Sadava et al. (2009); Estrutura das pirimidinas, Fonte: Sadava et al. (2009).

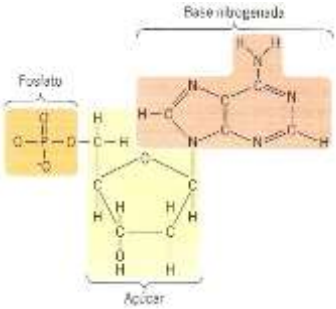

Figura 5. Constituintes básicos de um nucleotídeo. Fonte: Snustad e Simmons (2008).

Sadava et al. (2009) descrevem que as novas fitas de DNA crescem a partir de sua extremidade 5’ para a extremidade 3’ (figura 6). Esse processo ocorre por meio da adição de

nucleotídeos na fita sintetizada na extremidade 3', na qual a fita apresenta uma hidroxila livre no carbono 3' de sua desoxirribose terminal. Um dos três grupamentos fosfato em um desoxirribonucleosídeo trifosfatado encontra-se ligado na posição 5' do açúcar. A liberação de energia para que ocorra a reação é proveniente da quebra das ligações que unem os outros dois grupamentos fosfato ao nucleotídeo.

O DNA pode ser encontrado nas mitocôndrias, este denominado DNA mitocondrial, nos cromossomos presentes no núcleo, o DNA genômico, este podendo ser obtido a partir de leite, sangue, bulbo piloso, coágulo, urina, saliva, entre outros (DUARTE, 2001; CLEMENTS et al., 2008) e nos cloroplastos (OLIVEIRA et al., 2007a). Em todas as células nucleadas, o DNA é responsável por carregar o código genético (BUTLER, 2005).

As diferentes sequências nucleotídicas do DNA formam unidades conhecidas por genes. O gene é o segmento de DNA responsável por codificar a informação requerida para a produção de determinado segmento de RNA ou de polipeptídeo. Os genes encontram-se organizados em cromossomos e sua posição é conhecida como *locus*. As formas alternativas dos genes são chamados de alelos e a totalidade do DNA celular é denominado genoma (OLIVEIRA et al., 2007b).

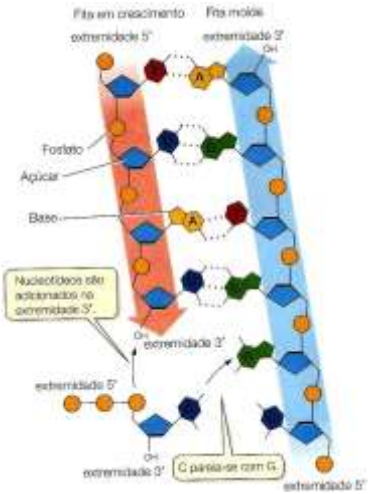

Figura 6. Crescimento da fita de DNA da extremidade 5' para 3'. Fonte: Sadava et al. (2009).

3. Biotecnologia

O avanço biotecnológico desencadeou-se em 1953 quando Watson e Crick apresentaram o modelo de dupla hélice do DNA (VIEIRA, 2012). Conforme Wetherington (2010) a biotecnologia é considerada como a manipulação ou o uso de um organismo e seus demais componentes, a qual, está associada a biologia molecular.

Na reprodução animal, utiliza-se de biotecnologias como fertilização *in vitro*, inseminação artificial, sexagem de embriões, clonagem, marcadores moleculares, teste de paternidade, transferência de embriões, reação em cadeia pela polimerase (PCR), dentre outros (WISCHRAL; GOMES FILHO, 2009). O principal objetivo das tecnologias reprodutivas, segundo Nicholas (1996) é um maior potencial reprodutivo.

A biotecnologia proporciona a atuação direta no melhoramento dos animais de produção, oferecendo novas oportunidades quanto à melhoria da produtividade animal por meio

do maior desenvolvimento ponderal, elevação dos índices reprodutivos e maior qualidade de carcaça, considerando-se a segurança e a qualidade desta ferramenta tecnológica (MILAZZOTTO et al., 2008).

Fertilização *in vitro*

O encontro facilitado dos gametas para que ocorra a fertilização, seja em laboratório ou em organismo materno, por meio da reprodução assistida, é o princípio básico da fertilização *in vitro* (HOGAN et al., 1986).

Oócitos maduros são coletados de fêmeas vivas ou abatidas recentemente, sendo posteriormente maturados e fertilizados em laboratórios, os quais, irão permanecer em meio de cultura apropriado e posteriormente transferidos para fêmeas receptoras ou serão congelados. Esse processo completo é denominado de produção *in vitro* de embriões (PIV) (ALENCAR, 2004) (figura 7).

Segundo Packer e Paz (2001), o fato de oócitos imaturos retirados de fêmeas recém-abatidas não fornecerem um material genético de qualidade superior, tem aumentado significativamente a recuperação de oócitos imaturos de fêmeas vivas. Como consequência, embriões com maior qualidade genética estão sendo produzidos. O sucesso da fertilização *in vitro* depende diretamente da qualidade dos espermatozoides e dos oócitos utilizados (PALMA, 2001).

Apesar de seus méritos, ainda existem entraves no uso desta biotecnologia. Podem ser citados maior mortalidade perinatal (VAN WAGTENDONK - DE - LEEUW et al., 1998) e menor viabilidade de embriões congelados (ENRIGHT et al., 2000). Entretanto, tal produção *in vitro* contribui diretamente para o aumento da eficiência reprodutiva, diminuindo o intervalo de gerações, multiplicando o material genético melhorado e intensificando a seleção (ALENCAR, 2004).

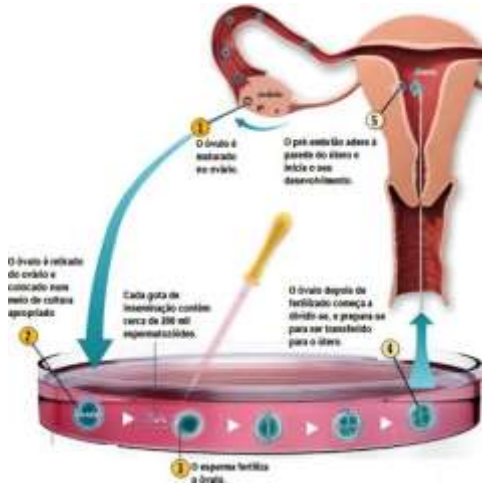

Figura 7. Exemplo de fertilização *in vitro* em mamífero.Fonte: Disponível em: http://diariodocongresso.com.br. Acessado em 10 de agosto de 2014.

Inseminação artificial

Esta biotecnologia é descrita, segundo Guérin (1998), como a deposição do sêmen coletado no trato genital da fêmea a ser inseminada artificialmente. É indicada em casos da impossibilidade quanto à monta natural (motivos sanitários, comportamentais ou anatômicos). Os autores dissertam que o uso de sêmen congelado facilita a manutenção da reprodução em animais de alto interesse econômico e zootécnico, pois previnem que os animais fiquem estressados quando transportados para fins de acasalamento.

Ax et al. (2000) relatam a importância desta técnica nos casos de melhoramento, uma vez, que são poucos machos selecionados para a inseminação de milhares de fêmeas por ano. Apesar de outras técnicas, como a fertilização *in vitro* e a transferência de embriões, as matrizes ainda originam quantidades menores de produtos anualmente comparadas aos machos reprodutores.

Como toda biotécnica, tal procedimento também apresenta limitações, como puberdade tardia dos animais, longo período de anestro pós parto (principalmente em gado de corte) e falhas quanto a detecção do estro (SÁ FILHO et al. 2008). Contudo, Alencar (2004) salienta que a inseminação artificial possibilitou o teste de progênie identificando touros superiores, intensificou o processo de seleção, assim como, a fertilização *in vitro*.

Discorre ainda, Mies Filho (1987) sobre a eficácia contra a transmissão de doenças venéreas, a reprodução de machos subférteis e viabilidade de produtos de reprodutores importados, ou mesmo, mortos. Com isso, a inseminação artificial tornou-se responsável pelo aceleramento do progresso genético animal (BINELLI, 2006),

Mapletoft et al. (2008) dissertam que a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) facilita a detecção do estro, além de, segundo Bó et al. (2008), desencadear a produtividade e a produção dos animais por meio da melhoria genética dos mesmos. É vantajosa por regular o momento da ovulação, a função do corpo lúteo e o desenvolvimento das ondas foliculares (RIBEIRO et al., 2009).

Autores como Diskin et al. (2002) ressaltam que esta é um manejo capaz de gerar resultados iguais, e até, superiores em relação a inseminação artificial convencional, podendo eliminar, em determinadas situações, a necessidade de detecção de estros.

Sexagem

A pré-seleção sexual passou a ser uma técnica científica a partir do momento em que foram descobertos os cromossomos sexuais X e Y. Até então, diversos métodos de identificação de sexo genético haviam sido sugeridos e testados. Após tal descoberta, as indústrias do ramo da produção animal começaram a se especializar. Diante disso, a sexagem de embriões, fetos ou sêmen vem ganhando destaque (WISCHRAL; GOMES FILHO, 2009).

Conforme Wilkens (1982) o gene mais conhecido relacionado à sexagem é o SRY, responsável pela diferenciação testicular. Esse gene encontra-se localizado perto à região peseudo-autossômica na porção distal do braço curto do cromossomo Y (GUBBAY et al., 1990).

Outros genes já foram identificados para determinar sexualmente os mamíferos (SOX9, AMH, WT1, SF1, DAX1 e DMRT1). A interferência conjunta desses genes, bem como, suas expressões e o modo de conservação das mesmas, é o que determinada o sexo do indivíduo (BRONWYN; ANDREW, 2002).

De acordo com Morris et al. (2001) o cromossomo Y contém de 3 - 4% menos DNA que o cromossomo X. Apesar deste apresentar maior quantidade de DNA que o Y, tal diferença de conteúdo não impossibilitou o surgimento de metodologias capazes de diferenciar os indivíduos sexualmente.

Como exemplos de metodologia para sexagem, há a citometria de fluxo (CUNNINGHAM, 1999; TUBMAN et al., 2004), coloração convencional do cromossomo (GUERRA, 1988) e a detecção de sequências de DNA específica do cromossomo Y após amplificação pela técnica de reação em cadeia pela polimerase (PCR) (LUZ et al., 2000; WISCHRAL; GOMES FILHO, 2009).

Na técnica de citometria de fluxo, os espermatozoides são separados por meio de seu peso, ou seja, a quantidade de DNA presente em cada cromossomo é que o permite sua diferenciação (CUNNINGHAM, 1999). Esta metodologia resulta em indivíduos reprodutivamente aptos e apresenta repetibilidade (TUBMAN et. al, 2004). Entretanto, autores como Cunningham, (1999) relatam um acerto de 90% e descrevem espermatozoides danificados quando submetidos a essa biotécnica.

Os cromossomos sexuais podem ser vistos por meio do cariótipo (citogenética), método este, que permite que os cromossomos metafásicos sejam vistos via coloração convencional (GUERRA, 1988), objetivando-se a visualização do par cromossômico que determina o sexo genético (WISCHRAL; GOMES FILHO, 2009). Sua precisão é de 100%, mas sua eficiência não ultrapassa os 70% (VAN VLIET et al., 1989). Tal fato pode ser explicado pela necessidade de 10-15 células em divisão para realização da técnica, o que nem sempre é possível (WISCHRAL; GOMES FILHO, 2009).

A detecção de determinada sequência de DNA do cromossomo Y após amplificação, tem demonstrado ser uma forma rápida e moderna de sexagem (LUZ et al., 2000). Independente do gene escolhido para estudo, este deve obrigatoriamente ser específico do cromossomo Y, uma vez, que este é o responsável pelo sexo genético, e ter sequência nucleotídica reconhecida (WISCHRAL; GOMES FILHO, 2009).

Neste método, o DNA pode ser extraído de um número menor de células para que o gene de interesse econômico seja amplificado. A técnica de PCR permite que o DNA seja proveniente de penas, bulbos capilares, sangue e líquido amniótico, além dos materiais tradicionais de extração (células e tecidos) (WISCHRAL; GOMES FILHO, 2009).

Clonagem

Em 1903 o botânico Herbert Webber definiu a clonagem como sendo um conjunto de organismos, células ou moléculas originados assexuadamente a partir de uma única célula, sendo estes, idênticos à célula original (RUMJANEK, 2001) (figura 9).

Os mamíferos podem ser clonados por meio de duas formas: ou por meio de transferência nuclear ou via fissão de embriões. Na primeira forma, ocorre a transferência de núcleos de células derivadas de qualquer célula diploide (célula somática) para um oócito anucleado, para que posteriormente sejam produzidos embriões capazes de sobreviverem normalmente. Já a segunda é descrita como a produção artificial de gêmeos (WOLF et al., 1998).

Quando fecundado, por meio de mecanismos ainda desconhecidos pelos homens, o oócito reprograma o DNA de forma que os genes presentes retornam à sua atividade, assim como, ocorre normalmente na fertilização (ZATZ, 2004).

A clonagem em mamíferos iniciou-se a partir da ovelha Dolly. Sabe-se que para as fêmeas, essa técnica tem eficiência de 7% e em machos 12%, ressaltando-se maior mortalidade neonatal entre fêmeas (PANARACE et al., 2007). A clonagem via transferência nuclear de células somáticas ainda é ineficiente, a qual, não alcança nem 5% de embriões clonados nascidos vivos (BERTOLINI et al., 2012).

As contribuições da clonagem podem ser verificadas, segundo Rumpf et al. (2002) no melhoramento animal, no suporte de transgênicos e na preservação de espécies. Apesar dos

progressos com essa técnica, ainda são necessários mais estudos para identificação de anomalias nos embriões gerados (ALENCAR, 2004).

Figura 8: Clonagem de um mamífero por transferência nuclear. Fonte: http://www.culturamix.com. Acessado em 10 de agosto de 2014.

Marcadores moleculares

São denominados, conforme Ferreira e Gratapaglia (1998) como as variações no código do material genético do indivíduo, as quais segregam de geração em geração. Indivíduos pertencentes à mesma espécie compartilham o mesmo grupo de genes. Assim, as diferenciações entre os indivíduos são provenientes de mudanças nas sequências nucleotídicas (WISCHRAL; GOMES FILHO, 2009).

Os marcadores moleculares auxiliam outras biotecnologias, como transferência de embriões, fertilização *in vitro*, culturas de células primordiais e ovulações múltiplas, uma vez, que identificam genes específicos de interesse econômico (DAVIS; DENISE, 1998). Além disso, são úteis para diagnosticar precocemente o potencial genético do indivíduo (KIRINUS et al., 2014).

Apresentam as vantagens de não serem influenciados pelo ambiente, grande praticidade, alto grau de polimorfismo (FERREIRA; GRATTAPALIA, 1998), apresentam características codominates e dominates (SILVA et al., 2012), elevada heterozigose, necessidade de pouca quantidade de DNA de qualquer tecido (FALEIRO, 2007), dentre outras.

Conforme a metodologia utilizada para sua identificação, os principais tipos de marcadores de DNA podem ser classificados em dois grupos: amplificação de DNA ou hibridização. Entre os identificados como amplificadores estão os dos tipos: SCAR (*Sequence Characterized Amplified Regions*) ou ASA (*Amplified Specific Amplicon*), SSR ou microssatélite (*Simple Sequence Repeats*), RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) e AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*). Contudo, existem ainda os marcadores baseados em sequenciamento, como os SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*). Quanto aos identificados por hibridização, destacam-se os Minissatélites ou locos VNTR (*Variable Number of Tandem Repeats*) e RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

A incorporação dos genes nos programas de cruzamento beneficia diretamente as características mais difíceis de serem melhoradas (GODDARD, 2002). Conforme Davis e

Denise (1998), várias espécies já apresentam seus mapas genéticos disponíveis, auxiliando, dessa forma, os programas de seleção e melhoramento genético.

Reação em cadeia pela polimerase (PCR)

Esta biotecnologia foi desenvolvida por Kary Mullis em 1984 (MULLIS; FALLOONA, 1987). É uma metodologia capaz de promover a amplificação *in vitro* de sequência de DNA-alvo do genoma de qualquer organismo, por meio de inicadores ou *primers* de sequência complementar ao fragmento que será amplificado (Mullis, 1990). Sua principal limitação é a contaminação do DNA extraído, o qual deve ser de alta qualidade para que a amplificação não seja prejudicada (DUARTE et al., 2001), necessitando-se de um controle negativo (BOROVIK et al., 2011).

Os componentes envolvidos neste processo são praticamente os mesmos presentes na síntese *in vivo*, sendo estes: nucleotídeos (dATPs, dTTPs, dCTPs e dGTPs) que serão adicionados pela enzima DNA polimerase na formação das novas fitas de DNA, iniciadores ou *primers*, que são produzidos em laboratório, para complementação da região-alvo, amostra de DNA-alvo contendo a sequência à ser reproduzida, uma enzima DNA polimerase (normalmente utiliza-se a taq polimerase) responsável pelo início da síntese das novas fitas, solução tampão para manutenção do pH, cloreto de magnésio, este co-fator da DNA polimerase e água ultrapura, que apresenta baixa condutividade elétrica (OLIVEIRA et al., 2007b).

Esta técnica é realizada em um aparelho denominado termociclador, o qual, proporciona o tempo e as temperaturas necessárias para as três etapas deste processo: a desnaturação, o anelamento e extensão das novas fitas de DNA. Oliveira et al. (2007b) explicam cada etapa da PCR (figura 9):

Desnaturação: nesta fase ocorre a elevação da temperatura acerca de 94ºC - 95ºC, onde o DNA perde sua estrutura de dupla fita por causa das quebras das pontes de hidrogênios que as unem pela alta temperatura. Esta etapa permite que os iniciadores se liguem em suas respectivas regiões-alvo da amostra de DNA na próxima etapa;

Anelamento: após desnaturação ocorre a diminuição da temperatura, onde cada iniciador apresenta fatores específicos para que ocorra seu anelamento, como temperatura, sequência de nucleotídeos e tamanho. Nesta fase, cada *primer* encaixa-se em sua respectiva sequência complementar;

Extensão: novamente ocorre a elevação da temperatura, sendo esta de 72 ºC proporcionando que a enzima DNA polimerase posicionem-se conjuntamente aos *primers* anelados, auxiliadas por seu co-fator, iniciando-se a síntese das novas fitas por meio da adição dos nucleotídeos.

Tais etapas se repetem a cada ciclo (RASMUSSEN; RASMUSSEN, 1995; MULLIS; FALOONA, 1987; FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998;) dobrando a quantidade de DNA da sequência alvo em progressão aritmética (OLIVEIRA et al., 2007b). Normalmente ocorrem entre 25 - 40 ciclos de replicação na PCR (RASMUSSEN; RASMUSSEN, 1995).

Figura 9: Reação em cadeia pela polimerase (PCR). Fonte: Snustad e Simmons (2008).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Espera-se que a importância e as implicações da biotecnologia na reprodução animal tenham sido compreendidas, bem como, suas vantagens e eficiência neste ramo.

5. REFERÊNCIAS

ABAD, A.; C.; A.; LOPES, F.; A.; PINHEIRO, J.; W.; MOTA, R.; A. Marcadores moleculares e suas aplicações nas pesquisas em bovinos. Acta Veterinaria Brasilica, v.8, n.1, p.10-18, 2014.

ALENCAR, M.; M. Biotécnicas da reprodução como ferramentas para o melhoramento animal. In: ZOOTEC, 2004, Brasília. Anais... ZOOTEC, 2004.

AX, R.; L., DALLY, M.; R.; DIDION, B.; A.; LENZ, R.; W.; LOVE, C.; C.; VARNER, D.; D.; HAFEZ, B; BELLIN, M.; E. Artificial insemination. In: HAFEZ, E.S.E. & HAFEZ, B. Reproduction in Farm Animals. Seventh edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p. 376-389.

BERTOLINI, L.; R.; FELTRINI, C.; GAUDENCIO-NETO, S.; MARTINS, L.; T.; TAVARES, K.; C.; S.; RODRIGUES, V.; H.; V.; AGUIAR, L.; H.; CALDERÓN, C.; H.; M.; ALMEIDA, J.; L.; ALMEIDA, A.; P.; CARNEIRO, I.; S.; COSTA, A.; K.; F.; RIOS, D.; B.; MORAES-JUNIOR, F.; J.; SOUZA, M.; C.; COSTA, R.; K.; E.; MORAIS, A.; S.; GIRÃO-NETO, F.; X.; A.; SCHUTZ, L.; F.; BERTOLINI, M. Clonagem animal: a sobrevivência dos mais aptos. Ciência Animal, v. 22, n. 1, p. 82-105, 2012.

BINELLI, M.; IBIAPINA, B.; T.; BISINOTTO, R;. S. Bases fisiológicas, farmacológicas e endócrinas de sincronização de crescimento folicular e da ovulação. Acta Scientiae Veterinariae, v. 34, p. 1-7, 2006.

BÓ, G.; A.; CUTAIA, L.; E.; SOUZA, A.; H.; BARUSELLI, P.; S. Actualización sobre protocolos de IATF en bovinos de leche. In: 3º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 2008, Londrina, PR. Anais... 3º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 2008.

BOROVIK, C.;L.; TAJARA, E.; ROCHA, J.; C.; FARAH, L.; M.; S.; NACCACHE, N.; F.; NETTO R.; C.; M.; JOFFE, R. Guia de boas práticas laboratoriais em citogenética e genética molecular humana: comitê de normatização e recomendações para procedimentos utilizados em laboratórios que prestam serviços na

área de genética humana. Sociedade Brasileira de Genética, 2011. Disponível em: http://www.sbg.org.br. Acessado em 12 de agosto de 2014.

BRONWYN, C.; M.; ANDREW, H.; S. Vertebrate sex determination: many means to an end. Reproduction, v. 124, p. 447-457, 2002.

BUTLER, J.; M. Forensic DNA Typing: Biology, Tecnology and Genetics of STR Markers. 2. ed. USA: Elsevier Academic Press, 2005.

CLEMENTS, D.; N., WOOD, S.; CARTER, S.; D.; OLLIER, W.; E.; R. Assessment of the quality and quantity of genomic DNA recovered from canine blood samples by three different extraction methods. Research in Veterinary Science, v. 85, n. 1, p. 74-79, 2008.

CUNNINGHAM, E.; P. The application of biotechnologies to enhance animal production in diferente farming systems. Livestock Production Science, v. 58, p. 1-24, 1999.

DAVIS, G.; H.; DENISE, S.; K. The impact of genetic markers on selection. Journal Animal Science, v. 76, p. 2331-2339, 1998.

DISKIN, M.G.; AUSTIN, E.; J.; ROCHE, J.; F.. Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. Domestic Animal Endocrinology, v.23, p.211–228, 2002.

DUARTE, F.; A.; M.; PEREZ, A.; M.; PENA, S.; D. BARROS, M. P. M.; ROSSI, E. O. A avaliação do DNA como Prova Forense. Ribeirão Preto: FUNPEC. 2001. 283p.

ENRIGHT, B.; P.; LONERGAN, P.; DINNYES, A.; FAIR, T.; WARD, F.; A.; TANG, X.; BOLAND, M.; P. Culture of in vitro produced bovine zygots in vitro vc in vivo: implications for early embryo development and quality. Theriogenology, v. 54, p. 659-673, 2000.

FALEIRO, G.; F. Marcadores genético-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2007. 102p.

FERREIRA, M.; E.; GRATTAPALIA, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 3ed. EMBRAPA-CENARGEN: Brasília, 1998, 220p.

GODDARD, M.; E. Breeding wool sheep for the 21st century. Wool Tecnhol Sheep Breed, v.50, p.349-58, 2002.

GRIFFITHS, A.; J.; F.; MILLER, J.; H.; SUZUKI, D.; T.; LEWONTIN, R.; C.; GELBART, W.; M. Introdução à Genética. 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara. 2002. 739p.

GUBBAY, J.; COLLIGNOS, J.; KOOPMAN, P.; CAPEL, B.; ECONOMOU, A.; MÜNSTERBERG, A.; VIVIAN, N.; GOODFELLOW, P.; LOVEL-BADGE, R. A gene mapping to sexdetermining region of the mouse Y cromossome is a novel family of embrionically expressed genes. Nature, London, v. 346, p. 245-250, 1990.

GUERRA, M. Introdução à citogenética geral. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. p.142.

GUÉRIN, C. A inseminação artificial na espécie canina. A Hora Veterinária, v. 105, p. 25-32, 1998.

HOGAN, B.; BEDDINGTON, R.; CONSTANTINI, F.; LACY, E. Manipulating the mouse embryo: a Laboratory manual. 2ª ed. Cold Springs Harbor Laboratory Press, New York, 1994, 12p.

JEFFREYS, A. Genetic fingerprinting. Nature Medicine, v.11, n.10, p. 14-18, 2005.

JOAQUIM, L.; M.; EL-HANI, C.; N. A genética em transformação: crise e revisão do conceito de gene. Scientia e Studia, v. 8, n. 1, p. 93-128, 2010.

KIRINUS, J.; K.; FRUET, A.; P.; B.; TEIXEIRA, C.; DORR, A.; C.; NORNBERG, L. Aplicação da genética molecular para a melhoria da qualidade da carne bovina. Revista do Centro do Ciências Naturais e Exatas, v. 18, p. 165-174, 2014.

LUZ, M.; R.; WATANABE, Y.; F.; FERRO, J.; A.; FERRO, M.;A.;T.; MAURO, S.; M.; S.; HOSSEPIAN DE LIMA, V.; F.; M.; FRANCESCHINI, P.; H. Sexagem de embriões bovinos fecundados *in vitro* pela técnica de PCR multiplex. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, v. 37, n. 6, 2000.

MAPLETOFT, R.; J.; BÓ, G.; A.; ADAMS, G.; P. Techniques' for synchronization of follicular wave emergence and ovulation: Past, present and future. Biotecnologia da Reprodução em Bovinos. In: 3º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 2008, Londrina-PR. Anais... 3º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 2008.

MICKLOS, D.; A.; FREYER, G.; A.; CROTTY, D.; A. A ciência do DNA. 2ª edição. Porto Alegre: Artmed Editora AS, 2005, p. 3-531.

MIES FILHO, A. Inseminação Artificial. 6ª edição. Porto Alegre: Sulina, 1987. 750p.

MILAZZOTTO, M.; P.; VISINTIN, J.; A.; ASSUMPÇÃO, M.; E.; O.; D. Biologia molecular aplicada à biotecnologia. Ciência Veterinária nos Trópicos, v. 11, p.145,-148, 2008.

MORRIS, DG; DISKIN, M.G.; SREENAM, J.M. Biotechnology in cattle reproduction. Beef Production Series, n. 39, 2001.

MULLIS, K.; B. The unusual origin of the polymerase chain reaction. Scientific American, New York, v. 262, n. 4, p.36-43, Apr. 1990.

MULLIS, K.; B.; FALOONA, F. Specific synthesis of DNA *in vitro* via a polymerase catalyzed chain reaction. Methods Enzymol, v. 55, p.335-350, 1987.

NICHOLAS, F.; W. Genetic improvement through reprodutive technology. Animal Reproduction Science, v. 42, p. 205-214, 1996.

PALMA G.; A. Biotcnologia de la reprodución. Buenos Aires: EEA Balcarce, 2001, 997p.

PEREIRA, A.; F.; FREITAS, V.; J.; F. Clonagem em ruminantes: progressos e perspectivas atuais. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 33, n. 3, p. 118-128, 2009.

OLIVEIRA, A. C. B.; SAKIYAMA, N. S.; CAIXETA, E.; ZAMBOLIM, E. M.; RUFINO, R. J. N.; ZAMBOLIM, L. Partial map of Coffea arabica L. and recovery of the recurrent parent in backcross progenies. Crop Breeding and Applied Biotechnology, v. 7, p. 196-203, 2007a.

OLIVEIRA, M.; C.; A.; ROESE, A.; D.; ANTHONISEN, D.; G.; PATROCÍNIO, E.; PARMA, M.; M.; SCAGLIUSI, S.; M.; M.; TIOMÓTEO, W.; H.; B.; JARDIM NETO, S. Fundamentos teórico-práticos e protocolos de extração e de amplificação de dna por meio da técnica de reação em cadeia da polimerase. Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, 2007b. Disponível em: http://www.cppse.embrapa.br/servicos/publicacaogratuita/ebook/LVFundDNA.pdf. Acesso em 12 de agosto de 2014.

PACKER, I.; U.; PAZ, C.; P. Impactos da biotecnologia no melhoramento animal. In: MATTOS, W.; R.; S. (eds). A produção animal na visão dos brasileiros, Piracicaba: SBZ, 2001. p. 717-727.

PANARACE, M.; AGÜERO, I.; GARROTE, M.; JAUREGUI, G.; SEGOVIA, A.; CANÉ, L.; GUTIÉRREZ, J.; MARFIL, M.; RIGALI, F.; PUGLIESE, M.; YOUNG, S.; LAGIOIA, J.; GARNIL, C.; FORTE PONTES, J.; E.; ERENO, JUNIO.; J.; C.; MOWER, S.; MEDINA, M. How healthy are clones and their progeny: 5 years of Field experience. Theriogenology, v. 67, p. 142-151, 2007.

RASMUSSEN, J.; O., RASMUSSEN, O.; S. Characterization of somatic hybrids of potato by use of RAPD markers and isozyme analysis. Physiologia Plantarium, Copenhagen, v. 93, n.2, p. 357-364, 1995.

RIBEIRO, P.; H.; P.; R.; COSTA FILHO, L.; C.; C.; RODRIGUES, L.; A.; ALVES, L.; G.; C.; SILVA, A.; S.; NOGUEIRA, E. Efeitos de diferentes indutores de crescimento folicular na taxa de prenhes de vacas Nelores submetidas a protocolos de IATF. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2009, Maringá. Anais... Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2009.

RUMJANEK, F.; D. A técnica de clonagem de mamíferos. Ciência Hoje, v. 30, n. 176, p. 24-38, 2001.

RUMPF, R. Avanços metodológicos na produção in vitro de embriões. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 36, p. 229-233, 2007.

SÁ FILHO, M.; F.; GUIMENES, L.; U.; SALES, J.; N.; S.; CREPALDI, G.; A; MEDALHA, A.; G.; BARUSELLI, P.; S. IATF em novilhas. Biotecnologia da Reprodução em Bovinos. In: 3º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 2008, Londrina-PR. Anais... 3º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 2008.

SADAVA, D.; HELLER, H.; C.; ORIANS, G.; H.; PURVES, W.; K.; HILLIS, D.; M. Vida - a Ciência da Biologia. 8ª ed. Curitiba: Artmed, 2009, v. 1, 241p.

SILVA, N.; M.; V.; RIBEIRO, M.; N.; ROCHA, L.; L.; GOMES FILHO, M.; A.; LIMA, A.; P.; S. Polimorfismo genético da leptina e do receptor do hormônio do crescimento em caprinos. Archivos de Zootecnia, v. 61, n. 234, p. 187-195. 2012.

SNUSTAD, D.; P.; SIMMONS, M.; J. Fundamentos de genética. 4ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara, 2008, p.1-903.

TORRES, R.; A.; MATOSO, D.; A.; ARTONI, R.; F. Genética de peixes neotropicais. II: Biologia molecular de peixes neotropicais. Ciências Biológicas e da Saúde, v. 10, n. 2, p. 27-37, 2004.

TUBMAN, L.; M.; BRINK, Z.; SUH, T.; K.;SEIDEL, G.; E. Characteristics of calves produced with sperm sexed by flow cytometry/cell sortin. Jouranl of Animal Science, v. 82, p. 1029-1036, 2004.

VAN VLIET, R.; A.; GIBBINS, A.; M.; V.; WALTON, J.; S. Livestock embryo sexing: a review of current methods, with emphasis on Y- specific DNA probes. Theriogenology, v.32, p.421-438, 1989.

VAN WAGTENDONK –DE – LEEUW, A.; M.; AERTS, B.; J.; G.; DEN DAAS, J.; H.; G. Abnormal offspring following in vitro production of bovine preimlantation embryos: a field study. Theriogenology, v. 49, p. 883-894, 1998.

VIEIRA, G.; S.; TAVARES, C.; A.; P.; BOUCHARDET, F.; C.; H.. Análise de DNA em Odontologia Forense: Analysis of DNA in Forensic Dentistry. Arquivo Brasileiro de Odontologia, v. 2, n. 6, p. 64-70, 2010.

VIEIRA, R.; J.; Biotécnicas aplicadas à reprodução bovina: generalidades. Ciência Animal, v. 22, n. 1, p. 55-65, 2012.

WETHERINGTON, J. Introduction to Biotechnology: A Georgia Teachers Resource Manual. 2010, 87p.

WILKENS, H. Embryologie und Anatomie des weiblichen Genitale. In: Grunert E, Berchtold M. Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind. Berlin: Verlag Paul Parey, 1982. p.25-48.

WISCHRAL, A.; GOMES FILHO, M.; A. Aplicações da biologia molecular na reprodução animal. Revista Brasileira de Reprodução Animal, n. 6, p. 59-63, 2009.

WOLF, D.; P.; MENG, L.; ELY, J.; J.; STOUFFER, R.; L. Recent progress in mammalian cloning. Journal of Assited reproduction and Genetics, v. 15, p. 235-239, 1998.

ZATZ, M. Clonagem e células-tronco. Estudos Avançados, v. 18, n. 51, p. 247-256, 2004.

Capítulo 3 - Manejo Reprodutivo em Ovinos e Caprinos

Moreira, Y.R.[1]; Vieira, B.C.R.[1]; Alfaiate[1], M.B.; Oliveira, A.P.G.[1]; Oliveira, M.C.[3]; Moreira, G.R.[2]; Deminicis B.B.[2]; Siqueira, J.B[4]; Costa, F.Q.[5]

INTRODUÇÃO

Os caprinos (Capra hircus) e ovinos domésticos (Ovis aries) são duas espécies distintas da família Bovidae que representam, segundo a literatura, os primeiros animais a serem domesticados pelos homens (HAFEZ et. al, 2004). No Brasil a caprinovinocultura vem se tornando uma importante fonte de renda para os produtores. Segundo Lima e Filho (2013), a referida atividade alcançou espaço relevante no mercado nacional e se destaca no agronegócio. Este crescimento pode ser justificado pelo aumento da demanda por parte dos consumidores brasileiros, na busca, por exemplo, por novas fontes de proteína. (PACHECO; QUIRINO, 2008).

Segundo Fonseca (2005), o crescimento da atividade de criação de caprinos e ovinos no Brasil segue acompanhando um ciclo de crescimento a nível mundial, o qual aumentou nas últimas décadas, principalmente em países em desenvolvimento, que possuem os maiores rebanhos. Associado a esta perspectiva, entende-se a necessidade e a importância da condução da caprinovinocultura como um agronegócio, através da obtenção de informações relacionadas ao sistema de manejo produtivo e reprodutivo desta categoria de animais e a adoção de medidas estratégicas para a otimização da produção.

Assim como ocorre com bovinos e bubalinos, no sistema de criação de caprinos e ovinos, a eficiência reprodutiva é um dos principais fatores que interferem na eficiência produtiva do rebanho. Segundo Fonseca (2010), ao aplicar manejo nutricional, sanitário e relacionado a bem-estar animal adequados, a obtenção de um sistema produtivo eficiente se limitará a eficiência reprodutiva do rebanho. Sendo assim, o objetivo dessa revisão de literatura foi rever os aspectos relacionados ao manejo reprodutivo em ovinos e caprinos partindo da premissa o fato de que o melhor conhecimento nas medidas a serem realizadas no processo proporcionará ao profissional e ao criador maior base para a tomada de decisões.

Manejo reprodutivo em ovinos e caprinos

O manejo reprodutivo é um conjunto de medidas que visam auxiliar o produtor à condução do sistema reprodutivo do rebanho. De uma maneira geral, visam organizar a produtividade do rebanho, a partir de técnicas que permitam a utilização racional dos animais (GRANADOS et al., 2006). Sendo assim, concordando com Lago e Lafayette (2000), para a obtenção de um eficiente sistema de produção de ovinos e caprinos é necessário à implementação de um programa de manejo reprodutivo suficientemente necessário para o sucesso na produção.

[1]Mestrandos do Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias - PPGCV do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, CCA/UFES, Alegre-ES, Email: yararmoreira@hotmail.com
[2] Professor do Programa de Ciências Veterinárias, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, CCA/UFES, Alegre-ES
[3] Graduando em Zootecnia pela Universidade Federal do Espírito Santo, CCA/UFES, Alegre-ES.
[4]Instituto do Ciências Agrárias, UFVJM/ Campus Unaí, Unaí/MG, email: jeanne.siqueira@ufvjm.edu.br
[5]Médica Veterinária, D.Sc. Profª da Universidade Iguaçu - UNIG - Itaperuna/RJ, Email: nandaqcvet@gmail.com

Escrituração zootécnica

Para iniciar um programa de manejo reprodutivo num rebanho de pequenos ruminantes, assim como em outras espécies, é importante à realização de um levantamento e a anotação de todas as condições a qual os animais são expostos no sistema de criação. Esta coleta e armazenamento de dados de campo, denominada escrituração zootécnica (PAULA et al., 2011), são realizados a partir do histórico dos animais, onde toda e qualquer informação referente ao rebanho, no período que antecede esse procedimento de escrituração, é importante (GRANADOS et al., 2006).

Dentre os dados a serem coletados inclui-se informações referentes à sanidade, tipo e quantidade de alimentação e as condições reprodutivas do plantel. Segundo Paula et al., (2011), a escrituração zootecnia é uma medida de grande importância para o manejo reprodutivo na caprinovinocultura, uma vez que influencia diretamente na tomada de decisões na gestão da atividade. Esse auxílio na tomada de decisões ocorre pelo fato da escrituração zootécnica tornar possível a determinação da produtividade do plantel, através do calculo dos custos de produção e a margem de lucro atingida (NOGUEIRA et al., 2011).

Acessibilidade de mão de obra de qualidade

Além do levantamento produtivo e reprodutivo do rebanho, é importante também, o acesso a informações e mão-de-obra especializada, garantindo, desta forma, a realização de medidas com comprovada eficiência. Dentre os profissionais que devem estar ligados ao sistema de produção incluem-se médicos veterinários, técnicos agropecuários e funcionários, ou o próprio produtor, embasados de treinamentos específicos para a rotina da criação.

Descarte Orientado

A prática do descarte orientado é uma medida de manejo que deve integrar todo e qualquer sistema de exploração animal que tenha fins lucrativos (NOGUEIRA et al., 2011). Trata-se da “limpeza genética” do rebanho preexistente, que consiste na remoção de animais com problemas reprodutivos ou improdutivos, propriamente dito (GRANADOS et al., 2006). Esta prática permite a melhoria do padrão genético do rebanho, bem como a redução da pressão de pastejo em sistemas extensivos ou semi-intensivo, por exemplo, aumentando a disponibilidade de alimento para os animais produtivos (NOGUEIRA et al., 2011).

A técnica de descarte orientado é indicada, principalmente, quando se deseja organizar as atividades de uma propriedade (GRANADOS et al., 2006), e deve ser repetida, segundo Nogueira et al. (2011), uma vez por ano ou a cada ciclo de reprodução. Assim, o produtor garante a identificação de machos e fêmeas que estejam comprometendo a eficiência produtiva e reprodutiva do rebanho, podendo tomar decisões que melhorem o desempenho do mesmo.

Por se tratar de descarte de forma orientada, as características a serem avaliadas diferem entre os sistemas de exploração carne e leite. De uma forma geral, deve ser descartado do rebanho reprodutor com idade superior a seis anos e que esteja transmitindo defeitos genéticos à sua progênie. Nas fêmeas, deve-se promover o descarte quando há alteração no peso padrão destas e quando as cabras e as ovelhas apresentarem idade superior a dois anos. Além disso, este procedimento deve ser realizado quando as matrizes que apresentarem problemas ou antecedentes de problemas reprodutivos, como, por exemplo, parto distócico (GRANADOS et al., 2006; NOGUEIRA et al., 2011).

Escolhas das matrizes e do reprodutor

Entende-se por reprodução o ato de multiplicar-se, de gerar novos indivíduos, resultando na ampliação do rebanho no sistema produtivo (RIBEIRO, 1997; NOGUEIRA et al., 2011). Sendo assim, o denominativo ato de reproduzir permite a melhoria nos índices produtivos do plantel, como consequência da realização de cruzamentos bem elaborados (RIBEIRO, 1997). Para tanto, a obtenção do sucesso nestes cruzamentos e, consequentemente, a obtenção de desempenho produtivo e reprodutivo satisfatórios no sistema de criação, é indispensável à seleção dos animais que se destinarão à reprodução.

Segundo Granados et al. (2006), a seleção de reprodutores e matrizes para serem utilizados no programa de acasalamento representa um dos pontos cruciais para a exploração de caprinos e ovinos, uma vez que a resposta dada pelos animais consistirá no sucesso da atividade.

Escolha das matrizes

Fertilidade

Para a seleção de matrizes de qualidade a principal característica a ser avaliada é o seu histórico de fertilidade, a qual se avalia a capacidade de produção de crias de boa qualidade bem como a produção de leite suficiente para amamentá-las. Além disso, analisa-se o poder de fecundação a cada cobertura a qual a fêmea foi exposta (GRANADOS et al., 2006). Para que cada ciclo reprodutivo seja eficientemente completado é necessário que a fêmea seja funcionalmente capaz de conduzir as fases críticas que o compõe (FOOTE, 2003).

Raça

A cabra e a ovelha são animais que fazem parte de uma categoria denominada poliéstricas estacionais de dia curtos, ou seja, em regiões temperadas (altas latitudes) o decréscimo nas horas de luz por dia (fotoperíodo) estimula a manifestação dos fenômenos reprodutivos. No caso de regiões tropicais, como o Nordeste brasileiro, por exemplo, a variação do fotoperíodo quase não existe, permitindo as fêmeas de se reproduzirem durante todo o ano devido à ausência da estacionalidade reprodutiva (FONSECA, 2005; MAIA et al., 2011).

Sendo assim, devido à presença ou ausência da estacionalidade reprodutiva, a boa condução do manejo reprodutivo do rebanho dependerá da escolha da raça de fêmeas a serem inseridas no plantel, uma vez que a adaptabilidade influenciará diretamente na ciclicidade (FONSECA, 2005). Caprinos (Canindé, Moxotó, SRD) e ovinos (Santa Inês, Morada Nova, SRD) pertencentes a raças consideradas nativas brasileiras manifestam atividade reprodutiva ao longo de todo o ano, já em caprinos de raças leiteiras especializadas (Saanen, Alpina e Toggenburg) e ovinos lanados (Ille de France, Suffolk, Merino (FONSECA, 2005) o mesmo não acontece.

A escolha da raça no processo de seleção influencia diretamente os índices reprodutivos do rebanho, como por exemplo, o intervalo entre partos (IP), que consiste no espaço de tempo entre duas parições. Segundo, Terril e Foote (1987), o IP representa um dos melhores parâmetros para avaliar a eficiência reprodutiva do plantel. Em trabalho realizado por Gonçalves et al. (1996), desenvolvido no Brasil, observou-se que caprinos nativos de regiões tropicais apresentaram melhores índices de IP por não sofrerem a influência da sazonalidade, enquanto cabritas de raça europeias apresentaram maiores IP devido ao efeito da estacionalidade reprodutiva sobre estes animais.

Segundo Pilar et al. (2000), além da seleção conforme a adaptabilidade, sendo ela existente ou conquistada, às condições ambientais da região, é interessante a escolha de matrizes que sejam menos exigentes quanto a alimentação e mantença. Estudos realizados ao longo dos anos (TRALDI, 1990; NUNES et al., 1997; CUNHA et al., 1999; OLIVEIRA, 2001), identificaram ovelhas da raça deslanada Santa Inês como fêmeas de alta adaptabilidade ao ambiente e clima do Brasil, tendo condições de apresentar atividades reprodutivas o ano todo. Sendo assim, a escolha de raças no processo de seleção das matrizes, baseada no conhecimento do seu desempenho produtivo/reprodutivo e adaptação ao meio é uma medida importante no manejo reprodutivo, uma vez que se relaciona diretamente com os custos e investimentos de produção (despendidos com a fêmea) e a eficiência reprodutiva do rebanho.

Condicionamento corporal (peso)

No sistema de seleção de matrizes para os programas de reprodução é importante que as cabras e as ovelhas escolhidas estejam em boa condição corporal. Sabe-se que, o ideal, é que estas fêmeas não estejam muito magras e nem muito gordas (NOGUEIRA et al., 2011). A influência da nutrição sobre o desempenho reprodutivo de fêmeas ruminantes destaca-se, dentre outros fatores, pelo fato de afetar diretamente os aspectos fisiológicos e, consequentemente, o desempenho reprodutivo (BUTLER, 2001; GONG et al., 2002a; WEBB et al., 2004).

Dentre os prejuízos causados por utilização de fêmeas nos programas de reprodução que estejam acima ou abaixo do peso ideal, pode-se citar: queda na prolificidade, queda no desempenho das crias ao desmame e a toxemia da prenhez.

Aspectos de sanidade e morfologia corporal

Ainda sobre a seleção de matrizes a serem inseridas no programa de reprodução, destaca-se a importância da escolha daquelas que estejam livres de qualquer doença (infecciosa, parasitária, viral ou de origem bacteriana) que possa influenciar o desempenho produtivo e reprodutivo. Segundo Golçalves et al. (2008), o controle das enfermidades do rebanho, dentre outros fatores, representa um limitante da produtividade e da oferta de leite ou de carne caprina no país. Para alguns pesquisadores (SANTIAGO et al., 1976; VIEIRA et al., 1997; GASTALDI, 1999; AMARANTE, 2001) o principal problema sanitário dos rebanhos de ovinos e caprinos é a verminose, uma vez que esta afeta diretamente o fator lucratividade devido os custos despendidos pela queda na produtividade, o aumento da mortalidade e as despesas com funcionários e antiparasitários (AMARANTE, 2001).

Além de uma saúde adequada, as matrizes não devem possuir defeitos congênitos (NOGUEIRA et al., 2011), os quais, segundo Jolly (2002), são responsáveis por enormes prejuízos ao sistema de produção, com destaque para causas de aborto ou morte neonatal, resultando em perdas reprodutivas expressivas. Elevada importância também deve ser dada à herança genética que as matrizes possuem e tende, consequentemente, a ser passada ao longo das gerações. Matrizes com defeitos hereditários não devem ser inseridas no grupo a se reproduzir. Além disso, os animais devem ser escolhidos com característica genética relacionada ao produto que se deseja com a exploração destas espécies (carne, leite e/ou lã). Este fato se dá pela relevância das ações relacionadas ao melhoramento genético que estão ligadas ao desenvolvimento de qualquer atividade pecuária.

Com a influência do fator genético no rebanho, mesmo que as medidas de manejo fundamentais ao sistema de produção sejam adequadamente realizadas (alimentação, sanidade e reprodução), não é possível o avanço produtivo na atividade, caso não sejam elaboradas técnicas visando o melhoramento do padrão genético do rebanho (Lôbo et al., 2007. Sendo

assim, pode-se considerar que a escolha de matrizes é uma medida fundamental e de grande relevância para a produção de pequenos ruminantes.

Por fim, destaca-se a necessidade da avaliação das características corporais da cabra ou ovelhas, que estejam direta ou indiretamente relacionadas com a reprodução, como é o caso das glândulas mamárias. Para Nogueira et al. (2011), além de boa habilidade materna avaliada em fêmeas que já pariram, as glândulas mamárias precisam ser observadas para a escolha da matriz ideal. Segundo eles, as glândulas mamárias precisam ser bem inseridas ao corpo, livre de qualquer estrutura que apresente sinal de doença (caroços, linfonodos e/ou feridas) e de tamanho moderado, onde as mamas pendulosas devem ser evitadas.

Escolha do Reprodutor

Raça

Na produção de caprinos e ovinos, assim como em qualquer sistema de produção, a capacidade e o desempenho reprodutivos, componentes essências para o sucesso da atividade, são diretamente dependentes da interação genótipo e meio ambientes (Santos et al. 1998). Sendo assim, entende-se a necessidade da escolha da raça dos machos a serem utilizados como reprodutores dentro do rebanho, a qual se baseia, principalmente, na capacidade de adaptação ao ambiente local (BARBOSA et al. 1995). Segundo Pacheco et al. (2010), esta medida de manejo é destacada pelo fato de que o macho contribui com cinquenta por cento do material genético à progênie. Portanto, é necessário que o reprodutor escolhido possua características reprodutivas satisfatórias (PACHECO et al., 2010) com capacidade de produção de descendentes que mantenham as características típicas da raça, boa produção leiteira e/ou ganho de peso (GRANADOS et al., 2006).

Para McManus et al. (1998), há uma necessidade de novos estudos relacionados ao padrão racial no Brasil, uma vez que a maioria das pesquisas são baseadas em regiões típicas de criação das espécies, como nordeste e sul do país. Esta necessidade é explicada, segundo os autores, pela diversidade de raças e a variação de clima entre as regiões que os animais são criados. Sendo assim, para a exploração de pequenos ruminantes bem como a realização de cruzamentos genéticos visando adquirir raças adequadas a um determinado ambiente, é importante o conhecimento da capacidade de adaptação das diversas raças disponíveis para a criação.

Biometria testicular e características seminais

A avaliação da biometria testicular, segundo Pacheco et al. (2010), pode ser considerada um importante critério no processo de escolha do reprodutor, uma vez que esta está relacionada com informações sobre a fisiologia reprodutiva do macho. O tamanho, o volume, o comprimento e a largura testicular são medidas que se relacionam diretamente com a capacidade deste órgão sexual em produzir células espermáticas (Mies Filho 1987), e então, permitem relacionar a função gametogênica com o potencial reprodutivo (NOTTER et al., 1985).

Em trabalho realizado com caprinos na região semi-árida do estado da Paraíba, Vilar Filho et al. (1993) verificaram que o tamanho testicular correlaciona-se, significativamente, com o volume testicular e o peso corporal. Em carneiros da raça Santa Inês, a biometria testicular tem sido correlacionada com características seminais, idade à puberdade e desenvolvimento corporal (SOUZA et al., 2003). A exemplo disto, Almeida et al. (2003) encontraram relações positiva entre o perímetro escrotal e medidas corporais, mostrando que cordeiros com maior perímetro escrotal apresentam maiores potenciais produtivo, reprodutivo e

zootécnico, uma vez que estes são capazes de realizar a monta mais cedo, garantem maior número de crias por prenhes e suas filhas são mais precoces com relação à puberdade (LÔBO et al., 1997).

Associado a características de biometria, recomenda-se a realização de um espermograma (avaliação dos espermatozoides) antes da obtenção ou escolha de um macho a ser inserido no plantel como reprodutor (GRANADOS et al., 2006). A relação de perímetro escrotal e qualidade seminal são apresentadas, por exemplo, por Souza et al. (2000), os quais observaram que perímetro escrotal (PE) pode ser utilizado para indicar qualidade seminal, uma vez que o sêmen de ovinos da raça Santa Inês pré-púberes e púberes apresentaram relação do PE com motilidade massal, motilidade individual progressiva e concentração espermática. Já Silva (1999), ao avaliar o desenvolvimento sexual de caprinos da raça Saanen, identificaram correlações positivas entre o a circunferência escrotal e motilidade espermática.

Segundo Granados et al. (2006), a seleção de bodes e carneiros para a reprodução pode ser feita a partir dos seis meses de vida do animal, quando este já tenha tingido a maturidade sexual e se apresente apto a se reproduzir. De acordo com Nogueira et al. (2011), para uma boa produção de espermatozoide,no processo de escolha, bodes que já tenham atingido a maturidade sexual devem ter, no mínimo, uma circunferência escrotal de 28 centímetros enquanto os carneiros deve ter, no mínimo, 32 centímetros de circunferência. Além das características específicas de biometria e do sêmem, os testículos devem ser simétricos, estarem localizados inteiramente no interior da bolsa escrotal e livres de fissuras ou outros tipos de lesões internas ou externas (NOGUEIRA et al., 2011; GRANADOS et al., 2006).

Libido e comportamento reprodutivo

As características relacionadas ao comportamento reprodutivo, associado com a qualidade seminal e os aspectos testiculares, representam uma das principais características a serem avaliadas na escolha de potenciais reprodutores (PACHECO et al., 2008). Realizada a partir de teste de libido ou teste de capacidade de serviço (MAIA, 2002; DELGADO e GOMEZ-URVIOLA, 2005), a avaliação do comportamento reprodutivo visa identificar machos capazes de identificar o estro (cio) em fêmeas, de manifestarem libido e que sejam hábeis no processo de cobertura (AZEVÊDO et al., 2008).

A identificação destes animais, segundo Pineda et al. (2000), é uma medida imprescindível no processo de escolha, uma vez que a partir dela identifica-se machos capazes de cobrir maior número de fêmeas possível, aumentando o número de crias e reduzindo o intervalo entre partos, otimizando desta forma, o processo de produção de caprinos e ovinos (PINEDA et al., 2000).

Estação de reprodutiva

Estação reprodutiva é o período estabelecido para o acasalamento dos animais, podendo também ser denominada estação de monta (NOGUEIRA et al., 2011). O estabelecimento deste período deve ser eficientemente padronizado com base na interação da condição genética do animal e o ambiente que o mesmo habita. Sendo assim, a estação de monta deve estar relacionada com as condições de clima da região, com a capacidade do macho e da fêmea em se reproduzirem e com a oferta de alimento durante alguns acontecimentos reprodutivos, como o período que compreende o nascimento das crias (GRANADOS et al., 2006).

A duração média do ciclo estral em ovelhas são de 17 dias e de 21 dias em cabras (FONSECA, 2005). Sendo assim,quando realizada pela primeira vez, a literatura recomenda, que a estação de monta dure de quarenta e oito a cinquenta e um dias para ovelhas e sessenta a

sessenta e três dias em cabras, aproveitando três ciclos estrais destas fêmeas e, consequentemente, aumentando a chance de sucesso à cobertura (NOGUEIRA et al., 2011).

O controle das atividades reprodutivas do plantel em estações de acasalamento cria condições de um melhor aproveitamento do potencial produtivo e reprodutivo dos animais (GRANADOS et al., 2006). Isto porque possibilitará a redução do intervalo entre partos, aumentando o numero de crias/ano, e, consequentemente, a lucratividade na exploração, devido aumento na produção de carne e/ou de leite. Além disso, o sistema de estação reprodutiva permitirá o nascimento dos filhotes num período determinado de tempo, o que facilitará e economizará no manejo alimentar e sanitário (NOGUEIRA et al., 2011).

Sistema de acasalamento

Existem diferentes formas de os animais se acasalarem, as quais podem ser de forma natural ou artificial, que é o caso da inseminação (GRANADOS et al., 2006; FONSECA, 2010). Para Bicudo (1998), o método de acasalamento a ser utilizado no sistema de produção deve estar de acordo com a realidade da propriedade (instalações, capacitação dos técnicos e número de fêmeas), reunindo vantagens como simplicidade na realização da técnica em um curto espaço de tempo, possibilidade de aproveitamento ao máximo do reprodutor e vantagem econômica.

2.5.1. Monta natural

A monta natural é o método mais simples de acasalamento e é amplamente utilizada em rebanhos de corte e de leite de caprinos e ovinos. Pode-se apresentar em três modalidades:

Livre: Neste tipo de acasalamento não há um controle efetivo do processo, uma vez que as fêmeas ficam são mantidas com os machos o ano todo ou em toda a estação de monta (FONSECA et al., 2010). Normalmente, na monta natural simples, os machos são colocados junto às fêmeas na proporção de 3% (GRANADOS et al., 2006). Mais utilizado em sistema extensivo de produção ou em produções de categoria familiar, a exposição contínua de machos às fêmeas, sem o devido controle, ocorre também, principalmente, em sistemas com baixa infra-estrutura e ineficiente controle zootécnico (FONSECA et al., 2010).

Controlada: Diferente da forma livre, a monta natural controlada é realizada a partir de um esquema elaborado que visa o inserção do macho à uma quantidade determinada de fêmeas num período programado de tempo (estação de monta). É realizada em sistemas que possui um eficiente controle zootécnico. A proporção de macho /fêmea utilizada gira em torno de 1:50, e, normalmente, utiliza-se a estratégia de exporem estes machos no período noturno, que segundo Fonseca et al. (2005), é o período que se concentra a maioria das ocorrências de início e fim da manifestação do estro. Esta estratégia contribui para o aumento do numero de fêmeas cobertas durante uma estação reprodutiva, uma vez que há diminuição dos gastos metabólicos com detecção de estro, movimentação em piquetes e risco de acidentes com os machos (FONSECA et al., 2010).

Dirigida: Nesta modalidade as fêmeas receptivas são conduzidas ao macho para a realização da cópula (BICUDO, 1998). Neste caso, as fêmeas em estro são identificadas através de animais excitadores, como por exemplo, os machos cirurgicamente preparados (rufiões). A relação de rufião em relação as fêmeas deve ser de 1:50 (FONSECA et al., 2010). Segundo Fonseca et al. (2010), este sistema de acasalamento é amplamente realizado em sistemas de exploração de caprinos e ovinos criados em sistemas de confinamento, que é o caso, por exemplo, de caprinos e ovinos leiteiros de raças especializadas.

2.5.2. Inseminação Artificial

A Inseminação Artificial (IA) consiste na deposição do sêmen na genital feminina pelo homem através de meios mecânicos (GRANADOS et al., 2006). Esta técnica é considerada a pioneira de biotecnologias da reprodução, (FONSECA et al., 2010) e, ao adota-la, é necessário uma quantidade mínima de animais no rebanho para a viabilização econômica (BICUDO et al., 2005). Em caprinos e ovinos, a IA ainda possui uso restrito devido, principalmente, à dificuldade da condução da técnica, e da peculiaridade das características de reprodução desta categoria de animais (FONSECA et al., 2010).

Na técnica da IA pode ser utilizado com sêmen fresco, resfriado ou congelado, o qual pode ser coletado com auxílio da vagina artificial ou do eletroejaculador (GRANADOS et al., 2006 ; FONSECA et al., 2010). Segundo Bicudo et al. (2005), a dose inseminante deve possuir de 150 a 200 milhões de espermatozoides viáveis. Ao se comparar, o sêmen fresco apresenta melhores resultados do que o sêmen congelado, além de requerer técnicas e equipamentos menos sofisticados de deposição do sêmen no trato reprodutivo da fêmea. Contudo, é importante considerar que o uso do sêmen congelado no sistema de inseminação artificial promove maior impacto nos programas de melhoramento genético pela pressão gerada no processo de seleção (BICUDO et al., 2005).

Dentre as vantagens da utilização da técnica de IA no sistema de criação de ovinos e caprinos, destaca-se o fato de que com apenas um ejaculado há a possibilidade de à inseminar quinze a trinta ovelhas (BICUDO et al., 2005). Segundo Granados et al. (2006), numa estação reprodutiva, um reprodutor é capaz de produzir cerca de 50 filhotes através da monta natural. Com o uso da IA, a produção de filhotes durante uma temporada de reprodução pode subir para 500 filhotes de um único reprodutor, ao utilizar sêmen fresco.

Apesar das inúmeras vantagens relacionadas com a prática de inseminação artificial no rebanho algumas questões devem ser levantadas antes da utilização desta no sistema de criação para obtenção de bons resultados. A primeira delas é a questão econômica (BICUDO et al., 2005 ; GRANADOS et., 2006 ; FONSECA et al., 2010). Visando atender aos interesses econômicos e do programa de melhoramento genético a ser realizado, sempre se deve questionar qual a melhor opção de acasalamento a ser utilizada no rebanho, monta natural ou inseminação. De uma maneira geral, o que se deve considerar é que para a prática da IA requisitos mínimos de manejo e investimentos devem ser atendidos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Quando bem adaptados, os ovinos e caprinos mostram-se capazes de produzir produtos de qualidade e de grande procura no mercado nacional e internacional. Portanto, a caprinovinocultura tem se apresentado como uma importante fonte de renda para os produtores.

A eficiência reprodutivaa está diretamente relacionada com a produtividade do rebanho. Sendo assim, esta influencia no fator lucratividade do sistema de criação, salientando a importância de um manejo reprodutivo adequando do rebanho.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A.K.; BITTENCOURT, R.F.; RIBEIRO FILHO, A.L. et al. Circunferência escrotal e medidas corporais em carneiros Santa Inês de várias idades. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v.27, n.2, p.197-199, 2003.

AMARANTE, A .F. T. Controle de endoparasitoses em ovinos. In: MATTOS, W.R.S. et al. (Eds.) A produção Animal na visão dos brasileiros. Piracicaba:FEALQ/SBZ, 2001. p. 461-473.

AZEVÊDO, D. M. M. R.; MARTINS FILHO, R.; ALVES, A. A.; ARAÚJO, A. A.; LÔBO, R. N. B. Comportamento sexual de ovinos e caprinos machos. Revisão. Publicações em Medicina Veterinária e Zotecnia, v.2, n.6, 2008.

BARBOSA, O.R.; SILVA, R.G.; SCOLAR, J. et al. Utilização de um índice de conforto térmico em zoneamento bioclimático da ovinocultura. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 32., 1995, Brasília. *Anais*... Brasília: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1995. p.131-141.

BICUDO, S.D. (Docente): Sistema de acasalamento em ovinos: monta natural e Inseminação Artificial; Informativo FMVZ; 01/08/1998; 1998; 8; 8; Português; Botucatu; Brasil; Impresso;

BUTLER, W. R. Nutritional effects on resumption of ovarian cyclicity and conception rate in post- partum dairy cows. Animal Science, v.26, p.133-145, 2001.

CUNHA, E. A. ; SANTOS, L. E.; BUENO, M. S.; VERÍSSIMO, C. J. Produção intensiva de ovinos. Nova Odessa: INSTITUTO DE ZOOTECNIA, 1999, 49 p.

DELGADO, A. R; URVIOLA, G. N. Comportamiento reproductivo del ovino criollo en el endocrinological traits in combination as indices of postpubertal reproductive function, 2005.

FONSECA, J. F. Estratégias para o controle do ciclo estral e superovulação em ovinos e caprinos. Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 16, 2005, Goiânia, *Anais*...Goiania-GO, 2005.

FONSECA, J. F. Otimização da eficiência reprodutiva em caprinos e ovinos. Embrapa Caprinos e Ovinos-Artigo em anais de congresso (ALICE*)*. In: ENCONTRO NACIONAL DE PRODUÇÃO DE CAPRINOS E OVINOS, 1., 2006, Campina Grande. *Anais*... Campina Grande: SEDAP; SEBRAE; INSA; ARCO, 2006. 10 f., 2010.

FOOTE, R. H. Fertility estimation: a review of past experience and future prospects. Animal. Reproduction Science., 75:119-139, 2003.

GASTALDI, K. A. Utilização do pastejo integrado como controle de nematodíases em ovinos. In: Utilização do pastejo integrado como controle de nematodíases em ovinos, 1999, 129p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1999.

GONÇALVES, A. L.; LANA, R. P.; MENDONÇA, R. Avaliação de sistemas de produção de caprinos leiteiros na Região Sudeste do Brasil. Revista Brasileira de Zootecnia, v.37, n.2, p.366-376, 2008.

GONÇALVES, H.C., SILVA, M.A., MARTINS, E.N. et al. Fatores genéticos e de meio na idade ao primeiro parto de caprinos no Brasil. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDA- DE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 33, 1996. Fortaleza. *Anais*... Fortaleza: SBZ, 1996. p.163-165.

GONG J.G.; LEE W.J.; GARNSWORTHY P.C.; WEBB R. Effect of dietary-induced increases in circulating insulin concentrations during the early post-partum period on reproductive function in dairy cows. Reproduction, v.123, p.419-27, 2002.

GRANADOS, L. B. C.; DIAS, A. J. B.; SALES, M. P. Aspectos gerais da reprodução de caprinos e ovinos. Capacitação dos técnicos e produtores do Norte e Noroeste Fluminense em Reprodução de Caprinos e Ovinos, 1º ed. Campos dos Goytacazes – 2006.

HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S.E. Reprodução animal. 7.ed. Barueri: Manole, 2004. 582.

HOPKINS, P. S., KNIGHTS, G. I., LE FEUVRE, A. S. 1978. Studies of the environmental physiology of tropical Merinos. Australian. Journal Agricultural Reserach, 29(1):61-71.

JOLLY, R. D. Screening for genetic diseases in cattle. Australian Veterinary Journal 80(5):284-285, 2002.

LAGO, G.; LAFAYETTE, J. W. S. Manejo Reprodutivo de Caprinos e Ovinos. Peq. 2000 – Programa: Formação Profissional e Emprego, 2000.

LIMA, L. R.; FILHO, A. D. B. Impacto do manejo pré-abate no bem-estar de caprinos e ovinos. Journal Animal Behavior Biometeorol, v.1, n.2, p.52-60, 2013.

LÔBO, R. N. B.; MARTINS FILHO, R.; FERNANDES, A. A. O. Correlações entre o desenvolvimento do perímetro escrotal e caracteres de crescimento em ovinos da raça Morada Nova. Revista Brasileira de Zootecnia, v.26, n.2, p.265-271, 1997.

LÔBO, R. N.; LÔBO, A. M. B. O. Melhoramento genético como ferramenta para o crescimento e o desenvolvimento da ovinocultura de corte. Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte, v.31, n.2, p.247-253, abr./jun. 2007. Disponível em www.cbra.org.br.

MAIA, M. S. et al. Características reprodutivas de carneiros no Nordeste do Brasil: parâmetros seminais. Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte, v.35, n.2, p.175-179, abr./jun. 2011. Disponível em: < www.cbra.org.br>. Acesso em: 10/08/2014.

MCMANUS, C.; MIRANDA, R. M. Estimativa de Parâmetros genéticos em Ovinos Bergamácia. Revista Brasileira de Zootecnia, v, n, 5, p.916-921, 1998.

NOGUEIRA, D. M.; ELOY, A. M. X.; SA, C. O.; JUNIOR, E. S. L.; FIGUEIREDO, H. O. S.; SA, J. L.; SOUSA, P. H. F. Manejo reprodutivo. In: VOLTOLINI, T. V. (Ed.). Produção de caprinos e ovinos no Semiárido. *Anais*... Petrolina, Embrapa Semiárido, 2011.

NOTTER, D. R. et al. Breed group differences in testicular growth patterns in spring- born ram lambs. Journal of Animal Science, v.60, n.3, p.622-631, 1985.

NUNES, J. F.; CIRÏACO, A. L. T.; SUASSUNA, U. Produção e reprodução de caprinos e ovinos. 2. ed. Fortaleza: GRÁFICA LCR, 1997.

OLIVEIRA, G. J. C. A raça Santa Inês no contexto da expansão da ovino- cultura. In: SIMPÓSIO MINEIRO DE OVINOCULTURA, 2001, Lavras. *Anais*... Lavras: UFLA, 2001. p. 1-20.

PACHECO, A. et al. Biometria e formas dos testículos em cordeiro da raça Santa Inês explorados em regime de manejo intensivo. Revista Brasileira de Ciências Agrárias, v. 5, n.1, p. 123-128, jan-mar. 2010.

PACHECO, A. et al. Estudo das características de crescimento em ovinos. Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 2, n. 29, Ed.40, Art. 293, p. 1982-1263, 2008.

PACHECO, A. et al. Estudo das características de crescimento em ovinos. Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 2, n. 29, Ed.40, Art. 293, p. 1982-1263, 2008.

PAULA, E. F. E.; STIVARI, T. S. S.; FERNANDES, M. A. M. Escrituração zootécnica na ovinocaprinocultura: conceitos e aplicabilidade. Instituto de Estudos Pecuários, 2011. Disponível em: http://ovinosecaprinos.iepec.com/noticia/escrituracao-zootecnica-na-ovinocaprinocultura-conceitos-e-aplicabilidade.

PILAR, R. C.; PÉREZ, J. R. O.; SANTOS, C. L.; PEDREIRA, B. C. Considerações sobre produção de cordeiros. Lavras: UFLA, 2000.

PINEDA, N. R; FONSECA V. O; ALBUQUERQUE, L. G. Estudo preliminar da influência do perímetro escrotal sobre a libido em touros jovens da raça Nelore. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.52, p. 69-75, 2000.

QUIRINO, C. R.; COSTA, R. L. D.; AFONSO, V. A. C.; SILVA, R. M. C. Testes para avaliar o comportamento sexual e características seminais de carneiros da raça Santa Inês. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 45, 2008, Lavras. *Anais*... Lavras, MG: SBZ, 2008. CD-ROM.

RIBEIRO, S. D. A. Caprinocultura: Criação Racional de Caprinos. São Paulo: Nobel, 1997.

SANTIAGO, M.A.M.; BENEVENGA, S.F.; COSTA, U.C. Epidemiologia e controle da helmintose ovina no município de Itaqui, Rio Grande do Sul. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.10, n. 1, p.1-7, 1976.

SOUZA, C. E. A. et al. Desenvolvimento testicular, idade à puberdade e características seminais em carneiros da raça Santa Inês no estado do Ceará. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, v.37, p.160, Viçosa. *Anais*... Viçosa: SBZ, 2000.

SOUZA, C. E. A.; MOURA, A.A.; ARAÚJO, A.A.; LIMA, A.C.B. Estudo das interações entre o desenvolvimento gonadal, produção espermática, concentrações de testosterona e aspectos ligados à puberdade em carneiros Santa Inês ao longo do primeiro ano de vida. Revista Brasileira de Reprodução, v.27, n.2, 2003.

TERRIL, C. E.; FOOTE, W. C. Estimating reproductive performance in goat. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON GOATS, 4, Brasília, 1987. *Proceedings*... Brasília, 1987. v.1, p.577-583.

TRALDI, A. S. Aspectos reprodutivos dos ovinos: performance reprodutiva dos ovinos deslanados no Brasil. In: Produção de ovinos. *Anais*... Jaboticabal: FUNEP, 1990. p. 81-124.

VIEIRA, L. S.; CAVALCANTE, A.C.R.; XIMENES, L.J.F. Epidemiologia e controle das principais parasitoses de caprinos nas regiões semi-áridas do nordeste. Sobra: EMBRAPA Caprinos, 1997.

VILA FILHO, A. C.; BIRGEL, E. H.; BARNABE, V. H. Características testiculares e seminais de caprinos criados na região semi-árida do Estado da Paraíba. I. Características testiculares. Revista Brasileira de Reprodução. Animal, 17(1/2):17-22, 1993.

WEBB, R; GARNSWORTHY, P. C.; GONG, J. G.; ARMSTRONG, D. G. Control of follicular interactions and nutritional influences. Journal of Animal Science, v.82 (Supl), p.E63-E74, 2004.

Capítulo 4- Métodos de amostragem quantitativa direta e indireta de plantas forrageiras e pastagens

Gomes, L.L.[1]; Cóser, A.C.[2]; Oliveira, A.P.G.[1]; Stradiotti Júnior, D.[3]; Almeida, F.M.[4]; Marcelino , L.L.[5]; Morenz , M.J.F.[6]

INTRODUÇÃO

No Brasil a atividade pecuária é um dos setores mais importantes, uma vez que ocupa cerca de 185 milhões de hectares, sendo, portanto aproximadamente 89% dos bovinos criados exclusivamente a pasto (ANUALPEC, 2000). Como as pastagens são a principal fonte de nutrientes de animais ruminantes, o conhecimento da produção de forragem em termos de quantidade e qualidade é fundamental para calcular a sua capacidade de suporte e melhorar a produtividade animal. As forragens representam a forma mais econômica para alimentação animal e com isso, a demanda por tecnologia tende a aumentar visando à intensificação e a melhor exploração das pastagens para produção animal e, consequentemente, reduzindo os prejuízos e, consequentemente minimizar os custos com a alimentação dos rebanhos.

A estimativa da massa de forragem em pastagem é de fundamental importância, tanto para a pesquisa científica quanto para a exploração racional em áreas manejadas comercialmente (CÓSER et al., 1998), pois o uso eficiente das forrageiras sob pastejo na alimentação animal tem uma relação direta com a produtividade do sistema, buscando assim, a oferta de pastagens com disponibilidade e valor nutritivo adequados aos bovinos, possibilitando-os consumir quantidades suficientes com boa qualidade, para que possam expressar seu potencial genético (SALMAN, SOARES, CANESIN, 2006).

Para que haja o estabelecimento de um correto programa de utilização e manejo da pastagem é preciso definir os critérios quantitativos e qualitativos da vegetação; ou seja, estimar de forma simples e precisa a massa de forragem para que se possa calcular a taxa de lotação e o desempenho animal, com o objetivo final de tornar o sistema sustentável e com produtividade.

Técnicas de métodos diretos (ou destrutivos) e indiretos (ou não destrutivos) são utilizados para estimativa e avaliação de plantas forrageiras e pastagens. O método direto consiste no corte de toda a forragem contida em uma área amostrada da pastagem, e os métodos indiretos não são destrutivos e são rápidos, com menor demanda de mão de obra, já que minimizam a remoção física da forragem. O objetivo desses métodos, na verdade, é que se tenha uma representação da disponibilidade e qualidade das pastagens, com custo baixo de operação e que tenha boa acurácia (ZANINE et al., 2006; SALMAN, SOARES, CANESIN, 2006).

A grande dificuldade de se estimar a massa de forragem está ligada a grande diversidade de espécies de plantas forrageiras, relacionadas a diferenças nas características morfológicas e nos diferentes teores de matéria seca das espécies que compõem o pasto

[1]Mestranda do Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias - PPGCV CCA/UFES, Alegre-ES, email: lidianylgomes@hotmail.com
[2]Professor Visitante Nacional Sênior, Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias PPGCV CCA/UFES, Alegre-ES. Bolsista CAPES.
[3]Professor do Departamento de Zootecnia, CCA/UFES, Alegre-ES.
[4]Doutorando da Universidade Estadual do Norte Fluminense, UENF, Campos dos Goytacazes-RJ
[5]Zootecnista, aluna especial do Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias - PPGCV CCA/UFES, Alegre-ES.
[6]Zootecnista, DSc., Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG.

(ZANINE et al., 2006). Segundo Salman, Soares, Canesin (2006), a escolha do método para determinação da massa de forragem requer a observação e dependência de alguns fatores que estão relacionados com o aspecto geral da área em estudo, como por exemplo, a uniformidade, a densidade e a altura das plantas, a composição botânica da comunidade vegetal, bem como a de mão de obra e o tempo disponível.

Com o propósito de se obter adequado manejo das forrageiras, torna-se necessário conhecer, não apenas as características físicas, estruturais e anatômicas das espécies, a quantidade de forragem oferecida aos animais e o valor nutritivo, mas também a quantidade de forragem a ser consumida pelo animal e o valor nutritivo da forragem efetivamente consumida.

Para a maximização do desempenho animal e consequente retorno econômico, é imprescindível um manejo eficiente e racional da forragem, baseado na avaliação dos parâmetros qualitativos e quantitativos. O conhecimento da dinâmica dessas pastagens permite definir estratégias de manejo, proporcionando uma melhor utilização das espécies cultivadas (ROCHA, 2002).

Face ao exposto, pretende-se, nesta revisão, levantar os principais métodos de amostragens quantitativas e qualitativas diretas e indiretas para determinação de forragem disponível na pastagem e da sua qualidade, considerando-se as vantagens e desvantagens de cada uma, visando fornecer subsídios para a tomada de decisão na hora de escolher o método mais adequado para cada situação, considerando o conceito de escala de produção, com vistas ao aumento do lucro e redução dos riscos na produção animal.

2. MÉTODOS DE AMOSTRAGENS QUANTITATIVAS DE FORRAGENS

Várias são as opções para a amostragem de áreas de pastagem e cada método dispõe suas aplicabilidades e limitações em função, principalmente, considerando a forragem avaliada. Fatores, tais como, uniformidade da pastagem, hábito de crescimento e perfilhamento da planta, densidade da forragem, altura da pastagem e a composição botânica da pastagem podem influenciar (AMARAL, 2001). Logo, cabe ao pesquisador conhecê-los para que possa escolher o mais adequado para cada situação.

Mannetje (2000) recomenda que antes do início de qualquer procedimento de amostragem deva ser realizada uma análise de custo-benefício, na qual se considere a disponibilidade de tempo para realização do trabalho, o nível de precisão das avaliações, além da demanda por mão de obra e recursos necessários. Ë importante obter um balanço ótimo entre essas variáveis para que o resultado seja o mais efetivo possível, pois se a escolha não for correta a interpretação dos resultados poderá ser comprometida.

É relevante considerar o método de pastejo para medir a produção de forragem, pois com a lotação continua a estimativa é realizada por meio do uso de gaiolas de isolamento para evitar o pastejo. No método rotacionado as amostras são obtidas antes e dos animais entrarem no piquete e o crescimento da pastagem é medido durante o período de desfolha.

De acordo com Cóser et al. (2002) a caracterização da pastagem, dos recursos humanos e da infraestrutura disponível determinará o método de amostragem a ser utilizado.

Os métodos de amostragem de plantas forrageiras podem ser diretos e ou indiretos e serão descritos abaixo.

2.1. AMOSTRAGEM DIRETA

O método direto de avaliação de pastagens consiste no corte, de certa área delimitada, e pesagem da biomassa vegetal, seguido de secagem em estufa e pesagem da amostra para determinação do teor de matéria seca na massa de forragem fresca. Este método geralmente proporciona maior precisão que outros métodos de avaliação, no entanto, é lento e trabalhoso

requer um tempo maior e um grande número de amostras para se obter estimativas confiáveis (COSTA et al., 2009), sendo em geral, inviável para produtores, que não possuem para balanças precisas para pesagem e estufas para a secagem da forragem.

O método direto mais conhecido e utilizado para amostragem de plantas forrageiras é o que utiliza molduras de madeira ou metálicas de área conhecida e com formato quadrado ou retangular e, por isso, essa técnica é também conhecida por "Método do Quadrado". A área das molduras varia de 0,10 m^2 até 2,0 m^2. O tamanho da moldura utilizada depende da uniformidade da área a ser amostrada. As molduras mais comuns são aquelas de 0,5 x 0,5 m (0,25 m^2), porém, molduras menores têm sido utilizadas por pesquisadores em áreas de produção mais uniforme. Molduras maiores (1,0 x 1,0 m) são recomendadas quando as pastagens são muito heterogêneas devido à presença de áreas descobertas e, ou devido à diversidade de espécies de plantas, no caso de uma área de pastagem natural ou em estágio de degradação (SALMAN, SOARES, CANESIN, 2006).

Geralmente, utiliza-se para o corte das amostras de forragem o cutelo. Toda a forragem encontrada dentro da área da moldura (Figura 1a), lançadas na pastagem ao acaso, deve ser cortada e colocada em sacos identificados e pesada em balança de precisão (Figura 1b) para estimativa de matéria verde da área total. No entanto, há argumentos que o mais correto seria a escolha de locais no pasto onde a massa de forragem seria representativa da média. Contudo, na escolha da casualização ou escolha do local de corte da forragem deve-se considerar a heterogeneidade da planta forrageira e à dispersão dos valores pontuais de massa de forragem na área a ser amostrada, conforme discutido por Guzman et al. (1992).

Após a coleta, a amostra toda ou apenas uma subamostra, e neste caso esta deverá ser pesada novamente, é colocada em sacos de papel e levadas à estufa para secagem em estufa a 65° C por 72 horas ou até peso constante (Figura 1c). Logo após a secagem, pesar as amostras para determinar seus teores de matéria seca total. Para tal procedimento, utiliza-se o peso seco de cada amostra subtraído pelo peso da matéria verde (HAYDOCK e SHAW, 1975).

Figura 1 - a: Instrumentos utilizados no método direto: moldura metálica, cutelo, ficha de identificação da amostra e saco plástico para contendo a amostra de forragem cortada. **b:** pesagem da forragem encontrada dentro do quadrado, em balança de precisão. **c:** Secagem do material cortado em estufa. **Fonte:** Arquivo pessoal, 2013.

Algumas práticas da avaliação de forragens, como altura, frequência de cortes e doses de nutrientes, influenciam na determinação do rendimento. Assim, cortes frequentes diminuem o potencial fotossintetizante das plantas, acarretando em expressiva redução na produção de matéria seca (MEDEIROS e NABINGER, 2001). No entanto, Ahrens e Oliveira (1997)

afirmam que cortes tardios tendem provocar danos irreversíveis em perfilhos mais velhos e mais produtivos, quando seus pontos de crescimento são removidos.

A altura de corte da forragem a ser avaliada deve ser considerada, visto que é necessário estabelecer uma padronização da altura de corte ao nível do solo com a finalidade de minimizar erros, uma vez que se estabelece um referencial comum e consistente, independente do operador, planta forrageira e/ou tratamento (MANNETJE, 2000). Enfatiza-se que cortes drásticos, repetidas vezes nas mesmas áreas podem prejudicar a rebrota da pastagem, deve-se assim evitar excessivas amostragens de uma mesma área de pastagem.

Salman, Soares, Canesin (2006) ressaltam ainda que a altura de corte dependerá da forrageira utilizada na formação da pastagem e do hábito de pastejo dos animais. Configura-se ainda que cortes rentes ao solo elimine toda a área foliar e tendem a destruir grande número de meristemas apicais, resultando em menor produção forrageira, além de esgotar as reservas orgânicas da planta, especialmente quando os cortes são frequentes.

No que se refere ao número de amostras necessárias para obtenção de uma estimativa confiável irá depender da homogeneidade da estrutura do pasto e do grau de precisão exigido pelo pesquisador, sendo relevante uma amostragem preliminar da pastagem para estimativa de variância e assim determinar o número de amostras que melhor caracteriza a pastagem com maior confiabilidade (GARDNER, 1986).

Em termos gerais, o correto a se fazer é estabelecer o número mínimo de amostras a serem coletadas através da obtenção da curva dos coeficientes de variação acumulados em função do número de amostras (LOPES et al., 2000). O número de amostras coletado deverá ser estabelecido graficamente pelo método da máxima curvatura do coeficiente de variação, descrito por Federer (1955). Para estimativa desse número, traça-se uma reta do ponto de origem da curva até o ponto final desta. Em seguida, traça-se outra reta paralela à primeira e tangente à curva. A partir do ponto de tangência, baixa-se uma reta perpendicular ao eixo (x) e o ponto de intercepção indica o número mínimo de amostras necessárias para uma adequada amostragem (Figura 2).

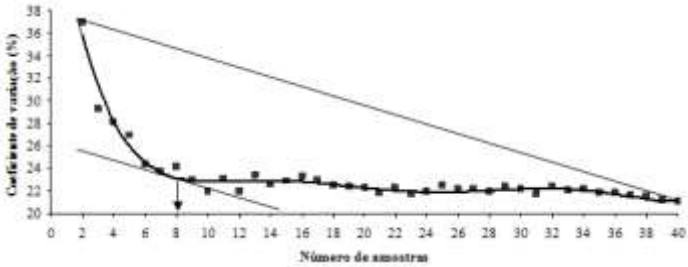

Figura 2 - Exemplo de determinação do número mínimo de amostras a serem coletadas. **Fonte:** CARVALHO et al., 2010.

É postulado o uso de gaiolas de isolamento para evitar o pastejo (Figura 3), na estimativa de forragem em pastejo com lotação contínua. Dos métodos existentes de gaiolas, o mais simples é cortar a área a ser coberta pela gaiola, descartar a forragem cortada, colocar a gaiola, permitir o crescimento da pastagem e cortar novamente, para determinar a produção no final do período de pastejo ou intervalo pretendido. Um segundo método requer duas áreas idênticas, uma das quais terá a forragem cortada e pesada, enquanto a gaiola é colocada sobre outra área. Quando a forragem dentro da gaiola é cortada, o acúmulo de forragem é estimado pela diferença entre as produções das duas áreas. Nenhuma destas técnicas dará estimativa exata do crescimento da pastagem. Este método apresenta a desvantagem de possuir duas fontes de

erro, uma associada ao corte sem a gaiola, e a outra, ao corte dentro da gaiola (GARDNER, 1986).

PEDREIRA (2002) discorreu que dentro da gaiola o acúmulo de forragem e os processos dos quais ele é resultante não é o mesmo que fora da gaiola, onde as plantas não estão excluídas do pastejo, mas argumentou que em situações onde não é possível cortar grandes proporções de área da unidade experimental durante a amostragem, o uso da técnica é a mais viável.

Figura 3. Gaiola de exclusão. Fonte: http://www.drapc.min-agricultura.pt/images/documentos/pj_agro_185_06.jpg

Apesar de o método direto ser bastante utilizado Pedreira (2002) considera pode ocorrer erros no momento de se estimar a massa de forragem total da área cortada, pois esta representa uma fração muito pequena da forragem. Esses erros são decorrentes tanto da casualização (originado da dispersão dos valores pontuais de massa de forragem na superfície da vegetação) bem como, erros associados ao observador, ao instrumento de medição, à circunstância da medição.

Todavia, o autor considera que para a mais fidedigna avaliação da forragem todos os componentes estruturais e a variabilidade do pasto deveriam, idealmente, estar representados, na mesma proporção, na área da amostra.

2.2. AMOSTRAGEM INDIRETA

Visando aperfeiçoar o processo de avaliação quantitativa da forragem e torná-lo mais operacional desenvolveram-se os métodos indiretos para estimar a massa de forragem (ZANINE et al., 2006). Esses métodos minimizam a remoção física do pasto e foram desenvolvidos, principalmente, com a necessidade de se obter métodos rápidos e que possam ser utilizados em áreas grandes de pastagens (CUNHA, 2002).

Embora os métodos indiretos sejam menos exatos, são os mais utilizados por requerem menos tempo por observação e relativamente baratos. Assim, pode-se realizar um maior número de amostras por unidade de tempo relativamente ao método direto, otimizando o uso da mão de obra disponível e permitindo uma maior intensidade (número de amostras/área) de amostragem nos processos de monitoramento e avaliação de pastagens (MANNETJE, 2000).

No entanto, Pedreira (2002) ressalta a importância de identificar características da vegetação que estejam altamente correlacionadas com massa de forragem e que possam ser medidas rápida e facilmente.

Os métodos indiretos são utilizados através da técnica de dupla-amostragem, isto é, dois métodos de avaliação, um direto e outro indireto, são utilizados de forma concomitante de

maneira a gerar uma calibração do referencial indireto (altura, estimativa visual, capacitância, etc.) a partir do direto. Após a calibração do método indireto escolhido, as estimativas de massa de forragem passam a ser feitas através das curvas de calibração geradas. Por essa razão é importante que a calibração seja feita de forma a abranger a amplitude de condições de pasto e massas de forragem onde o método indireto será utilizado (FRAME, 1981; MANNETJE, 2000).

Dentre os métodos indiretos, destacam-se:

2.2.1. Estimativa Visual

O método de estimativa visual é descrito como o mais simples dos métodos indiretos para estimar a quantidade da massa de forragem. Esse método baseia-se na avaliação da massa de forragem presente em uma determinada área e sua comparação com um referencial visual anterior, o que permite a inferência sobre a massa de forragem existente na área (ZANINE et al., 2006).

No entanto, neste método pode ocorrer elevada variabilidade entre amostras, o que pode resultar em baixa precisão e exatidão, o que deve ser compensado com a utilização de maior número de amostras (HAYDOCK e SHAW, 1975). Porém, de acordo com Santos (1997), o método de estimativa visual pode ser uma boa alternativa na determinação da produção da massa de forragem, sendo prático, rápido, não destrutivo e de baixo custo, permitindo avaliar grande número de amostras. Entretanto, é de suma importância que os observadores sejam bem treinados e usem os mesmos critérios em todas as amostras, a fim de se obter resultados confiáveis. Dessa forma, Mannetje (2000) relata que essas limitações quanto a chances significativas de variações podem fazer com que a técnica de avaliação visual possa ter seu uso restrito a aplicações práticas em propriedades, sendo de valor limitado em situações de pesquisa.

A metodologia do rendimento visual comparativo proposto por Haydock e Shaw (1975) utiliza-se a leitura de cinco quadrados padrões, numa escala de 1 a 5, os quais representam todas as variações de disponibilidade de forragem em uma pastagem.

Após dar as notas aos locais, a forragem presente dentro da moldura é cortada e a produção é estimada após secagem em estufa. Em seguida, são escolhidos de 50 a 100 pontos por piquete (GARDNER, 1986) onde são realizadas as leituras e respectivos registros para a avaliação visual. As notas são conferidas à cada uma das amostras utilizando os mesmos critérios utilizados para os “padrões”. Os locais para lançar a moldura devem ser escolhidos ao acaso ou podem ser pré-determinados ao longo de uma linha transversal imaginária. Com a calibração que dá a correspondência entre “nota” e massa de forragem, o observador calcula a nota média de todos os pontos avaliados visualmente e entra com esse valor na equação de regressão, obtendo assim ao valor médio da massa de forragem para a pastagem (Figura 4) (PEDREIRA, 2002).

Esta técnica tem a vantagem de não exigir do observador a estimativa da disponibilidade da massa seca, mas somente a atribuição de valores de escala contínua de 1 a 5. Isso torna o processo mais simples e permite que altas correlações (>0,9) sejam obtidas por observadores inexperientes e poucos treinados (GARDNER, 1986).

É considerado um método simples para estimar a quantidade de forragem disponível porque, embora pareça impreciso, com o treinamento do observador resultados confiáveis podem ser alcançados (SALMAN, SOARES, CANESIN, 2006). No entanto, variações entre observadores pode fazer com que a técnica possa ser restrito a aplicações práticas em propriedades, sendo de valor limitado em situações de pesquisa (MANNETJE, 2000).

Avaliando a produção de capim-elefante em sistema rotativo, utilizando o método de rendimento visual comparativo, Cóser et al. (2003) encontraram valores de coeficiente de

determinação entre 0,87 a 0,96 e baixo coeficiente de variação, estimando produção de matéria seca.

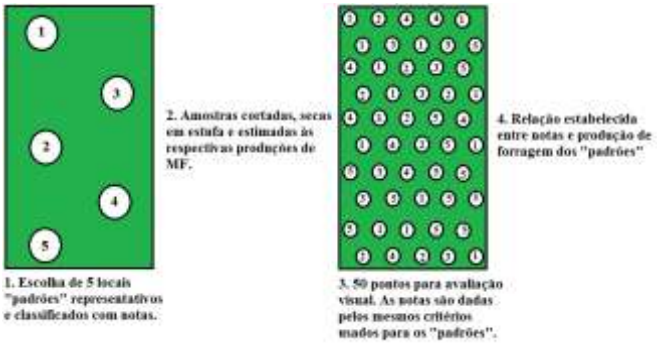

Figura 4 - Esquema para uso do método do rendimento visual comparativo.

Lopes et al. (2000), trabalhando com diferentes métodos de avaliação de massa forrageira em capim elefante, também observaram que o método baseado no rendimento visual comparativo proporcionou as melhores estimativas em três avaliações, com os maiores coeficientes de correlação. Contudo, os autores ressaltam a importância do treinamento dos observadores no uso desse método.

2.2.2. Altura Não-Comprimida do Dossel

A altura do dossel é similar ao método de estimativa visual, pois calibra-se a altura não-comprimida do dossel como indicador de massa de forragem e mede-se a altura do dossel forrageiro com uma régua em vários pontos do pasto. A altura média é usada na equação de calibração para estimar a massa de forragem da área (PEDREIRA, 2002).

Em conformidade, Frame (1981) relata a alta correlação entre a massa de forragem e a altura do dossel forrageiro. No entanto, segundo Salman, Soares, Canesin (2006), a relação entre a altura do dossel e a massa de forragem não fornece estimativas confiáveis da massa de forragem. Da mesma forma, Pedreira (2002) afirma que o uso da altura para estimar a massa de forragem tem a vantagem de ser simples e não requer equipamento sofisticado, porém apresenta a desvantagem de ser pouco exato e pouco preciso. Ainda comenta que a densidade da forragem não é constante ao longo dos estratos e que varia menos em dosséis de leguminosas do que de gramíneas e mais em pastagens temperadas do que nas tropicais.

Contudo, a medida da altura do pasto tomada com uma régua (Figura 5) é bastante praticada, principalmente para definir quando os animais devem entrar e sair de determinado piquete, consultando-se uma tabela que indica a melhor altura para entrada e saída dos animais.

Adicionalmente, vários autores vêm demonstrando bons resultados quanto ao uso da altura correlacionada com o critério de 95% de interceptação luminosa, já que nesse ponto ocorre a máxima taxa de acúmulo líquido da forragem. A partir de 95% de interceptação luminosa pelo dossel ocorrem reduções na taxa de acúmulo e comprometimento do valor nutritivo da forragem produzida, devido ao aumento na proporção de colmos e material morto. O critério de frequência de pastejo a intervalos fixos de dias dificulta a previsão da produção de forragem da gramínea, uma vez que, em função de diversos fatores, suas taxas de acúmulo de massa seca são variáveis. Contudo, o critério de corte ou pastejo em função da altura das plantas possibilita a estimativa da produção de forragem de modo prático no manejo da pastagem

(PACIULLO et al., 1998), já que a altura correlaciona-se com a interceptação luminosa. Dessa forma, pode-se adotar um esquema de ocupação dos animais no piquete com o objetivo de proporcionar um bom aproveitamento da forragem ofertada sem prejudicar o desenvolvimento da planta.

Figuras 5 - Medição da altura do capim *Cynodon nlemfuensis* com régua graduada. **Fonte:** Arquivo pessoal, 2013.

O uso da altura do dossel como medida indireta é, portanto, melhor relacionado com a massa de forragem se a densidade do dossel for uniforme e constante ao longo de todo o perfil (PEDREIRA, 2002). Contudo, possui a vantagem de permitir que várias avaliações sejam realizadas por unidade de área e/ou unidade experimental de forma rápida e ágil. E, por esse motivo, é uma técnica recomendada para uso por técnicos e extensionistas como auxiliar no manejo adequado das pastagens (SALMAN, SOARES, CANESIN, 2006).

2.2.3. Disco Medidor ou Prato Ascendente

Neste método é postulado que a massa de forragem está intimamente relacionada com a densidade e altura de seus componentes. Portanto, a relação entre a massa de forragem com a altura e a densidade das plantas é à base do método do disco para estimar a massa de forragem. Neste caso, é utilizado um equipamento (Figura 6) que consiste, em um prato ou disco metálico ou de plástico de ($0,25m^2$) e, normalmente feito em material leve e que confere sensibilidade às diferentes alturas e densidades do dossel forrageiro, com um orifício que passa uma haste graduada em 0,5 cm. (SALMAN, SOARES, CANESIN, 2006; FRAME, 1981; GARDNER, 1986).

De acordo com Mannetje (2000) e Salman, Soares, Canesin. (2006), o método baseia-se na correlação entre as leituras de altura realizadas pelo prato ascendente ou disco medidor e a massa de forragem. A avaliação de massa com o prato ascendente é feita introduzindo-se a ponta da haste no dossel de forma perpendicular, do topo para a base até o nível do solo. Durante esse percurso o prato é deslocado para cima, quando a haste atinge o solo faz-se a leitura da posição do prato na escala da haste. No caso do disco medidor, a metodologia é semelhante, o disco pode ser solto suavemente ou pode ser solto de uma altura pré-determinada até tocar o topo do dossel quando então a altura é anotada. Para calibrar o disco um arco de metal com o mesmo diâmetro do disco, ou um diâmetro próximo, é colocado sobre o solo e a forragem dentro do arco é cortada, seca em estufa e pesada. A relação entre a altura do disco e a

massa de forragem é estabelecida por meio de uma análise de regressão. Em ambos os casos, a leitura deve ser transformada em massa de forragem por meio da equação de calibração apropriada e específica, a qual deverá ser feita para cada espécie forrageira e/ou fase de crescimento.

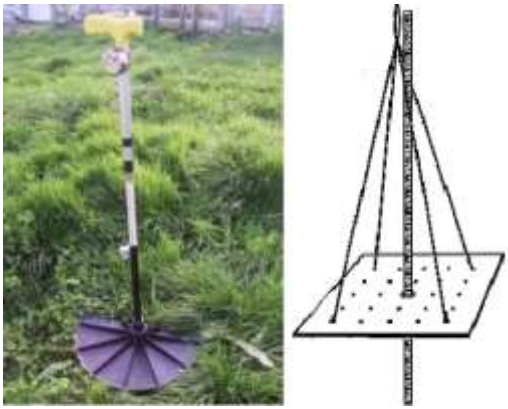

Figura 6 - Foto de um disco medidor feito de alumínio e esquema de um prato ascendente feito de acrílico. **Fonte:** (SALMAN, SOARES, CANESIN, 2006).

Este método é simples e objetivo, mas sua utilização depende do tipo de pastagem, sendo mais indicado para aquelas que apresentam crescimento uniforme e denso (SALMAN, SOARES, CANESIN, 2006). Dessa forma, Zanine et al. (2006), reportaram vantagens desse método por ser rápido, permitindo que o operador faça cerca de 50 leituras em 15 minutos, incluindo anotações dos valores do indicador numérico da haste do equipamento. Com isso em áreas pouco homogêneas e com grande variabilidade em relação à altura e densidade da pastagem, deve-se amostrar um maior número de pontos para obter maior abrangência e representatividade da variabilidade da massa de forragem e, fornecer assim, dados confiáveis.

Pedreira (2002) ressalta que o uso do disco ou prato ascendente constitui-se em uma técnica considerada eficiente para medir a massa de forragem de dosséis de porte médio a baixo, de espécies folhosas e de colmos macios. Em dosséis com colmos muito grandes e rígidos a leitura pode não levar em conta a densidade, mas responder apenas à altura, resultando em correlações fracas entre altura do prato e massa de forragem. A técnica do disco ou prato medidor não é indicada para dosséis de porte alto ou onde grande parte da vegetação está "acamada" (MANNETJE, 2000). O uso do prato ascendente permite a avaliação da massa de forragem de áreas sob pastejo reduzindo custos e trabalho, além de ser de fácil entendimento, adoção e utilização pelos produtores. Mas, em algumas estações do ano e para algumas espécies forrageiras, a presença de colmos grossos e a alta proporção de inflorescências prejudica a precisão da calibração do disco (SALMAN, SOARES, CANESIN, 2006).

2.2.4. Botanal

Outra metodologia é o “Botanal” que é usado pela pesquisa para avaliar a heterogeneidade entre espécies de plantas presentes na área em pastagem consorciada e estimar a quantidade de cada uma delas. O BOTANAL é um programa computacional, e surgiu do refinamento do método Estimativa Visual (TOTHILL et al., 1992) que combina um número de

procedimentos usados para calibrar estimativas visuais da massa de forragem e composição botânica, levando em consideração a presença de todas as espécies pela análise de frequência e da porcentagem de cobertura do solo (GARDNER, 1986). O método do peso seco escalonado para estimativa da composição botânica, e o método do rendimento comparativo, para estimativa da massa de forragem, são processados por este programa (HAYDOCK e SHAW, 1975).

Todavia, Haydock e Shaw (1975) reporta que a eficiência do uso dessa técnica depende da correlação entre estimativas visuais e as medidas de corte, ou seja, da calibração correta das estimativas. Uma calibração adequada em experimentos de larga escala é obtida quando são cortados aproximadamente de 10 a 25 amostras-padrões, sendo que esse número depende da variabilidade entre amostras.

2.2.5. Sonda Eletrônica

O uso de sonda eletrônica é um dos métodos mais sofisticados, que tem por base a mudança na capacitância para estimar a massa de forragem. Essa capacitância descreve a quantidade de carga elétrica armazenada por dois condutores separados por um isolador. A quantificação da massa de forragem é baseada no fato da capacitância do ar ser baixa, enquanto a da forragem é alta. Esse aparelho necessita de ser calibrado antes de ser usado, então tem que se fazer várias leituras da área de maneira rápida e eficiente antes de começar a fazer as quantificações (PEDREIRA, 2002; ZANINE et al., 2006).

A sonda é formada por uma haste que possui uma camada mais externa de material isolante, uma segunda, interna, formada por um tubo de alumínio e uma terceira, mais interna, que corresponde a um fio terra de aço inoxidável, cuja ponta projeta-se para fora da haste e serve para ser colocada em contato com o solo ou com o ar para realizar as medições (MANNETJE, 2000).

Como a forragem tem uma capacitância maior que a do ar, quando a sonda é colocada no pasto e a ponta do fio terra na superfície do solo, a massa de forragem em torno da haste da sonda forma uma extensão do fio terra do aparelho, aumentando a área do condutor. Isso faz com que haja um aumento na leitura de capacitância medida pelo aparelho e esse valor pode ser relacionado com a quantidade de massa de forragem existente no pasto (MANNETJE, 2000).

Uma das desvantagens desse método é que a capacitância depende da espécie e da concentração de água da massa de forragem, e assim, fazem-se necessárias calibrações com diferentes espécies, estádios de maturidade ou horas do dia (MANNETJE, 2000; PEDREIRA, 2002).

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A caracterização da quantidade de forragem a ser consumida pelos animais em sistema de pastejo fornece informações fundamentais para a definição dos programas de alimentação e de produção animal a serem utilizados seja em propriedades particulares ou em pesquisas.

A avaliação da produção da forragem é complexa devido às características que compõem todo o sistema, dessa forma, a escolha correta do método de avaliação por parte do pesquisador e/ou técnico deve ter como requisito básico o método que lhe permite o melhor grau de acurácia. Assim, pode-se optar por aquele que se ajuste melhor a realidade da propriedade e que tenha uma representação precisa das condições e/ou estado do pasto, com custo baixo e infraestrutura disponível, fornecendo subsídios para recomendações adequadas do manejo do pasto e da pastagem.

Portanto, o conhecimento acerca da quantidade e qualidade de forragem disponível é importante para determinar o manejo ideal visando o crescimento da pastagem, a capacidade de suporte e obter o máximo de desempenho animal. Adicionalmente, o planejamento e controle da medição de plantas forrageiras permitem maior eficiência na administração produtiva e na produtividade animal.

4. REFERÊNCIAS

AHRENS, D. C.; OLIVEIRA, J. C. Efeito do manejo do azevém anual (Lolium multiflorum Lam.) na produção de sementes. Revista Brasileira de Sementes, v.19, n.1, p.41-47, 1997.

AMARAL, G. C. Metodologias para avaliação de produção das pastagens para bovinos em pastejo rotacionado. 2001. 25f. Seminário apresentado como parte das exigências do Curso de Zootecnia - Faculdade de Agronomia e Zootecnia de Uberaba, 2001.

ANUALPEC 2000. Anuário da Pecuária Brasileira. São Paulo. FNP Consultoria & Comércio, 2000. 392 p.

CARVALHO, C. A. B.; JÚNIOR, E. B.; ARAÚJO, R. P.; RANGEL, B. O.; LISTA, F.N.; CÓSER, A. C. Área da moldura e número de amostras para estimativa da massa de forragem em pastagem de *Brachiaria humidicola*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 47., 2010, Salvador. Anais... Salvador: SBZ, 2010.

CÓSER, A. C.; MARTINS, C. E.; ALVIM, M. J.; TEIXEIRA, F. V. Altura da planta e cobertura do solo com estimadores da produção de massa de forragem em pastagens de capim-elefante. Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia, v.2, n.4, p.676-680, 1998.

CÓSER, A. C.; MARTINS, C. E.; CARVALHO, C. A. B.; GERÔNIMO, O. J.; FREITAS, V. P.; SALVATI, J. A. Avaliação de metodologias para estimativa da disponibilidade de forragem em pastagem de capim-elefante. Ciência e Agrotecnologia, v.26, n.3, p.589-597, 2002.

CÓSER, A. C.; MARTINS, C. E.; DERESZ, F.; FREITAS, A. F.; PACIULLO, D. S. C.; SALVATI, J.A.; SHIMIDT, L.T. Métodos para estimar a forragem consumível em pastagem de capim-elefante. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.38, n.7, p.875-879, 2003.

COSTA, B. M.; LEDO, C. A. S.; SILVA, M. C.; TEIXEIRA, V. I. Estimativa da produção de forragem em pastagem de *Brachiaria decumbens*. Archivos de Zootecnia, v.58, n.221, p.141-144, 2009.

CUNHA, W. F. Métodos para estimativa de massa de forragem em pastagens de *Cynodon spp*. 2002. 58p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

FEDERER, W. T. Experimental design. New York: MacMillan, 1955. 544p.

FRAME, J. Herbage Mass. In: HODGSON, J.; BAKER, R. D.; DAVIES, A.; LAIDLAW, A. S., LEAVER, J. D. (Ed.) Sward measurement handbook. Berkshire: British Grassland Society, 1981. p.39-67.

GARDNER, A. L. Técnicas de pesquisa em pastagens e aplicabilidade de resultados em sistemas de produção. INCA/EMBRAPA, 1986. 197p.

GUZMAN, G. A. B.; NASCIMENTO JR., D.; REGAZZI, A. J.; OBEID, J. A.; QUEIROZ, A. C. Estudo do tamanho e forma ideal da unidade amostral na avaliação da disponibilidade de matéria seca em pastagens. I. Método da máxima curvatura do coeficiente de variação. Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia, v.21, n.3, p.396-405, 1992.

HAYDOCK, K. P.; SHAW, N. H. The comparative yield method for estimating dry matter yield of pasture. Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry, v.15, p.663-670, 1975.

LOPES, R. S.; FONSENCA, D. M.; CÓSER, A. C.; NASCIMENTO JR., D.; MARTINS, C. E.; OBEID, J. A. Avaliação de Métodos para Estimação da Disponibilidade de Forragem em Pastagem de Capim-Elefante. Revista Brasileira de Zootecnia, v.29, n.1, p.40-47, 2000.

MANNETJE, L. Measuring biomass of grassland. In: MANNETJE, L.; JONES, R.M. (Ed.) Field and laboratory methods for grassland and animal production research. Wallingford: CAB International, 2000. p.151-177.

MEDEIROS, R. B.; NABINGER, C. Rendimento de sementes e forragem de azevém anual em resposta a doses de nitrogênio e regimes de corte. Revista Brasileira de Sementes, v.23, n.2, p. 245-254, 2001.

PACIULLO, D. S. C.; GOMIDE, J. A.; RIBEIRO, K. G. Adubação nitrogenada do capim-elefante cv. Mott. 1. Rendimento forrageiro e características morfofisiológicas ao atingir 80 e 120 cm de altura. Revista Brasileira de Zootecnia, v.27, n.6, p.1069-1075, 1998.

PEDREIRA, C. G. S. Avanços metodológicos na avaliação de pastagens. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., Recife, 2002. Anais... Recife: SBZ, 2002. p.100-145.

ROCHA, M. G. Perdas de forragem em gramíneas anuais sob doses de nitrogênio. In: REUNIÓN DEGRUPO TECNICO EN FORRAJERAS DEL CONO SUR, 19., 2002, Mercedes. Anais... Mercedes: INTA, 2002. p.105.

SALMAN, A. K. D., SOARES, J. P. G., CANESIN, R. C. Métodos de amostragem para avaliação quantitativa de pastagens. Porto Velho: Embrapa Rondônia, 2006. 6p. (Circular Técnica, 84).

SANTOS, M. V. F. Métodos agronômicos para estimativa de consumo e de disponibilidade de forragem na Zona da Mata. 1997. 155p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1997.

TOTHILL, J. C.; HARGREAVES, J. N. G.; JONES, R. M. Botanal: a comprehensive sampling and computing procedure for estimating pasture yield and composition. I. Field sampling. CSIRO, Division of Tropical Crops and Pastures, 1992. (Tropical Agronomy Technical Memorandum, 78).

ZANINE, A. M.; SANTOS, E. M.; FERREIRA, D. J. Principales métodos de evaluación de pasturas. Revista Electrónica de Veterinaria REDVET, v.7, n.10, 2006. Disponível em: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n11106.html>. Acesso em: 19 de Junho de 2014.

Capítulo 5- Cipionato de estradiol e benzoato de estradiol em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em novilhas

Sobreira, R.R.[1]; Siqueira, J.B.[2]; Almeida, I.C.[3]; Barioni[4], G.; Oliveira, F.A.[5]

INTRODUÇÃO

No Brasil, a utilização de animais de raças europeias especializadas para produção de leite não tem alcançado efeito econômico em razão, principalmente, dos elevados custos de produção. A utilização de animais mestiços produtos do cruzamento de raças zebuínas com raças europeias é prática bastante difundida no país (VERCESI FILHO et al., 2007). Os animais mestiços do rebanho brasileiro apresentam tolerância ao ambiente tropical, o que demonstra a importância social e econômica destes animais para o País, e, sua exploração, aparece como alternativa viável para diversos sistemas de produção que buscam redução no custo a partir de animais sustentados em regime a pasto (McMANUS et al., 2002).

O desempenho reprodutivo é um dos principais indicadores de produtividade do sistema de produção da pecuária bovina e está diretamente relacionado com a sanidade, nutrição, genética e manejo adequado (GOTTCHALL et al., 2010). A idade média ao primeiro serviço das novilhas do rebanho brasileiro é aos 36 meses de idade. A recria das novilhas destinadas à reposição deve ser programada por meio de manejos existentes e viáveis, conforme cada sistema de produção (FERREIRA, 2010). Em fazendas de gado de leite que utilizam a inseminação artificial (IA) é muito comum a utilização da monta natural em novilhas, que é justificada pela dificuldade de observação de cios (MENEGAZ, 2006).

O atual rebanho bovino brasileiro é composto por aproximadamente 211 milhões de cabeças. Deste, cerca de 17 milhões são novilhas de dois a três anos de idade (ANUALPEC, 2013), o que justifica a importância de promover o melhoramento genético do rebanho a partir desta categoria animal.

A puberdade nas novilhas é definida como o momento em que se manifesta o primeiro cio acompanhado de ovulação, com posterior formação de corpo lúteo funcional e aumento dos níveis circulantes de progesterona acima de 1ng/mL no soro durante 14 dias. No entanto, o mais comum é que antes tenham ocorrido ovulações sem manifestação de cio. Estas condições podem gerar os chamados cios não púberes, os quais são caracterizados por estros anovulatórios, sem capacidade de concepção (FERREIRA, 2010). Além da baixa eficiência reprodutiva, o rebanho brasileiro apresenta baixo número de animais inseminados artificialmente (apenas 6% dos animais em idade reprodutiva). Historicamente, a IA revelou-se como a ferramenta mais eficiente do melhoramento genético, tanto em bovinos de leite quanto em bovinos de corte. Torna-se necessária a adoção de boas técnicas de manejo, associadas ao emprego da IA com sêmen de touros provados geneticamente (BARUSELLI et al., 2004).

[1]Mestrando em Ciências Veterinárias, CCA/UFES, Alegre-ES. email: robertinhosobreira@hotmail.com
[2]Instituto do Ciências Agrárias, UFVJM/ Campus Unaí, Unaí/MG, email: jeanne.siqueira@ufvjm.edu.br
[3]Estudante de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, CCA/UFES, Alegre-ES, bolsista CAPES. Email: almeidalcvet@gmail.com
[4]Departamento de Medicina Veterinária, UFES/ Alegre. Email: grazibari@gmail.com
[5]Pós Doutorando da Universidade Federal de Viçosa, UFV, Viçosa-MG, email: falboli@hotmail.com

A IATF (inseminação artificial em tempo fixo) é um programa de tratamento hormonal desenvolvido para corrigir as limitações da IA convencional, além de agregar vantagens como eliminação da necessidade de observação de cio, induzir o ciclo estral e ovulação (BARUSELLI et al., 2004). Atualmente a IATF já não é privilégio de grandes projetos de empreendimentos pecuários, o seu emprego tem-se difundido por fazendas de pequeno e médio porte, de gado comercial e de leite, sendo inúmeros os relatos de casos bem sucedidos (CARDOSO, 2011). Adicionalmente, a utilização da ultrassonografia, hoje em dia, é vista também como ferramenta no auxílio da IATF fazendo com que o pecuarista consiga adiantar os resultados e tomar as medidas necessárias em um espaço de tempo reduzido (OLIVEIRA et al., 2010).

Os protocolos mais utilizados combinam os hormônios progesterona (P4)/progestágenos, prostaglandina, gonadotrofina coriônica equina, estrógenos (Benzoato, Cipionato ou Valerato de estradiol). As associações feitas com estes hormônios visam aumentar a fertilidade do estro induzido e a precisão do momento da ovulação quando a IATF é utilizada (DOMINGUEZ, 2009). Com a possibilidade da manipulação exógena da atividade ovariana e do controle folicular é possível obter a sincronização da ovulação e viabilizar um programa de IATF em rebanhos leiteiros (SARTORI, 2007).

O estradiol 17 β (E_2) é um hormônio esteroide produzido nos ovários a partir de colesterol e seus precursores imediatos são androstenediona e testosterona. O E_2 endógeno produzido pelos folículos ovarianos acentua a amplitude dos pulsos de LH durante a fase folicular do ciclo estral pelo aumento de receptores do hormônio liberador de LH na pituitária anterior e do consequente aumento da capacidade estrogênica dos folículos pré-ovulatórios (FERREIRA, 2010). Hoje em dia, vários compostos sintéticos similares biologicamente aos estrógenos naturais foram desenvolvidos, como os ésteres de estradiol (Benzoato de Estradiol - BE e Cipionato de Estradiol - CE). Estes têm sido frequentemente empregados em manejos reprodutivos com intuito de produzir sincronização das ondas foliculares, indução do estro e, por seguinte, ovulação.

A sincronização da ovulação pode ser obtida por meio da aplicação de diferentes indutores de ovulação após o fim dos tratamentos de sincronização de cios, dentre eles, são utilizados BE e CE (PFEIFER et al., 2005). Esses estrógenos produzem diferentes perfis de circulação de estradiol, provavelmente devido a diferenças na esterificação da molécula, o que leva a alterações na polaridade e no peso molecular das estruturas e, portanto, modifica a absorção e o metabolismo no organismo (SANTOS, 2009).

Aplicações de BE aumentam não somente a indução do estro ou da ovulação, mas também a sincronização. O benzoato de estradiol tem sido largamente utilizado como indutor da ovulação 24h após a retirada da progesterona, entretanto, pesquisas avaliaram (ANDRADE et al, 2012; CREPALDI, 2009) sua substituição por um análogo hormonal, denominado cipionato de estradiol, aplicado concomitante a retirada da progesterona.

Segundo Andrade et al. (2012) o CE é menos eficiente que o BE em sincronizar as ovulações dos animais, embora estudos conduzidos por Crepaldi (2009) revelaram que a administração do CE simultânea a retirada do dispositivo de progesterona promove a ovulação de novilhas de forma sincronizada. Desta forma, esta revisão fundamenta-se em particularidades da atividade dos indutores de ovulação, cipionato de estradiol e benzoato de estradiol em protocolos de IATF em novilhas.

Os protocolos hormonais desenvolvidos em novilhas têm como objetivo induzir a ciclidade e fazer com que um maior número de animais conceba em um período reduzido. Os métodos de sincronização compreendem o uso de fármacos que agem no eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal (BARUSELLI et al., 2004).

2. Dinâmica Folicular Ovariana

A foliculogênese bovina é um processo contínuo de crescimento e atresia dos folículos ovarianos que inicia na vida fetal, passa pela puberdade e continua na vida reprodutiva até a senilidade. A foliculogênese ocorre em dois estádios, dependentes ou não de gonadotrofinas, e pode ser dividida em três fases: recrutamento, seleção e dominância folicular. O eixo hipotálamo-hipófisário, por meio de suas gonadotrofinas, é fundamental na regulação do desenvolvimento folicular. O hormônio folículo estimulante (FSH), importante para o desenvolvimento folicular inicial, e o hormônio luteinizante (LH), envolvido na seleção, no crescimento, na maturação e na ovulação do folículo dominante, são os reguladores primários durante a fase dependente de gonadotrofinas (GREGORY et al., 2009).

Nos ovários de uma fêmea púbere podem ser encontrados folículos: primordiais (repouso), que consistem de um oócito rodeado por uma camada de células somáticas (pré-granulosa) achatadas; folículos primários, quando a única camada de células da granulosa ao redor do oócito torna-se cuboidal; folículos secundários ou pré-antrais, apresentam duas ou mais camadas de células da granulosa desenvolvidas e o oócito entra numa fase de crescimento intensivo; folículos terciários ou antrais em maturação, caracterizados por uma cavidade repleta de líquido (fluido folicular), o antro, dentro da multicamada da granulosa e o folículo pré-ovulatório ou de *Graaf* (FERREIRA, 2010).

A emergência folicular é caracterizada por ser um processo onde um grupo de folículos cresce simultaneamente no ovário, estimulado pela liberação de FSH. Neste momento, esses folículos apresentam em torno de 4 mm de diâmetro, sendo responsivos e dependentes dessa gonadotrofina. O FSH permite que os folículos mantenham seu crescimento e proliferação celular, aumentando gradualmente sua capacidade esteroidogênica (BARUSELLI; GIMENES; SALES, 2007). O folículo ovulatório é formado a partir da última onda folicular do ciclo estral, sendo que folículos dominantes de ondas anteriores entram em processo de atresia. Esta atresia é determinada pela presença de um corpo lúteo (CL) ativo no ovário, com ampla produção de progesterona. Este hormônio exerce um efeito de retroalimentação negativa no eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, reduzindo a amplitude e frequência dos pulsos de LH, o que inviabiliza os processos de maturação final do folículo e ovulação. Já o crescimento do folículo dominante em ambiente com baixa concentração de progesterona promove o aumento das concentrações de estrógenos, que desencadeia o mecanismo de retroalimentação positiva para a liberação do Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH) e o consequente pico de LH, promovendo a ovulação (GREGORY et al., 2009)

O acompanhamento diário das estruturas ovarianas por ultrassonografia tem mostrado que os bovinos apresentam ondas de crescimento folicular durante o ciclo estral. Vacas e novilhas podem ter duas ou três ondas por ciclo, com um folículo tornando-se dominante em cada uma delas. Por isso, uma população de pequenos, médios e grandes folículos é encontrada em cada ovário, durante todos os dias do ciclo estral (BORGES et al., 2001).

Essas ondas de crescimento folicular podem ser detectadas nos dias 0 e 9 pós-ovulação, para o padrão de ciclos estrais que apresentam duas ondas foliculares, ou nos dias 0, 9 e 16 para os ciclos estrais que apresentem três ondas foliculares (GREGORY et al., 2009).

2.1. Luteogênese

O corpo lúteo é uma glândula endócrina, ovariana e transitória, formada a partir do folículo ovulado, cujo principal produto secretado é a progesterona, essencial para o estabelecimento e a manutenção da prenhez e para a ciclicidade ovariana (GIOMETTI et al., 2009). A luteogênese consiste em todas as mudanças morfológicas, endócrinas e enzimáticas

que ocorrem no folículo ovulatório até que este se transforme em CL funcional capaz de secretar grandes quantidades de progesterona (FERREIRA, 2010).

A luteinização se inicia antes da ovulação, com mudanças na população de receptores de gonadotrofinas. A gonadotrofina que mais atua nestes receptores ocasionando à ruptura do folículo e sua posterior transformação em estrutura lútea é o LH. Após a ovulação, o espaço ocupado previamente pelo folículo é invadido por fibroblastos, células musculares lisas, células do sistema imune, células endoteliais, células da teca interna (CTI) e células da granulosa (CG), que sofrem hiperplasia e hipertrofia (SALLES; ARAÚJO, 2010). Esse conjunto de células promove, inicialmente, a formação de uma estrutura denominada de corpo hemorrágico, que se reorganiza para a formação do CL funcional. A regulação da função luteínica é feita por um complexo grupo de agentes que interagem na busca da homeostasia da glândula, portanto as células que vão originar o corpo lúteo sofrem influência de vários fatores angiogênicos e mitogênicos (FERREIRA, 2010). Das gonadotrofinas, mais particularmente o LH, que transitoriamente está em concentração mais elevada no plasma, atua para transformar as células da granulosa e as células da teca em células luteínicas. Assim, as organelas, os substratos e as enzimas contidas nas células luteínicas esteroidogênicas presentes no CL irão determinar sua capacidade em sintetizar progesterona (GIOMETTI et al., 2009).

Secundariamente, o hormônio luteinizante (LH) e o hormônio do crescimento (GH) possuem uma ação efetiva na regulação da atuação dos fatores de crescimento e estímulo à produção de progesterona; outros agentes, como peptídeos, esteroides e prostaglandinas, são responsáveis pela modulação da função luteínica e regulação fina da glândula. Os fatores de crescimento estão envolvidos na regulação dos mecanismos intraovarianos. O fator de crescimento semelhante à insulina–I tem estimulado um aumento da expressão de receptores de LH (HAFEZ; HAFEZ, 2004). Já o aumento das concentrações intra ovarianas do fator de crescimento endotelial vascular, está relacionado com uma maior secreção e pulsatilidade de LH (FERREIRA, 2010).

2.2 Hormônios utilizados em programas de IATF

2.2.1. Progestágenos

Existem no mercado, dois tipos de implantes de P4 ou progestágenos para sincronização de cio e ovulação: implantes vaginais e via auricular subcutânea. Os avanços adicionais decorrentes do uso da P4 coincidiram com o desenvolvimento do teste sistemático do dispositivo de liberação interna da P4. Esse dispositivo pode ser usado sozinho ou em combinação com BE, com a finalidade de manter as concentrações médias de P4 no plasma e para suprimir a liberação do LH endógeno. Com valores médios nas concentrações de P4 no plasma em torno de 5-6ng/ml e conteúdo médio residual de 0,92 g (FERREIRA, 2010).

Aparentemente, para que uma novilha apresente um corpo lúteo funcional seguido de fase luteal de duração normal, ocorrem duas elevações transientes de progesterona (CARVALHO, 2004). A progesterona pode antecipar a puberdade em novilhas, uma vez que reduz o feedback negativo do estradiol no hipotálamo, pela redução do número de receptores para estradiol, confirmando a necessidade de exposição do trato reprodutivo a progesterona para que os primeiros ciclos estrais férteis possam ocorrer (PFEIFER et al., 2009). De acordo com Azeredo et al. (2007), a utilização de protocolos hormonais em novilhas com intuito de induzir e sincronizar o estro teve resultados positivos, pois a P4 quando utilizada em novilhas, inclusive pré-púberes, é capaz de iniciar a atividade ovariana cíclica.

Almeida et al. (2006) constatou que nos protocolos de IATF, frequentemente, os progestágenos são associados aos ésteres de estradiol e o uso de tais implantes, resulta em concentrações séricas de progesterona (P4) que impossibilitam o pico pré-ovulatório de LH e

ocorrência de estros durante o tratamento. Verificaram também que ao término do tratamento com progestágenos a população de folículos pré-ovulatórios foi bastante homogênea, condição que favorece a sincronização da ovulação.

2.2.2 Estrógenos

Os estrógenos, assim como os andrógenos são carreados por proteínas na circulação e causam numerosas ações fisiológicas. De todos os esteroides, os estrógenos apresentam a maior variação de funções fisiológicas. Muitas características sexuais secundárias da fêmea também são influenciadas por este hormônio (STELLA, 2004). O estradiol é sintetizado por enzimas esteroidogênicas como o citocromo P450, nas células da teca e pelo citocromo P450 aromatase nas células da granulosa. Essas enzimas realizam a conversão de colesterol a pregnenolona e a síntese de estradiol a partir de precursores de andrógenos, respectivamente (CHAVES, 2011).

Geralmente, a principal função dos estrógenos é induzir a proliferação celular e o crescimento dos tecidos relacionados à reprodução. As respostas teciduais induzidas pelos estrógenos incluem estimulação do crescimento glandular endometrial, estimulação do crescimento de dutos na glândula mamária, aumento na atividade secretora dos dutos uterinos, indução da receptividade sexual, regulação da secreção de hormônio luteinizante (LH) pela glândula pituitária anterior, possível regulação da liberação de $PGF_2\alpha$ pelo útero não gravídico e gravídico, anabolismo proteico e atividade epitéliotrófica (STELLA, 2004).

O uso do cipionato de estradiol (CE), um éster do estradiol que apresenta concentrações plasmáticas por períodos superiores a 100 horas na indução da ovulação (BRANDÃO, 2010), associado a progesterona, ocorre atresia folicular de todos os folículos presentes nos ovários, contudo a emergência de uma nova onda folicular sofre a interferência da vida média muito prolongada do CE, como também o processo de ovulação (PADILHA, 2007).

A associação de estrógenos aos tratamentos com progestágenos e/ou progesterona, promovem atresia do folículo dominante e induzem a emergência de uma nova onda de crescimento folicular 4,3 dias após sua aplicação (BARUSELLI et al., 2004). Também impede a formação de folículos persistentes, que interferem na eficiência do tratamento. O mecanismo pelo qual o estradiol causa regressão folicular envolve a inibição do FSH, até que o estradiol seja metabolizado. A partir de então, o FSH volta a aumentar seus níveis e uma nova onda folicular é recrutada (BARUSELLI et al., 2004). Assim o estrógeno pode estimular ou inibir a liberação de gonadotrofinas, dependendo da dose e das concentrações sanguíneas de progesterona. Em doses fisiológicas e baixas concentrações de progesterona, o estrógeno estimula a liberação de LH para que ocorra a ovulação. Ao contrário, elevadas doses de estrógenos, na presença de elevadas concentrações de progesterona, bloqueiam as gonadotrofinas, inibindo principalmente a produção e liberação de LH. Além disso, o estrógeno é fundamental para a expressão de receptores para ocitocina no endométrio, o que é importante no processo de liberação de prostaglandina para regressão do corpo lúteo (GREGORY et al., 2009).

Embora os ésteres de estradiol possam ser utilizados no início do protocolo hormonal para sincronizar a emergência da nova onda de crescimento folicular, sabe-se que, na ausência de progesterona, o 17 β estradiol produzido pelo folículo dominante promove a liberação de GnRH pelo hipotálamo, estimula a liberação de LH pela hipófise e desencadeia a ovulação (CREPALDI, 2009). Para Marques et al. (2003) que avaliaram o efeito da administração de BE 24 horas após a retirada dos dispositivos de progesterona na sincronização e na taxa de ovulação em primíparas *Bos indicus* x *Bos taurus*, verificou-se que o tratamento aumentou a taxa de ovulação (80,8 % vs. 54,2%). Ainda, quando o BE foi aplicado 24 a 30 horas após a remoção do dispositivo, o pico de LH ocorreu em média 21,5 horas após a sua administração. Quando o protocolo de indução da ovulação utilizado foi o emprego do CE no momento da retirada do

dispositivo, o pico de LH ocorreu em torno de 45 horas após a remoção (CREPALDI, 2009). Segundo esses dados o pico de LH ocorreu no mesmo tempo com BE (24+21= 45 horas) e com CE (45 horas), demonstrando, que o protocolo com BE 24 horas após a retirada do dispositivo permite uma maior taxa de ovulação e por seguinte maior taxa de prenhes, assim, aplicações de BE aumentam não somente a indução do estro ou da ovulação, mas também a sincronização (FERNANDES, 2010; MACMILLAN; BURKE, 1996).

Gimenes et al. (2008) citam que em novilhas nelore, a ovulação ocorre aproximadamente 30 horas após a administração de BE, com folículos maiores que 8,5 mm, Para Crepaldi (2009), tanto animais tratados com BE9 como CE8 ovulam no mesmo momento (aproximadamente 72 horas após a retirada do dispositivo), proporcionado períodos semelhantes de inseminação, com a vantagem da redução de um tratamento para o protocolo que emprega o CE.

Os estrógenos são indutores da ovulação. Existem várias moléculas de estrógenos disponíveis no mercado para utilização em protocolos de sincronização de cio (BINELLI; IBIAPINA; BISINOTTO, 2006), atualmente o mais utilizado nos protocolos é o benzoato de estradiol (BE). Estas diferenças entre os estrógenos promovem mudanças referentes ao protocolo de sincronização estabelecido, e aos resultados de sua utilização. Para Andrade et al. (2012) não foi encontrada diferença entre os tratamentos para as variáveis: diâmetro do folículo ovulatório (CE:13,3±2,3mm;BE:12,7±1,9mm), momento das ovulações (CE:74±6,01h; BE:74,88±7,41h), taxa de ovulação (CE:100%; BE: 89,5%) e diâmetro do CL (CE:17,1±3,8mm; BE: 17,4±2,9mm), no entanto, fêmeas nelore tratadas com cipionato de estradiol apresentaram maior taxa de crescimento folicular (CE:0,48mm/dia; BE: 0,29mm/dia), com tratamentos de CE8 e BE9, respectivamente.

2.2.3 Prostaglandinas ($PGF_{2\alpha}$)

Em ruminantes e, na grande maioria dos mamíferos, a PGF2α é o principal agente luteolítico responsável por promover a luteólise e bloquear a síntese de P4 pelo CL, o que determina o final da fase luteínica (SILVA; TEIXEIRA; VICENTE, 2010).

A PGF2α é um hormônio muito utilizado para controle do ciclo estral, atuando por meio da regressão do corpo lúteo. É aplicada por via intramuscular entre os dias 6 a 17 do ciclo estral, entretanto a PGF2α controla somente a regressão do corpo lúteo, sem alteração do o crescimento folicular (PEREIRA, 2010). Quando a luteólise é induzida por tratamento com PGF2α, o começo do cio é distribuído por um período de seis dias. Essa variação é devida ao status folicular dos ovários na hora do tratamento (MAPLETOFT; BÓ; BARUSELLI, 2009).

O uso de PGF2α e de progestágenos em programas de sinconização de estro baseia-se na redução ou no prolongamento da fase lútea. Entretanto, a sincronização do estro e da ovulação não depende somente do controle da fase lútea, mas também do controle do desenvolvimento folicular (PFEIFER et al., 2005). A fase do desenvolvimento folicular pode ser avaliada por uma série de exames de ultrassom. No entanto, essas observações consomem muito tempo e são trabalhosas. Assim, uma alternativa é a indução eletiva da emergência de uma onda folicular para garantir a presença de um folículo dominante em sua fase final de crescimento no momento da indução da luteólise ou da retirada do progestágeno (PEREIRA, 2010).

2.3 IATF em novilhas

O entendimento da fisiologia do ciclo estral bovino possibilitou a melhoria da eficiência reprodutiva das fêmeas bovinas, por meio de alterações ou modificações no ciclo estral pela interferência na sequência cronológica natural das ondas dentro de um ciclo e por

alterações nas fases dentro de cada onda de crescimento folicular (BINELLI; IBIAPINA; BISINOTTO, 2006). Os programas de sincronização e indução da ovulação apresentam resultados satisfatórios e possibilitam o emprego da IATF em novilhas, porém, protocolos hormonais desenvolvidos para vacas apresentam comprometimento na eficiência quando utilizados em novilhas. Novilhas *Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus* submetidas ao tratamento com dispositivo intravaginal de progesterona apresentaram baixa taxa de ovulação ao final do tratamento (BARUSELLI et al., 2004).

O tratamento eletivo para a indução da emergência da nova onda de crescimento folicular é a associação de estradiol (E_2) e progesterona (P_4). A eficiência desta associação tem sido descrita em diversos trabalhos em fêmeas *Bos taurus taurus* (MARTINS, 2007). Carvalho (2004) analisou o efeito do tratamento com estradiol e progesterona na emergência da onda folicular em novilhas *Bos taurus indicus, Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus* e *Bos taurus taurus* mantidas nas mesmas condições de manejo. Não foi observada diferença no intervalo entre o tratamento com benzoato de estradiol e a emergência folicular entre *Bos indicus*, *Bos taurus indicus* e *Bos taurus*. Entretanto, novilhas *Bos indicus* apresentaram maior número de folículos recrutados no início da onda de crescimento folicular que novilhas *Bos taurus*, sugerindo maior resposta superestimulatória ao tratamento com gonadotrofinas em fêmeas *Bos indicus*. Todos os ésteres de estradiol são capazes de induzir a regressão de folículos antrais quando administrados na presença de elevadas concentrações de progesterona (MARTINS, 2007). O cipionato de estradiol (CE) apresenta meia vida longa, resultando na indução de uma nova onda folicular mais tardia e menos sincronizada que o 17β estradiol ou o benzoato de estradiol (BE) (SANTOS, 2010).

Como indutor da ovulação, o CE é uma alternativa que possibilita a realização de protocolos de IATF com apenas três períodos de manejo, sendo esta uma de suas vantagens, permanecendo disponível de forma sistêmica por maior tempo, o CE pode ser administrado juntamente com a retirada do implante de progesterona, mantendo níveis plasmáticos suficientes para estimular o pico de LH após a queda dos níveis de progesterona (P4). O BE, por apresentar uma farmacocinética que permite uma biodisponibilidade mais rápida e uma meia vida mais curta, é normalmente administrado em protocolos que exigem um manejo a mais, sendo aplicado 24h após a retirada do dispositivo com progestágeno (PALHÃO et al., 2014). Segundo Hafez e Hafez (2004), quando administrado na ausência da progesterona, os estéres de estradiol são capazes de estimular a liberação de GnRH/LH e promover a ovulação do folículo dominante.

Em estudo conduzido por Vogg (1999), onde 125 novilhas, receberam 1,0 mg de BE intramuscular, 24 horas depois da retirada dispositivo de progesterona, os resultados indicaram que o uso do BE 24 horas após a retirada do dispositivo de progesterona embora aumente a taxa de inseminação coexiste com menor índice de prenhez ao primeiro serviço, não sendo, portanto, um procedimento útil para a indução e sincronização do estro em novilhas de 14 e 24 meses. Reis et al. (2004) relatou que o cipionato de estradiol não era eficiente em sincronizar as ovulações dos animais tratados com progesterona. Martins et al. (2005) encontrou semelhantes taxas e tempo para as ovulações induzidas com o BE e CE.

Pergorer (2009) utilizando um protocolo com BE (2mg, IM), dispositivo intravaginal de progesterona durante 9 dias, 150 µg de croplostenol no dia da retirada do dispositivo e BE como indutor de ovulação (1 mg/IM) vinte e quatro horas mais tarde (n=143) em novilhas nelores, obteve 80% de ovulação e 45% de prenhez, demonstrando um bom resultado. Martins et al. (2007) avaliou o efeito de diferentes ésteres de estradiol, BE e CE, e doses de cipionato de estradiol (0,5 e 1,0mg) na taxa de concepção de novilhas nelore (*Bos indicus*) submentidas a IATF, utilizou-se 360 fêmeas nulíparas com peso corporal entre 340 e 370 Kg pertencentes a duas propriedades. Nos Grupos 0,5-ECP e 1,0-ECP os animais receberam, respectivamente, 0,5mg e 1,0 mg de Cipionato de estradiol no dia da retirada do implante e no Grupo 1,0-BE

receberam 1,0mg de Benzoato de estradiol no dia 9. Os animais foram inseminados 54 horas após a retirada do implante auricular. As taxas de prenhez à inseminação artificial em tempo fixo na Fazenda foram de 50,0% (30/60) para Grupo 0,5-ECP, de 30,0% (18/60) para o Grupo 1,0-ECP e de 60,0% (36/60) a para o Grupo 1,0-BE e na Fazenda B de 61,7% (37/60) para Grupo 0,5-ECP, de 51,7% (31/60) para o Grupo 1,0-ECP e de 40,0% (24/60) para o Grupo 1,0-BE, revelando que o uso do BE como indutor de ovulação apresentou diferença significativa em comparação aos tratamentos e doses de CE.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considera-se que o emprego do cipionato de estradiol ou do benzoato de estradiol como indutores da ovulação mostra-se eficiente e semelhante em relação à sua aplicabilidade na IATF. A utilização do cipionato de estradiol em substituição ao benzoato de estradiol ainda se apresenta pouco detalhado, demandando ainda mais estudos e pesquisas em relação as novilhas, no entanto, sua escolha torna a execução dos protocolos mais simplificada, proporcionando uma redução no número de manejos e consequentemente um menor custo logístico e operacional.

4. REFERÊNCIAS

ANDRADE, B. H. de A.; FERRAZ, P. A.; RODRIGUES, A. S.; LOIOLA, M. V. G.; CHALHOUB, M.; FILHO, de A. L. R. Eficiência do Cipionato de Estradiol e do Benzoato de Estradiol em Protocolos de Indução da Ovulação Sobre a Dinâmica Ovariana e Taxa de Concepção de Fêmeas Nelore Inseminadas em Diferentes Momentos. Archives of Veterinary Science, Curitiba, v. 17, n. 4, p. 70–82, 2012.

ANUALPEC 2013: anuário da pecuária brasileira. São Paulo: FNP Consultoria e Comércio, 2013. p.378.

ALMEIDA, A. B.; *BERTAN, C. M.; ROSSA, L. A. F.; GASPAR, P. de S.; BINELLI, M.; MADUREIRA, E. H.* Avaliação da reutilização de implantes auriculares contendo norgestomet associados ao valerato ou ao benzoato de estradiol em vacas nelore inseminadas em tempo fixo. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal. Science, São Paulo, v. 43, n. 4, p. 456-465, ago. 2006.

AZEREDO, D. M.; ROCHA, D. C.; JOBIM, M. I. M.; MATTOS, R. C.; GREGORY, R. M. Efeito da sincronização e da indução de estros em novilhas sobre a prenhez e o índice de repetição de crias na segunda estação reprodutiva. Ciência Rural, Santa Maria, v. 37, n. 1, p. 201-205, jan-fev. 2007.

BARUSELLI, P. S.; REIS, E. L.; MARQUES, M. O.; NASSER, L. F.; BÓ, G. A. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrusbeef catlle in tropical climates. Animal Reproduction Science, Amsterdam, v. 82-83, p. 497-486, jul. 2004.

BARUSELLI, P. S.; GIMENES, L. U.; SALES, J. N. de S. Fisiologia reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas. Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte, v. 31 n. 2, p. 205–211, abr/jun. 2007.

BINELLI, M.; IBIAPINA, B. T.; BISINOTTO, R. S. Bases fisiológicas, farmacológicas e endócrinas de sincronização de crescimento folicular e da ovulação. Acta ScientiaeVeterinariae, Porto Alegre, v. 34(Supl1), p. 1-7. Jul. 2006.

BÓ, G. A.; COLAZO, M. G.; MARTINEZ, M. F.; KASTELIC, J. P.; MAPLETOFT, R. J. Sincronización de la emergencia de la onda folicular y la ovulación em animales tratados com progestagenos y diferentes esteres de estradiol. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA – Biotecnologia da Reprodução em Bovinos, 2., 2006, Paraná. Anais... Paraná: s.n 2006. p.201.

BORGES, Á. M.; TORRES, C. A. A.; RUAS, J. R. M.; ROCHA JÚNIOR, V. R.; CARVALHO, G. R. Dinâmica folicular ovariana em novilhas mestiças Holandês-Zebu. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, v. 53 n. 5, p. 595–604, out. 2001.

BRANDÃO, G. S. B. Uso da dinâmica folicular ovariana na avaliação de diferentes tratamentos de sincronização de estro em cabras canindé exploradas no semiárido do nordeste do Brasil. Petrolina. 2010. 93f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Universidade Federal do Vale do São Francisco. 2010.

CARDOSO, D. IATF chega às fazendas de pequeno porte: A redução nos custos da tecnologia estimula a difusão de seu emprego, contribuindo para a elevação da produtividade e para a melhoria da qualidade genética dos rebanhos. DBO A revista de negócios da pecuária. São Paulo – SP, ano.30, n. 371, p. 60-68, set. 2011.

CARVALHO, J. B. P. Sincronização da ovulação com dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR®) em novilhas *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus* e *Bos taurus*. São Paulo. 2004. 122f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo, 2004.

CHAVES, R. N. Efeito do fator de crescimento do nervo (NGF), fator de crescimento de fibroblasto - 10 (FGF-10) e insulina sobre o desenvolvimento in vitro de folículos pré antrais caprinos. Fortaleza. 2011. 391f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias). Faculdade de Veterinária. Universidade Estadual do Ceará. 2011.

CREPALDI, G. A. Eficácia de diferentes protocolos de indução da ovulação e de intervalos de inseminação em vacas de corte submetidas à IATF. São Paulo. 2009. 88f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo, 2009.

DOMINGUEZ, J. H. E. Inseminação artificial em tempo fixo em bovinos de corte. Campo Grande. 2009. 27f. Trabalho acadêmico (Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. 2009.

FERNANDES, J. A. S. Protocolos de inseminação artificial em tempo fixo eeficiência reprodutiva de vacas e novilhas mestiças leiteiras. Diamantina. 2010. 44f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. 2010.

FERREIRA, A. M. Reprodução da Fêmea Bovina: Fisiologia aplicada e Problemas mais comuns (causas e tratamentos). 1. ed. Juiz de Fora – MG: Editar, 2010.

GIMENES, L. U.; SÁ, FILHO, M. F.; CARVALHO, N. A. T.; TORRES JUNIOR, J. R. S.; SOUZA, A. H.; MADUREIRA, E. H.; TRINCA, L. A.; SARTORELLI, E. S.; BARROS, C. M.; CARVALHO, J. B. P.; MAPLETOFT, R. J.; BARUSELLI, P. S. Follicle deviation ande ovultory caoacity in Bos indicus heifers. Theriogenology. Melbourne, v.69. p. 852-858, mai. 2008.

GIOMETTI, I. C.; CASTILHO, A. C. S.; SÁ FILHO, O. G.; PAPA, P. C.; BURATINI JÚNIOR.; J. Controle local e endócrino do desenvolvimento e da regressão do corpo lúteo bovino. Revista Brasileira de Reprodução Animal. Belo Horizonte, v.33, n.1, p.34-52, jan/mar. 2009.

GOTTCHALL, C. S.; SCHULER, M. de V.; MARTINS, C. T. D. C.; ALMEIDA, M. R. de, MAGERO, J.; SOARES, J. C. dos R.; GREGOR, R. M. Efeitos do uso de GNRH no momento da IATF e dias pós-parto sobre a taxa de prenhez em vacas de corte com cria ao pé. Veterinária em Foco. Porto Alegre, v. 7, n. 2, p. 124–134, out. 2010.

GREGORY, R. M.; MELO, L. C.; BESKOW, A.; MATTOS, R. C.; JOBIM, M. I. M.; GREGORY, J. W. Dinâmica follicular e uso de hormonioterapias na regulação do ciclo estral. Revista Brasileira de Reprodução Animal. Belo Horizonte, n. 6, p. 148-152, dez. 2009.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. Reprodução Animal. 7.ed. Barueri: Manole, 513p. 2004.

MACMILLAN, K. L.; BURKE, C. R. Effects of oestrus cycle control on reproductive efficiency. Animal Reproduction Science, Amsterdam, v. 42, n. 1-4, p.307-320, jul. 1996.

MAPLETOFT, R. J.; BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S. Control of ovarium function for assisted reproductive and technologies in catlle. Animal Reproduction Science. Amsterdan, v. 6, n. 1 p. 114- 124, jan/mar. 2009.

MARQUES, M. O.; REIS, E. L.; CAMPOS FILHO, E. P.; BARUSELLI, P. S. Efeitos da administração de eCG e de benzoato de estradiol para sincronização da ovulação em vacas Bos taurus taurus x Bos taurus indicus no período pós parto. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 5., 2003, Córdoba. Anais... Córdoba: Instituto de Reprodução Animal de Córdoba, 2003. p.392.

MARTINS, C. M.; CASTRICINI, E. S. C.; SÁ FILHO, M. F.; GIMENES, L. U.; BARUSELLI, P. S. Dinâmica folicular de vacas Nelore tratadas com cipionato ou benzoato de estradiol em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, XIX. 2005, Angra dos Reis. Anais... Angra dos Reis: Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões, 2005, p. 285.

MARTINS, C. M. Diferentes de protocolos de superovulação com inseminação artificial em tempo fixo em *Bos taurus* e *Bos indicus*. São Paulo. 2007. 115f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo. 2007.

MCMANUS, C.; SAUERESSING, M. G.; FALCÃO, R. A., SERRANO, G.; MARCELINO, K. R. A.; PALUDO, G. R. Componentes Reprodutivos e Produtivos no Rebanho de Corte da Embrapa Cerrados. Revista Brasileira de Zootecnia. Viçosa, v. 31, n. 2, p. 648–657. nov, 2002.

MENEGAZ, A. L. Desempenho reprodutivo e reprodutivo de novilhas e vacas primíparas de corte. Porto Alegre. 2006. 171f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Faculdade de Agronomia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2006.

OLIVEIRA, J. F. C.; GONÇALVES, P. B. D.; FERREIRA, R.; GASPERIN, B.; SIQUEIRA, L. C. Controle sobre GnRH durante o anestro pós-parto em bovinos. Ciência Rural, Santa Maria, v. 40, n. 2, p. 2623-2631, dez, 2010.

PADILHA, R. T. Indução do estro/ovulação e fertilidade em ovelhas deslanadas após tratamento hormonal com diferentes dispositivos intravaginais. Fortaleza. 2007. 76f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Faculdade de Veterinária. Universidade Estadual do Ceará. 2007.

PALHÃO, M. P.; PIEDADE, C. S.; ARAÚJO, H. L.; FERNANDES, C, A, C.; GUIMARÃES, C. R. B.; RIBEIRO, J. R.; REIS, W. S. M.; VIANA, J. H. M. Sincronização folicular e vascularização do folículo dominante em novilhas mestiças tratadas com estradiol. Revista Brasileira de Ciência Veterinária. Niterói, v. 21, n. 2, p. 117-121, abr./jun. 2014

PEREIRA, C. H. Luteólise antecipada em protocolo de inseminação artificial a tempo fixo com progesterona em vacas no pós parto. Porto Alegre. 2010. 39f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Faculdade de Veterinária. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2010.

PEGORER, M. F. Taxas de ovulação e prenhez em novilhas Nelore cíclicas após utilização de protocolos para inseminação artificial em tempo fixo (IATF), com diferentes concentrações de progesterona, associadas ou não a aplicação de eCG. Botucatu. 2009. 89p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.

PFEIFER, L. F. M.; CORRÊA, M. N.; SCHMMIT, E.; VIEIRA, M.. B.; MADRUGA, E. Á.; RABASSA, V. R. Uso de PGF2α associado ao benzoato de estradiol para inseminação artificial em tempo-fixo em vacas leiteiras. Revista brasileira Agrociência. Pelotas, v. 11, n. 3, p. 347-350, jul-set. 2005.

PFEIFER, L. F. M.; CASTILHO, E. M.; ROLL, V. F. B.; SCHNEIDER, A.; ZIGUER, E. A.; DIONELLO, N. J. L. Efeito da duração do tratamento com progestágeno e da maturidade sexual na taxa de prenhez em novilhas de corte: avaliação econômica e biológica. Revista Brasileira de Zootecnia. Viçosa, v. 38, n. 7, p. 1205-1210, aug. 2009.

REIS, E. L.; GIMENES, L. U.; MARQUES, M. O.; CARVALHO, J. B. P.; MAPLETOFT, R. J.; BARUSELLI, P. S. Efeitos do cipionato e do benzoato de estradiol na dinâmica folicular e luteínica de vacas Nelore. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, XVIII., 2004, Barra Bonita. Anais... Barra Bonita: Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões, 2004, p. 236.

SALLES, M. G. F.; ARAÚJO. A. A. Corpo lúteo cíclico e gestacional: revisão. Revista Brasileira de Reprodução Animal. Belo Horizonte, v. 34, n. 3, p. 185-194, jul/set. 2010.

SANTOS dos, F. C. Uso de cloprostenol e cipionato de estradiol, durante o puerpério, sobre a saúde uterina e a eficiência reprodutiva em fêmeas girolando. Goiânia. 2009. 91f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Escola de Veterinária. Universidade Federal de Goiás. 2009.

SANTOS, K. J. G. Efeito da progesterona na produção de embriões em novilhas Gir e Girolando. Goiânia. 2010. 114f. Tese (Doutorado em Ciência Animal). Escola de Veterinária. Universidade Federal de Goiás. 2010.

SARTORI, R. Manejo reprodutivo da fêmea leiteira. Reprodução Animal, Belo Horizonte, v. 31, n. 2, p. 153-159, abr./jun. 2007.

SILVA, A. S. L.; TEIXEIRA, P. P. M.; VICENTE, W. R. R. Mecanismos fisiológicos e bioquímicos da luteólise: Revisão de literatura. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária. Garça. Ano. 8, n. 15, Jul. 2010 Disponível em: http://www.revista.inf.br/veterinaria15/revisao/ANOIIIEDI15RL04.pdf. Acesso em: 02 de julho de 2014.

STELLA, D. E. Bases gerais da sincronização de estro visando à inseminação artificial em tempo pré-determinado em fêmeas bubalinas. Botucatiu. 2004. 80f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. 2004.

VERCESI FILHO, A. E.; MADALENA, F. E.; ALBUQUERQUE, L. G.; FREITAS, A. F.; BORGES, L. E.; FERREIRA, J. J.; FARIA, F. J. C. Parâmetros genéticos entre características de leite, de peso e a idade ao primeiro parto em gado mestiço leiteiro (Bos taurus x Bos indicus). Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. Belo Horizonte, v. 59, n.4, p.983–990, mai. 2007.

VOGG, G. C. Viabilidade do uso de benzoato de estradiol 24 horas após a sincronização de cios de novilhas de 14 e 24 meses com pessários contendo acetato de medroxi-progesterona. Porto Alegre. 1999. 48f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Faculdade de Veterinária. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 1999.

Capítulo 6- Sistemas de criação em bovinocultura de corte

Almeida, I.C. [1]; Neves, R.G.[2]; Sobreira, R.R.[3]; Oliveira, F.A. [4]; Barioni, G.[5]; Siqueira, J. B.[6]

INTRODUÇÃO

Com o crescente aumento do poder aquisitivo da população dos países em desenvolvimento, a demanda por carne bovina tem aumentado. Há 50 anos, o consumo brasileiro representava 5,5% do consumo mundial, em 2011 segundo a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação, essa demanda subiu para 13,9%, o que representa 7,75 milhões de toneladas de carne bovina (FAO, 2011).

No Brasil, a criação de bovinos de corte se caracteriza por sistemas extensivos de produção, com predomínio das pastagens. Mas neste contexto, alguns fatores são limitantes para o aumento da produção, como a escassez de forragem em determinados períodos do ano. Contudo, por se tratar de criações extensivas, desde que se tenham áreas de pastagens bem manejadas, é possível ter uma boa produção com menores custos, uma vez que a produção extensiva não sofre influências das variações cambiais dos grãos.

Outro aspecto importante, e que tem influência direta nos sistemas produtivos é a preocupação com a sustentabilidade. Como o Brasil nos últimos anos se fortaleceu como fornecedor mundial de carnes, com reflexos positivos na captação de divisas para o país, tem-se que pensar em alternativas sustentáveis para produção das mesmas, usando de forma consciente os nossos recursos naturais para atendermos a demanda do consumo interno, pois no mundo globalizado de hoje, encontramos consumidores mais informados e preocupados com a origem e a qualidade das carnes. Quanto ao mercado externo, é importante ressaltar as exigências de controle ambiental e bem estar animal exigidas pelos países desenvolvidos, que se traduzem em imposição e embargos para importações. Deste modo, torna-se fundamental que se atendam as exigências sanitárias no que diz respeito à saúde pública e também do rebanho.

Com o exposto, objetivou-se com esse trabalho fazer uma revisão de literatura abordando os principais temas inerentes a bovinocultura de corte como: aspectos econômicos, tipos de manejo adotados, fisiologia e nutrição.

2. Importância Econômica

A bovinocultura tem papel importante no desempenho econômico e na geração de empregos no Brasil, contribuindo de maneira fundamental para o seu desenvolvimento. Ocupando uma área maior que 158 milhões de hectares (ha) de pastagens e com aproximadamente 209 milhões de cabeças, o Brasil possui o maior rebanho bovino comercial

[1]Mestrando do Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, CCA/UFES, Alegre-ES, Bolsista CAPES. email: almeidaicvet@gmail.com ;
[2]Mestranda do Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, CCA/UFES, Alegre-ES. email: rafaelagneves@hotmail.com
[3]Mestrando do Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, CCA/UFES, Alegre-ES. email: robertinhosobreira@hotmail.com
[4]Médico Veterinário Dr. - Instituto Federal do Espírito Santo - Campus Alegre. email: falboli@hotmail.com
[5]Profª. Drª. - Departamento de Medicina Veterinária, CCA/UFES, Alegre-ES. email: graziela.barioni@terra.com.br
[6]Profª. Drª. - Instituto de Ciências Agrárias, UFVJM, Campus Unaí-MG. email: jbsiqueira_@hotmail.com

do mundo, sendo o maior exportador de carne desta espécie segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2011).

A agropecuária assume posição importante na geração de renda nacional. Segundo o IBGE (2013), a economia brasileira cresceu 1,5% no segundo trimestre desse ano, na comparação com os três meses anteriores. O destaque neste segundo trimestre foi para a agropecuária, com crescimento de 3,9%. Na comparação com o segundo trimestre de 2012, a alta foi de 3,3%, e neste caso a agropecuária cresceu 13%.

Já as exportações de carne, bateram recorde no ano de 2013, sendo exportadas 1.500.314 toneladas, principalmente pra Rússia, Egito, Venezuela e Hong Kong, gerando uma renda de US$ 6.658.015 (ABIEC, 2014). Segundo IBGE (2011), o Espírito Santo possui mais de 30 mil estabelecimentos agropecuários que tem como atividade a bovinocultura e, de acordo com o Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (INCAPER, 2010), o Estado possui um rebanho total de aproximadamente 2,2 milhões de cabeças de gado, ocupando uma área de 1,3 milhão de hectares de pastagens.

No Brasil, cerca de 80% dos bovinos são compostos por raças zebuínas, , com predominância dos bovinos da raça Nelore, com 90% desta parcela. Já a região Sul, por ter características climáticas diferentes do restante do país e pastagens de melhor valor nutritivo, a predominância são bovinos de origem taurina, que se adaptam muito bem nesse ambiente (ABIEC, 2013).

2.1. Alcançando Melhores Índices

A bovinocultura de corte é uma atividade muito importante para o Brasil, que conta com o maior rebanho comercial do mundo. Entretanto, os sistemas de criação são caracterizados por baixos índices zootécnicos, em consequência da precária nutrição, dos problemas sanitários, do manejo ineficiente e do baixo potencial genético dos animais.

Para o Brasil melhorar ainda mais sua produtividade, e ser o maior produtor e continuar sendo o maior exportador de carne bovina, deve-se investir principalmente na alimentação dos bovinos. As pastagens apresentam grande importância e são a principal fonte de nutrientes em todas as regiões onde predomina a criação extensiva de bovinos de corte.

Portanto, a utilização de técnicas e manejos que permitam alcançar melhores produtividades com consequente melhoria nos índices zootécnicos são bem vindas à pecuária de corte. Na tabela 1 pode-se observar os índices zootécnicos comparados em propriedades com pastagem degradada e pastagem recuperada com integração lavoura-pecuária (KICHEL et al., 2011).

Tabela 1. Índices zootécnicos da pecuária de corte em pastagem degradada comparada à pastagem recuperada

Índices gerais	Pastagem degradada	Pastagem recuperada
Natalidade (%)	60	82
Taxa de desmame (%)	54	78
Peso ao desmame (Kg)	160	200
Idade a 1ª cria (anos)	4	2,5
Intervalo entre partos (meses)	21	12 a 13
Idade de abate (anos)	4	2,5
Taxa de desfrute (%)	17	30
Lotação (animal/hectare)	0,9	3,0
Ganho de peso (g/animal/dia)	270	600
Ganho de peso (Kg/animal/ano)	97,2	216

Fonte: adaptado de KICHEL et al., 2011

Sistemas de produção onde se encontra a integração lavoura-pecuária está ganhando destaque na bovinocultura. Estes sistemas têm como aspectos principais a produção de forragem em grande quantidade e de alto valor nutritivo. Outros benefícios também são incorporados ao sistema quando se adota esse tipo de manejo como evitar a degradação da pastagem e a erosão do solo, intensificação do uso da terra, aumento de matéria orgânica no solo, melhoria das condições microclimáticas e, com a diversificação dos sistemas de produção há redução no custo de produção (KIECHEL et al., 2011).

Uma vez que a maioria das pastagens é composta por pastagem natural (formadas sem intervenções do homem e constituídas de espécies nativas), estas são de baixa qualidade, levando a um menor ganho de peso diário aos animais. Já as pastagens artificiais (que são formadas pelo homem, por meio de plantio de espécies forrageiras) são de maior qualidade, e melhor conversão alimentar, permitindo assim maior ganho de peso (JARDIM, 2001).

Dessa forma, pastagens de origem artificiais manejadas intensivamente, visa aumentar a produção por animal e, principalmente, por unidade de área, pelo aumento da taxa de lotação e da taxa de utilização da forragem. O pastejo rotacionado tem sido uma das principais técnicas adotadas no processo de intensificação de pastagens. Ele consiste na utilização de pelo menos dois piquetes submetidos a sucessivos períodos de descanso e de ocupação. Durante o período de descanso, ocorre a rebrota da planta forrageira na ausência do animal. No período de ocupação, verifica-se a utilização do pasto pelos animais (MARTHA JR et al., 2003).

A sanidade do rebanho, também é um importante fator de influência para alcançar melhores índices na criação de bovinos, principalmente às infecções que, direta ou indiretamente comprometem o trato reprodutivo das fêmeas e dos machos. Vários agentes infecciosos podem estar envolvidos nos distúrbios reprodutivos de bovinos, os mais comumente encontrados são as bactérias (*Brucella abortus, Leptospira sp, Mycoplasma sp* e *Compylobacter fetus*); vírus (herpes vírus bovino tipo I - rinotraqueíte infecciosa bovina e vírus da diarreia viral bovina); protozoários (*Trichomonas fetus* e *Neospora caninum*) e fungos (*Fusarium sp* e a toxina zearalenona). Os sinais clínicos apresentados pelos rebanhos infectados por alguma dessas doenças são variados como nascimento de animal fraco, repetição de cio, infertilidade, abortamento, mortalidade neonatal e retenção de placenta (JUNQUEIRA et al., 2006).

De acordo com Junqueira et al. (2006), estudos sorológicos demonstram altos percentuais de soroconversão de fêmeas bovinas para o herpevírus tipo I, vírus da diarreia viral bovina e leptospirose em todo o Brasil. Algumas dessas enfermidades, além de afetarem o rebanho bovino, representa importante papel em saúde pública por serem zoonoses (DEL FAVA et al., 2003). Essas, além de provocarem perdas econômicas para o proprietário, geram barreiras internacionais ao comércio de produtos de origem animal e perdas na indústria, com desvalorização dos produtos nacionais frente ao mercado externo.

O melhoramento genético do rebanho também seria de fundamental importância para melhoria dos índices de produção brasileiro. Sendo assim, fazer a seleção dos animais mais precoces já é uma iniciativa. Outra forma de melhorar os índices de produção é o cruzamento entre raças, onde se pode buscar a melhor característica de cada raça escolhida. Há necessidade também de se buscar maior entendimento das relações existentes entre genótipo e ambiente para que se consiga otimizar a produção, não só alcançando maiores produtividade, competitividade e eficiência, mas também estabelecendo sistemas de produção sustentados a médio e longo prazo (MARQUES, 2005).

A eficiência reprodutiva é um dos principais fatores que influenciam a produtividade do rebanho. Falhas reprodutivas e problemas na identificação do cio, contribuem para atraso no retorno à atividade ovariana pós parto, maior período de serviço e de intervalo entre partos, redução no período de lactação e menor produção de bezerros por ano e durante sua vida útil. Consequentemente, os custos de produção são elevados pela manutenção de animais com baixa produção no rebanho. Várias tecnologias reprodutivas podem minimizar estes problemas, dentre

elas está a inseminação artificial em tempo fixo (IATF), que com a utilização de protocolos hormonais que simulam o ciclo estral da vaca possibilitam a inseminação artificial em um período pré determinado, não precisando ser feita a observação de cio (ALMEIDA, 2013).

2.2. Caracterização dos Sistemas de Produção

De acordo com Euclides Filho (2000), entende-se por sistema de produção de gado de corte o conjunto de tecnologias e práticas de manejo, bem como o tipo de animal, o propósito da criação, a raça ou grupamento genético e a região onde a atividade é desenvolvida.

Com uma ampla abrangência nacional a pecuária de corte brasileira apresenta sistemas de produção que podem variar de pecuária extensiva, suportada por pastagens nativas e cultivadas de baixa produtividade e pouco uso de insumos, até uma pecuária dita intensiva, com pastagens de alta produtividade, suplementação alimentar a pasto e confinamento. Entretanto, qualquer que seja o sistema de produção, a atividade caracteriza-se pela predominância do uso de pastagens (CEZAR et al., 2005).

Por se tratar de sistemas de produção com base em pastagens, resulta por um lado em vantagem, pois viabiliza os custos de produção relativamente baixos e, por outro lado, a utilização exclusiva dessa fonte de alimentação tem se apresentando para alguns economicamente inviável em muitas situações pois, a competitividade por preço e por qualidade de produto impõem mudanças no setor, já que os consumidores estão buscando produtos de melhor acabamento. Isso é agravado, principalmente, pela forma como essas pastagens são manejadas (QUADROS, 2005).

Basicamente, existem três tipos de sistemas de produção de carne bovina: extensivo, semi-intensivo e o intensivo.

2.2.1 Sistema Extensivo

Segundo Oliveira et al. (2008) o sistema extensivo caracteriza-se por: utilização maciça de recursos naturais (algumas vezes de forma extrativista); a maioria das propriedades rurais situa-se longe dos centros consumidores; gado a campo; animais mestiços (azebuados); produção e/ou produtividade baixa; sem ou com diminutos planejamentos alimentar, profilático e/ou sanitário; controles de produção e reprodutivos inadequados ou inexistentes; instalações inadequadas; pastos constituídos de plantas nativas e/ou exóticas, com manejos das pastagens e do pastejo inapropriados; e a utilização de suplementação alimentar quase inexistente.

Este sistema representa em torno de 80% dos sistemas produtivos de carne bovina brasileira, desenvolvendo atividades de cria a engorda, e apresentando alta variação de desempenho. Tal variação é decorrente da interação entre vários fatores, como solo, clima, genótipo e manejo animal, sanidade animal, qualidade e intensidade de utilização das pastagens, além da gestão (CEZAR et al., 2005).

2.2.2 Sistema Semi-Intensivo

Também apresentam como base alimentar as pastagens (nativas e/ou cultivadas) e os suplementos minerais, acrescidos de suplementos proteico/energéticos, e caracterizando-se por propriedades rurais mais especializadas, ditas empresas rurais.

O objetivo deste sistema é alcançar uma pecuária de ciclo mais curto, suplementando os animais em suas diversas fases de crescimento (aleitamento, recria e engorda), dependendo das metas de produção de cada fase. Segundo Oliveira et al. (2008), quando comparado com o sistema extensivo, este apresenta maior controle zootécnico de dados; processos modernos de criação com uso de biotecnologias reprodutivas e que utiliza gerenciamento agropecuário;

emprego de maiores investimentos por unidade de terra; contabilização do trabalho/ha; contam também com funcionários mais capacitados; as pastagens são exóticas e, algumas vezes, com manejos apropriados do pastejo e da pastagem e em determinados casos utiliza-se a integração lavoura-pecuária; a suplementação alimentar concentrada pode ocorrer ao longo do ano, ou em partes do ano devido a estacionalidade de produção da forrageira, no entanto a suplementação mineral ocorre ao longo do ano.

2.2.3 Sistema Intensivo

A fase intensiva ou confinamento é o sistema de criação de bovinos em que lotes de animais são encerrados em piquetes ou currais com área restrita, e o alimento e a água são fornecidos em cochos.

De acordo com Lopes e Magalhães (2005), o confinamento proporciona redução da idade de abate do animal, produção de carne de melhor qualidade e maior giro de capital. Porém o investimento com mão de obra e alimentação é superior em sistemas de terminação em pastagens.

2.4 Fases de Criação

Constitui-se nas etapas de desenvolvimento e produção na pecuária bovina, e pode ser divida em três fases:

- Cria: compreende o período de cobertura até a desmama;
- Recria: compreende o período entre a desmama até a fase de terminação;
- Engorda: última fase pode ser feita a pasto ou no confinamento.

Fase de Cria

A fase de cria na bovinocultura de corte corresponde não só aos bezerros e bezerras criados na propriedade, mas também às matrizes, às novilhas aptas à cobertura e aos reprodutores. A melhor época de nascimento coincide com o período seco, quando é baixa a incidência de doenças, como a pneumonia, e de parasitos, como carrapatos, bernes, moscas e verminoses (OLIVEIRA et al., 2006).

O manejo reprodutivo dos bovinos é fundamental para o sucesso econômico da cria, e importante para o melhoramento do rebanho. Quanto maior a eficiência reprodutiva das vacas, menores serão os custos por bezerros nascidos e menor será o percentual de vacas vazias, proporcionando assim, maiores lucros para o produtor (QUADROS, 2005).

Para que o manejo do rebanho de cria seja conduzido de forma eficiente é necessário que todos os animais tenham sido identificados. Assim, com o registro das ocorrências do rebanho em mãos (data do nascimento, peso ao nascimento e peso a desmama, mortes, abortos, diagnóstico de gestação e vacinações), estas contribuirão para avaliar o desempenho de cada animal. Possibilitando a identificação dos animais com baixa e alta produtividade, permitindo mudanças no manejo para melhorar a eficiência do sistema de produção (QUADROS, 2005).

A nutrição da vaca é a grande responsável pela resposta adequada em kilos de bezerro desmamado por ano. Deste modo, a recomendação é que o rebanho de matrizes tenha em média um escore de condição corporal (ECC) entre 5 e 7 (escala de 1 a 9; proposta por DIAS, 1991) ao parto (OLIVEIRA et al., 2006).

Após o parto, a transferência de imunidade passiva para o bezerro por meio do colostro da mãe é essencial para sua sobrevivência, já que a placenta dos bovinos, que é do tipo epitélio-corial, impede a transferência de imunoglobulinas da mãe para o feto. O colostro é a primeira secreção produzida pela glândula mamária após o período seco e é fonte de

imunoglobulinas, nutrientes, hormônios e fatores de crescimento para o neonato (SILPER et al., 2012).

O umbigo é uma das principais vias de infecção após o nascimento, justamente por ser cortado e ficar exposto a agentes infecciosos do ambiente, por isso, se faz necessário logo após o nascimento realizar o procedimento de cura do mesmo. Segundo Silva (1998), o processo de assepsia evita contaminações por agentes externos, que podem causar danos generalizados aos bezerros. Portanto, o tratamento do umbigo deve ser realizado de maneira mais rápida e higiênica possível, para evitar lesões ou contaminações graves.

Uma outra técnica utilizada é o *creep feeding*, que consiste em suplementar o bezerro a partir de 60 dias de idade, ou antes, utilizando instalações construídas no próprio pasto, a qual impede o sucesso das vacas ao suplemento. O resultado é o aumento do peso a desmama do bezerro (CEZAR et al., 2005), e auxilia a poupar reserva energética das matrizes (OLIVEIRA et al., 2006).

2.4.2 Fase de Recria

É o período que vai do desmame à puberdade das fêmeas ou o início da engorda nos machos. De acordo com Peixoto (1999), a fase de recria é o segmento mais importante no que diz respeito ao ganho de peso na criação de bovinos de corte, pois o bezerro consegue em poucos meses atingir até 50% do seu peso final de abate.

No entanto, esta fase é geralmente feita em pastos de qualidade inferior e superlotados, e segundo Jardim (2001), graças à rusticidade do gado zebuíno, as perdas na recria são baixas, em torno de 2%. Contudo, os bezerros nesta fase são conservados magros ganhando apenas tamanho e idade. São desejáveis então, melhor alimentação e maiores cuidados durante a recria, a fim de que os animais tenham maior ganho de peso e posteriormente melhor acabamento de carcaça.

Para a melhoria dos índices produtivos na fase de recria, os sistemas intensivos de produção de bovinos a pasto podem modificar o cenário da pecuária nacional. Com adoção de algumas mudanças na rotina do manejo e o uso de tecnologias de fácil aplicação, pode-se obter maior rentabilidade sem que haja aumento substancial das despesas.

As práticas de manejo nesta fase podem ser adotadas de forma isolada ou em conjunto, de acordo com a necessidade de cada propriedade e a capacidade de absorção de tecnologias por parte dos profissionais responsáveis por tal função. Neste sentido, tecnologias como a irrigação, a adubação de pastagens e o pastejo rotacionado são comuns em sistemas intensivos de produção de carne a pasto. Entretanto, quando se pretende maximizar o ganho de peso por animal e ao mesmo tempo por área, a suplementação alimentar proteico-energética torna-se uma alternativa para os produtores de gado de corte, que podem ainda utilizar subprodutos da agroindústria ou produtos agrícolas com grande oferta regional.

Desta forma, a utilização de produtos agrícolas regionais tradicionais, que não competem com a alimentação humana, é uma alternativa interessante para aumentar a sustentabilidade e a lucratividade de propriedades rurais.

O aporte proteico-energético, de forma a suplementar a alimentação animal, pode representar diferenças marcantes em termos de tempo de permanência dos animais na propriedade, aumentando ou diminuindo os custos por arroba de carne produzida por hectare e o fluxo de entrada e saída de animais na propriedade. Entretanto, no Brasil, a preocupação com a qualidade da carcaça e da carne produzida, não são consideradas metas principais pela maioria dos produtores.

A suplementação de bovinos em pastejo é uma das principais estratégias para a intensificação dos sistemas de produção em qualquer fase de criação. Esta tecnologia permite corrigir dietas desequilibradas, aumentar a eficiência de conversão das pastagens, melhorar o

ganho de peso dos animais, encurtar os ciclos reprodutivos, de crescimento e engorda dos bovinos e aumentar a capacidade de suporte dos sistemas produtivos, incrementando a eficiência de utilização das pastagens em seu pico de produção e elevando o nível de produção por unidade de superfície (Kg/ha/ano) (PAULINO et al., 2004).

2.4.3. Fase de Engorda

A engorda pode ser feita através de três sistemas: extensiva, semi-intensiva, ou intensiva. Segundo Jardim (2001), a engorda extensiva é predominante não só na Brasil, mas também nos Estados Unidos, Argentina e outros grandes países produtores de carne bovina. Os animais são engordados à campo, recebendo como alimento somente o pasto, com suplementação de sal mineral. O resultado depende principalmente da qualidade do solo, das pastagens e do gado. Já no sistema semi-intensivo os animais são mantidos a pasto e recebem suplementação alimentar no cocho. A suplementação de animais a pasto modifica a proporção dos ácidos graxos produzidos e, portanto, eleva a eficiência dos animais reduzindo a proporção da emissão de gases do efeito estufa. O milho é a fonte energética mais utilizada nas rações destinadas à alimentação de bovinos no Brasil. No entanto, em razão de sua grande participação no comércio internacional (alimentação humana, animal, produção de etanol) o custo de aquisição deste insumo é fortemente influenciado tanto pela variação da taxa cambial, quanto por sua disponibilidade no mercado. Como alternativa ao milho, a raiz de mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) tem sido empregada com sucesso como fonte energética na dieta de bovinos (RAMALHO et al., 2006).

No sistema intensivo que tem como base o confinamento, os animais, os alimentos e as instalações são os elementos estruturais. É sabido que os bovinos em disponibilidade para o confinamento visando à produção de carne representam uma grande fonte de variação. Isso acontece em virtude da diversidade do ambiente que foram criados anteriormente e da presença de tipos genéticos variados, consequência do desordenado emprego dos cruzamentos na criação e do aproveitamento de indivíduos descartados dos rebanhos leiteiros (PEIXOTO et al., 1999).

São diversos os fatores a se considerar na seleção de bovinos para o confinamento. Durante muito tempo essa escolha seguiu processos empíricos, galgadas em critérios subjetivos, muito mais associadas a tradição do criador do que à técnica de exploração racional das espécies domésticas. Atualmente já se pode dispor de conhecimento e métodos mais apurados para uma seleção adequada, com base em observações experimentais bem conduzidas.

2.5 O Ambiente e os Sistemas de Produção

Um dos grandes desafios da pecuária moderna está relacionado à exploração do máximo potencial genético do animal, tanto no aspecto produtivo quanto reprodutivo. Durante muitos anos a busca da máxima eficiência na produção animal esteve voltada para o atendimento das necessidades de manejo, sanidade, genética e nutrição. Mas atualmente, os avanços obtidos nestas áreas têm sido limitados pelos fatores ambientais, principalmente pelo ambiente térmico ao qual os animais são submetidos. Fatores ambientais externos e o microclima dentro das instalações exercem efeitos diretos e indiretos sobre a produção animal em todas as fases de produção e acarretam redução na produtividade, com consequentes prejuízos econômicos (BRIDI, 2004).

Sendo as pastagens a base da maioria dos sistemas de produção, fatores associados a estas podem diretamente influenciar o bem estar animal e seus índices.

Nas pastagens sem sombra, os animais apresentam sintomas de estresse calórico que se manifestam por movimentação excessiva, agrupamento nos extremos do piquete, ingestão frequente de água e descanso na posição deitada. Titto (2006) ao trabalhar com bovinos da raça

Simental, com disponibilidade de sombra no pasto, verificou que os animais procuraram a sombra a partir das 10:00 horas, com permanência até aproximadamente às 15:00 horas. Resultados semelhantes foram registrados por Claser (2008) em trabalho com bovinos das raças Angus, Caracu e Nelore, em condições de ambientes com sombra, sombra e água para imersão e apenas água para imersão, tendo verificado maior atividade de pastejo nas primeiras horas da manhã e no final da tarde, variando também em função dos recursos utilizados.

A sombra pode ser natural ou artificial, sendo melhor as providas por árvores, de preferência agrupadas formando bosques. A alta radiação incidente nas regiões tropicais em conjunto com altas temperaturas e umidade relativa do ar, são condições que geram o desconforto térmico e levam consequentemente ao estresse calórico, quando os animais se encontram em pastagens sem o provimento de sombra (TITTO, 2006).

Em regiões quentes, a existência de sombra nas pastagens influencia positivamente os hábitos de pastejo dos animais, permitindo uma distribuição mais apropriada de ruminação durante o dia e garantindo mais tempo de descanso. Em pastagens manejadas extensivamente, a presença de árvores distribuídas por toda área deve contribuir para facilitar o acesso dos animais aos locais mais distantes da pastagem.

Além de contribuírem para atenuar as temperaturas internas das pastagens, as arvores reduzem o impacto das chuvas e ventos, promovendo conforto e servindo de abrigo para os animais. Esses fatores de conforto se refletem também no desempenho produtivo e reprodutivo dos animais (ALVIM et al., 2005).

Há diferenças marcantes entre os zebuínos e os taurinos, principalmente em termos de tolerância ao calor. Os zebuínos são originários de países de clima quente, enquanto os taurinos de regiões de clima temperado, são notórias as diferenças anatômicas e fisiológicas de adaptação aos climas tropicais. Assim a escolha da raça pode ser um fator importante para equilibrar os efeitos do meio ambiente no sistema de produção escolhido.

Para exemplificar, a raça Sindi, originária do Paquistão, de uma região de clima semiárido, com precipitação anual média de 250-300 mm, é hoje uma alternativa viável e comprovada para o desenvolvimento sustentável da pecuária do nordeste brasileiro, pois dois terços do território do Brasil encontram-se na faixa tropical, onde predominam as altas temperaturas na maior parte do ano (6 a 8 meses) com temperatura média à sombra variando entre 35 e 39°C, em consequência da elevada radiação solar incidente. Além dos efeitos do estresse calórico, as estiagens e secas periódicas prejudicam a produção de forragens. Nesse contexto as raças especializadas na produção de leite e carne de origem europeia são altamente prejudicadas (SOUSA, 2007).

2.6 Interferência do Meio Ambiente e Respostas Fisiológicas

Fatores ambientais exercem efeitos diretos e indiretos em todas as fases da produção animal, podendo acarretar redução na produtividade, com consequentes prejuízos econômicos. A adaptação de uma espécie animal a determinado ambiente está relacionada com mudanças estruturais, funcionais ou comportamentais observadas nos indivíduos desta espécie, objetivando a sobrevivência, reprodução e produção neste determinado ambiente.

Bovinos são animais homeotérmicos, ou seja, mantém a temperatura corpórea relativamente constante independente das variações ambientais. Para que isto ocorra, é necessário que haja equilíbrio entre a termogênese (produção de calor) e a termólise (perda de calor), conseguido por alterações fisiológicas, metabólicas e comportamentais, de modo a sustentar a homeostase orgânica e minimizar as consequências adversas da hipo ou hipertermia, dependendo das circunstâncias (BERTIPAGLIA et al., 2007).

Em dias muito quentes, para tentar manter o conforto térmico os bovinos podem adotar certos comportamentos como procurar a sombra, permanecer em pé (a não ser que o

chão esteja molhado), aumentar o consumo de água, reduzir o consumo de alimento, aumentar a frequência respiratória, produzir saliva em excesso, aumentar a sudorese e a vasodilatação periférica (BERTIPAGLIA et al., 2007).

Nas situações de estresse térmico há liberação do hormônio liberador de corticotrofina (CRH) pelo hipotálamo, o que inibe a secreção de GnRH (hormônio liberador de gonadotrofinas) e consequentemente a inibição de FSH (hormônio folículo estimulante), LH (hormônio luteinizante) e estrógeno, acarretando em transtornos reprodutivos como falhas na detecção do cio, falhas no desenvolvimento e na qualidade do oócito, na fertilização e implantação do embrião no útero (RENSIS e SCARAMUZZI, 2003).

Além disso, segundo Neves (2010), o estresse calórico afeta a qualidade dos espermatozoides, resultando em perdas gestacionais no dia do estro e nos dias que correspondem as primeiras divisões embrionárias. Estudo realizado por Barbosa et al. (2011), encontraram menor percentual de concepção quando realizaram a IATF em épocas quentes do ano, quando comparadas em épocas com temperaturas mais amenas 28,85% na primavera/verão e 45,98% no outono/inverno.

No entanto, as baixas temperaturas, como as registradas no sul do país em meses de inverno, também refletem de maneira negativa na pecuária. Com a ocorrência do estresse térmico por frio os animais aumentam suas necessidades energéticas de mantença. Segundo Silveira et al. (2011), nesta época do ano, os bovinos, que são mantidos em sistemas de criação a pasto, têm diminuição da oferta de nutrientes, acarretando em menor aproveitamento alimentar e diminuição de produtividade.

Sabe-se que os animais *Bos indicus* são reconhecidamente mais tolerantes ao clima tropical, especialmente quanto ao calor, apresentando também maior resistência à endo e ectoparasitos quando comparados aos *Bos taurus* (TURNER, 1980). No entanto, é sabido que em questões de produtividade os animais taurinos apresentam melhores índices que os zebuínos, quanto ao ganho de peso pré e pós desmama, fertilidade e habilidade materna. Além disso, apresentam qualidade de carne e de carcaça superiores (O'CONNOR et al., 1997).

As preocupações sobre conforto ambiental e bem estar animal estão cada vez maiores na sociedade, e os sistemas de produção animal estão procurando atender a estas exigências. Neste contesto, os sistemas de produção devem proporcionar condições adequadas de criação, visando melhorar a produção e atender as demandas de mercado. No sistema de produção de bovinos a pasto, o sombreamento natural é um recurso que contribui para o fornecimento do bem estar aos animais (MARTINS, 2001).

O conforto térmico para o animal por meio de modificações ambientais e adequadas práticas de manejo, melhora os índices produtivos e reprodutivos de um sistema de produção. O uso de animais adaptados as nossas condições tropicais e seus mestiços, são alternativas de sucesso que melhoram a eficiência econômica do sistema de produção.

2.7 Importância da Nutrição

Como já mencionando nos tópicos anteriores, estresse calórico é o desequilíbrio que ocorre no organismo do animal em resposta às condições ambientais adversas tais como alta temperatura ambiente, alta umidade relativa do ar e alta radiação solar, e estas condições aliadas à alta produção de calor metabólico, resultam em estoque de calor corporal excedente.

O manejo nutricional para os períodos mais quentes do ano deve incluir o fornecimento de dietas "frias", dietas de alta densidade energética, além de suplementação adicional de minerais, tais como potássio, sódio e magnésio, e manter a disposição água de boa qualidade. Dieta "fria" é aquela que gera alta proporção de nutrientes para síntese e diminui o incremento calórico oriundo da fermentação e metabolismo dos alimentos. As características destas dietas são: maior teor de energia, fibra de alta fermentação, menor degradabilidade de

proteínas e alto conteúdo de nutrientes protegidos. Estão incluídas nesta categoria as pastagens tenras, silagem com alto conteúdo de grãos e concentrados ricos em gordura (VALTORTA e GALLARDO, 1996).

Pode-se abrir mão de algumas técnicas nutricionais para amenizar o estresse calórico como fornecer forragem de alta qualidade que serão metabolizadas mais facilmente e aumentar a proporção de concentrado; segundo Baccari (2001), a produção de calor no corpo e sua temperatura são mais elevados quando há consumo predominante de forragens ou níveis elevados de proteína bruta no concentrado.

Resumidamente, existem outras estratégias nutricionais citadas por Simas (1998) e Pires (2006) para minimizar o desconforto térmico quando se trata de gado leiteiro, no entanto, as mesmas tem se mostrado eficazes na criação de bovinos de corte, são elas:

Aumentar a porcentagem de minerais na ingestão de matéria seca total (se ocorre perda excessiva de minerais no suor e saliva, é necessário fazer a sua reposição):

• adicionar de 1,3 a 1,5% de potássio;
• adicionar 0,5% de sódio na forma de cloreto de sódio;
• adicionar 0,3% de magnésio.

Não fornecer dieta com mais de 65% de proteína degradável no rúmen (a excreção de nitrogênio é cara e gera calor metabólico);

Adicionar tamponantes na dieta para estabilizar o pH do rúmen (se há redução no consumo e a forragem é de alta qualidade, a atividade ruminal pode diminuir, provocando uma ácidose ruminal):

• incluir 1% de bicarbonato de sódio na dieta.

Aumentar o parcelamento dos alimentos ao longo do dia (reduzindo a quantidade de alimento por refeição):

• evita o aquecimento e a deterioração do alimento;
• estimula o consumo da dieta;
• permite observação mais frequentemente dos animais e detecção precoce dos efeitos do calor e umidade sobre eles;
• reduz a quantidade de insetos no ambiente.

Segundo Simas (1998), um bom manejo nutricional vai muito além de formulação de dietas uma vez que inúmeros outros fatores relacionados ao manejo diário da propriedade terão reflexos direto na ingestão de alimento pelos bovinos. Tais fatores incluem o manejo pré parto, condição corporal ao parto, qualidade da forragem, manejo da silagem, disponibilidade de água de boa qualidade, problemas de cascos, manejo de cocho incluindo limpeza e área de cocho por animal, disponibilidade de alimento a maior parte do dia, horário de alimentação, parcelamento do fornecimento de alimento, separação das vacas primíparas das demais, etc. O autor comenta ainda que, antes de lançar mão de aditivos ou tecnologias que podem direta ou indiretamente aliviar o estresse térmico, devemos garantir que o manejo nutricional básico permita ao animal o maior consumo possível de matéria seca.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em razão da complexidade e o dinamismo sobre a bovinocultura de corte, bem como das interações entre nutrição, sanidade, produtividade, reprodução e genética, a tomada de decisão precisa ser feita com critério e com base em planejamento. Neste sentido, os constantes monitoramentos do sistema de criação constituem premissas básicas para o sucesso da

atividade. Deve-se buscar novas tecnologias para superar os desafios inerentes à bovinocultura de corte atual no Brasil, para que esta continue em franca expansão. É necessário que se busque o desenvolvimento e a seleção das características de adaptabilidade dos animais, adequando o genótipo às condições de produção em climas tropicais, sem comprometimento das funções reprodutivas, produtivas e de qualidade do produto. Portanto, é importante a adequação do genótipo ao ambiente de criação sob os aspectos econômicos e de bem estar animal, em que a manutenção dos animais em constante estresse térmico acarreta prejuízos, pois afetam diretamente os índices de produtividade e produção.

4. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, I. C. Avaliação da taxa de prenhez com uso de diferentes protocolos hormonais na IATF em bovinos leiteiros. Monografia, Campos dos Goytacazes. 62p. 2013.

ALVIM, M.J; PAUCIULLO, D.S.C.; CARVALHO, M.M. Sistema de produção leite com recira de novilas em sistemas silvipastoris, versão eletrônica. Embrapa, Juiz de Fora, n 7, 2005.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE - ABIEC. Estatísticas. Disponível em: < http://www.abiec.com.br/download/relatorioexportacao2013_jan_dez.pdf >. Acesso em: 01 de Agosto de 2014.

BRIDI, A, N. Instalações e Ambiência em Produção Animal. Disponível em:< http://wp.ufpel.edu.br/bioclimatologiaanimal/files/2011/05/InstalacoeseAmbienciaemProducaoAnimal.pdf >, Pelotas, Acesso em: 27 de agosto de 2013.

BACCARI JÚNIOR, F. Manejo ambiental da vaca leiteira em climas quentes. Londrina, UEL, 2001. 142p.

BARBOSA, C. F.; JACOMINI, J. O. DINIZ, E. G.; SANTOS, R. M.; TAVARES, M. Inseminação artificial em tempo fixo e diagnóstico precoce da gestação em vacas leiteiras mestiças. Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v.40, p. 79-84, 2011.

BERTIPAGLIA, E. C. A.; SILVA, R. G.; CARDOSO, V.; MAIA, A. S. C. Estimativas de parâmetros genéticos e fenotípicos de características do pelame e de desempenho reprodutivo de vacas holandesas em clima tropical. Revista Brasileira de Zootecnia. Viçosa, v.36, n.2, p.350-359, 2007.

CEZAR, I.M.; QUEIROZ, H.P.; THIAGO, L.R.L.S.; CASSALES, F.L.G.; COSTA, F.P.C. Sistemas de Produção de Gado de Corte no Brasil: Uma Descrição com Ênfase no Regime Alimentar e no Abate. Campo Grande. 2005. Embrapa. Documentos 151, 2005.

DEL FAVA, C.; ARCARO, J. R. P.; POZZI, C. R.; ARCARO JR, I.; FAGUNDES, H.; PITUCO, E. M.; STEFANO, E.; OKUDA, L.H.; VASCONCELLOS, S. A. Manejo sanitário para o controle de doenças da reprodução em um sistema leiteiro de produção semi intensivo. Arquivo do Instituto Biológico, São Paulo, v. 70, p. 25-33, 2003.

DIAS, F.M.G.N. Efeito da condição corporal, razão peso/altura e peso vivo sobre o desempenho reprodutivo pós parto de vacas de corte zebuínas. 1991. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1991.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Food balance sheets and food consumption survey: a comparison os methodologies and results, 2011. Disponível em: <http://www.fao.org/countryprofiles/index/es/?iso3=BRA&subject=4>. Acesso em: 30 de Agosto de 2013.

GLASER, F.D. Aspectos comportamentais de bovinos das raças Angus, Caracu e Nelore a pasto frente à disponibilidade de recursos de sombra e água para imersão. Pirassununga, 2008. 117 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍTICA. Banco de dados agregados. Censo 2011. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=es&tema=pecuaria2011>. Acesso em: 25 de Agosto de 2013.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍTICA. Banco de dados agregados. Disponível em: < http://www.ibge.gov.br/home/default.php>. Acesso em: 01 de Setembro de 2013.

INCAPER; Incaper em Revista, 2010. Disponível em: <http://incaper.web407.uni5.net/revista.php?idcap=979>. Acesso em: 25 de Agosto de 2013

JARDIM, W.R.; Curso de Bovinocultura. Instituto Campineiro de Ensino Agrícola. Ed Agropecuária, 3ª ed, 518p. Campinas, 2001.

JUNQUEIRA, J. R. C.; ALFIERI, A. A. Falhas na reprodução na pecuária bovina de corte com ênfase para causas infecciosas. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 27, p. 289-298, 2006.

KICHEL, A. N.; COSTA, J. A. A.; VERZIGNASSI, J. R.; QUEIROS, H. P. Diagnóstico para o planejamento da propriedade. Campo Grande, Embrapa Gado de Corte. Documento 182, 2011.

LOPES, M. A.; MAGALHÃES, G. P. Análise da rentabilidade da terminação de bovinos de corte em condições de confinamento: um estudo de caso. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, v. 57, n.3, p.374-379, 2005.

MARQUES, J. R. F. Composição e melhoramento genético do rebanho. Embrapa, Brasília. v.2, 2005

MARTHA JR, G.B.; BARIONI, L.G.; VILELA, L.; BARCELLOS, A.O. Área do Piquete e Taxa de Lotação de Pastagens. Embrapa. Comunicado Técnico 101, Planaltina DF, 2003.

MARTINS, J.L. Avaliação da qualidade térmica do sombreamento natural de algumas espécies arbóreas em condições de pastagens. 2001. 99p. Dissertação. Universidade Estadual de Campinas, 2001.

NEVES, J.P.; MIRANDA, K.L.; TORTORELLA, R.D. Progresso científico em reprodução na primeira década do século XXI. Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v. 39, p. 414-421, 2010.

OLIVEIRA, R.L.; BARBOSA, M.A.A.F.; LADEIRA, M.M.; SILVA, M.M.P.; ZIVIANI, A.C.; BAGALDO, A.R. Nutrição e Manejo de Bovinos na Fase de Cria. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal, Salvador, v.7, n.1, p.57-86, 2006.

O'CONNOR, S.F.; TATUM, J.D.; WULF, D.M.; GREEN, R.D.; SMITH, G.C.; Genetic effects on beef tendemess in Bos undicus composite and Bos taurus cattle. Journal of Animal Science. Champaign, v.75, p.1822-1830, 1997.

PAULINO, M.F; FIGUEIREDO, D.M.; MORAES, E.H.B.K.; et al. Suplementação de bovinos em pastagens: uma visão sistêmica. Anais do Simpósio de Produção de Gado de Corte, Viçosa, p.93-144, 2004.

PEIXOTO, A.M.; MOURA, J.C.; FARIA, V.P. Bovinocultura de Corte - Fundamentos da Exploração Racional. Piracicaba, Fealq, 3ªed., vol.8, 522p., 1999.

QUADROS, D.G. Sistemas de Produção de Bovinos de Corte. Apostila Técnica da Universidade Estadual da Bahia, Salvador, 2005.

RAMALHO, R.P.; FERREIRA, M.A.; VÉRAS, A.S.C.; SANTOS, D. C.; CAVALCANTI, C. V. A.; ROCHA, V. R. R. A. Substituição do farelo de soja pela mistura raspa de mandioca e ureia em dietas para vacas mestiças em lactação. Revista Brasileira de Zootecnia. Viçosa, v.35, n.3, p.1212-1220, 2006.

RENSIS, F. D.; SCARAMUZZI, J. R. Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow: a review. Theriogenology, Melbourne, v.6, p.1139-1151, 2003.

SILPER, B. F.; COELHO, S.G.; MADEIRA, M.M.F..; RUAS, J.R.M.; LANA, A.M.Q.; REIS, R.B.; SATURINO, H.M. Avaliação da qualidade do colostro e transferência de imunidade passiva em animais mestiços Holandês Zebu. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, v.64, n.2, p.281-285, 2012.

SILVA, R.A.; GOMES, A. Planejamento Sanitário de Gado de Corte - Cria. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte - Documento nº 32, 1998.

SILVEIRA, R.F.; OLIVEIRA, R.M.; BRAUNER, C.C.; FERREIRA, O. G.L. Estresse Térmico e Desempenho de Bovinos de Corte. 20º Congresso de Iniciação Cientifíca UFPEL, 2011.

SIMAS, J. M. C. Nutrição de animais em condilções de estresse. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AMBIÊNCIA NA PRODUÇÃO DE LEITE, 1., Piracicaba, 1998. Anais. Piracicaba: NUPEA-ESALQ, 1998. p.103-113, 1998.

SOUZA, B. B.; SILVA, R. M. N.; MARINHO, M. L.; SILVA, G. A.; SILA, E. M. N.; SOUZA, A. P. Parâmetros fisiológicos e índice de tolerância ao calor de bovinos da raça Sindi no semi-árido paraibano. Ciência e Agrotecnologia. Lavras, v.31, n.3, p.883-888,, 2007.

TURNER, J.W. Genetic and biological aspects of zebu adaptability. Journal of Animal Science. Champaign, v.50, p.1201-1205, 1980.

OLIVEIRA, R. L.; BARBOSA M.A.A F.; BAGALDO A.R.; RIBEIRO, M.D. O zootecnista e os sistemas de produção de bovinos de corte. Anais Zootec 2008. João Pessoa, Paraiba,2008.

TITTO, E.A.L.; VELLOSO, L.; ZANETTI, M.A.; CRESTA, A.; TOLEDO, L.R.A.; MARTINS, J.H. Heat tolerance test in Zebu/Nelore and Marchigiana young bulls. In: INTERNATIONAL ITALIAN BEEF CATTLE CONTEST, Perugia-Itália v.1, 1994, ANABIC, p.232-235, 1994.

VALTORTA, S.; GALLARDO, M. El estres por calor en produccion lechera. Temas de Produccion Lechera, n. 81, p. 85-112, out. 1996.

Capítulo 7- Lymnaea e fasciolose: aspectos biológicos e estudos experimentais dessa relação

D'Almeida, S.C.G. [1]; Lorenzoni, P. de O.[2]; Martins, I.V.F.[3]

INTRODUÇÃO

Gastrópodes do gênero *Lymnaea* (Say, 1817) são responsáveis pela transmissão da fasciolose, por atuarem como hospedeiros intermediários no ciclo de vida desta parasitose (OAKLEY et al., 1979). A doença é causada por duas espécies de trematódeos: *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) e *Fasciola gigantica* (Cobbold, 1855) (MATTOS et al., 2009), helmintos de grande relevância em medicina veterinária e em saúde pública, por parasitar os ductos e vesículas biliares de ruminantes domésticos, animais silvestres e eventualmente o homem (MAS-COMA, 2005; OLIVEIRA; SPOSITO FILHA, 2009).

A participação de moluscos deste gênero como hospedeiros no ciclo já foi demonstrada a partir de estudos sobre infecções experimentais por inúmeros autores, ao lado de relatos sobre a ocorrência de infecção natural (LUTZ, 1921; GONZALES et al., 1974; MATTOS et al., 1997; FARINAZZO et al., 2001; COELHO et al., 2008, 2009; PINHEIRO et al., 2009). Estes estudos tiveram por objetivo elucidar o ciclo de vida de *Fasciola* e de outros trematódeos, além de avaliar o comportamento do hospedeiro quando infectado, uma vez que as modificações induzidas pelo parasito no corpo dos moluscos durante o período de infecção causam uma variedade de respostas, que repercutem em alterações no padrão reprodutivo e de crescimento destes hospedeiros (JONG-BRINK, 1990; DREYFUSS et al., 1999; DIAWARA et al., 2003).

Considerando estes aspectos e que os últimos relatos sobre a ocorrência da fasciolose indicam a disseminação do hospedeiro intermediário e reforçam a importância sobre conhecimentos biológicos envolvidos na relação entre parasito-hospedeiro (BERNARDO et al., 2011; CARNEIRO et al., 2013), o objetivo deste trabalho foi realizar uma abordagem sobre os principais aspectos do molusco hospedeiro e estudos experimentais que fornecem informações biológicas acerca dessa relação.

2. Doenças de importância epidemiológica transmitidas por moluscos

O filo Mollusca é o segundo maior da classificação zoológica, e possui participação relevante nos ecossistemas onde habitam, além de apresentar grande interesse econômico e sanitário (THOMÈ et al., 2004; OHLWEILER et al., 2010).

Dentre as classes de moluscos, as classes Gastropoda e Bivalvia são de grande importância para a medicina humana e veterinária, a primeira constitui 75% do número total de espécies do filo, que inclui os transmissores de geo-helmintoses e espécies consideradas pragas de diferentes cultivos, a segunda contém a maioria das espécies de moluscos utilizadas na

[1]Graduanda em Ciências Biológicas Bacharelado- Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias. email: samiradalmeida@gmail.com
[2]Graduanda em Medicina Veterinária- Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias.
[3]Professora Adjunto IV do Departamento de Medicina Veterinária- Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias.

alimentação humana (ostras, mexilhões, sernambis, etc.), além de incluir espécies que causam prejuízos econômicos (SANTOS et al., 2009; TUNHOLI et al., 2011).

Moluscos que pertencem á essas classes, participam como hospedeiros intermediários de ciclos de vários parasitos principalmente dos trematódeos digenéticos e de alguns nematódeos (DILLON, 2000; CRIBB et al., 2001; TUNHOLI et al., 2011). No Brasil, as principais doenças às quais os moluscos encontram-se relacionados são a esquistossomose, fasciolose e a angiostrongilose abdominal.

A maioria dos casos de angiostrongilose abdominal no Brasil ocorre na região Sul, cujo principal vetor é as lesmas da família Veronicellidae. A infecção humana pode resultar em uma intensa reação inflamatória que compromete o intestino e até mesmo a ruptura da parede intestinal. Seu agente etiológico *Angiostrongylus costaricencis* (Morera e Céspedes, 1971) não possui especificidade quanto ao hospedeiro intermediário, como os nematóides em geral. Por este motivo, outros gastrópodes terrestres exóticos como *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) e *Subulina octona* (Bruguière, 1792) já foram encontrados naturalmente infectados por este nematóide, bem como o gastrópode endêmico límnico *Pomacea lineata* (Spix, 1827) (CALDEIRA et al., 2007; THIENGO et al., 2010).

A esquistossomose é outra doença parasitária importante em saúde pública. As áreas endêmicas desta doença são heterogêneas em relação ao clima, à topografia e à vegetação, e os focos geralmente são localizados no peridomicílio de comunidades urbanas ou rurais desprovidas de água encanada ou saneamento. No Brasil, os estados que apresentam as maiores prevalências são Alagoas, Sergipe, Bahia, Pernambuco e Minas Gerais (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008). Os representantes do gênero *Biomphalaria* spp. são hospedeiros intermediários desta helmintose, sendo que no país ocorrem 10 espécies e uma subespécie, dentre as quais três são encontradas infectadas naturalmente por *Schistosoma mansoni* (Sambon, 1907), agente etiológico da doença (PARAENSE, 1976; OHLWEILER et al., 2010).

A fasciolose vem sendo considerada uma zoonose emergente pela Organização Mundial da Saúde, revelando-se como um sério problema de saúde pública (CORAL et al., 2007) sendo por isso crescente os estudos na área de medicina veterinária. É apontada como a helmintose de maior prevalência que acomete o fígado de ruminantes, possuindo maior morbidade (MEZO et al., 2010; BERNARDO et al., 2013) causando perda de peso, letargia, interferência na fertilidade, redução da produção de carne e leite, altos custos com tratamentos anti-helmínticos (fasciolicidas) e mortes dos animais (SERRA-FREIRE, 1995), além de levar a sérios prejuízos econômicos para os país com as condenações de fígados após o abate. Embora se considere a fasciolose uma doença zoonótica importante, reconhecida pela OMS como grave problema de saúde pública, o estudo tem sido negligenciado (DUTRA et al., 2010). No Brasil foram descritos 57 casos da doença em humanos e a subnotificação, falta de diagnostico e a ausência de estudos epidemiológicos mais abrangentes podem ser razões que explicariam a baixa frequência dessa infecção humana (IGREJA et al., 2004; DUTRA et al., 2010).

Essas doenças parasitárias, frequentemente afetam a população humana e animais, acometendo cerca de 2 bilhões de pessoas no mundo, sendo a prevalência maior em regiões tropicais. O clima quente associado á contaminação dos alimentos e fontes de água, condições sanitárias precárias, fator cultural, presença de reservatórios e principalmente dos hospedeiros intermediários, constituem um cenário perfeito para os parasitos (MACHADO et al., 2001). Assim, o fato de muitos helmintos terem moluscos como hospedeiros intermediários durante a fase larval faz dos mesmos uma importante fonte de infestação para o homem e outros animais (OHLWEILER et al., 2010).

Diante destes aspectos, essas parasitoses além de apresentarem papel de suma importância na saúde pública constituem ainda em implicações sociais, pois essas doenças sofrem influência da economia, comércio de alimentos, estilo de vida da população e processo de urbanização precária, fazendo com que haja modificações do perfil epidemiológico. A falta

de investigação malacológica associada á falta de casos notificados pelo sistema de vigilância contribui para subestimação de dados de prevalência das doenças nos estados brasileiros (OHLWEILER et al., 2010).

Portanto, tendo em vista a presença de moluscos em diferentes ambientes límnicos no sul do estado do Espírito Santo (DIAS et al., 2013), principalmente na micro região do Caparaó (DALMEIDA et al., 2013) sendo que a maioria atua como hospedeiros de parasitos, torna-se importante o seu estudo a fim de contribuir para avaliação das condições ambientais e epidemiológicas do estado, ampliando o conhecimento da fauna helmintológica e auxiliando assim no controle e vigilância das helmintoses transmitidas pelos mesmos.

3. Moluscos do gênero *Lymnaea* Orbigny, 1835

Moluscos do gênero *Lymnaea* (Orbigny, 1835) pertencem ao Filo Mollusca, Classe Gastropoda, Subclasse Pulmonata, Ordem Basommatophora e Família Lymnaeidae. No Brasil, pode-se citar *L. columella* (Say, 1817) como hospedeiro intermediário de *F. hepatica*, sendo encontrada frequentemente em toda região Sudeste, e também observada nas regiões Norte, Nordeste e Sul do país. Outras espécies também foram relatadas em outros locais como as espécies responsáveis pela transmissão deste parasito, como *L. viatrix* (d'Orbigny, 1835) no Rio Grande do Sul e *L. cubensis* (Pfeiffer, 1839) no Rio de Janeiro, sendo que as espécies *L. columella* e *L. viatrix* apresentam maior ocorrência de infecção natural pelo parasito no país (RESENDE et al., 1973; THIENGO, 2003; OHLWEILER et al., 2010).

A espécie *L. columella* apresenta em sua morfologia concha cônica, helicoidal, dextrógira, com espira pontiaguda e pequena, quatro a cinco giros, suturas rasas, abertura medindo até 2/3 do comprimento total e, com até 8 milímetros (mm) de largura e 17 mm de comprimento, além de ser frágil, translucida e de coloração amarelada (Figura 1). O corpo possui coloração amarelo acinzentada contendo pequenas manchas brancas na borda interna dos tentáculos. O sistema reprodutor apresenta vagina curta sem protuberância bulbar, à bolsa do oviduto pode ser vista perfeitamente á direita do oviduto, espermateca é alongada e globóide, o prepúcio é cilíndrico medindo 2 a 6 vezes o comprimento e o dobro da largura da bainha do pênis, pois são hermafroditas, além disso, sua rádula possui o primeiro dente lateral tricúspide (PARAENSE, 1983, 1994; CARVALHO et al., 2005; OHLWEILER et al., 2010).

Figura 1. Concha de *Lymnaea columella*. Fonte: Arquivo pessoal.

A espécie está presente em águas de pouca profundidade, tendo preferência por margens de lagoas, pequenos açudes com vegetação e canais de água limpa (MÜLLER et al., 1998; CARVALHO et al., 2005), sendo que suas posturas podem ser encontradas aderidas em pedaços de madeiras, entulhos e na vegetação, principalmente. Diferentemente de *L. viatrix*, que

pode ser encontrada em solos argilosos, canais de irrigação rasos e brejos (CARVALHO et al., 2005).

Em relação à morfologia, *L. viatrix* apresenta também concha cônica, helicoidal, dextrógira, porém com cinco giros e meio, suturas profundas e abertura medindo a metade do comprimento total com até 7,5 mm de largura por 12,6 mm de comprimento (Figura 2). O ureter situa-se na face interna do manto e encontra-se voltado para direita, seu sistema reprodutor apresenta vagina sem protuberância bulbar, prepúcio mais longo e largo que a bainha do pênis, a qual é curta e cilíndrica e sua rádula apresenta o primeiro dente lateral com duas cúspides (PARAENSE, 1976; CARVALHO et al., 2005; OHLWEILER et al., 2010).

Figura 2. Concha de *Lymnaea viatrix*. Fonte: Espécime do Laboratório de Referência Nacional em Malacologia Médica – Instituto Oswaldo Cruz, Fio Cruz, Rio de Janeiro.

Além das espécies citadas acima, existem outras que também foram registradas com parasitemia comprovada para *F*. hepatica na Argentina, França, Venezuela, Portugal e México, como *L. truncatula* (Muller, 1774), *L. ovata* (Lamarck, 1799), *L. stagnalis* (Linnaeus, 1758), *L. cousini* (Jousseaume, 1887), *L. viridis* (Quoy e Gaimard, 1832) e *L. tomentosa* (Pfeiffer, 1855) (MENDES, 2012). Além disso, convém ressaltar que moluscos do gênero podem atuar também como hospedeiro intermediário de *Echinostoma* sp., trematódeo digenético que parasita o trato intestinal de aves domesticas e silvestres, além de roedores silvestres, bem como, hospedeiro intermediário de xifidiocercaria, que induz quadro de dermatite temporária em humanos (PINHEIRO et al., 2009; SILVA; MELO, 2013).

4. Estudos experimentais sobre a relação parasito-hospedeiro e respostas dessa interação

O papel desempenhado por moluscos na propagação da fasciolose e outras parasitoses tem sido discutido por diferentes autores, sendo por isso, crescente o interesse por estudos experimentais destes hospedeiros no país e no mundo. Os resultados dessa relação são quase sempre interpretados como um processo adaptativo que ocorre entre ambos os organismos (TOFT et al., 1991; LAFFERTY, 1992; PINHEIRO et al., 2009; TUNHOLI et al., 2011).

Gomes (1985) avaliou a suscetibilidade de *L. columella* proveniente de duas localidades: Vale do Paraíba e da região serrana do estado do Rio de Janeiro. Foi realizada infecção dos indivíduos com três e cinco miracídios de *F. hepatica*. Como resultado, as infecções com três miracídios culminaram com maior número de sobreviventes quando comparado às infecções com cinco ou mais. Além disso, a produção de metacercárias foi superior nos moluscos com menor parasitemia em relação aos infectados com maior carga parasitária.

Dacal et al. (1988) demonstraram a suscetibilidade da espécie *L. columella* infectada por *F. hepatica* oriunda de diferentes regiões de Minas Gerais. Comparando-as a amostras provenientes das localidades dos estados de Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul, os autores verificaram que estas foram igualmente suscetíveis ao processo de infecção.

Coelho et al. (2008, 2009) realizaram infecções experimentais de *L. columella* por *F. hepatica* para determinar a influência do tamanho da concha sobre a taxa de infecção. Segundo os autores, existe uma relação negativa não linear entre o tamanho do reservatório e a taxa de infecção, mostrando que moluscos de menor tamanho se infectam com mais facilidade. Em outro trabalho, os mesmos autores testaram o efeito de combinações simpátricas e alopátricas entre o parasito e hospedeiro, usando moluscos e trematódeos do sul e sudeste do Brasil. As combinações simpátricas foram mais eficientes do que as alopátricas sugerindo que a relação parasito-hospedeiro pode variar de acordo com a origem geográfica dos moluscos e helmintos envolvidos.

Pinheiro et al. (2009) verificaram as alterações fisiológicas em *L. columella* frente à infecção por *Echinostoma paraensei* Lie e Basch, 1967, trematódeo de importância em saúde pública, considerada zoonose emergente no Brasil. Os resultados mostraram que a infecção pelo parasito induziu o molusco a um balanço energético negativo, caracterizado pela depleção de reservas polissacarídicas em sítios especializados do hospedeiro. Além de ativar o catabolismo de proteínas, o que levou ao aumento da atividade catalítica das enzimas do ciclo da ureia. Os autores ressaltaram ainda, que há muitos aspectos sobre essa interação a serem descobertos, e que para conhecimento cientifico este foi o primeiro trabalho utilizando o modelo *E. paraensei*/*L. columella*, sobre descrição de alterações e modificações metabólicas.

Mendes (2012) realizou infecção experimental em *L. columella* por diferentes cargas miracidiais de *F. hepatica* e avaliou aspectos reprodutivos e de suscetibilidade do hospedeiro em resposta a essa infecção. Os resultados encontrados mostraram que tanto moluscos não infectados, quanto moluscos infectados por quatro miracídios apresentaram maior número de ovos e desovas quando comparado aos demais grupos experimentais. Em relação à suscetibilidade, a maior eliminação de cercárias ocorreu em moluscos infectados por três miracídios, podendo se inferir que houve influencia da carga parasitária durante a patência da infecção.

Na Argentina, Sanabria et al. (2012) realizaram comparações de infecções simpátricas e alopátricas entre *L. neotropica*, *L. viatrix* e *Galba truncatula* por *F. hepatica*. Os autores observaram que houve aumento numérico de cercárias eliminadas nas gerações F1 e F2 de *L. viatrix* quando comparado com as demais espécies de moluscos estudadas, o que demonstrou uma rápida adaptação desta espécie ao parasito em relação à espécie local *G. truncatula*.

As interações estabelecidas durante o desenvolvimento do parasito geram respostas que se encontram associadas a vários fatores, dentre elas a capacidade reprodutiva do hospedeiro. Alguns fenômenos são observados destas interações, como por exemplo, a castração parasitária, que já foi observada em uma ampla variedade de relações parasito-hospedeiro (WULKER, 1964; CHARNIAUX-COTTON, 1960; TUNHOLI et al., 2011) incluindo moluscos quando parasitados por larvas de trematódeos (MUÑOZ-ANTOLI et al., 2007; TUNHOLI et al., 2011). Para Mcclelland e Bourns (1969) esse fenômeno é uma resposta adaptativa do hospedeiro frente à infecção.

Noble e Noble (1971) referem-se à castração como a destruição ou alteração do tecido gonadal do hospedeiro pelo parasito, culminando na interrupção total ou parcial da atividade ovipositória, ocorrendo frequentemente nas associações entre moluscos e trematódeos (BAUDOIN, 1975) e sendo esta uma modificação na expressão de características sexuais secundárias do hospedeiro (TUNHOLI et al., 2011).

Entretanto, para Sullivan et al. (1985) a castração pode ser entendida como consequência de duas causas: primária, quando as larvas em multiplicação e desenvolvimento

induzem lesões mecânicas e putativas sobre os tecidos, resultando frequentemente em alterações nas gônadas do hospedeiro, ou ainda, mediante o envolvimento de substâncias químicas, capazes de antagonizar a ação de hormônios reprodutivos, bem como uma causa secundária, caracterizada por alterações metabólicas capazes de resultar em um estado de inanição no organismo parasitado, em função da competição de nutrientes pelo parasito.

No estudo de Jong-Brink et al. (2001), o modelo de infecção *L. stagnalis* por *Trichobilharzia ocellata* (La Valette, 1855) resultou em mudanças significativas na atividade reprodutiva do hospedeiro, induzida principalmente por meio de uma manipulação neurofisiológica em beneficio ao desenvolvimento dos estágios larvais. Este mecanismo segundo os autores se basearia na presença de um neuropeptídio denominado shistosomina, identificado em um estudo neuroendocrinológico envolvendo o mesmo modelo. Os estágios larvais do parasito estimularam aumento deste neuropeptídio, que tem sido funcionalmente envolvido na castração total ou parcial de *L. stagnalis*.

Assim, considerando que a atividade reprodutiva é um mecanismo desencadeado por reações anabólicas (HINKLE; MC CARTTHY, 1978) sua interrupção total ou parcial poupará o hospedeiro de um gasto energético duplo de produzir ovos e fornecer nutrientes para o desenvolvimento do parasito, aumentando as perspectivas de sobrevivência de ambos (TUNHOLI et al., 2011).

Além da castração parasitária, outra consequência observada nos moluscos quando infectados por larvas de trematódeos é a acentuada oviposição nos estágios iniciais da infecção. No estudo de Minchella (1985) este fenômeno foi denominado de “compensação reprodutiva”, como um mecanismo estratégico de manutenção da espécie parasitada, porém Forbes (1993) denominou o mesmo fenômeno de “compensação de fecundidade”, e destacou que a redução de fecundidade ocorria mais tarde, o que seria uma resposta á redução de recursos disponíveis para a reprodução.

Também é observado o fenômeno do gigantismo, outra consequência normalmente observada nas associações envolvendo moluscos gastrópodes e larvas de trematódeos digenéticos (SLUITERS, 1981). Os custos direcionados ao crescimento encontram-se associados ao desenvolvimento do parasito, e o aumento do mesmo ocorre para suportar a infecção (SORENSEN; MINCHELLA, 2001; MENDES, 2012). Assim, a energia que seria utilizada para a reprodução torna-se disponível, e parte dela passa ser direcionada para o crescimento do hospedeiro, possibilitando uma maior acomodação dos estágios larvais no corpo do molusco (SLUITERS, 1981; TUNHOLI et al., 2011).

Hodasi (1972) após estudar os efeitos da infecção em *L. truncatula* por estágios larvais de *F. hepatica*, observou um período de crescimento acelerado dos moluscos entre a quarta e sétima semana após a infecção, acompanhada pela cessação de produção de ovos na quinta semana decorrente de um processo de atrofia das gônadas. Por outro lado, Wilson e Denison (1980) estudando a mesma interface atribuíram á destruição física do tecido como principal causa da ocorrência de castração no molusco. Nesse contexto, as alterações reprodutivas observadas nesse modelo, decorrem exclusivamente de uma ação espoliativa causada pelas larvas sobre o tecido gonadal do hospedeiro, comprometendo diretamente a funcionalidade do órgão.

Verifica-se que existem variações nos padrões comportamentais de moluscos infectados tanto por *Fasciola* como por outros trematódeos, e são influenciadas por modificações específicas e individuais pertencentes tanto ao hospedeiro, quanto ao parasito (TUNHOLI et al., 2011) o que provoca uma série de respostas no ciclo de vida dos mesmos, relacionadas ao crescimento, reprodução, como também em sua sobrevivência.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

É possível encontrar na literatura diversos trabalhos de infecção experimental voltados na caracterização da relação entre parasito e hospedeiro sobre aspectos biológicos e metabólicos do molusco.

Com base nos objetivos destes estudos, foi possível elucidar alguns dos efeitos ocorridos no ciclo de vida de *Fasciola* e de seu hospedeiro, moluscos do gênero *Lymnaea*, além de gerar conhecimento para diagnóstico e controle da doença, atualmente endêmica em vários locais do Brasil.

Além disso, a ocorrência de relatos recentes sobre casos de fasciolose no estado do Espírito Santo apontam novas áreas de infecção natural de hospedeiros vertebrados pelo trematódeo, o que chama a atenção para a dispersão do hospedeiro intermediário, nesse sentido, o conhecimento sobre aspectos biológicos deste molusco frente à infecção parasitária contribui para entender melhor a interface *Lymnaea* sp. -*F. hepatica*.

A realização de um inventário malacológico pode ser de suma importância para minimizar os problemas abordados em relação às doenças transmitidas por moluscos, pois o inventário fornece informações sobre morfologia, biologia, distribuição e etc., o que amplia os conhecimentos com relação à magnitude da malacofauna e helmintológica em todos os estado brasileiros.

6. REFERÊNCIAS

BAUDOIN, M. Host castration as a parasitic strategy. Evolution, v.29, p.335-352, 1975.

BERNARDO, C. C.; CARNEIRO, M. B.; AVELAR, B. R. de.; DONATELE, D. M.; MARTINS, I. V. F.; PEREIRA, M. J. S. Prevalence of liver condemnation due to bovine fasciolosis in Southern Espírito Santo: temporal distribution and economic losses. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v.20, n.1, 2011.

BERNARDO, C. C.; AVELAR, B. R. de.; IGNACCHITI, M. D. C.; MARTINS, I. V. F.; PEREIRA, M. J. S. Comparison of comercial® ELISA kits for antibodies in serum and milk with a fecal test in cattle naturally infected with *Fasciola hepatica*. Pesquisa Veterinária Brasileira, v.33, n.1, 2013.

CALDEIRA, R. L; MENDONÇA, C. L. G. F.; GOVEIA, C. O.; LENZI, H. L.; GRAEFF-TEIXEIRA, C.; LIMA, W. S.; MOTA, E. M.; PECORA, I. L.; MEDEIROS, A. M. Z.; OMAR, O. S. Firs Record of Molluscs Naturally Infected with *Angiostrongilus cantonensis* (Chen, 1935) (Nematoda: Metastrongylidae) in Brasil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, v.12, n.7, p.887-889. 2007.

CARNEIRO, M. B.; ALVES, D. P.; DONATELE, D. M.; PEREIRA JÚNIOR, O. dos S.; MARTINS, I. V. F. *Fasciola hepatica* in sheep, goats and buffaloes in southern municipalities of Espírito Santo state. Arquivo de Instituto Biológico, v.80, n.4, p. 442-446, 2013.

CARVALHO, O. S.; PASSOS, L. K. J.; MENDONÇA, C. L. F. G.; CARDOSO, P. C. M.; CALDEIRA, R. L. Moluscos de Importância Médica no Brasil. Belo Horizonte: Fio Cruz/ Centro de Pesquisas René Rachou, 2005, 51p.

CHARNIAUX-COTTON, H. Sex determination, p. 411-447. *In* T. H. Waterman (ed.), The physiology of crustacea 1. Academic Press, New York, 1960.

COELHO, L. H. L.; GUIMARAES, M. P.; LIMA, W. S. Influence of shell size of *Lymnaea columella* on infectivity and development of *Fasciola hepatica*. Journal of Helminthology, v.82, p.77–80, 2008.

COELHO, L. H. L.; LIMA, W. S.; GUIMARAES, M. P. Sympatric and allopatric combinations of *Lymnaea columella* and *Fasciola hepatica* from southern and south-eastern Brazil. Journal of Helminthology, v.83, p.285–288, 2009.

CORAL, R. P.; MASTALIR, E. T.; MASTALIR, F. P. Retirada de *Fasciola hepatica* da via biliar principal por coledocospia. Revista Colégio Brasileiro de Cirurgiões, v.34, p.69-71, 2007.

CRIBB, T. H.; BRAY, R. A.; LITTLEWOOD, D. T. J. The nature and evolution of the association among digeneans, molluscs and fishes. International Journal for Parasitology, v.31, p.997-1011, 2001.

DACAL, A. R. M.; COSTA, H. M. A.; LEITE, A. C. R. Susceptibilidade de *Lymnaea* (*Pseudosuccinea*) *columella* (Say, 1817) exposta á infecção por miracídios de *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758). Rev. Inst. Med. Trop., v.30, n.5, p.361-369, 1988.

DALMEIDA, S. C. G.; CAMARGO, P. F.; FREITAS, D. F.; AZEVEDO, J. C.; MARTINS, I. V. F. Densidade populacional de moluscos, possíveis hospedeiros intermediários de *Fasciola hepatica* (Trematoda: Fasciolidae) no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia, Campus Alegre, ES, Brasil. Livros de Resumos EBRAM: XXIII Encontro Brasileiro de Malacologia e I Simpósio Latino-Americano de Jovens Taxonomistas. Rio de Janeiro: ed. Sociedade Brasileira de Malacologia – SBMa. 2013. p.270.

DIAS, A. S.; SOBREIRA, R. R.; AGUIAR, G. B.; MELOTTI, V. D.; ARAÚJO, J. V.; BRAGA, F. R.; PUPPIN, A.C.; PERBONI, W. R.; BERTONCELI, R. M.; SILVA, R. G.; RAMOS, R. F. Estudo da distribuição de moluscos aquáticos no sul do estado do Espírito Santo. Acta Veterinária Brasilica, v.7, n.2, p.154-157, 2013.

DIAWARA, M.; AYADI, E. A.; RONDELAUD, D. *Fasciola hepatica*: the development of tissue lesions and their frequencies in naturally-infected *Galba truncatula*. Parasitology Research, v.90, p.257-260, 2003.

DILLON, R. T. The ecology of freshwater molluscs. Cambridge University Press, Cambridge, p.509, 2000.

DUTRA, L. H. et al. Mapping risk of bovine fasciolosis in the south of Brazil using Geographic Information Systems. Veterinary Parasitology, v. 169, p. 76-81, 2010.

DREYFUSS, G.; RONDELAUD, D.; VAREILLE-MOREL, C. Oviposition of *Lymnaea truncatula* infected by *Fasciola hepatica* under experimental conditions. Parasitology Research, v.85, p.589-593, 1999.

FARINAZZO, R. J. M.; IGREJA, R. P.; HUGGINS, D. W. Fasciolíase Hepática. In: BATISTA, R. S.; GOMES, A. P.; IGREJA, R. P.; HUGGINS, D. W. Medicina Tropical. Abordagem atual das Doenças Infecciosas e Parasitárias. Rio de Janeiro: Cultura Médica, p.287-290, 2001.

FORBES, M. R. L. Parasitism and host reproductive effort. Oikos, v.67, p.444-450, 1993.

GOMES, C. D. Interrelação entre *Fasciola hepatica* L., 1758 e *Lymnaea columella* Say, 1817: suscetibilidade e patogenia. Tese (Doutorado), Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Itaguaí, Rio de Janeiro, 1985, p.73.

GONZALES, J. C.; SANCHEZ, V. M.; THOME, J. W.; GONÇALVES, P. C.; OLIVEIRA, C. M. B. *Lymnaea columella*, hospedeiro intermediário de *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758, no Rio Grande do Sul, Brasil. Arquivo da Faculdade de Veterinária. UFRGS, v.2, p.37-40, 1974.

HINKLE, P. C.; MCCARTY, R. E. How cells make ATP. Scientific American, v.238, p.104-123, 1978.

HODASI, J. K. M. The effects of *Fasciola hepatica* on *Lymnaea truncatula*. Parasitology, v.65, p.359-369, 1972.

IGREJA, R.P.; BARRETO, M.G.M.; SOARES, M.S. Fasciolíase: relato de dois casos em área rural do Rio de Janeiro. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v.37, p. 416-417, 2004.

JONG-BRINK, M. How trematode parasites interfere with reproduction of their intermediate hosts, freshwater snails. Journal of Medical Applied Malacology, v.2, p.101-133, 1990.

JONG-BRINK, M.; BERGAMIN-SASSEN, M.; SOTO, M. S. Multiple strategies of schistosomes to meet their requirements in the intermediate snail host. Parasitology, v.123, p.129-141, 2001.

LAFFERTY, K. D. Foraging on prey that are modified by parasites. The American Naturalist, v.140, p.854-867, 1992.

LUTZ, A. Sobre a ocorrência da *Fasciola hepatica* no Estado do Rio de Janeiro. Instituto Biológico Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, v.1, n.1, p.9-13, 1921.

MACHADO, M. I.; ARAÚJO, B. C.; SALLES, D. R. M. Manual de Segurança Alimentar: Ecologia dos Alimentos. Parasitoses Veiculadas por Água, Alimentos, Objetos e Solos Contaminados. Uberlândia: Centro Universitário do Triangulo, 2001, p.23.

MAS-COMA, S. Epidemiology of fascioliasis in human endemic areas. Journal of Helminthology, v.79, p.207-216, 2005.

MATTOS, M. J. T.; UENO, H.; GONÇALVES, P. C.; ALMEIDA, J. E. M. Seasonal occurrence and bioecology of *Lymnaea columella* Say, 1817 (Mollusca, Lymnaeaidae) in its natural habitat in Rio Grande do Sul. Revista Brasileira de Medicina Veterinária, v.19, n.6, p.248-252, 1997.

MATTOS, M. J. T.; CUNHA, F. O. V.; MARQUES, S. M. T. Comparação de duas técnicas parasitológicas na identificação de ovos de *Fasciola hepatica*. Revista da FZVA, v.16, p.105-112, 2009.

MCCLELLAND, G.; BOURNS, T. K. R. Effects of *Trychobilharzia ocellata* on growth, reproduction and survival of *Lymnaea stagnalis*. Experimental Parasitology, v.24, p.137-146, 1969.

MENDES, E. A. Aspectos das interações entre *Lymnaea columella*, com bovinos e ovinos naturalmente e experimentalmente infectados por *Fasciola hepatica*. 2012. f. 130. Tese (Doutorado em Parasitologia)- Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 2012.

MEZO, M.; GONZÁLEZ-WARLETA, M.; CASTRO-HERMIDA, J. A.; CARRO, C.; UBEIRA, F. M. Kinetics of anti-*Fasciola* IgG antibodies in serum and milk from dairy cows during lactation, and in serum from calves after feeding colostrum from infected dams. Veterinary Parasitology, v.168, p.36-44, 2010.

MINCHELLA, D. J. Host life-history variation in response to parasitism. Parasitology, v.90, p.205-216, 1985.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Vigilância e Controle de Moluscos de Importância Epidemiológica: Diretrizes Técnicas: Programa de Vigilância e Controle de Esquistossomose (PCE). 2. ed. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2008, p.11-20.

MÜLLER, G.; LARA, S. I. M.; SILVEIRA JR, P.; ANTUNES, P. L. Acompanhamento laboratorial do ciclo biológico de *Lymnaea viatrix*, hospedeiro intermediário de *Fasciola hepatica*. Revista Brasileira de Agrociência, v.4, n.3, p.172-176, 1998.

MÜLLER, G.; BERNE, M. E. A.; RAFFI, L. L. Influência da temperatura na longevidade infectiva de metacercárias de *Fasciola hepatica*. Revista Brasileira de Agrociência, v.5, p.164-165, 1999.

MUÑOZ-ANTOLI, C.; SOTILLO, J.; MONTEAGUDO, C.; FRIED, B.; MARCILLA, A.; TOLEDO, R. Development and pathology of *Echinostoma caproni* in experimentally infected mice. Journal of Parasitology, v.93, p.854-859, 2007.

NOBLE, E. R.; NOBLE, G. A. Parasitology, the Biology of Animal Parasites. Lea and Febiger, Philadelphia, 1971, p.617.

OAKLEY, G. A.; OWEN, B.; KNAPP, N. H. Production effects of subclinical liver flukes infection in growing dairy heifers. Veterinary Record, v.104, p.503-507, 1979.

OLIVEIRA, S. M.; SPÓSITO FILHA, E. DIVULGAÇÃO TÉCNICA: FASCIOLOSE HEPÁTICA. Biológico, v.71, p.5-7, 2009.

OHLWEILER, F. P.; TAKAHASHI, F. Y.; GUIMARÃES, M. C. de A.; GOMES, S. R.; KAWANO, T. Manual de Gastrópodes Límnicos e Terrestres do estado de São Paulo associados ás Helmintoses. Porto Alegre: Rede Editora, p.25-31, 2010.

PARAENSE, W. L. *Lymnaea viatrix* : A study of topotypic specimes (Mollusca: Lymnaeidae). Revista Brasileira de Biologia, v.36, n.2, p.419-428, 1976.

PARAENSE, W. L. *Lymnaea columella* in northen Brazil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v.78, n.4, p.477-482, 1983.

PARAENSE, W. L. *Lymnaea peregrina* Clessin, 1882, synonym of *Lymnaea columella* Say, 1817 (Gastropoda: Lymnaeidae). Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v.78, p.373-384, 1994.

PINHEIRO, J.; MALDONADO JR, A.; LANFREDI, R. M. Physiological changes in *Lymnaea columella* (Say, 1817) (Mollusca, Gastropoda) in response to *Echinostoma paraensei* Lie and Basch, 1967 (Trematoda: Echinostomatidae) infection. Parasitology Research, v.106, p.55–59, 2009.

RESENDE, H. E. B.; ARAÚJO J. L. B.; GOMES, P. A. C.; NURENBERG, S.; PIMENTEL NETO, M.; OLIVEIRA, G. P.; MELLO, R. P. Notas sobre duas espécies de *Lymnaea* Lamark, 1799, hospedeiro de *Fasciola hepatica* L. no estado do Rio de Janeiro (Molusca, Gastropoda, Basommatophora, Lymnaeidae). Arquivos da Universidade Federal Rural. Rio de Janeiro, v.3, n.1, p.21-23, 1973.

SANABRIA, R.; MOUZET, R.; COURTIOUX, B.; VIGNOLES, P.; RONDELAUD, D.; DREYFUSS, G.; CABARET, J.; ROMERO, J. Intermediate snail hosts of French *Fasciola hepatica*: *Lymnaea neotropica* and *Lymnaea viatrix* are better hosts than local *Galba truncatula*. Parasitology Research, v.111, p.2011–2016, 2012.

SANTOS, S. B.; PIMENTA, A. D.; THIENGO, S. C.; THOMÉ, J. W.; ABSALÃO, R. S.; MANSUR, M. C. D.; VIDIGAL, T. H. D. A.; FERNANDEZ, M. A.; TOMÁS, A. R. G.; MESQUITA, E. F. M.; SALGADO, N. C.; MATTHEWS-CASCON, H.; MARTINS, I. X.; ROCHA-BARREIRA, C.; KAWANO, T. Mollusca. In: ROCHA, R. M.; BOEGER, W. A. Estado da arte e perspectiva para a Zoologia no Brasil. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2009. p. 66-90.

SERRA-FREIRE, N. M.; BORDINI, E. L.; LESSA, C. S. S.; SCHERER, P. O.; FARIAS, M. T.; MALACCO, M. A.; CORRÊA, T. C.; TSCHUMI J. A. Reinvestigação sobre a distribuição da *Fasciola hepatica* no Brasil, A Hora Veterinária, n.1, p.19-21, 1995.

SILVA, R. E.; MELO, A. L. Caracterização de larvas de trematódeos emergentes de moluscos de água doce coletados na bacia hidrográfica do Lago Soledade, Ouro Branco, Minas Gerais, Brasil. Lundiana, v.11, p.21-33, 2013.

SIMONE, L. R. L. Land and Freshwater Molluscs of Brazil. São Paulo: editora da USP, 2006, p.390.

SLUITERS, J. F. Development of *Trichobilharzia ocellata* in *Lymnaea stagnalis* and the effects of infection on the reproductive system of the host. Zeitschrift fur Parasitenkinde, v.64, p.303–319, 1981.

SORENSEN, R. E.; MINCHELLA, D. J. Snail-trematode life history interactions: past trends and future directions. Parasitology, v.123, S3-18, 2001.

SLUITERS, J. F.; BRUSSAARD-WUST, C. C. M.; MEULEMAN, E. A. The relationship between miracidial dose, production of cercariae, and reproductive activity of the host in the combination *Trichobilharzia ocellata* and *Lymnaea stagnalis*. Zeitschrift fur Parasitenkunde, v.63, p.13-26, 1980.

SULLIVAN, J. T. CHENG, T.C; HOWLAND, K. H. Studies on parasitic castration: castration of *Ilyanassa obsoleta* (Mollusca: Gastropoda) by several marine trematodes. Transactions of the American Microscopical Society, v.104, p.154-171, 1985.

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. Veterinary Parasitology. 3rd ed. Blackwell Publishing. Oxford, 2007, p.874.

TOFT, C. A.; AESCHLIMANN, A.; BOLIS, L. Parasite-host Associations: Coexistence or conflict? Oxford University Press, New York. 1991.

THIENGO, S. C. Helmintoses de interesse médico-veterinário transmitidas por moluscos no Brasil. Livro de Resumos do XVIII Encontro Brasileiro de Malacologia, Rio de Janeiro, 2003, p.72.

THIENGO, S. C.; MALDONADO, A.; MOTA, E. M.; TORRES, E. J. L.; CALDEIRA, R.; CARVALHO, O. S.; OLIVEIRA, A. P. M.; SIMÕES, R. O.; FERNANDEZ, M. A.; LANFREDI, R. M. The giant African snail *Achatina fulica* as natural intermediate host of *Angiostrongylus cantonensis* in Pernambuco, northeast Brazil. Acta tropica, v.115, p.194-199. 2010.

THOMÉ, J. W.; BERGONCI, P. E. A.; GIL, G. M. As conchas de Nossas praias: Guia Ilustrado. Pelotas: Useb, 2004, p.96.

TUNHOLI, V. M.; LUSTRINO, D.; TUNHOLI-ALVES, V. M.; MELLO-SILVA, C. C.; MALDONADO JR., A.; RODRIGUES, M. L. A.; PINHEIRO, J. Changes in the reproductive biology of *Biomphalaria glabrata* infected with different doses of *Echinostoma paraensei* miracidia. Journal of invertebrate Pathology, v.106, p.192-195, 2011.

WILSON, R. A.; DENILSON, J. The parasitic castration and gigantism of *Lymnaea truncatula* infected with the larval stages of *Fasciola hepatica*. Zeitschrift fur Parasitenkunde, v.61, p.109-119, 1980.

WULKER, W. Parasite-induced changes of internal and external sex characteristics in insects. Experimental Parasitology, v.15, p.561-597, 1964.

Capítulo 8- Besouros Coprófagos: insetos benéficos a pecuária

Vianna, U.R.[1]; Pratissoli, D. [2]; Almeida, T.V.D. [3]; Weiss, A. [4]; Trivelatto Neta, A.L.[5]

INTRODUÇÃO

Os insetos constituem um dos mais importantes grupos da biodiversidade animal do planeta, representando cerca de 70% das espécies conhecidas. Dentre os representantes da Classe Insecta, podemos destacar a Ordem Coleoptera, com cerca de 360.000 espécies, representando 40% do número total de insetos descritos (TRIPLEHORN; JOHNSON, 2005). Coleoptera é, portanto, o maior grupo de insetos existentes atualmente, tendo sua grande abundância de indivíduos distribuídos nas regiões tropicais e subtropicais do planeta.

Dentre os insetos da Ordem Coleoptera, destacam-se os da Família Scarabaeidae por serem destretíveros, ou seja, promoverem a remoção e reentrada de matéria orgânica morta no ciclo de nutrientes, aumentando a aeração do solo, prolongando sua capacidade produtiva, ajudando na dispersão de sementes, além de serem úteis na entomologia forense e no controle biológico.

A família scarabaeidae é uma das mais diversificadas em espécie de ordem coleóptera. São descritos para o Brasil 49 gêneros e cerca de 617 espécies de Scarabaeidae, sendo 335 endêmicas do Brasil (MELO, 2000). Os insetos dessa família estão presentes em todos os ecossistemas terrestres brasileiros. São insetos de pouco mais de 1,5 cm antenas do tipo lamelada, constituídas por lamelas móveis, tíbias anteriores mais ou menos dilatadas, com as margens externas denteadas e são besouros não-achatados e corpo sem constrição.

A comunidade de scarabaeidae pode ser analisada com relação ao número de espécies que utiliza cada uma das estratégias de alocação de recursos (escavadores, roladores, residentes) a especialização e grau de generalização de dieta (coprófagos, necrófagos, saprófagos ou generalistas), e período de atividade (espécies diurnas, noturnas e de atividade continua).

Na família Scarabaeidae encontram-se os besouros coprófagos, os quais, por serem detritívoros, proporcionam vários benefícios aos ecossistemas. Os escarabeídeos degradam a matéria orgânica promovendo melhorias nas condições físico-químicas do solo (ENDRES et al., 2005), reciclam fezes de mamíferos, especialmente dos grandes herbívoros (RONQUI; LOPES 2006) e atuam como agentes de controle biológico, especialmente de dípteros e helmintos (FLECHTMANN et al., 1995; FLECHTMANN; RODRIGUES, 1995).

2 BIOLOGIA

Os besouros da família Scarabaeidae (FIGURA 1), assim como os demais insetos da Ordem Coleoptera são Endopterygota, ou seja, possuem metamorfose completa (holometábolos), que inclui estágios larvais, seguido de estágio pupal quiescente, que não se alimenta, precedendo o estágio adulto, com reprodução do tipo sexuada (COSTA, 1999). Em geral, as posturas dos ovos são feitas no próprio meio em que se desenvolvem as larvas: no solo, sobre cadáveres, em excrementos, em plantas, dependendo do comportamento alimentar da

[1]Prof. Dr. Ulysses Rodrigues Vianna – Departamento de Produção Vegetal, email: ulyssesvianna@hotmail.com
[2] Prof. Dr. Dirceu Pratissoli – Departamento de Produção Vegetal, email: dirceu.pratissoli@gmail.com
[3] Tamara Vieira Deps Almeida – Graduanda em Agronomia, email: tamaradeps@hotmail.com
[4] Profa. Dra. Andréia Weiss – Departamento de Medicina Veterinária, email: andreiaweiss@yahoo.com.br
[5] Alda Lanna Trivelatto Neta – Graduanda em Medicina Veterinária, email: aldinha_05@hotmail.com

larva (COSTA et al., 1998; BUZZI, 2002). Na maioria das espécies o dimorfismo sexual não é muito acentuado (BUZZI, 2002).

Para perceberem a fonte de alimento e se orientarem em direção ao estímulo, os besouros coprófagos utilizam-se das antenas lameladas, as quais são os órgãos quimiorreceptores de estímulos olfativos para longas distâncias ou ainda dos palpos maxilares, os quais são os órgãos quimiorreceptores para curtas distâncias. Após localizarem a massa fecal, pousam nas suas proximidades e caminham posteriormente na sua direção. A distância percorrida pelos besouros coprófagos pode ser de até 1,0 km em 02 dias nos trópicos. A distância percorrida pelos besouros coprófagos pode ser de até 1,0 km em 02 dias nos trópicos (ESTRADA et al., 1998).

Figura 1 – Exemplar da família Scarabaeidae.

3 HÁBITOS ALIMENTARES

Os besouros coprófagos ou, simplesmente, “rola-bosta”, são insetos da ordem Coleoptera: família Scarabaeidae, que consomem fezes. Tanto as formas adultas como as larvais podem fazer uso de qualquer excremento de mamíferos. Devido ao hábito alimentar, estes indivíduos não causam dano às culturas e, sim, são insetos úteis, promovendo a desestruturação e decomposição das fezes (FIGURA 2).

Os besouros coprófagos estão agrupados em três grupos funcionais baseados numa maneira pela qual os *Scarabaeideae* utilizam o recurso alimentar e de acordo com os hábitos reprodutivos de nidificação: os roladores (telecoprídeos), os escavadores (paracoprídeos) e os residentes (endocoprídeos). No entanto, uma quarta categoria é adicionada para os cleptoparasitos (FIGURA 3).

Telecoprídeos: Neste grupo encontram-se os besouros mais conhecidos dos nossos pecuaristas porque são bastante interessantes de serem observados. Estes besouros são vulgarmente conhecidos como rola-bosta, porque constroem bolas de excremento que são roladas para locais mais distantes das placas de excremento.

Paracoprídeos: Os besouros desse grupo são os mais comuns, cerca de 80%, embora pouco conhecidos. A fêmea escava túneis, abaixo ou a redor do bolo fecal, que podem terminar em câmaras situadas em profundidades que variam geralmente de 20cm a 1,0m, de acordo com a compactação do solo. O macho corta pequenos pedaços de excremento e os entrega à fêmea, que leva o excremento para o fundo e deposita um ovo em cada ninho.

Endocoprídeos: Neste grupo encontram-se as espécies menos efetivas com relação á distribuição de excremento nas pastagens. Geralmente, os adultos penetram nos excrementos e aí procuram se alojar durante os períodos mais frios e secos do ano, quando as espécies do outro

grupo estão inativas. Dentro dos excrementos eles permanecem vivendo e se alimentando até que os mesmos sejam consumidos e desintegrados.

Cleptoparasitos: São considerados escavadores modificados, os quais não escavam ou não estabelecem seu ninho nidificando com outras espécies tanto roladores ou escavadores.

A

b

C

d

Figura 2 – Exemplares da família Scarabaeidae rolando uma bola de excremento (a, b) e se alimentando de material orgânico (c, d).

Em função do hábito de enterrar as massas fecais, os besouros coprófagos revestem-se de grande importância, pois o único modo prático e econômico destas massas serem removidas e incorporadas ao solo é através da ação destes insetos (CALAFIORI, 1979).

No processo de construção de galerias para enterrar as massas fecais, os besouros melhoram ainda as propriedades físicas e químicas do solo, promovendo maior aeração, infiltração de água e melhor estruturação do/no solo (WATERHOUSE, 1974), além de aumentar o teor de matéria orgânica e alguns macronutrientes no solo (BANG et al., 2005; BERTONE, 2004; BERTONE et al., 2006; LOSEY; VAUGHAN, 2006). Em adição a isto, contribuem para o controle de helmintos gastrointestinais e moscas hematófagas cujas larvas se desenvolvem na massa fecal (DOUBE et al., 1988; FINCHER, 1975; RIDSDILL-SMITH; HAYLES, 1990).

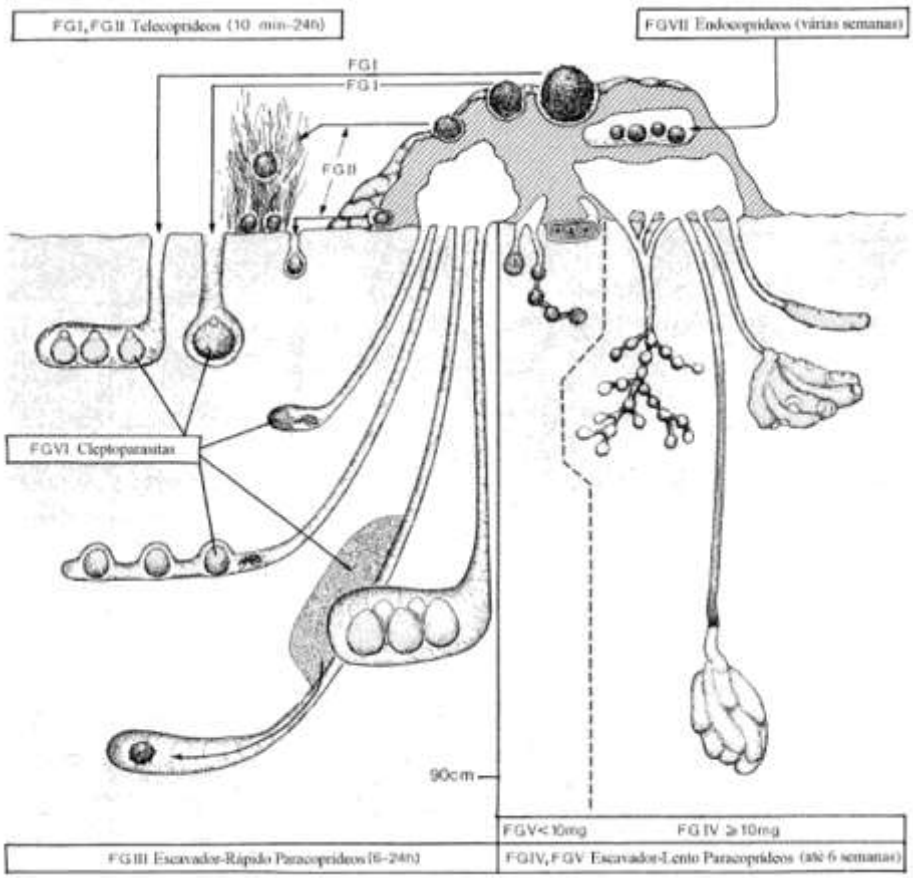

Figura 3 – Formas de utilização de excrementos por besouros coprófagos telecoprídeos, paracoprídeos, endocoprídeos e cleptoparasitas (Fonte: TEIXEIRA, 2006).

4 IMPORTANCIA ECONOMICA

O interesse de pesquisadores e pecuaristas por besouros coprófagos se deu a partir de 1960, com a observação de que milhões de toneladas de excrementos de bovinos se acumulavam anualmente na superfície das pastagens australianas. A grande quantidade de fezes acumuladas na superfície do solo promoveu a perda de pastagens (rejeição de forragem contaminada com excrementos) e o aumento do número de helmintos e moscas (principalmente a mosca-dos-chifres), prejudiciais ao gado. A aplicação de grandes quantidades de produtos químicos para proteção dos rebanhos tornou as moscas resistentes e ocasionou problemas de resíduos químicos na carne produzida. Assim, a Austrália iniciou um programa de controle biológico introduzindo besouros coprófagos exóticos adaptados às fezes bovinas (AMARAL; ALVES, 1979; SAMWAYS, 1989).

As massas fecais de bovinos podem permanecer nas áreas de pastagens durante oito a nove meses constituindo uma ameaça de ordem sanitária ao rebanho presente, devido aos

parasitos de bovinos a elas associados. Temporariamente, estas massas fecais reduzem a área útil da pastagem (MIRANDA et al., 1998; HAYNES; WILLIAMS, 1993). Calafiori e Alves (1980) e Miranda e outros (1998) relatam que os besouros coprófagos constituem uma maneira econômica e prática de incorporação dessas massas fecais no solo. Os besouros, ao enterrarem ou colaborarem para a desestruturação das massas fecais, aceleram o seu processo de ressecamento e decomposição. Isto reduz o período de utilização e permanência nesse ambiente de larvas de moscas ou nematódeos (FIGURA 4).

Figura 4 – Besouros coprófagos iniciando o processo de incorporação de massas fecais no solo.

Um bovino defeca em média de 10 a 12 vezes por dia e que a área de pastagem coberta por excrementos foi avaliada em, aproximadamente, 800 m^2 por bovino ao ano (MACEDO, 1999). Essa área, na ausência de coprófagos, é totalmente perdida temporariamente e (FIGURA 5), traz como resultado, prejuízos na produtividade de leite e carne. Além da área coberta pela placa de fezes, ocorre perda adicional da forragem ao redor, que não é consumido pelo gado por cerca de um ano. Se não houvesse superposição de fezes, a área coberta por excremento/animal por dia seria em torno de 0,8 m^2. Com estação de pastejo de 150 dias e taxa de lotação de 100 cabeças na pastagem, a superfície coberta seria de 1,2 ha. Omaliko (1981) encontrou médias de massa seca por placas de fezes, área por placa e percentual do piquete rejeitado/pastejo de 160 e 189g/placa, 113 e 235 cm2/placa e 2 e 5% para estação seca e úmida, respectivamente.

Os bovinos são capazes de selecionar a forragem, ingerindo preferencialmente plantas com menor contaminação de fezes. Quando a placa de fezes é depositada no solo, imediatamente vários fatores começam a agir sobre ela. Uma placa pastosa defecada no período chuvoso, numa área bem povoada por coleópteros coprófagos, terá todas as condições para ser uma ótima fonte de retorno de nutrientes.

De acordo com Koller (1999), os besouros, ao enterrarem ou colaborarem para a desestruturação das massas fecais, aceleram o seu processo de decomposição, diminuindo a área de rejeição de forragem. Besouros coprófagos ao enterrarem as fezes, cavando túneis no solo facilitam a entrada e a circulação do ar, destruindo o bolo fecal e o ambiente de desenvolvimento de larvas de nematódeos e mosca-dos-chifres (*Haematobia irritans*).

Figura 5 – Pastagem com área comprometida pelo acúmulo de massas fecais de gado.

Espécies de besouros coprófagos atuam como decompositores primários na reciclagem de matéria e energia em ecossistemas naturais, além de contribuírem com o processo natural de regeneração das matas, onde algumas espécies estão associadas aos mamíferos. Suas atividades aceleram e tornam mais eficiente a reciclagem de grande parte do nitrogênio, da matéria orgânica e dos minerais presentes nas fezes, colaborando assim com a reestruturação e a melhoria das condições de fertilidade dos solos, retardando o seu empobrecimento e conseqüentemente a degradação das pastagens (URRETABIZKAYA et al., 1999).

A atividade de remoção das placas fecais do campo exercida pelos besouros coprófagos constitui-se numa técnica econômica, pois ao localizá-las, desestruturam-nas e incorporando-as rapidamente aos solos, melhoram as propriedades físicas e químicas dos mesmos, o desenvolvimento das plantas, a aeração, a absorção e a retenção de água dos solos, bem como a atividade de micro e macrorganismos presentes nos solos. Além disso, controlam os nematóides gastrointestinais e as moscas que se desenvolvem nas massas fecais.

Os besouros coprófagos ao depositarem as fezes nas camadas profundas do solo transportam parte dos ovos e das larvas de organismos nocivos que serão destruídos em sua maioria, enquanto a parcela restante da massa fecal que persistir sobre a superfície do solo tornar-se-á mais suscetível à dessecação pela ação do sol e à desagregação por ação da chuva, prejudicando ou mesmo inviabilizando o desenvolvimento e a sobrevivência daqueles organismos prejudiciais à pecuária (KOLLER et al., 1999).

Haynes e Williams (1993) estimam que entre 85 e 95% do total de nitrogênio (N) ingerido por bovinos retorna ao solo por meio das dejeções. Aproximadamente 70 a 80% do nitrogênio contido nas fezes de bovinos são perdidos do sistema solo-pastagem por volatilização da uréia em pouco tempo, quando os excrementos permanecem expostos ao ar. Entretanto, essa perda pode ser reduzida para cerca de 10 a 15% quando os excrementos são incorporados ao solo logo após terem sido excretados (MACEDO, 1999).

A inviabilidade de adubações de reposição na maior parte dos sistemas de exploração pecuária pode-se considerar que a sustentabilidade da produtividade das pastagens é praticamente dependente da reciclagem interna dos nutrientes no ecossistema. Considerando-se que parte dos nutrientes ingeridos pode retornar às pastagens pelas excreções, a atividade dos besouros coprófagos sobre as fezes se torna preponderante face à importância da reciclagem de nutrientes no ecossistema (BRAZ, 2001).

Normalmente, os besouros escavam galerias no solo embaixo dos bolos fecais, para onde carregam porções da massa fecal, formando estruturas para sua nidificação, esse processo promove uma maior aeração no solo. Grande parte do material enterrado acaba sendo

mineralizado em curto espaço de tempo, e quantidades substanciais de N e P, presentes no bolo fecal, tornam-se disponíveis às plantas (MIRANDA et al., 1998).

Além da inegável importância econômica que estes apresentam, mais recentemente Scarabaeidae coprófagos estão sendo utilizados como espécies bioindicadoras. Segundo Favila e Halffter (1997), besouros coprófagos podem ser utilizados como bioindicadores por ser um grupo com biologia, ecologia, comportamento e taxonomia relativamente bem estudados, além de se ter uma metodologia de captura que permite a comparação de dados entre áreas diferentes. Devido à característica destes em apresentarem um padrão de distribuição local e especialização regional, estes besouros são uma excelente ferramenta para se estimar o grau de degradação de uma determinada área de vegetação nativa (DAVIS, 2000; 2002; WAβMER, 1995).

5 REFERENCIAS

AMARAL, E.; ALVES, S. B. Coleópteros coprófagos. In: AMARAL, E.; ALVES, S. B. Insetos úteis. Piracicaba-SP: Livroceres, 1979. p. 153-170.

BANG, H. S. et al. Effects of paracoprid dung beetles (Coeloptera: Scarabaeidae) on the growth of pasture herbage and on the underlying soil. Applied Soil Ecology, Amsterdam, v. 29, n. 2, p. 165-171, 2005.

BERTONE, M. A. Dung beetles (Coleoptera: Scarabaeidae and Geotrupidae) in North Carolina Pasture Ecosystem. 2004. 134 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Faculty of North Carolina State University, Raleigh, 2004.

BERTONE, M. A. et al. The Contribution of Tunneling Dung Beetles to Pasture Soil Nutrition Plant. Management Network: Forage and Grazinglands, St. Paul,

FG-2006-711-02-RS, 11 jul. 2006. DOI: 10.1094. Disponível em:

<http://www.cefs.ncsu.edu/main-publications/student-research/matt-bertone-soil-nutrition.pdf>. Acesso em 1 set. 2009.

BRAZ, S. P. Distribuição de fezes de bovinos e a reciclagem de nutrientes em pastagens de

Brachiaria decumbens. 2001. 77 f. Dissertação de Mestrado. Viçosa: UFV, 2001.

BUZZI, Z. J. Entomologia Didática. 4. ed. Curitiba: Ed. UFPR. 2002.

CALAFIORI, M. H.; ALVES, S. B. Influência de casais do *Dichotomius anaglypticus* (Mannerheim, 1829) (Coleoptera: Scarabaeidae) na fertilização do solo e no desenvolvimento do milho (*Zeamays* L.). Ecossistema, v. 5, p. 8-16, 1980.

CALAFIORI, M. H. Influência do *Dichotomius anaglypticus* (Mannerheim, 1829) (Coleoptera: Scarabaeidae) na fertilização do solo e no desenvolvimento do milho (Zeamays L.). 1979. 87 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1979.

COSTA, C. Coleoptera. In: BRANDÃO, C. R. F.; CANCELLO, E. M. (eds.). Biodiversidade do Estado de São Paulo: síntese do conhecimento no final do Século XX. Parte 5. BIOTA/FAPESP: São Paulo. p. 133-122. 1999.

COSTA, C.; VANIM, S. A.; CASARI-CHEN, S. A. Larvas de Coleoptera do Brasil. Museu de Zoologia de São Paulo: São Paulo, 1998.

DAVIS, A. J. Does reduced-impact logging help preserve biodiversity in tropical

rainforests? A case study from Borneo using dung beetles (Coleoptera: Scarabaeidae) as indicators. Environmental Entomology, College Park, v. 29, n. 3, p. 467-475, 2000.

DAVIS, A. L. V. et al. Increasing representation of localized dung beetles across a chrono sequence of regenerating vegetation and natural dune forest in South Africa. Global Ecology and Biogeography, Oxford, v. 11, n. 3, p. 191-209, 2002.

DOUBE, B. M.; MACQUEEN, A.; FAY, E. H. A. C. Effects of dung fauna on survival and size of buffalo flies (*Haematobia* spp.) breeding in the field in South Africa and Australia. The Journal of Applied Ecology, Oxford, v. 25, n. 2, p. 523-526, 1988.

ENDRES, A. A.; HERNÁNDEZ, M. I. M.; CREÃO-DUARTE, A. J. Considerações sobre *Coprophanaeus ensifer* (Germar) (Coleoptera, Scarabaeidae) em um remanescente de Mata Atlântica no Estado da Paraíba, Brasil. Revista Brasileira de Entomologia, v. 49, n. 3, p. 427-429, 2005.

ESTRADA, A.; COATES-ESTRADA, R.; DADDA, A. A.; CAMMARANO, P. Dung and carrion beetles in tropical rain forest fragments and agricultural habitats at Los Tuxtlas, Mexico. Journal of Tropical Ecology, n.14, p.577-593, 1998.

FAVILA, M. E.; HALFFTER, G. The use of indicator groups for measuring biodiversity as related to community structure and function. Acta Zoológica Mexicana, v. 72, p. 1–25, 1997.

FINCHER, G. T. Effect of dung beetle activity on the number of nematode parasites acquired by grazing cattle.The Journal of Parasitology, St. Lawrence, v. 61, n. 4, p. 759-762, 1975.

FLECHTMANN, C. A. H.; RODRIGUES, S. R.; COUTO, H. T. Z. Controle biológico da mosca-dos-chifres (*Haematobia irritans irritans*) em Selvíria, Mato Grosso do Sul. Comparação entre métodos de coleta de besouros coprófagos (Scarabaeidae). Revista Brasileira de Entomologia, v. 39, n. 2, p. 259-276, 1995.

FLECHTMANN, C. A. H.; RODRIGUES, S. R. Insetos fimícolas associados a fezes bovinas em Jaraguá do Sul/SC. 1. Besouros coprófagos (Coleoptera, Scarabaeidae). Revista Brasileira de Entomologia, v. 39, n. 2, p. 303-309, 1995.

HAYNES, R. J.; WILLIAMS, P. H. Nutrient cycling and soil fertility in the grazed pasture ecosystem. Advances in Agronomy, v. 49, p. 119-199, 1993.

LOSEY, J. E.; VAUGHAN, M. The Economic Value of Ecological Services Provided by Insects. BioScience, Washington, v. 63, n. 12, p. 311-323, 2006.

KOLLER, W. W.; GOMES, A.; RODRIGUES, S. R.; ALVES, R. G. de O. Besouros Coprófagos (Coleoptera: Scarabaeidae) Coletados em Campo Grande, MS, Brasil. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, v. 28, n. 3, p. 403-412, 1999.

MACEDO, J. D. B. Besouros coprófagos: Os insetos benéficos das pastagens. Revista Bahia Agrícola, v. 3, n. 3, 1999.

MELLO, F. Z. V. de. Estudo atual de conhecimento dos Scarabaeidae s. str. (Coleoptera: Scarabeoidea) do Brasil. In: MARTIN-PIERA, F.; MORRONE, J. J.; MELIC, A. (Ed.). Haciaun proyecto CYTED para el inventario y estimación de La diversidade entomológica em Ibero américa: PrIBES. Sociedade de Entomologia Aragonesa, v. 1. p. 183-195, 2000.

MIRANDA, C. H. B.; SANTOS, J. C. C.; BIANCHIN, I. Contribuição de *Onthophagus gazella* à melhoria da fertilidade do solo pelo enterrio de fezes bovinas secas. Estudo em casa de vegetação. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 27, n. 4, p. 681-685, 1998.

OMALIKO, C. P. E. Dung deposition, breakdown and grazing behavior of beef cattle at two seasons in a tropical grassland Ecossystem. Journal of range management, v. 34, n. 5, 1981.

RIDSDILL-SMITH, T. J.; HAYLES, L. Stages of bush fly, *Musca vetustissima* (Diptera: Muscidae), killed by scarabaeine dung beetles (Coleoptera: Scarabaeidae) in unfavourable cattle dung. Bulletin of Entomological Research, Farnham Royal, v. 80, n. 4, p. 473-478,
1990.

RONQUI, D. C.; LOPES, J. Composição e diversidade de Scarabaeoidea (Coleoptera) atraídos por armadilha de luz em área rural no norte do Paraná, Brasil. Iheringia Ser. Zool., v. 96, n. 1, p. 103-108, 2006.

SAMWAYS, M. J. Controle biológico de pragas e ervas daninhas. São Paulo: Pedagógica e Universitária, 1989.

TEIXEIRA, F. M. A composição de Scarabaeidae (coleóptera) coprófagos na região de Alter do Chão, Pará: A influência dos biomas amazônicos e cerrado e da sazonalidade e os efeitos do tamanho da área, isolamento e proximidades de estradas. Dissertação Mestrado, Universidade Federal do Pará, Belém- PA, 2006.

TRIPLEHORN, C. A.; JOHNSON, N.F. Borror and DeLong's Introduction to the Study of Insects. Belmont: Thomson Brooks/Cole. 7. ed., 2005.

URRETABIZKAYA, N.; MARIATEGUI, P. G.; SPEICYS, C.; FERNADÉZ, E. Incorporación de Bosta Bovina por Ontherus sulcator F. (Coleóptera: Scarabaeidae). In: REUNIÃO LATINO AMERICANA DE SACARABAEOIDOLOGIA, 4. Viçosa, 1999. Memórias. Londrina: Embrapa Soja, p.64, 1999.

WAβMER, T. Selection of the spacial habitat of coprophagous beetles in the Kaiserstuhl area near Freiburg (SW-Germany). ActaOecologica, Paris, v. 16, n. 4, p. 461-478, 1995.

WATERHOUSE, D. F. The biological control of dung. Scientific American, New York, v. 230, n. 4, p. 101-108, 1974.

Capítulo 9- Controle da mosca-do-chifre por Besouros Coprófagos

Vianna, U.R. [1]; Pratissoli[2], D.; almeida[3], T.V.D.; Weiss[4], A.; Trivelatto Neta[5], A.L.

INTRODUÇÃO

A pecuária brasileira enfrenta diversos problemas sanitários no rebanho, sendo as mosca-dos-chifres e as helmintoses bastante comuns. Trata-se de um ectoparasito e devido à existência de poucos trabalhos científicos nacionais, o Centro de Pesquisa de Gado de Corte (CNPGC) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) com base em literatura estrangeira tem sugerido um controle racional, mas ainda há necessidade de aprimorar os métodos de controle, devem-se obter dados próprios sobre sua epidemiologia e danos causados em todo território brasileiro. Para tanto, é nestes propósitos que o CNPGC tem se empenhado (BIANCHIN, 1996).

No Brasil, constatou-se a presença da mosca-dos-chifres inicialmente em Roraima entre 1976 e 1977, oriunda da Guiana (VALÉRIO; GUIMARÃES, 1983). A disseminação da mosca-dos-chifres foi bastante rápida no então Território de Roraima devido às condições propícias encontradas na região. A atividade hematófaga da mosca-dos-chifres não é seu aspecto mais nocivo. O acometimento das picadas dolorosas e incessantes durante todo o dia sobre os bovinos parasitados sem haver, aparentemente, influência da incidência de luz sobre o repasto. O epíteto específico da espécie em latim, "*irritans*", é explicado pelo principal efeito que este díptera proporciona que é a irritação causada ao animal infestado, deixando-o extremamente agitado, e conduzindo o animal ao estado crítico de estresse (SCHREIBER; CAMPBELL, 1986).

Haematobia irritans (LINNAEUS, 1758) (Diptera: Muscidae) ataca quase exclusivamente o gado bovino, sendo considerada uma das principais pragas da bovinocultura brasileira. Um macho desta mosca pode picar até 24 vezes por dia e a fêmea, até 38 vezes. Esses fatores geram impactos negativos na produtividade do rebanho, comprometendo a produção de carne, leite e couro. Esta mosca se localiza na quase totalidade do corpo do animal, mas possui preferência pelas pernas, barriga e dorso (FIGURA 1).

Normalmente, encontramos um maior número de *H. irritans* sobre os machos adultos do que sobre as fêmeas e animais jovens. Este comportamento tem sido atribuído à menor mobilidade e sensibilidade dos touros, os quais estão associados a fatores hormonais, como a concentração de testosterona e atividade das glândulas sebáceas (MACKINNON et al., 1991). Durante a alimentação, a mosca insere e retira a probóscide rígida diversas vezes. A quantidade de sangue consumida diariamente é considerável, pois se considerarmos uma infestação de 500 moscas (1:1 macho e fêmea), teremos uma perda de aproximadamente 60 ml de sangue por dia (HONER et al., 1990).

Vários métodos químicos já foram utilizados para combater a mosca-dos-chifres. No entanto, o uso desordenado de endectocidas e agrotóxicos têm causado um significativo impacto

[1]Prof. Dr. Ulysses Rodrigues Vianna – Departamento de Produção Vegetal, email: ulyssesvianna@hotmail.com
[2] Prof. Dr. Dirceu Pratissoli – Departamento de Produção Vegetal, email: dirceu.pratissoli@gmail.com
[3] Tamara Vieira Deps Almeida – Graduanda em Agronomia, email: tamaradeps@hotmail.com
[4] Profa. Dra. Andréia Weiss – Departamento de Medicina Veterinária, email: andreiaweiss@yahoo.com.br
[5] Alda Lanna Trivelatto Neta – Graduanda em Medicina Veterinária, email: aldinha_05@hotmail.com

ambiental, além de aumentar os custos de produção. Outra desvantagem do controle exclusivamente químico é que os parasitos criam resistência ao princípio ativo do produto.

Figura 1. Bovinos atacados por *Haematobia irritans* (LINNAEUS, 1758) (Diptera: Muscidae).

Uma solução natural para combater estes parasitos vem de um pequeno besouro, o *Digitonthophagus gazella* (FABRICIUS, 1787) (Coleoptera: Scarabaeidae), mais conhecido como "Rola-Bosta" africano. A grande eficiência está no fato destes insetos enterrarem rapidamente os dejetos dos animais, Interrompendo o ciclo de vida do parasito, que na fase de desenvolvimento imatura, habitam esses dejetos. Portanto, os besouros coprófagos constituem uma maneira econômica e prática de incorporação dessas massas fecais ao solo reduzindo larvas de moscas e nematódeos, além de contribuir para reciclagem de nutrientes na pastagem (QUADROS; FRANCO, 2008; MONÇÃO, 2011).

2 BIOLOGIA DA MOSCA-DOS-CHIFRES (*H. irritans*)

O adulto de *H. irritans* é uma mosca pequena, medindo entre 2 a 5 mm, sendo bem menor que *Musca domestica* (FIGURA 2). As principais características morfológicas dos adultos são: o pequeno tamanho, o palpo que corresponde a duas vezes o tamanho da probóscita, arista plumosa e a presença de duas cerdas esternopleurais (TORRES; PIETRO, 1997). Na superfície antenal são encontrados órgãos olfatórios responsáveis pela atração das fêmeas pela matéria fecal fresca na qual realizam a oviposição (WHITE; BAY, 1980).

Figura 2. Adulto de *Haematobia irritans irritans* (LINNAEUS, 1758) (Diptera: Muscidae).

Os ovos, na maioria, apresentam coloração marrom-escura, sendo que alguns podem ser amarelo-claro ou branco, estes sempre em menor proporção, e em média com 1,20 mm de comprimento e 0,32 mm de largura. Ao abandonar os ovos, as larvas de primeiro ínstar medem

cerca de 1,5 mm de comprimento e 0,25 mm de largura. Apresentam-se mais largas na extremidade posterior e mais estreita na parte anterior junto ao segmento cefálico. Apresentam conjuntos de espinhos somente na parte ventral, e, aparentemente os espiráculos anteriores encontram-se ausentes (BRUCE, 1964).

As larvas de segundo instar de *H. irritans* apresentam 5,4 mm de comprimento e 0,6 mm de largura. As bandas de espinhos ventrais não apresentam pigmentação e possuem espiráculos anteriores e posteriores presentes. No terceiro instar, as larvas medem aproximadamente 7 mm de comprimento e 1 mm de largura (BRUCE, 1964). Segundo Baker (1987), a região cefálica ventral deste instar larval apresenta um lábio tripartido, sulcos ou ranhuras orais e duas protuberâncias denominadas complexos antenomaxilares, nos quais se encontram os órgãos sensoriais (sensilas). A superfície dorsal dos segmentos abdominais é lisa, sendo que a ventral apresenta fileiras de espículos, destacando-se a presença de processos musculares denominados de "*creeping welt*" que auxiliam na locomoção larval. As pupas apresentam forma de barril, com coloração marrom-avermelhado-escuro, e mede aproximadamente 3,3 mm de comprimento por 1,4 mm de largura (BRUCE, 1964).

O ciclo biológico de *H. irritans* é semelhante ao de outros muscídeos, sendo muito rápido quando em condições favoráveis de temperatura e umidade. A fêmea deposita seus ovos profundamente nas fezes frescas dos bovinos, mais precisamente na interface do bolo fecal com o solo (BRUCE, 1964; AMANO, 1989), onde coloca aproximadamente 20 ovos, sendo que cada fêmea pode realizar cerca de 15 posturas durante sua vida, que dura em média 3 semanas (WISLOW, 1992). A postura pode ocorrer durante o dia ou à noite. Em condições de laboratório, a porcentagem de eclosão dos ovos é de 98%, sendo o tempo de incubação à temperatura de 25º C, de aproximadamente 16 horas (BRUCE, 1964).

As larvas de primeiro instar penetram profundamente no esterco, protegendo-se da ação dos raios solares e permanecem neste estágio por aproximadamente 10 horas, quando passam a larvas de segundo instar, e depois de 18 horas, em média, alcançam o terceiro instar larval. À medida que ocorre a dessecação do esterco, as larvas migram para as partes ainda úmidas do bolo fecal. Sob condições ótimas de temperatura e umidade, em aproximadamente 64 horas após a eclosão dos ovos, já podemos encontrar pupas de *H. irritans* nas fezes. No caso de solos excessivamente secos, as pupas podem ser observadas no meio do bolo fecal, porém se as fezes encontrarem-se mais secas que o solo, as pupas serão encontradas enterradas no solo até 3,8 cm de profundidade (BRUCE, 1964).

De larva de primeiro instar a pupa são necessários, em média, 4 a 5 dias. O período de pupação dura cerca de cinco a seis dias, até a emergência dos adultos. Após a emergência, os adultos apresentam movimentos lentos e coloração escura, e estes migram em direção a superfície das fezes ou para a vegetação, onde permanecem por aproximadamente 1 hora com a cabeça voltada para baixo (geotropismo positivo) e estendendo suas asas, para daí partirem em busca do hospedeiro. A cópula ocorre sobre o hospedeiro ou na vegetação ao redor do hospedeiro a partir do segundo dia de vida e a postura dos ovos ocorre a partir do terceiro dia da emergência das fêmeas. O ciclo biológico completo, de ovo a adulto, dura cerca de 10 a 15 dias (BRUCE, 1964) (FIGURA 3).

Em caso de infestações severas, em épocas favoráveis e ausência de controle, pode-se encontrar de cinco mil a dez mil moscas por hospedeiro. Infestações desta magnitude acarretam prejuízos consideráveis sobre o desempenho produtivo e reprodutivo, principalmente no caso dos touros (SILVA NETTO et al., 1990).

Uma das características que distingue *H. irritans* de outros muscídeos é que, quando em repouso sobre o animal ficam quase sempre de cabeça para baixo e com as asas abertas em ângulo de 45º (AMARAL, 1991).

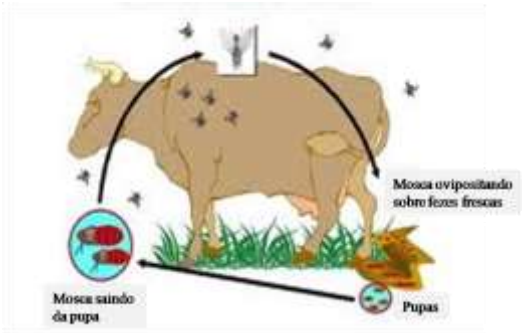

Figura 3. Ciclo biológico da mosca-do-chifre.

O rápido ciclo favorece a súbita ocorrência de altas infestações nos animais e a consequente necessidade de controle. As condições climáticas na maior parte do país permitem o desenvolvimento da mosca-dos-chifres durante praticamente todo o ano, embora seja mais limitado pelo inverno, particularmente na região sul. Influenciados pelo clima de cada estação, os níveis de infestação variam ao longo do ano. Assim, as épocas de maiores infestações nos animais estão associadas a períodos relativamente quentes e à ocorrência de chuvas moderadas, coincidentes com o início e final da estação chuvosa na região Centro-Oeste. Por outro lado, chuvas excessivas no verão, assim como o clima seco e frio do inverno, não são favoráveis ao desenvolvimento da mosca, determinando baixas infestações no rebanho (BARROS, 2005).

3 IMPORTANCIA ECONÔMICA

A mosca-dos-chifres destaca-se dentre os ectoparasitas de maior importância econômica à pecuária em diversos países, em vários continentes. No Brasil, os prejuízos econômicos causados por esta mosca à pecuária foram estimados em US$ 150 milhões anuais (GRISI et al., 2002). Nos EUA as perdas anuais na produção animal causadas por ectoparasitas excedem U$ 2,26 bilhões sendo U$ 730 milhões devido exclusivamente à *H. irritans* (BYFORD et al., 1992).

Por permanecer todo o tempo sobre o hospedeiro, a mosca-dos-chifres acaba por causar grande estresse aos animais, o qual é responsável pela maioria dos prejuízos relacionados à presença da mosca em sistemas de produção de bovinos, como perda de peso, ganho de peso zero e queda na produção de leite. Outro prejuízo importante causado pela mosca-dos-chifres está relacionado com a qualidade do couro dos animais infestados, pois um intenso parasitismo sobre o animal acarreta uma reação local na pele podendo torná-la grossa e inflexível e, portanto, de menor qualidade (GUGLIELMONE et al., 1999).

A abundância da mosca-dos-chifres está relacionada tanto com fatores bióticos, como a predação, competição e parasitismo, como com fatores abióticos como dessecação ou encharcamento do bolo fecal e baixas temperaturas. Para a implantação de um controle direcionado à mosca-dos-chifres, deve-se considerar a situação de estresse do rebanho determinada pela presença do parasita. Sinais de incômodo e inquietação, quando observados em um grande número de animais do rebanho, indicam que os níveis de infestação tendem a justificar economicamente o tratamento, uma vez que a presença de *H. irritans* estará determinando perdas produtivas a este rebanho.

Honer e outros (1990) afirmam que não se deve tratar rebanhos bovinos parasitados pela mosca-dos-chifres onde a média geral esteja abaixo de 200 moscas. O número médio de *H. irritans* capaz de causar prejuízo vem sendo debatido pela comunidade científica há vários anos

sem que haja um consenso; sendo que a média está entre 50 e 300 moscas por bovino. Essa ampla variação pode estar relacionada a fatores como raça, manejo, estado de nutrição, imunidade e resistência inata dos animais (BARROS et al., 2002) (TABELA 1).

Tabela 1 – Grau de infestação e o nível de prejuízo do gado de corte em campo.

Número de moscas/animal	Grau de infestação	Nível de Prejuízo
Até 50	Baixo	Pouco
50 – 200	Médio	Tolerável
> 200	Alto	Alto

Fonte: Adaptado de Saueressig (1992).

A redução no ganho de peso diário em bovinos, por um período de exposição de 120 dias à mosca-dos-chifres é estimada em 0,09 kg para animais em período de engorda e 0,04 kg para bezerros e entre 0,13 e 0,19 kg para vacas adultas (DRUMOND et al., 1988). Segundo Winslow (1992), no gado europeu, a irritação provocada pelas picadas constantes e dolorosas de *H. irritans* faz com que os animais percam o interesse em se alimentar e não descansassem, reduzindo assim, o ganho de peso em até 225 g por dia e a produção leiteira em 20%.

No Brasil, a perda de peso vivo em função da ação da mosca-dos-chifres, permite estimar que um animal com uma infestação média anual de 500 moscas pode sofrer perda de peso vivo anual de aproximadamente 40 kg. Sendo assim, a perda total de carne para o Brasil Central foi estimada em 1,4 milhões de toneladas/ano se todos os animais fossem parasitados pela mosca (HONER; GOMES, 1990).

Steelman e outros (1991) verificaram que vacas com menores níveis de infestação por moscas-dos-chifres, independentes da raça, desmamaram bezerros mais pesados do que vacas com alto nível de infestação. Os autores, ao realizarem análise de regressão do peso à desmama sobre a densidade de moscas por vaca, mostraram que para cada 100 moscas, em média por vaca, houve redução de 8,1 kg no peso à desmama dos bezerros. No Brasil, Bianchin e Alves (2002) observaram uma tendência das vacas tratadas com inseticidas para o controle da mosca-dos-chifres, assim como de suas crias, de ganharem mais peso do que os animais do grupo controle, embora a diferença entre os grupos não tenha sido significativa.

4 CONTROLE BIOLÓGICO

A pecuária, de forma geral, enfrenta diversos problemas sanitários no rebanho, sendo as mosca-dos-chifres e as helmintoses bastante comuns. No caso da mosca, vários métodos químicos já foram utilizados para combatê-la. No entanto, o uso desordenado de agrotóxicos tem causado um significativo impacto ambiental, além de aumentar os custos de produção. Outra desvantagem do controle exclusivamente químico é que os parasitos criam resistência ao princípio ativo do produto. As mosca-dos-chifres causam prejuízos ao rebanho, reduzindo o ganho de peso e aumentando o índice de mortalidade (SOARES; FAGUNDES, 2010).

Na epidemiologia de ecto e endoparasitos bovinos os coleópteros coprófagos são importantes aliados em programas de controle biológico e/ou manejo integrado dos organismos de interesse médico veterinário associados as fezes bovinas, em especial *H. irritans*. A principal importância está na remoção e degradação das fezes bovinas, diminuindo a área afetada pelas fezes e sua rejeição para pastejo, além de promover o controle dos parasitos e insetos presentes e melhoria nas características físico-químicas do solo (FINCHER, 1981).

A introdução de herbívoros de grande porte no Continente Americano e o aumento dos seus rebanhos aumentaram consideravelmente a deposição de material fecal proveniente destes muito além da capacidade dos coleópteros coprófagos nativos deste Continente, aumentando muito os problemas sanitários relacionados a esses parasitos (AIDAR et al., 2000).

Assim, diante do problema criado e seguindo o exemplo de outros países como a Austrália e Estado Unidos foi introduzido no Brasil pelo Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária o besouro rola-bosta africano, *Digitonthophagus gazella* (FABRICIUS, 1787) (Coleoptera: Scarabaeidae) (FIGURA 4) como uma das estratégias do Programa Integrado de Controle da Mosca-dos-chifres por apresentar ciclo de vida curto e ser altamente prolífica, produzindo cerca de 80 descendentes/casal/geração (HORNER et al., 1992).

Figura 4. Adulto de *D. gazella* rolando uma bolinha de excremento.

O besouro *D. gazela* é originário da África e está no Brasil há cerca de duas décadas. Através de seus hábitos, ele auxilia na recuperação das pastagens para o gado e combate da mosca-do-chifre e outros parasitas. Ao utilizar as massas fecais para si próprio ou para suas crias, o "rola-bosta" transporta os ovos e larvas encontradas, enterrando-os a uma profundidade de cerca de 25 cm (FIGURA 5). Com isso, além de destruir as massas fecais depositadas na superfície do solo contribuindo para o aumento da capacidade de suporte das pastagens, o besouro enterra 12 toneladas de fezes/ano depositadas ao solo por um único bovino.

Figura 5. *D. gazella* incorporando excremento no solo.

O besouro africano *D. gazella*, exerce importante papel no controle das populações de mosca-dos-chifres e também de verminoses, uma vez que seu o ciclo biológico se completa a cada 30 dias e cada fêmea, na sua vida útil, produz cerca de 60-90 besouros, o que já não ocorre com espécies nacionais que completam seu ciclo biológico em um ano e, as fêmeas produzem em média 15 besouros. Tem ainda, mostrado boa adaptabilidade às condições brasileiras e

aparece em maior número durante o período chuvoso e quente e está presente em todo território brasileiro e países da América do Sul (MIRANDA et al., 2000).

A proliferação do *D. gazella* acontece em época do ano chuvosa e quente. Eles podem ser vistos em atividade nos bolos fecais que são desfeitos e enterrados. Os besouros escavam galerias no solo e carregam essa matéria orgânica. É nesse material enterrado que os besouros depositam seus ovos e se desenvolvem até a fase adulta.

O efeito positivo para as pastagens vem com a quantidade de nitrogênio e fósforo presentes no material das fezes enterradas e que acabam sendo mineralizados em curto espaço de tempo. Esse material químico é liberado às plantas resultando em um efeito positivo na pastagem. É certo que os besouros possuem grande potencial na melhoria da produção de forragem, primeiro porque eles promovem a limpeza do pasto, aumentando a área de pastejo e segundo, que favorece o solo com os nutrientes do esterco.

Estudos demonstraram que o uso do rola bosta africano em propriedades de bovinos pode reduzir em até 40% a infestação de moscas nas propriedades. O besouro promove o enterrio das fezes frescas no solo, eliminando larvas da mosca-dos-chifres, ajudando assim no controle desta mosca, que precisa de fezes frescas de bovinos para realizar a postura de seus ovos.

Um fator que vem prejudicando o estabelecimento dos besouros tem sido o uso indiscriminado de endectocidas no período chuvoso, que coincide com a maior quantidade tanto de moscas quanto de besouros. É interessante lembrar que, a quase totalidade dos inseticidas existentes no mercado age nas fezes bovinas, eliminando, por exemplo, os besouros. Por isso, deve-se usar o mínimo de inseticida nos animais, para diminuir a contaminação da carne e do leite e preservar o ambiente (BIANCHIN et al., 1997; 1998).

5 REFERENCIAS

AIDAR, T. et al. Besouros coprófagos (Coleoptera: Scarabaeidae) coletados em Aquidauana, MS, Brasil. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, v.29, n.4, p. 817-820, 2000.

AMANO, K. Ecological study of the dung-breeding flies, with special reference to the intra and inter specific larval competitions in cattle dung pats. Tohoku National Agricultural Experiment Station Bulletin, n. 80, 1989, 212 p.

AMARAL, N. K.; DELL PORTO, A.; BRESSAN, M. C. R. V. Anotações, observações e comentários sobre o Simpósio Internacional da Mosca-dos-chifres (*Haematobia irritans*). A Hora Vet., n. 63, p. 19-24, 1991.

BAKER, G. T. Morphological aspects of the third instar larva of *Haematobia irritans*. Med. Vet. Entomol., n. 7, p. 279-283, 1987.

BARROS, A. T. M. Desenvolvimento de *Haematobia irritans* em massas fecais de bovinos mantidas em laboratório. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 37, n. 2, p. 217-221, 2002.

BARROS, A. T. M. Aspectos do controle da mosca-dos-chifres e manejo de resistência. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2005. 23p. (Embrapa Pantanal. Documentos, 77).

BIANCHIN, I. Mosca-dos-chifres: comportamento e danos em bovinos nelores. In: SIMPÓSIO SOBRE CONTROLE DE PARASITOS, 1996, 1., Campinas. Anais...

Campinas: CATI, 1996. p. 46-49.

BIANCHIN, I.; ALVES, R. G. O.; KOLLER, W. W. Efeito de carrapaticidas/inseticidas aspersão sobre adultos do besouro coprófago africano *Onthophagus gazella* (F.). Ecossistema, v. 22, p. 116-119, 1997.

BIANCHIN, I.; ALVES, R. G. O.; KOLLER, W. W. Efeito de carrapaticidas/inseticidas “pour-on” sobre adultos do besouro coprófago africano *Onthophagus gazella* Fabr. (Coleoptera: Scarabaeidae). Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, v. 27, n. 2, p. 275-279, 1998.

BIANCHIN, I.; ALVES, R. G. O. Mosca-dos-chifres, *Haematobia irritans*: comportamento e danos em vacas e bezerros Nelore antes da desmama. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 23, n. 3, p. 109-113, 2002.

BYFORD, R. L.; CRAIG, M. E.; CROSBY, B. L. Review of ectoparasites and their effect on cattle production. J. Anim. Sci., v. 70, p. 597-602, 1992.

BRUCE, W. G. The history and biology of the horn fly *Haematobia irritans* (Linnaeus), with comments on control. Tech. Bull. 157. North. Carolina: Agric. Exp. Station., 1964.

DRUMMOND, R. O.; GEORGE, J. E.; KUNZ, S. E. Effects of arthropod pests on livestock production. In: Control of arthropod pests of livestock: a review of technology. Boca Raton, Florida: CRC press, 1988. p. 1-27.

FINCHER, G. T. The potential value of dung beetles in pasture ecosystems. Journal of the Georgia Entomological Society, v. 16, n. 2, p. 316-333, 1981.

GRISI, L. et al. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. A Hora Veterinária, v. 21, n. 1, p. 8-10, 2002.

GUGLIELMONE, A. A.; GIMENO, E.; IDIART, J. Skin lesions and cattle hide damage from *Haematobia irritans* infestations. J. Med. Entomol., v. 13, n. 3, p. 324-329, 1999.

HONER, M. R.; GOMES, A. O manejo integrado da mosca dos chifres, berne e carrapato em gado de corte. Campo Grande: EMBRAPA, CNPGC, 1990.

HONER, M. R. et al. Programa de controle da mosca-dos-chifres - I. Brasil Central. Campo Grande: EMBRAPA/CNPGC, 1990. 3p. (Comunicado Técnico, 34).

HONER, M. R.; BIANCHIN, I.; GOMES, A. Com besouro africano, controle rápido e eficiente. In: Manual de controle biológico. Rio de Janeiro: ANDINA/SONDOTECNICA, 1992. p.19-20.

MACKINNON, M. J.; MEYER, K.; HETZEL, D. J. S. Genetic variation and covariation for growth, parasite resistance and heat tolerance in tropical cattle. Livest. Prod. Sci., v. 27, p. 105-122, 1991.

MIRANDA, C.H.B.; SANTOS, J.C. dos; BIANCHIN, I. The role of *Digitonthophagus gazella* in pasture cleaning and production as a result of burial of cattle dung. Pasturas Tropicales, v. 22, n. 1, p. 681-685, 2000.

MONÇÃO, O. P. et al. Importância agronômica de coleópteros coprófagos. Enciclopédia Biosfera, v. 7, n. 12, p. 1-8, 2011.

QUADROS, D. G.; FRANCO, F. B. Benefícios dos besouros coprófagos à pecuária. Artigo técnico – neppa, UNEB, 2008.

SAUERESSIG, T. M. Mosca-dos-chifres, *Haematobia irritans*: diagnóstico e controle. Planaltina: EMBRAPA, CNPGC, 1992. 9p. (EMBRAPA CAPC. Documentos, 43).

SCHREIBER E. T.; CAMPBELL J. B. Horn fly (Diptera: Muscidae) distribution on cattle as influenced by host color and time of day. Environ. Entomol., v. 15, n. 6, p. 1307-1309, 1986.

SILVA NETTO, F. G. da et al. A mosca-dos-chifres (*Haematobia irritans*) em Rondônia. Porto Velho: EMBRAPA-CPAF-RONDONIA, 1991. 11p. (EMBRAPA-CPAF-RONDONIA. Circular Técnica 23).

SOARES, M. A.; FAGUNDES, L. N. M. Benefícios dos coleópteros coprófagos para a pecuária: controle biológico, estrutura, fertilidade e ciclagem de nutrientes do solo. 2010. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2010_4/ColeopterosCoprofagos/index.htm>. Acesso em: 04 ago. 2014.

STEELMAN, C. D.; BROWN JR, A. H.; GBUR, E. E.; TOLLEY, G. Interactive response of the Horn Fly (Diptera: Muscidae) and selected breeds of beef cattle. J. Econ. Entomol., v. 84, p. 1275-1282, 1991.

TORRES, P.; PRIETO, O. La mosca de los cuernos *Haematobia irritans*. In: Enfermedades parasitarias de importância e conomica en bovinos. Buenos Aires: Editorial Hemisferio Sur, 1997. p. 353-367.

VALÉRIO, J. R.; GUIMARÃES, J. H. Sobre a ocorrência de uma nova praga, *Haematobia irritans* (L.) (Diptera, Muscidae), no Brasil. Revista Brasileira de Zoologia, v. 1, n. 4, p. 417-418, 1983.

WISLOW, R. B. Reguladores de crescimento de insetos e controle da mosca dos chifres. A Hora Vet., v. 11, n. 65, p. 38-40, 1992.

WHITE, S. L.; BAY, D. E. Antennal olfactory sensilla of the horn fly, *Haematobia irritans irritans* (L.) (Diptera: Muscidae). J. Kansas Entomol. Soc., v. 53, p. 641-652, 1980.

Capítulo 10- Valorização de resíduos vegetais mediante avaliação da bioatividade dos fitoconstituintes

Zanini, S.F. [1]*, Sousa, D.R.I[2], Melo, F.S.[2]

Resumo - O volume de desperdício de alimentos causam grandes perdas econômicas e impacto significativo nos recursos naturais, particularmente em suas consequências para o clima, para a biodiversidade e para o uso da água e do solo. Uma possibilidade de reduzir o desperdício baseia-se no reaproveitamento de resíduos agroindustriais. Neste contexto, o aproveitamento integral de hortaliças e frutas, por meio da utilização de partes não convencionais, antes desprezadas (cascas, talos, folhas, sementes) faz-se necessário visando contribuir para a recuperação de compostos bioativos com propriedades antimicrobiana, antioxidante, antinflamatória, anticarcinogênico para sua utilização na elaboração de novos produtos. O objetivo desta revisão foi de abordar alguns fitoconstituintes, presentes nestes subprodutos, ligados à manutenção da saúde. Estes compostos bioativos, como os glicosinolatos e os compostos fenólicos, mediam uma variedade de funções que incluem sua ação como antioxidantes, na regulação de enzimas e no controle da apoptose e ciclo celular. Considera-se que a recuperação de compostos bioativos, a partir do reaproveitamento de resíduos agroindustriais, possui caráter inovador na geração de produtos com concomitante redução de desperdícios na cadeia produtiva de alimentos e estímulo à valorização destes subprodutos.

INTRODUÇÃO

Atualmente, os setores de produção primária de alimentos, juntamente com a indústria de insumos e a agroindústria de processamento, constituem um dos principais segmentos da economia brasileira, com importância tanto no abastecimento interno como no desempenho exportador do país. Sabe-se também que essas atividades, assim como outras, geram resíduos que, se não forem aproveitados, representam desperdícios para o setor produtivo e oferecem riscos para o meio ambiente e a sociedade.

No mundo, a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (ONU, 2013) estima que 1,3 bilhão de toneladas de alimentos são desperdiçados por ano desde o processo de produção até o consumidor final. Este impressionante volume de desperdício causam grandes perdas econômicas e impacto significativo nos recursos naturais, particularmente em suas consequências para o clima, para a biodiversidade e para o uso da água e do solo. Portanto, é necessário incentivar o desenvolvimento de inovações tecnológicas que permitam reduzir o desperdício de alimentos. Uma possibilidade para reduzir tal desperdício baseia-se no reaproveitamento de resíduos agroindustriais.

De acordo com o estudo da FAO, 54% do desperdício de alimentos no mundo ocorre na fase inicial da produção, manipulação pós-colheita e armazenagem. Os restantes 46% ocorrem nas etapas de processamento, distribuição e consumo. Geralmente, os países em desenvolvimento sofrem mais com as perdas durante a produção agrícola, enquanto o desperdício na distribuição e consumo tende a ser maior nas regiões de renda média e elevada,

[1]* Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Alegre, ES, Brasil. *Departamento de Medicina Veterinária, UFES, 29500-000, Alegre, ES, Brasil. E-mail: smzanini@gmail.com . Autor para correspondência.
[2] Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Vitória, ES, Brasil.

que responde por 31-39% do desperdício em comparação a 4-16% nas regiões com baixa renda. Quanto mais tarde um produto se perde na cadeia alimentar, maiores são as consequências ambientais, de acordo com a FAO (2013), já que ao custo inicial da produção devem ser adicionados os custos ambientais incorridos durante o processamento, transporte, armazenamento e utilização.

Dados da ONU (2013) mostram que o Brasil desperdiça 1,4% do Produto Interno Bruto (a soma de toda a riqueza o que o país produz em um ano). São cerca de R$ 17 bilhões jogados no lixo.

A indústria de alimentos gera grandes quantidades de resíduos orgânicos que podem conter substâncias de elevado valor agregado, cuja recuperação vem despertando interesse econômico e ambiental, pois moléculas bioativas podem ser extraídas e reaproveitadas, além de promover a redução do volume de resíduos, que poderiam impactar negativamente o meio ambiente.

Portanto, o reaproveitamento destes resíduos como subprodutos para a indústria de fabricação de ração animal, para a extração de óleos essenciais e aromas e até como ingredientes funcionais na formulação de novos produtos poderia gerar novas possibilidades de sustentabilidade (MARTÍN-LUENGO et al., 2011).

Atualmente, vários estudos envolvendo o aproveitamento integral de alimentos de origem vegetal têm recebido destaque e atenção. Os enfoques são diferentes para os tipos de aproveitamento, porém, percebe-se a preocupação em minimizar o desperdício, a insegurança alimentar e a preservação do meio ambiente (ABUD; NARAIN, 2009; RODRIGUES; CALIARI; ASQUIERI, 2011).

Neste contexto, o aproveitamento integral de frutas e hortaliças, por meio da utilização de partes não convencionais, antes desprezadas (cascas, talos, folhas, sementes) faz-se necessário (FERREIRA; CHIARA; KUSCHNIR, 2007), podendo contribuir na elaboração de novos produtos.

Tendo em vista esse cenário e considerando o grande volume de resíduos agroindustriais, o reaproveitamento de resíduos remanescentes após o processamento (casca, sementes, talos, folhas) visa contribuir para a recuperação de compostos bioativos com propriedades antimicrobiana, antioxidante, antinflamatória, anticarcinogênico para sua utilização na elaboração de novos produtos pelas indústrias de alimentos, cosméticos e fármacos.

Aspectos gerais dos resíduos agroindustriais

O Espírito Santo é um Estado com tradição na produção de frutas e hortaliças, que são fundamentais para uma vida saudável. Hortaliças são plantas herbáceas, das quais uma ou mais partes são utilizadas como alimento na sua forma natural. O produto é designado verdura, quando utilizadas as partes verdes; legumes, quando utilizado o fruto ou a semente, especialmente das leguminosas, e raízes, tubérculos e rizomas, quando são utilizadas as partes subterrâneas (BRASIL, 2010).

O valor nutricional e econômico de frutas, verduras e legumes é bem conhecido por serem fontes de vitaminas, minerais, fibras, carotenos, compostos polifenólicos, glicosinolatos e demais substâncias bioativas. Ensaios experimentais *in vivo* e *in vitro* evidenciam os efeitos protetores dos carotenóides, cumarinas, flavonóides, glicosinolatos, compostos fenólicos e terpenos (DELAQUIS E MAZZA, 1998; FARNHAM, 2003).

De acordo com o Anuário Brasileiro de 2014, o total de hortaliças produzido retornou, neste ano à faixa das 18 milhões de toneladas no qual se mantem desde 2007, embora em 2011 tivesse ultrapassado 19 milhões de toneladas (REETZ et al., 2014). A produção se concentra em grande parte, nas regiões Sul e Sudeste, com 75% do total.

Através do consumo diário e do processamento de frutas e hortaliças, são gerados muito resíduos (folhas inadequadas para o uso, talos, cascas, sementes) que são descartados como lixo comum ou para ração animal ou como adubo. Os resíduos gerados nas indústrias alimentícias assim como os desperdícios vêm sendo objeto de diversos estudos aliando ganhos ambientais e econômicos.

Há várias pesquisas mostrando o benefício do aproveitamento integral de frutas e hortaliças. OLIVEIRA et al. (2002) verificaram que na casca do maracujá-amarelo há constituintes básicos como os carboidratos, as proteínas e as pectinas, que são aproveitáveis como matéria-prima para a elaboração de doce, que contribui para a redução do desperdício da casca do maracujá-amarelo. Outros estudos apresentaram como objetivo o aproveitamento de cascas, entrecascas e subprodutos de tubérculos, raízes e frutos para a produção de farinhas e elaboração de bolos e biscoitos, a partir destes subprodutos (FERNANDES et al., 2008; GUIMARÃES; FREITAS; SILVA, 2010).

Resultados relevantes também foram observados por MONTEIRO (2009) sobre o rendimento das partes não convencionais comparadas às convencionais de vegetais (brócolis, chuchu e couve). Foram encontrados teores consideráveis de vitamina C nas folhas e talos de brócolis (108,16 mg/100g e 88 mg/100g, respectivamente) e 18mg/100g em talos de couve. Os teores de fibras (4,22%) e proteínas (1,50%) encontrados na casca de chuchu foram superiores aos encontrados na polpa. Entretanto, os teores de fibras encontrados nas folhas e talos de couve foram similares (2,86% e 2,80%).

Este é o caso das frutas cítricas ricas em fibras, vitaminas, minerais, carotenóides e flavonóides (TRÍPOLI et al, 2007) e das hortaliças (DELAQUIS e MAZZA, 1998; FARNHAM, 2003). Vários estudos atribuem ação antimicrobiana, bacteriostático e/ou bactericida aos óleos essenciais de frutas cítricas (DEMBITSKY et al , 2012). A tangerina apresenta compostos bioativos presentes na casca, sementes, polpa cítrica (óleos essenciais, vitaminas, flavonóides, polifenóis) com propriedades antioxidantes, antinflamatórios, anticarcinogênicos e antimicrobianos (FERNÁNDEZ-LÓPEZ et al, 2005).

O óleo essencial de cítricos está presente principalmente nas cascas, sementes de frutas, que são geralmente descartados como resíduos. Além de ser usado como fragrância, os óleos essenciais cítricos também possuem atividade antibacteriana contra *Escherichia coli, E. coli O157: H7, Salmonella typhimurium, Listeria monocytogenes e Vibrio vulnificus* em meios (KIM, MARSHALL & WEI, 1995) e de *Salmonella typhimurium* em fatias de peixe (KIM, MARSHALL, CORNELL, PRESTON & WEI, 1995). Os óleos essenciais de limão, laranja, bergamota também demonstraram efeito bactericida contra *Campylobacter jejuni, E. coli O157: H7, L. monocytogenes, Bacillus cereus, Staphylococcus aureus* (FISHER & PHILLIPS, 2006).

Frutas e hortaliças crus e processadas, bem como seus resíduos remanescentes após o processamento (casca, sementes, caules, talos) também são fontes de compostos bioativos como lectinas, compostos fenólicos, terpenóides e óleos essenciais (COWAN, 1999; DELAQUIS E MAZZA, 1998; FARNHAM, 2003) que podem reduzir à ação de Gram-negativas e positivas (RYAN et al., 2001; CAVANAGH et al., 2003; LEE et al., 2003; MAHFUZUL HOQUE et al., 2007).

CORRÊA (2011) e MARTIN (2011) utilizaram resíduos agroindustriais na obtenção de antimicrobianos naturais no controle de *Listeria monocytogenes* e obtiveram halos de inibição para esta bactéria. No trabalho de ARBOS *et al.* (2013) à ação antimicrobiana de casca e amêndoas de frutos de manga foi atribuído aos compostos fenólicos.

Segundo PINHEIRO *et al.* (2010) e BERGAMASCHI (2010) as plantas que pertencem a família Brassicaceae são ricas em compostos fenólicos e glicosinolatos, que de acordo com CORRÊA (2011) possuem ação antimicrobiana e antioxidante.

Segundo DAVEY et al (2000) *apud* PRESTES (2009) os compostos fenólicos presentes nas plantas do gênero *Brassica* apresentam ação antimicrobiana e antioxidante. Um

perfil espectrométrico do repolho, que pertence ao gênero *Brassica*, indicou a presença de compostos fenólicos, flavonóides, triterpenos e esteroides em estratos etanólicos e aquosos, em estágios vegetativos IV e V (CARVALHO et al. 2008).

De acordo com MARTIN (2011) a ação antimicrobiana de produtos naturais é devido a presença de compostos bioativos como polifenóis e glicosinolatos que podem causar ruptura na membrana externa desses microrganismos, complexação com a parede celular, privação de substrato, interação com material genético, inativação de enzimas, interrupção de fluxo de prótons, elétrons e o transporte ativo, sendo atuantes principalmente em membranas celulares.

Para TAJKARIM *et al.* (2010) os antimicrobianos naturais podem ser utilizados na conservação de alimentos, aumentando o tempo de vida útil do alimento, controlando seu apodrecimento natural e também contribuindo na segurança alimentar pela inibição de microrganismos com potencial patogênico.

O objetivo desta revisão foi de abordar alguns fitoconstituintes presentes nos resíduos de frutas e hortliças após processamento. Estes compostos bioativos, como os glicosinolatos e os compostos fenólicos, mediam uma variedade de funções que incluem sua ação como antioxidantes, na regulação de enzimas e no controle da apoptose e ciclo celular.

Fitoquímicos e sua classificação

O termo "fitoquímico" refere-se a um grupo amplo de compostos produzidos e acumulados nas plantas. A classificação dos fitoquímicos está demonstrada na Figura 1.

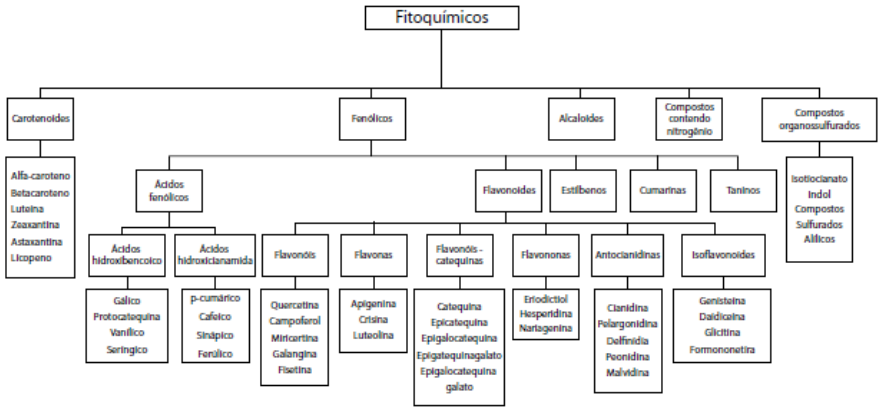

Figura 1. Classificação dos fitoquímicos **Fonte:** LIU (2004)

Compostos organosulfurados - Ação dos glicosinolatos

Os fitoquímicos que contém enxofre estão presentes, principalmente nas plantas do gênero *Brassica, Caricaceae e Capparaceae*, na forma de dois compostos: glicosinolatos e S-metil-cisteína-sulfóxidos (FAHEY et al., 2001).

Os glicosinolatos, também conhecido como tioglicosídeos, são compostos encontrados em pelo menos 16 famílias de plantas, particularmente nas *Brassicaceas* (FENWICH et al., 1983; FAHEY et al., 2001) dentre as quais encontram-se a couve-flor, couve, couve-de-bruxelas, repolho, nabo, abóbora, alho, mostarda, rúcula, alface e brócolis.

De acordo com FAHEY et al. (2001) & OERLEMANS et al. (2006), mais de 120 glicosinolatos já foram identificados. Estes compostos apresentam diferentes estruturas, sendo classificados como hidrocarbonetos alifáticos, aromáticos, e heterocíclicos (BERNARDI, 2003). Os glicosinolatos são metabólitos secundários derivados de aminoácidos como a tirosina, fenilalanina e triptofano, e apresentam propriedades benéficas para a saúde humana (CARTEA e VELASCO, 2008) .

As propriedades químio-protetoras dos vegetais são atribuídas à ocorrência em baixas concentrações de certas substâncias como os glicosinolatos. Alguns destes induzem os mecanismos químicos de defesa contra agentes cancerígenos aumentando a resistência celular. Os glicosinolatos formam tiocianatos, isotiocianatos e nitrilas (FAHEY et al., 2001; MORANT et al., 2008). Os isotiocianatos atuam tanto como indutores das enzimas da Fase 2 do mecanismo de desintoxicação celular (TAWFIQ et al., 1995), assim como tem papel inibitório das enzimas da Fase 1 (MORANT et al., 2008) acentuando o desempenho celular no processo de defesa de desintoxicação química (FAHEY et al., 2001; VOLDEN et al., 2008).

O brócolis (brássica), importante fonte de glicosinolato e isotiocianatos, possui substâncias que são capazes de ativar a fase 2 de desintoxicação celular e de proteger contra o câncer (SHAPIRO et al., 2001; GESHI et al., 1998). O isotiocianato de benzila, encontrado no mamão, pode agir como um inibidor no desenvolvimento de câncer de pâncreas(KUROIWA et al., 2006) e também como anti-helmíntico (KERMANSHAI et al., 2001). Os isotiocianatos de benzila e de feniletila exibiram atividade sobre o câncer de pulmão, aumentando a ocorrência de apoptosis das células cancerosas (D'AGOSTINI et al., 2005).

As plantas do gênero *Brassica* produzem a enzima mirosinase, que é responsável pela hidrólise dos glicosinolatos, formando uma glicose e uma aglicona instável, que em pH neutro sofre um rearranjo formando o isotiocianato. Já em meio ácido (3 a 6) ou na presença de Fe^{++}, forma nitrila, sulfato inorgânico e enxofre elementar. Esta reação só ocorre quando há ruptura do tecido, quando a mirosinase e os glicosinolatos entram em contato e ocorre a formação e liberação dos gases, dentre eles, isotiocianatos, nitrilas, tiocianatos, entre outros (FENIGUERRA, 2001; MORRA e BOREK, 2010). Devido ao fato destes compostos serem substâncias voláteis, estes gases (vapor) podem ser utilizados como tratamentos em frutas ou vegetais antes do armazenamento ou em embalagens com atmosfera modificada (MARI et al. 2008).

Compostos fenólicos

Os fitoquímicos naturais presentes nos alimentos como os compostos fenólicos e seus derivados são fontes de substâncias biologicamente ativas com ações antihelminticas, antioxidantes, antimutagênicas, entre outras. A substituição de substâncias químicas por compostos naturais pode ter efeito benéfico, no que tange às implicações à saúde humana (DURAN & PADIHA, 1993).

Os compostos fenólicos estão presentes praticamente em todas as partes dos vegetais e desempenham funções essenciais no processo de polinização, no crescimento celular, na defesa contra pragas, contra infeções microbianas, na proteção contra radiações ultravioleta, e na modelação da distribuição de hormônios e como moléculas de sinalização para microrganismos simbióticos (BRAND-WILLIAMS et al., 1995).

Possuem um ou mais anéis aromáticos ou mais grupos hidroxil. A diversidade estrutural dos compostos fenólicos deve-se a grande variedade de combinações que acontece na natureza, e estas combinações podem ser categorizadas em várias classes, dentre elas destacam-se os flavonóides, os ácidos fenólicos e os taninos, como os mais comuns antioxidantes fenólicos de fonte natural (ANGELO & JORGE, 2007).

Os flavonóides são compostos largamente distribuídos no reino vegetal, encontram-se presentes em frutas, folhas, sementes e em outras partes da planta na forma de glicosídeos (ligação com açúcares) ou agliconas (sem ligação com açúcares). Possuem baixo peso molecular, consistindo átomos de 15 carbonos, tendo em comum a estrutura C_6-C_3-C_6 (PIETTA, 2000).

Sua estrutura química consiste em dois anéis aromáticos, denominados anel A e B, unidos por três carbonos que formam um anel heterocíclico, denominado de anel C (Figura 2). O anel aromático A é derivado do ciclo acetato/malonato, enquanto o anel B é derivado da fenilalanina (MERKEN; BEECHER, 2000).

Variações em substituição no anel C padrão resultam em importantes classes de flavonóides, como flavonóis, flavonas, flavanonas, proantocianidinas, antocianidinas, catequinas e isoflavonas. Substituição dos anéis A e B originam diferenças dentro de cada classe de flavonóides (PIETTA, 2000).

A atividade antioxidante dos flavonóides depende de sua estrutura e pode ser determinada por fatores como: reatividade como doador de hidrogênio e elétrons, estabilidade do radical flavonil formado, reatividade frente a outros antioxidantes, capacidade de quelar metais de transição e interação com membranas (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

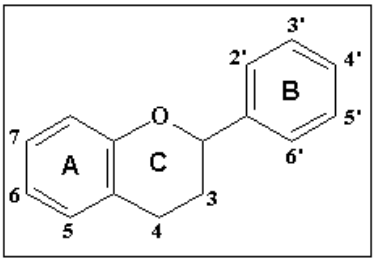

Figura 2. Estrutura química dos flavonóides. Fonte: ANGELO e JORGE (2007).

A atividade de seqüestro de radicais está diretamente ligada ao potencial de oxidação dos flavonóides e das espécies a serem seqüestradas. Quanto menor o potencial de oxidação do flavonóide, maior é sua atividade como seqüestrador de espécies reativas (RICE-EVANS; MILLER; PAGANDA, 1997).

Quanto maior o número de hidroxilas, maior a atividade como agente doador de hidrogênio e elétrons como pode ser visualizado na Figura 3. Flavonóides monohidroxilados apresentam atividade antioxidante muito baixa (CAO; SOFIC; PRIOR, 1997).

Sua capacidade de remoção de metais de transição que se encontram livres no organismo é muito importante (Figura 4), visto que esses catalisam as reações de Fenton e de Heber-Weiss (PIETTA, 2000).

Os flavonóides possuem uma capacidade de interação com biomembranas. A característica lipofílica do flavonóide indica sua incorporação pela membrana, que é o alvo da maioria das EROS (espécies reativas de oxigênio). Assim deve haver uma concentração mínima de flavonóide por ácido graxo, de modo a assegurar a presença de uma de suas moléculas próxima ao sítio de ataque da espécie reativa (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

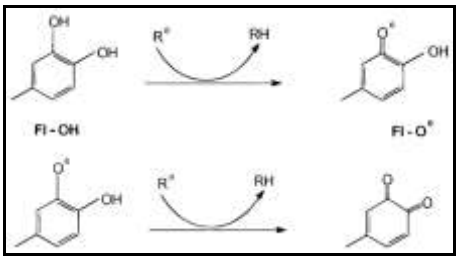

Figura 3. Sequestro de espécies reativas pelos **flavonóides. Fonte:** PIETTA (2000).

Flavonóides que apresentam açúcar na sua estrutura são muito polares, não sendo assimilados pela membrana, porém nesta forma são armazenados em vesículas, possuindo maior tempo de permanência no organismo. Aqueles que são assimilados pelas membranas exercem função de modeladores de fluidez. Desta forma os flavonóides geram um impedimento físico para difusão das espécies reativas (ARORA et al. 2000).

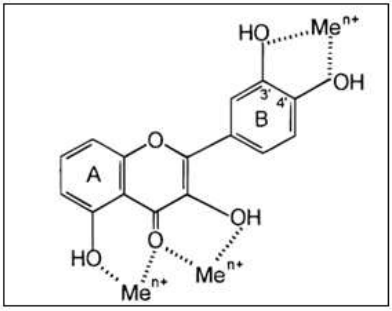

Figura 4. Sítio de ligação com **metais. Fonte: PIETTA** (2000).

Flavonóides polimetoxilados são exemplos de substâncias encontradas em frutas cítricas mais especificamente nas cascas, responsável pela resistência da planta a ataques de patógenos (JOHANN, 2003) que podem ser utilizados na formulação de antimicrobianos naturais e terem ampla utilização.

Compostos fenólicos tipo não flavonóides incluem os ácidos fenólicos, podendo ser formados a partir de duas rotas bioenergéticas: pela via do ácido chiquimico a partir de carboidratos, ou pela via do acetato-polimalato que inicia com a acetil-coenzima A e malonil-coenzima A (PIETTA, 2000; SOARES, 2002).

Ácidos fenólicos podem ser divididos em dois grupos: ácido hidroxi-benzóico e ácido hidroxicinâmico. Os derivados do ácido cinâmico são compostos aromáticos que possuem nove átomos de carbono (C_6-C_3). Os ácidos p-cumárico, ferúlico, caféico e sináptico são os ácidos cinâmicos mais comuns na natureza (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ; SANTOS, 2004; SOARES, 2004). Os derivados do ácido benzóico também são compostos fenólicos de ocorrência natural, possuindo sete átomos de carbono (C_6-C_1). Os ácidos vanílico e siríngico que têm estreita ligação com a lignina, o protocatéquico e o ácido gálico são encontrados na forma de seu dímero de condensação o ácido elágico, que constituem os taninos hidrolisáveis (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKY; SANTOS, 2004; SOARES, 2002).

Os taninos pertencem a um grupo de compostos fenólicos provenientes do metabolismo secundário das plantas. São compostos de alto peso molecular, solúveis em água, em solventes orgânicos polares, são muito reativos quimicamente, formam pontes de hidrogênio intra e intermoleculares (SARKAR & HOWARTH, 1976; DESHPANDE; CHERYAN; SALUNKHE, 1986).

Foram inicialmente identificados pelo seu sabor adstringente e pela sua capacidade de precipitar proteínas solúveis. Eles são encontrados em raízes, flores, frutos, folhas, cascas e na madeira, sendo usados para fins medicinais, na alimentação, na fabricação de bebidas e pela sua capacidade de se combinar com proteínas da pele animal inibindo o processo de putrefação, mais conhecido como processo de curtimento do couro (BARTOLOMÉ; JIMÉNEZ-RAMSEY; BUTLER, 1995).

Os taninos podem ser classificados, de acordo com sua estrutura química, em dois grupos: hidrolisáveis e condensados (MONTEIRO; ALBUQUERQUE; ARAUJO, 2005).

Os taninos hidrolisáveis são compostos que após hidrólise produzem carboidratos e ácidos fenólicos. São unidos por ligações éster-carboxila, sendo prontamente hidrolisáveis em condições ácidas ou básicas (HAGERMAN & BUTLER, 1978).

A unidade básica estrutural desse tipo de tanino é normalmente a D-glicose, com seus grupos hidroxilas esterificados pelo ácido gálico ou pelo ácido hexadiidroxifênico. Portanto os taninos hidrolisáveis são divididos, de acordo com o produto de hidrólise, em galotaninos, que produzem ácido gálico e em elagitaninos, que produzem ácido elágico (Figura 4) (NASCIMENTO & MORAIS, 1996; GALVEZ; RIEDL; CONNER, 1997).

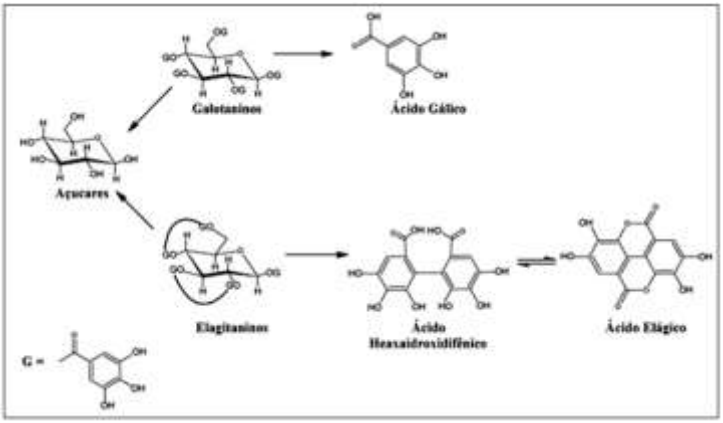

Figura 5. Taninos hidrolisáveis. Fonte**:** QUEIROZ, MORAIS, NASCIMENTO (2002).

Taninos condensados ou não hidrolisáveis são oligômeros e polímeros formados pela ligação de dois ou mais monômeros de flavan-3-ol (catequina) ou flavan-3-4-diol. Essa classe de taninos também é denominada proantocianidina devido à produção de pigmentos avermelhados da classe das antocianidinas (Figura 6) (ZUANAZZI, 2000).

Os taninos condensados podem ser classificados de acordo com a presença de OH na posição C-3 do anel B em prodelfinidina ou na ausência desta OH em procianidina. Os monômeros de procianidinas são a catequina e a epicatequina enquanto os monômeros de prodelfinidina são a galocatequina e a epigalocatequina (BRUNET & HOSTE, 2006).

Uma das mais importantes propriedades químicas dessa classe de taninos é a habilidade de formar complexos com macromoléculas tais como proteína e carboidratos, sendo

inclusive, o aspecto mais determinante dos efeitos antinutricionais e toxicológicos em pequenos ruminantes (OTERO & HIDALGO, 2004).

Os complexos formados entre taninos condensados e proteínas podem ser reversíveis ou irreversíveis. Os complexos reversíveis são estabelecidos via pontes de hidrogênio e interações hidrofóbicas, enquanto que os irreversíveis ocorrem em condições oxidativas via ligações covalentes (ZUANAZZI, 2000).

A capacidade dos taninos de formar complexos com proteínas depende de: proteínas com alto peso molecular associam-se mais fortemente aos taninos; proteínas com estruturas mais abertas e flexíveis tem mais afinidade com taninos; por outro lado as proteínas globulares por possuírem uma estrutura mais compacta têm uma menor afinidade com os taninos; as proteínas ricas em prolina são lineares, uma vez que este aminoácido não se insere em uma estrutura alfa-hélice aumentando assim, a superfície de contato do polipeptídeo, com maior probabilidade de reação (ZUANAZZI, 2000).

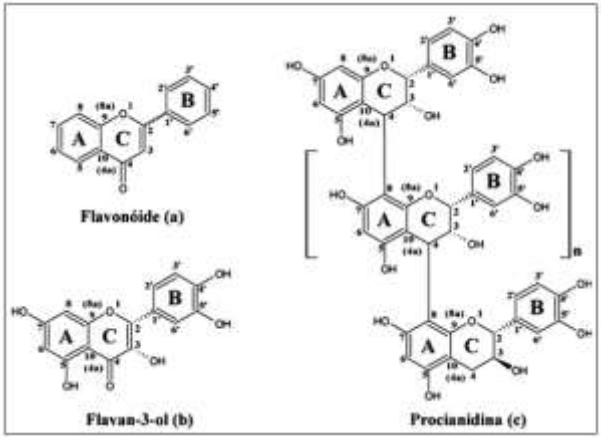

Figura6. Fórmulas estruturais: a) um flavonóide estrutural, b) flavonol- 3-ol e c) procianidina (tanino condensado). Fonte: QUEIROZ, MORAIS, NASCIMENTO (2002).

Os prováveis mecanismos responsáveis pela atividade biológica dos taninos estariam relacionados com a capacidade de formar complexos com outras moléculas incluindo polissacarídeos e proteínas além de formar complexos com íons metálicos como o ferro, manganês, cobre alumínio, e de exercer a atividade antioxidante e seqüestrador de radicais livres (OKUDA, 2005).

Estudos recentes mostram que vários taninos atuam como captadores de radicais, os quais interceptam o oxigênio ativo formando espécies estáveis (BRUNETON, 1999).

CONSIDERAÇÕES Finais

A recuperação de compostos bioativos, a partir do reaproveitamento de resíduos agroindustriais, possui caráter inovador na geração de produtos com concomitante redução de desperdícios na cadeia produtiva de alimentos e estímulo à valorização destes subprodutos.

REFERÊNCIAS

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos: Uma breve revisão. Revista Instituto Adolfo Lutz, São José do Rio Preto, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.

ARBOS, K.A.; STEVANI, P.C.; Castanha, R.F. Atividade antimicrobiana, antioxidante e teor de compostos fenólicos em casca e amêndoa de frutos de manga. Revista Ceres, v.60, n.2, p.161-165, 2013

ARORA, A. et al. Modulation of Liposomal Membrane Fluidity by Flavonoids and Isoflavonoids. Archives of Biochemistry and Biophysics, v. 373, n, 1, p. 102-109, 2000.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesas do organismo. Química Nova, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BARTOLOMÉ, B.; JIMÉNEZ-RAMSEY, L. M.; BUTLER, L. G. Nature of the condensed tannins present in the dietary fibre fractions in foods. Food Chemistry, v. 53, n. 4, p. 357-362, 1995.

BERGAMASCHI, K.B. Capacidade Antioxidante e composição química de resíduos vegetais visando seu aproveitamento. 2010. 96p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"- Universidade de São Paulo, 2011.

BERNARDI, R. Isolation and Biochemical Characterization of a Basic Myrosinase from Ripe Crambe abyssinica Seeds, Highly Specific for epi-Progoitrin, Jounal of Agricultural and Food Chemestry, v. 51, p. 2737-2744, 2003.

BRAND-WIL AMS, W.; CUVELI R, M.E ; B RSET, C. Use of a free radical method to evaluate antiioxidant activity. Food Scien and Technolo gy, v.28, p 25-30. 1995

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Saitária. Resolução CNNPA n. 12 de 1978. Disponível em http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/e57b7380474588a39266d63fbc4c6735/RESOLUCAO_12_1978.pdf?MOD=AJPERES. Acesso em 19 de setembro de 2014.

BRUNET, S.; HOSTE, H. Monomers of condensed tannins affect the larval exsheathment of parasitic nematodes of ruminants. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 54, n. 20, p. 7481-7487, 2006.

BRUNETON, J. Tanins. In Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Medicinales, p. 370–404, 1999.

CAO, G.; SOFIC, E.; PRIOR, R. L. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: Structure-activity relationships. Free Radical Biology and Medicine, v. 22, n. 5, p. 749-760, 1997.

CARTEA, M.E., AND P. VELASCO. Glucosinolates in Brassica foods: bioavability in food and significance for human health. Phytochem. Rev. 7, 213-229. 2008

CARVALHO, C.A., SILVA, M.B., OLIVEIRA, T.G., LIMA, J.M. Estudo espectrométrico de diferentes estágios fenológicos da Brassica oleracea var. Capitata. Rev. Bras. Farmacogn. Braz J. Pharmacogn. 18(2): Abr./Jun. 2008

CARVALHO, P. E. R. *Schinus terebinthifolius* Raddi: aroeira-vermelha. In: CARVALHO, P. E. R. Especies florestais brasileiras: recomendacoes silviculturais, potencialidades e uso da madeira. Colombo: EMBRAPA-CNPF / Brasilia: EMBRAPA- SPI, p. 464-469. 1994.

CAVANAGH H.M.A., HIPWELL M., WILKINSON J.M. Antibacterial activity of berry fruits used for culinary purposes. J. Med. Food.,v. 6, p. 57-61, 2003.

CORRÊA, C.B. Potencial antimicrobiano de resíduos agroindustriais sobre *Listeria monocytogenes.* 2011. 85p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"- Universidade de São Paulo, 2011.

COWAN M. M. Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbiol. Rev., 12: 564-582, 1999.

D'AGOSTINI, F.; IZZOTTI, A.; BALANSKY, R. M.; BENNICELLI, C.; DE FLORA, S.; Modulation of apoptosis by cancer chemopreventive agents. Mutat. Res., v. 59, n. 1-2, p.173-86, 2005.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N.; SANTOS, R. J. Atividade Antioxidante de Extrato de Fruto de Aroeira (Schinus terebenthifolius Raddi). Visão Acadêmica, v. 5, n. 2, p. 83-90, 2004.

DELAQUIS, P., MAZZA, G. Functional vegetable products. Technomic. Functional Foods., p.193-201, 1998.

DEMBITSKY V.M., POOVARODOM S., LEONTOWICZ H., LEONTOWICZ M., VEARASILP S., TRAKHTENGERB S., GORINSTEIN S. The multiple nutrition properties of some exotics fruits: Biological activity and active metabolites. Food Research International, v. 44, p. 1671-1701, 2012.

DESHPANDE, S. S.; CHERYAN, M.; SALUNKHE, D.K. Tannin analysis of food products. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v. 24, n. 4, p. 401-449, 1986.

DURAN, R. M.; PADILHA, R. B. Actividad antioxidant de los compuestos fenólicos. Grasas & Aceites, v. 44, n. 2, p. 101-106, 1993.

FAHEY, J. W.; ZALKMANN, A. T.; TALALAY, P. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. Phytochemistry, v. 56, n. 1, p. 5-51, 2001.

FARNHAM, M.W. Vegetable cruciferous - status report. 2003. Disponível em: lillp://www\v.arsrin.uov.npc|s/cqsreporls/crucirerl 201.htm.

FELDMANN, K.A. Cytochrome P450s as genes for crop improvement. Curr Opin Plant Biol, v. 4, p.162-7, 2001.

FENWICK, G.R., HEANEY, R.K., MULLIN, W.J., 1983. Glucosinolates and their breakdown products in food and food plants. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 18, 123–201.

FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. et al. Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. Meat Science, Alicante/Newton Abbot, v. 69, n. 3, p. 371-380, 2005.

FERREIRA, A., CHIARA, V.L., CAETANO, KUSCHNIR, M.C. Alimentação saudável na adolescência: consumo de frutas e hortaliças entre adolescentes brasileiros. Adolescência & Saúde. v. 4, n. 2, 2007.

FISHER, K., & PHILLIPS, C. A. The effect of lemon, orange, and bergamot essential oils and their components on the survival of Campylobacter jejuni, Escherichia coli O157, Listeria monocytogenes, Bacillus cereus and Staphylococcus aureus in vitro and in food systems. Journal of Applied Microbiology, v. 101, p. 1232-1240, 2006.

GALVEZ, J. M. G.; RIEDL, B.; CONNER, A. H. Analytical studies on tara tannins. Inter. Journal of the Biology, Chemistry, Physics and Technology of Wood, , v. 51, n. 3, p. 235-243, 1997.

GUIMARÃES, R. R.; FREITAS, M. C. J. de; SILVA, V. L. M. da. Bolos simples elaborados com farinha da entrecasca de melancia (Citrullus vulgaris, sobral): avaliação química, física e sensorial. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 30, n. 2, p. 354-363, 2010.

HAGERMAN, A.E.; BUTLER, L.G. Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 26, n. 4, 1978.

JOHANN, S. Atividade antimicrobiana de flavonóides polimetoxilados isolados de frutos cítricos. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. 2003.

KERMANSHAI, R.; MCCARRY, B. E.; ROSENFELD, J.; SUMMERS, P. S.; WERETILNYK, E. A.; SORGER, G. J. Benzyl isothiocyanate is the chief or sole anthelmintic in papaya seed extracts. Phytochemistry, v. 57, n. 3, p. 427-35, 200.

KIM, J. M., MARSHALL, M. R., CORNELL, J. A., PRESTON, J. F., & WEI, C. I. Antibacterialactivity of carvacrol, citral, and geraniol against Salmonella typhimurium onculture medium and on fish cubes. Journal of Food Science, v.60, p. 1364-1374, 1995

KIM, J., MARSHALL, M. R., & WEI, C.I. Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.46, p. 1739-1745, 1995.

KUROIWA, Y.; NISHIKAWA, A.; KITAMURA, Y.; KANKI, K.; ISHII, Y.; UMEMURA, T.; HIROSE, M. Protective effects of benzyl isothiocyanate and sulforaphane but not resveratrol against initiation of pancreatic carcinogenesis in hamsters.Cancer Lett., v. 241, p. 275-80, 2006.

LEE, Y.L., CESARIO, T., WANG, Y., SHANBROM, E., THRUPP, L. Antibacterial activity of vegetables and juices. Nutrition, v. 19, p. 994-996, 2003.

LIU, R.H. Potencal synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. J. Nutr. v. 134, n.12 (Suppl), p. 3479-3485, 2004.

MAHFUZUL HOQUE M.D., BARI M.L., INATSU Y., JUNEJA V.K., KAWAMOTO S. Antibacterial activity of guava (Psidium guajava L.) and neem (Azadirachta indica A. Juss.) extracts against foodborne pathogens and spoilage bacteria. Foodborn Pathog. Dis., v. 4, p. 481-488, 2007.

MARI, M.; LEONI, O.; BERNARDI, R.; NERI, F.;, PALMIERI, S. Control of brown rot on stonefruit by synthetic and glucosinolate-derived isothiocyanates. Postharvest biology and technology, v. 47, p.61-67, 2008.

MARTIN, J.G.P. Atividade antimicrobiana de produtos naturais: erva-mate e resíduos agroindustriais. 2011.100 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo, 2011.

MARTIN-LUENGO M.A., YATES M., DIAZ M., SAEZ ROJO E., GONZALES GIL L. 2011. Renewable fine chemicals from rice and citric subproducts: Ecomaterials. Applied Catalysis B: Environmental,106(3-4):488-493.

MERKEN, H. M.; BEECHER, G. R. Measurement of food flavonoids by high-performance liquid chromatography: a review. Journal of Agricultural and Food. Chemistry, v. 48, n 3, p, 577-599, 2000.

MONTEIRO, B. A. Valor nutricional de partes convencionais e não convencionais de frutas e hortaliças. 2009. 62p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2009.

MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; ARAUJO, E. L. Taninos: uma abordagem de química à ecologia. Quimica Nova, v. 28, p. 892-896, 2005.

MORANT, A. V.; JORGENSEN, K.; JORGENSEN, C.; PAQUETTE, S. M.; SÁNCHEZ-PEREZ, R.; MOLLER, B. L.; BAK, S. beta-Glucosidases as detonators of plant chemical defense. Phytochemistry, v. 69, n. 9, 1795-813, 2008.

MORRA, M. .J.; BOREK, V. Glucosinolate preservation in stored Brassicaceae seed meals. Journal of Stored Products Research, v. 46, p. 98-102, 2010.

NASCIMENTO, E. A.; MORAIS, S. A. L. Polifenóis da madeira de *Eucalyptus grandis*. Parte 1: Análise por espectroscopia e cromatografia líquida. Ciência & Engenharia, v. 5, n. 2, p. 13-18, 1996.

OERLEMANS K., BARRETT D.M., BOSCH SUADES C., VERKERK R., DEKKER M. Thermal degradation of glucosinolates in red cabbage. Food Chemistry, 95: 19–29. 2006.

OKUDA, T. Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. Phytochemistry, v. 66, n. 17, p. 2012-2031, 2005.

ONU. FAO (2013) Lança Relatório Sobre o Impacto Ambiental do Desperdício de Alimento. Acesso em mar./2014 : http://www.onu.org.br/fao-lanca-relatorio-sobre-o-impacto-ambiental-do-desperdicio-de-alimentos/

OTERO, M. J.; HIDALGO, L. G. Taninos condensados em especies forrajeras de clima templado: efectos sobre La productividad de rumiantes afectados por parasitosis gastrointestinales (una revisión). Livestock Research for Rural Development, v. 16, n. 2, p. 1-9, 2004.

PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. Journal of Natural Products, v. 63, p. 1035-1042, 2000.

PINHEIRO, B. J.; AMARO, G. B.; PEREIRA, R.B. Ocorrência e controle de nematoides em hortaliças folhosas. Brasilia: EMBRAPA, 2010. 10p. (EMBRAPA. Circular técnica, 89)

PRESTES L.C.P. Redução do aporte hídrico na pré-colheita no teor de compostos bioativos em brócolis, Pelotas, 2009.

QUEIROZ, C. R. A. A.; MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A. Caracterização dos taninos da aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva*). Revista Árvore, v. 26, n. 4, p. 485-492, 2002.

RODRIGUES, J. P. de M.; CALIARI, M.; ASQUIERI, E. R. Caracterização e análise sensorial de biscoitos de polvilho elaborados com diferentes níveis de farelo de mandioca. Ciência Rural, Santa Maria, v. 41, n. 12, p. 2196-2202, 2011.

REETZ, E.R et al. Anuário brasileiro de hortaliças 2014. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2014. 88p.:il

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANDA, G. Antioxidant Properties of phenilic compounds.Trends in Plant Science, v. 2, n. 4, p. 152-159,1997.

RYAN, T.; WILKINSON, J.M.; CAVANAGH, H.M.A. Antibacterial activity of raspberry cordial in vitro. Res. Vet. Sci., 71: 155-159, 2001

SARKAR, S. K.; HOWARTH, R. E. Specificity of vanillin test for flavanols. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 24, n. 12, p. 317-320, 1976.

SHAPIRO, T. A.; FAHEY, J. J. W.; WADE, K. L.; STEPHENSON, K. K.; TALALAY, P. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention, v.10, p. 501, 2001.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. Revista de Nutrição, Campinas, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

TAJKARIMI, M.M.; IBRAHIM, S.A., CLIVER, D. O. Antimicrobial herb and spice compounds in food. Food Control, v. 21, n. 9, p. 1199–1218, 2010.

TAWFIQ, N.; HEANEY, R. K.; PLUMB, I. A.; FENWICK, G. R.; MUSK, S. R.; WILLIAMSON, G. Carcinogenesis, v.16, p.1191. 1995.

TRÍPOLI E., LA GUARDIA M., GIAMMANCO S., DI MAJO D., GIAMMANCO M. Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties: A review. Food Chemistry, v. 204, p. 466-479, 2007.

VOLDEN, J.; BORGE, G. I.; BENGTSSON, G. B.; HANSEN, M.; THYGESEN, I. E.; WICKLUND, T. Food Chem, v. 109, 595. 2008.

ZUANAZZI, J. A. S. Flavonóides. In: SIMÕES, C.M.O. et al.Farmacognosia da planta ao medicamento. 2.ed. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000. p. 489-640.

Capítulo 11- Resistência e adaptação bacteriana aos antimicrobianos

Zanini, S.F. [1]*, Sousa, D.R.I[2], Martins, J.D.L.[2]

Resumo - O uso de antimicrobianos na produção animal é feito para fins terapêutico, metafilático, profilático e, também, como aditivos melhoradores da eficiência alimentar. Apesar dos efeitos benéficos dos antibióticos como aditivos, sua utilização vem sendo mundialmente questionada, regulamentada e até mesmo proibida. O objetivo desta revisão foi trazer informações técnicas-científicas ligadas ao uso de antibióticos como aditivo na alimentação animal. Desde 2013, seu uso como aditivo foi suspenso pela Comunidade Européia embasado pelo princípio de precaução. O Brasil e demais países como Estados Unidos, Austrália, Japão, Argentina, China, Nova Zelândia e Canadá permitem o uso de alguns antimicrobianos como aditivos na alimentação animal, exceto para as substâncias anfenicóis, tetraciclinas, beta-lactâmicos, cefalosporinas, fluoroquinolonas, quinolonas e sulfonamidas sistêmicas. Neste contexto, considera-se que o uso de antimicrobianos em medicina humana ou veterinária produz pressão seletiva que favorece a emergência de microorganismos resistentes que compromete gradativamente a antibioticoterapia. Os fitoquímicos podem tornar-se uma opção aos antibióticos pela ação antimicrobiana e por apresentarem propriedades promotoras de absorção de fármacos e/ou modificadoras da ação antibiótica.

INTRODUÇÃO

O Brasil, no cenário mundial do agronegócio se apresenta como grande produtor e exportador, sobretudo na produção animal. No 1° trimestre de 2014 foram abatidos 1,4 bilhão de cabeças de frangos, melhor desempenho entre os primeiros trimestres desde que a pesquisa foi criada em 1997. Esse resultado significou queda de 1,7% em relação ao trimestre imediatamente anterior e aumento de 5,5% na comparação com o mesmo período de 2013. O peso acumulado das carcaças foi de 3,2 milhões de toneladas no 1° trimestre de 2014, representando aumentos de 0,5% em relação ao trimestre imediatamente anterior e de 11,7% frente ao mesmo período de 2013 (IBGE, 2014).

A utilização de antibióticos como aditivos melhoradores da eficiência alimentar é uma prática comum (REGITANO & LEAL, 2010) adotada desde a década de 50 (ROCHA et al., 2010) com a finalidade de assegurar a produtividade e a competitividade do setor avícola a partir da melhoria de desempenho animal e redução de mortalidade (FUKAYAMA et al., 2005)

O uso de antimicrobianos na produção animal é feito para fins terapêutico, metafilático, profilático e, também, como aditivos melhoradores da eficiência alimentar (PALERMO-NETO, 2006; ALBUQUERQUE, 2005). Portanto, difere, da finalidade humana que os emprega apenas terapeuticamente.

Sendo assim, as dosagens de antimicrobianos são calculadas em função do uso a que se destinam. Com aditivo na ração, a dose usada é menor que aquela empregada terapeuticamente. Estima-se que animais que recebem os antibióticos como aditivos

[1]* Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Alegre, ES, Brasil. *Departamento de Medicina Veterinária, UFES, 29500-000, Alegre, ES, Brasil. E-mail: smzanini@gmail.com . Autor para correspondência.
[2]Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Vitória, ES, Brasil.

melhoradores de produção chegam a apresentar um acréscimo de até 5% no peso final (TORRES & ZARAZAGA, 2002).

O objetivo desta revisão foi trazer informações técnicas-científicas ligadas ao uso de antibióticos como aditivo na alimentação animal.

Antibióticos: aditivos promotores de produção

Os antibióticos são compostos químicos produzidos por microrganismos, principalmente fungos e bactérias, que possuem ação bacteriostática ou bactericida. Estes efeitos podem ocorrer pela interferência na síntese da parede celular, alterações na permeabilidade da membrana citoplasmática, interferências na replicação cromossômica e na síntese protéica (UTIYAMA, 2004).

Vários experimentos indicam que os antibióticos utilizados como aditivos promotores de produção proporcionam uma redução do número de bactérias aderidas à mucosa intestinal, o que reduz a competição por nutrientes com o hospedeiro, diminuição de bactérias produtoras de toxinas e amônia, que prejudicam a absorção dos nutrientes, e conseqüentemente diminuição das células inflamatórias na parede intestinal e do grau de descamação e renovação das vilosidades intestinais (IZAT et al., 1989). Além disto, a estimulação crônica do sistema imunológico pode promover a redução no consumo de ração e aumento na demanda por nutrientes que poderiam ser direcionados para o crescimento. Portanto, o controle dessas doenças sub-clínicas permite que os animais expressem ao máximo o seu potencial genético e concomitantemente reduz a contaminação das carcaças no momento do abate dos animais e, conseqüentemente, diminui o risco de toxiinfecções alimentares (ALBUQUERQUE, 2005).

As respostas fisiológicas, nutricionais e metabólicas em aves pelo uso de antibióticos como melhoradores de crescimento estão ilustradas na Tabela 1.

As bactérias Gram-positivas são os principais alvos de antibióticos promotores de produção. Estas bactérias competem com o hospedeiro pelos nutrientes e, no caso de *Clostridium perfringens*, produzem toxinas (ELWINGER et al., 1998). Além disso, os *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bifidobacterium*, *Clostridium* e *Bacteroides* podem produzir enzimas que desconjugam os sais biliares, resultando em redução da emulsificação e absorção de lipídeos (TANNOCK, DASHKEVICZ & FEIGHNER 1989).

Desde 1986 a Suécia aboliu o uso de qualquer antimicrobiano como promotor de produção. A Dinamarca fez o mesmo para avoparcina e virginiamicina a partir de 1995 e a União Européia aderiu em 1997 para a avoparcina e mais tarde para outras quatro classes de antibióticos: bacitracina, espiramicina, tilosina e virginiamicina (CASEWELL et al., 2003). No ano de 2013 todos os países da Comunidade Européia deixaram de utilizar antibióticos como promotores de produção, restringindo o uso apenas para fins terapêuticos (EC, 2003). A decisão tomada pela União Européia não foi embasada em avaliação de risco mas no princípio de precaução.

No Brasil, as ações de monitoramento e controle foram mais demoradas. Iniciaram a partir do ano de 2000, com a criação do Grupo de Trabalho sobre Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos, através da resolução RDC n° 05/2000, formado pela sociedade organizada, universidades, institutos de pesquisa, órgãos de vigilância sanitária e laboratórios oficiais de saúde pública bem como, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2004; SPISSO, NÓBREGA & MARQUES, 2009). Este Grupo de Trabalho determinou ações focadas no monitoramento de resíduos de antibióticos em produtos de origem animal e na avaliação do perfil de resistência de bactérias isoladas de carne de frangos, principalmente de *Salmonella* spp e *Enterococcus* spp. A partir destes delineamentos, a ANVISA criou o Programa de Monitoramento da Prevalência e da Resistência Bacteriana em Frango (PREBAF), instituído no ano de 2004. Este Programa conta com a parceria do Instituto

Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), que faz a coordenação técnica; Instituto Oswaldo Cruz (IOC) e Instituto Adolfo Lutz (IAL), que são laboratórios de referência; Vigilância Sanitária (VISA) e Laboratórios Oficiais de Saúde Pública (LACENS) (BRASIL, 2004). Paralelamente, o MAPA, por recomendação da Procuradoria da República, também instituiu, um Grupo Técnico (GT) a partir da portaria nº 808/03. Este grupo, formado por universidades, instituições dos setores da agricultura e saúde, deveria analisar e reavaliar o uso das substâncias carbadox, olaquindox, bacitracina de zinco, espiramicina, virginiamicina e fosfato de tilosina como aditivos nas rações para animais (BRASIL, 2003; SPISSO, NÓBREGA & MARQUES, 2009).

Tabela 1. Respostas fisiológicas, nutricionais e metabólicas pelo uso de antibióticos promotores de crescimento na dieta de aves

Respostas fisiológicas	*Respostas nutricionais*	*Respostas metabólicas*
↓ do tempo de trânsito do alimento no intestino	↑ retenção de energia	↓ Produção de amônia
↓ diâmetro da parede intestinal	↓ perda de energia intestinal	↓ produção de aminas tóxicas
↓ Espessura da parede intestinal	↑ retenção de proteína	↓ produção de α-tóxicas
↓ peso intestinal	↑ fornecimento de aminoácidos	↓ oxidação de ácidos graxos
↑ capacidade de absorção intestinal	↑ absorção de vitaminas	↓ excreção fecal de gorduras
↓ umidade fecal	↓ síntese de vitaminas pelo hospedeiro	↑ síntese de proteínas hepáticas
↓ renovação de células da mucosa	↑ absorção de microelementos	↑ fosfatase alcalina intestinal
↓ estresse	↑ absorção de ácidos graxos	↓ urease intestinal
↓/↑ ingestão de alimentos	↑ absorção de glicose	
	↑ absorção de cálcio	
	↑ nutrientes plasmáticos	

↓ denota redução; ↑ denota aumento
Fonte: Adaptado de MILTENBURG (2000)

A Instrução Normativa (IN) nº 11/04 baniu o uso do olaquindox como promotor de produção e no mesmo ano, através de ação civil pública contra a União, determinou que o MAPA cancelasse o registro de carbadox pois, o mesmo representa risco pela sua genotoxicidade e potencial carcinogênico (IDEC, 2004; SPISSO, NÓBREGA & MARQUES, 2009).

Com a portaria de nº 40/06, o MAPA pretendeu avaliar as substâncias avilamicina, flavomicina, enramicina, monensina e maduramicina. A partir da Instrução Normativa nº 26 de 09 de julho de 2009 o MAPA proibiu o emprego das substâncias anfenicóis, tetraciclinas, beta-

lactâmicos (benzilpenicilâmicos e cefalosporinas de 3ª e 4ª gerações), fluoroquinolonas, quinolonas e sulfonamidas sistêmicas, como aditivos alimentares promotores de desempenho, permitindo apenas o seu uso terapêutico (BRASIL, 2009).

O MAPA autorizou a utilização de cerca de 15 compostos antimicrobianos como aditivos na alimentação animal e outros 50 para fins terapêuticos (BRASIL, 2008), apresentado no Tabela 2. A maioria, se não todos estes antimicrobianos, são usados livremente em países como Estados Unidos, Austrália, Japão, Argentina, China, Nova Zelândia, Canadá e outros menos representativos.

Neste contexto, o MAPA segue criteriosamente as recomendações da OIE - Organização Mundial da Saúde Animal, da FAO – Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação e da OMS – Organização Mundial da Saúde em questões relativas à segurança dos alimentos; mais especificamente, o MAPA segue as recomendações do *Codex alimentarius* da FAO\OMS do qual o Brasil é signatário.

As decisões do *Codex alimentarius* são embasadas na ciência: "*Risk assessment should be soundly based on science"* (FAO, 2006). Neste sentido, o *Codex* finalizou a redação de um Guia para Análise de Risco de Resistência Bacteriana (FAO, 2009).

Além disso, o MAPA através do Programa Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC) em alimentos de origem animal (instituído pela Portaria Ministerial de 06\01\1986) analisa a qualidade da carne, leite, pescado e mel no tocante à presença e quantidade de resíduos de substâncias químicas. Este programa, executado pela Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA) tem por objetivo o controle e a vigilância de resíduos de medicamentos veterinários, de agroquímicos e de contaminantes em alimentos garantindo, desta forma a inocuidade dos alimentos provenientes de animais tratados para os consumidores assim como o uso correto deles como por exemplo, pela atenção aos períodos de carência estabelecidos para os antimicrobianos usados em produção animal.

Neste contexto, vale ressaltar que nem todos os resíduos presentes em tecidos de animais tratados com medicamentos veterinários são perigosos à saúde do consumidor. Na verdade, alguns deles são inócuos por serem componentes nutricionais ou produtos endógenos ao organismo humano; outros apresentam Limites Máximos de Resíduos (LMRs) estabelecidos internacionalmente pela Comissão do JECFA – *Joint Expert Committe on Food Additives* do *Codex alimentarius*, da qual o Brasil é signatário.

A ingestão de quantidades de resíduos de medicamentos veterinários inferiores aos valores de LMR fixados pelo *Codex alimentarius* são seguras ao consumidor (FAO, 2006), em decorrência de que valores residuais de antimicrobianos inferiores à Ingestão Diária Aceitável microbiológica não tem qualquer possibilidade de exercer pressão de seleção em bactérias indígenas do trato gastrintestinal humano (FAO, 2006)**.**

Tabela 2. Lista de antimicrobianos autorizados pelo MAPA para utilização em frangos de corte para aumento da taxa de ganho de peso e melhoria da eficiência alimentar (BRASIL, 2008).

Antimicrobianos	Teor em ppm (g/ton de ração)
Avilamicina	2,5 a 10
Bacitracina Metileno Disalicilato	4 a 55
Bacitracina de Zinco	4 a 55
Colistina (Sulfato de)	2 a10
Clorexidina (Cloridrato de)	10 a 20
Enramicina	5 a 10
Espiramicina	5
Flavomicina	1 a 2
Halquinol (Clorohidroxiquinolina)	15 a 30
Lincomicina	2,2 a 4,4

Tilosina (Fosfato ou Tartarato de)	4 a 55
Virginiamicina	5,5 a 16,5

Fonte: adaptado a partir de http://www.agricultura.gov.br/portal/page/portal/Internet-MAPA/paginainicial/animal/alimentacao

Resistência microbiana aos antibióticos

Apesar dos efeitos benéficos dos antibióticos como aditivos, sua utilização vem sendo mundialmente questionada, regulamentada e até mesmo proibida devido à vários fatores como a possibilidade de seleção de cepas bactérias patogênicas resistentes aos antibióticos utilizados na terapêutica humana e veterinária (FLEMMING, 2005); a possibilidade de ocorrência da resistência cruzada; e a exigência de produtos livres de resíduos de antibióticos pelo mercado consumidor (SALEHA e al., 2009).

A literatura vem relatando que a seleção de bactérias resistentes aos antimicrobianos está relacionada com o uso indiscriminado de antibióticos no tratamento de doenças infecciosas em seres humanos assim como pelo uso de antibióticos como aditivos na produção animal (TURNIDGE, 2004). Neste caso, algumas destas substâncias utilizadas em animais apresentam compostos químicos similares aos aplicados em seres humanos, o que pode acarretar em resistência cruzada (WHO, 2004; BRASIL, 2004; REGITANO; LEAL, 2010).

Sabe-se que a resistência aos antibióticos pode ser "intrínseca" ou "adquirida" (ANADÓN et al., 2005). Intrínseca ou "natural" é quando a resistência é inerente a uma espécie bacteriana e implica na ausência do sítio receptor ou uma baixa afinidade pelo sítio receptor, ou uma baixa permeabilidade celular, ou uma inativação do antibiótico por enzimas como as beta-lactamase (penicilinase), que destrói o antibiótico ou pela presença de mecanismos de efluxo (bombas).

A resistência adquirida aos antibióticos ocorre por meio da mutação de genes pré-existentes ou por transmissão horizontal (NORMARK; NORMARK, 2002). Este tipo de resistência é descrita por EDENS (2003) como sendo decorrente do aumento da resistência à absorção do antibiótico pela parede celular, anulando total ou parcialmente o seu efeito; aumento do metabolismo do antibiótico com sua transformação em produto não lesivo às bactérias e por último a resistência é adquirida pela transformação em metabólicos alternativos que permite aos microrganismos uma coexistência com a droga.

Desde o inicio do uso dos antibióticos ou mesmo antes da chamada “Era” antimicrobiana, se admite que os genes de resistência já existissem e com origem, sobretudo, nos próprios microrganismos produtores de antibióticos (ALONSO; SANCHEZ; MARTINEZ, 2001). Esses microrganismos se distribuem no ambiente e, o uso de antimicrobianos de forma terapêutica e como aditivo alimentar na dieta animal, exerceu uma forte pressão sobre os mesmos, gerando uma seleção dos genes de resistência (LESTER et al., 1990). Espécies de *Salmonella* (THRELFALL, 2002), *Campylobacter* (ENDTZ et al., 1991), *Escherichia coli* (SHERE; BARTLETT; KASPAR, 1998) e *Enterococcus* (MACDONALD et al., 1997) são exemplos de bactérias que se mostraram resistentes a partir do uso de antibióticos na alimentação animal.

Vários são os processos pelos quais os microrganismos e, principalmente, as bactérias se mostram resistentes. Mesmo se admitindo que as mutações representem as causas primárias do surgimento de genes de resistência a antibióticos (MARTINEZ; BAQUERO, 2000), as transferências horizontais entre microrganismos, sobretudo para bactérias patogênicas representam uma possibilidade de aquisição desses genes (OCHMAN; LAWRENCE; GROISMAN, 2000; ROE; PILLAI, 2003).

Portanto, além da mutação, que é um processo complexo regulado por vários fatores como a estrutura e fisiologia celular, genética bacteriana e dinâmica populacional (MARTINEZ; BAQUERO, 2000), há outros processos tais como, transformação (onde a

bactéria adquire o DNA do ambiente), conjugação (aquisição de plasmídeo por contato, possibilitando replicar mecanismos de resistência independente do cromossoma do hospedeiro; este processo é denominado de resistência múltipla podendo ocorrer entre diferentes bactérias) e transdução (envolve a participação de um bacteriófago) (ROE; PILAI, 2003; EDENS, 2003). Os transposons, que representam uma sequência de genes flanqueados por duas sequências de inserção, também estão relacionados à transferência de resistência de uma bactéria para outra (ROE; PILAI, 2003). São elementos que tem a capacidade de se mover de um local para outro dentro do mesmo genoma ou mesmo, entre genomas de células diferentes (OCHMAN; LAWRENCE; GROISMAN, 2000).

Outra importante questão quanto ao comportamento de resistência bacteriana aos antimicrobianos é o fato de acontecer mesmo na ausência de uma pressão seletiva por parte dos antibióticos. Pode acontecer dos genes que dão resistência à antibióticos estarem acompanhando outras sequências gênicas que conferem alguma vantagem ecológica à bactéria e, uma vez selecionada para esta característica, o gene para resistência antibióticos poderá se perpetuar (ALONSO; SANCHEZ; MARTINEZ, 2001).

Como resultado da exposição a antibióticos, o nível de resistência de bactérias isoladas da microbiota intestinal de humanos e animais tem aumentado (VAN DEN BOGAARD et al., 2002). Estas bactérias se tornam, portanto, um indicador de como a pressão seletiva exercida pelo uso de antibióticos pode influenciar uma população (LESTER, 1990).

Portanto, a utilização de antimicrobianos deve sempre ser monitorada para que se controle a possibilidade de resistência cruzada entre patógenos humanos e animais (BLANCO et al., 1997). Avoparcina e vancomicina (AARESTRUP, 1996), tilosina/espiramicina e eritromicina (JENSEN et al., 1999) e avilamicina e everninomicina (AARESTRUP, 1998) são alguns exemplos dessa relação de resistência entre cepas bacterianas isoladas de humanos e animais. Na Tabela 3 estão apresentadas alguns exemplos de resistência microbiana aos antibióticos.

Tabela 3. Resistência microbiana aos antibióticos como promotores de crescimento

Classes dos antimicrobianos	*Antibiótico como aditivo promotor crescimento*	*Antibióticos terapêutica humana – Resistência Cruzada*	*Resistência adquirida*
Polipeptideo cíclico	Bacitracina	Enrofloxacina Bacitracina	*Enterococcus faecalis*
Oligossacarideo	Avilamicina	Everninomicina	*Enterococcus faecalis*
Glicopeptideo	Avoparcina	Vancomicina e Teicoplamina	*Enterococcus faecalis*
Macrolideos	Espiramicina Tilosina	Eritromicina, pristinamicina dalfopristina/quinupristina	*Pneumococcus* spp
Estreptogramina	Virginiamicina	Pristinamicina e a associação quinupristina-dalfopristina	*Enterococcus* spp
Lincosamidas	Lincomicina	lincomicina, clindamicina.	*Coliformes*
Quinoxalina-di-N-óxido	Olaquindox Carbadox	Quinolonas	*E. coli*
Flavofosfolipol	Flavomicina e bambermicina	Colistina	*Enterococcus faecalis*
Ionóforo	Monensina Salinomicina	------ ------	*Enterococcus* spp.

Fonte: Adaptado de SILVA (2004)

Dos exemplos de resistência cruzada que mais chamam atenção, inclusive por representar risco de morte à espécie humana, é o caso dos *Enterococcus* spp, sobretudo *E. faecalis* e *E. faecium*, resistentes à avoparcina/vancomicina (VRE) e teicoplanina (MAcDONALD et al., 1997; HUYCKE; SAHM; KLEIN, 2003). De acordo com BAGER et al. (1997), a partir de estudo com frangos e suínos submetidos à dieta onde o glicopeptídeo avoparcina foi usado como promotor de crescimento, isolaram *E. faecium* resistentes a este antibiótico, assim como, reconheceu que estas mesmas cepas também apresentavam altos níveis de resistência à vancomicina sugerindo que a resistência possa ser mediada pelos mesmos genes. Trabalho semelhante, conduzido por AARESTRUP et al. (1996), encontrou 221 cepas de *E. faecium* e duas (2) cepas de *E. faecalis*, isoladas de fezes de frangos, suínos, bovinos e humanos, resistentes aos glicopeptídeos vancomicina e avoparcina. Além disso, a presença dos genes van A, van R e van X nesses isolados resistentes, permitiu aos autores afirmar que o transposon (*Tn 1546*) previamente descrito seja o responsável por esta resistência.

O transposon (*Tn 1546*) foi originalmente detectado no plasmídeo (*pIP816*) isolado a partir da bactéria *Enterococcus faecium* BM4147, sendo responsável por codificar nove polipeptídeos associados a diversas funções: função de transposição (ORF1 e ORF2); regulação da expressão dos genes de resistência (Van R e Van S); síntese do depsipeptideo D-alanina-D-lactato conferindo resistência aos glicopeptídeos (Van H, Van A e Van X) e hidrólise de alguns precursores do peptideoglicano (ARTHUR; COURVALIN, 1993). Esses peptídeos agem conferindo um alto nível de resistência à vancomicina (ARTHUR et al., 1993).

Seis fenótipos de resistência aos glicopeptídeos são descritos: VanA, que confere alto nível de resistência à vancomicina (CIM ≥64 µg/mL) e teicoplanina (CIM ≥16 µg/mL) mediado por plasmídeo (ARTHUR; COURVALIN, 1993); VanB (CIM 4 à ≥1000 µg/mL) com resistência a vancomicina e sensibilidade à teicoplanina, podendo haver transferência de genes de resistência por conjugação (QUINTILIANI; COURVALIN, 1994); VanD se caracteriza por apresentar moderado nível de resistência à vancomicina e baixo nível de resistência ou sensibilidade à teicoplanina (PERICHON; REYNOLDS; COURVALIN, 1997). O quarto fenótipo, VanC revela resistência intrínseca à vancomicina (CIM faixa de 4 à 32 µg/mL) e sensibilidade à teicoplanina (BILLOT-KLEIN et al., 1994). *Enterococcus* que apresentam o fenótipo VanC apresentam um precursor da síntese do peptideoglicano terminado em D-alanina-D-serina, com baixa afinidade pela vancomicina (REYNOLDS et al., 1994). Há ainda os fenótipos Van E e G que apresentam um nível reduzido de resistência a vancomicina (CIM <16 µg/mL) (MCKESSAR et al., 2000).

Outras bactérias gram positivas também podem apresentar resistência intrínseca aos glicopeptídeos como em *Leuconostoc* spp e *Lactobacillus* spp, por estas apresentarem no peptídeo a terminação D-alanina-D-lactato, conferindo menor afinidade aos antibióticos deste grupo (BILLOT-KLEIN et al., 1994). Alguns trabalhos demonstram que "*in vitro*" a transferência da resistência aos glicopeptídeos é possível (KLARE et al., 1992). Na verdade, não existem barreiras para que os genes de resistência aos glicopeptídeos possam ser transferidos de *Enterococcus* para outras bactérias gram positivas. *Arcanobacterium haemolyticum* e *Cellulomonas turbata* apresentam genes relacionados ao van A e *Streptococcus bovis* apresenta genes relacionados ao van B, sendos estes microrganismos isolados de fezes de pacientes no Reino Unido e França, respectivamente (POWER et al., 1995; POYART et al., 1997).

Enterococcus spp. isolados de animais submetidos à alimentação com promotores de produção, se mostram resistentes a vários outros antimicrobianos. Resistência à tilosina e bacitracina (LINTON; HINTON; CHALABY, 1985), eritromicina e quinupristina/dalfopristina (VAN DEN BOGAARD et al., 2002) são apenas alguns exemplos.

BARTON (2000) relataram que as bactérias resistentes podem ser transferidas de animais para seres humanos, especialmente nos indivíduos que trabalham diretamente com

animais ou em indústrias de produtos de origem animal. A resistência também pode ser transferida para outros membros da família *Enterobacteriaceae* (BREMNER, 1981).

Em relatórios da Agência Européia de Segurança Alimentar - European Food Safety Agency (EFSA), ha evidências cientificas que o aumento da resistência antibiótica em bactérias patogênicas também pode também estar relacionado ao uso dos biocidas (desinfetantes, antisépticos e preservativos) que compartilham o mesmo mecanismo de ação e propriedades e que, portanto, indica que a bactéria desenvolve os mesmos mecanismos de sobrevivência (SCENIHR, 2009).

Neste contexto, há de se considerar a resistência dos oocistos (forma de transmissão dos coccídeos) aos desinfetantes. Assim, o controle dessa doença tem sido realizado através da adição de produtos anticoccidianos na ração (Bellaver; Fávero; Figueiredo, 2005).

A manutenção da resistência aos antibióticos é um processo que exige gastos expressivos de energia pelas bactérias e a remoção ou troca do antibiótico e sua substituição por outra droga pode agravar o problema pelo aparecimento de bactérias resistentes a várias drogas ao mesmo tempo (EDENS, 2003).

Extratos vegetais

Com a proibição do uso de antibióticos como promotores de crescimento na produção animal pela Comunidade Européia (BRUGALLI, 2003), houve estímulo para a busca de agentes não menos efetivos, mas reconhecidos como seguros (MENTEN, 2001), como os extratos vegetais (SILVA et al., 2011). Os fitoquímicos tornaram-se uma opção aos antibióticos por promoverem entre outros efeitos, alterações na microbiota intestinal a partir de controle de patógenos (ZANINI et al., 2006; SILVA et al., 2010).

Dentre estes, destacam-se os óleos essenciais, constituídos por uma combinação de várias unidades de isoprenos (C_5H_8), os quais formam os terpenos, que podem sofrer modificações enzimáticas, por meio da adição de moléculas de oxigênio e remoção de grupos metil, originando os terpenóides (CABALLERO et al., 2003). O carvacrol é um monoterpenóide fenólico isolado do orégano, sua atividade antimicrobiana está relacionada ao aumento da fluidez da membrana plasmática, devido a alterações na composição dos ácidos graxos da membrana, promovendo um aumento da permeabilidade a cátions monovalentes (H^+ e K^+) (HYLDGAARD et al., 2012). Já o citral, outro derivado terpenóide, pode ser isolado do campim-limão (capim cidreira), sendo composto por uma combinação de dois isômeros: α-citral (geranial) e o β-citral (neral) (SHAH et al., 2011).

Óleos essenciais são constituídos por elementos voláteis que estão relacionados com diversas funções necessárias à adaptação e sobrevivência vegetal, exercendo papel fundamental na defesa contra microrganismos (FABIANE et al., 2008). Em muitos casos essas substâncias servem para proteger os vegetais de predadores que podem ser microrganismos e insetos. Alguns contribuem com o odor (terpenos) e outros como pigmentos (quinonas e taninos). Os princípios ativos são constituídos por moléculas de baixo peso molecular oriundo do metabolismo secundário das plantas. São glicosídeos, alcalóides, (alcoóis, aldeídos, cetonas, éteres, ésteres, e lactonas), compostos fenólicos e polifenólicos (quinonas, flavonas, taninos e cumarinas) terpenóides (sequiterpenos, monoterpenos e esteróides), mucilagens, saponinas e flavonóides (SHER, 2009). Fatores climáticos, altitude, nutrientes e disponibilidade de água, interferem na produção e acúmulo dos óleos essenciais nas plantas (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

O mecanismo pelo qual a maioria dos óleos essenciais exercem ação antimicrobiana é através de sua atividade na estrutura da parede celular bacteriana, desnaturando e coagulando as proteínas. Mais especificamente, atuam alterando a permeabilidade da membrana citoplasmática por íons hidrogênio (H^+) e potássio (K^+). A alteração do gradiente iônico conduz a deterioração

dos processos de geração de energia microbiana e consequentemente morte bacteriana (DORMAN; DEANS, 2000). Os mesmos autores sugerem que o rompimento das paredes celulares das bactérias se deve ao caráter lipofílico dos óleos essenciais que se acumulam nas membranas. As bactérias gram-negativas possuem uma membrana externa que contém lipopolissacarídeos, formando uma superfície hidrofílica. Este caráter hidrofílico cria uma barreira à permeabilidade das substâncias hidrofóbicas como os óleos essenciais. Isto poderia explicar a freqüente resistência das bactérias gram-negativas ao efeito antimicrobiano dos óleos essenciais (CHAO; YOUNG; OBERG, 2000). Outros mecanismos de ação podem estar relacinados a prejuízos na absorção de nutrientes, síntese de DNA, RNA e proteínas pelas células bacterianas (LAMBERT et al., 2001).

Vários são os trabalhos que demonstram ação inibitória de óleos essenciais ou mesmo de suas frações, contra microrganismos, sejam eles, bactérias, fungos ou vírus. Óleos essenciais extraídos de várias plantas da flora brasileira e/ou mundial têm mostrado eficiência, tais como: *Lippia sidoides* contra *Staphylococcus aureus* (OLIVEIRA et al., 2006); *Lantana* sp contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (COSTA et al., 2009); *Alpinia zerumbet*, ação contra bactérias e fungos (*Cryptococcus neoformans* e *Candida albicans*) (VICTORIO et al., 2009); *Schinus terebinthifolius* Raddi contra cepas bacterianas e fúngicas (LIMA et al., 2004) e *Glycyrrhiza glabra* atuando em vírus RNA (polio vírus) e DNA (herpes vírus) (BADAN, 1994).

Em experimento conduzido por SILVA et al (2010) com adição de óleo essencial de frutos de aroeira vermelha como promotor de produção, os animais tratados com o óleo, em comparação com o grupo controle (sem promotor de crescimento), apresentaram índices zootécnicos (conversão alimentar, ganho de peso e peso final) superiores, sugerindo uma promissora indicação do mesmo como substituto dos promotores convencionais a base de antibióticos. Quando comparados, grupos de frangos que receberam óleos essenciais de alecrim, sávia, orégano e extrato de pimenta como promotores de produção, em relação àqueles que receberam antibióticos os parâmetros, ganho de peso e peso final foram similares para os dois tratamentos (TRAESEL et al., 2010). Em contrapartida, resultados encontrados por TOLEDO et al. (2007) e SILVA et al. (2011) também utilizando extratos vegetais e antibióticos como promotores de produção, não encontraram diferenças significativas entre estes e o grupo sem promotores, justificando a falta de desempenho pelo baixo desafio sanitário que os animais foram submetidos.

Associação entre fitoquímicos e antibióticos

A pesquisa por produtos naturais que apresentem propriedades antimicrobianas associadas às propriedades promotoras de absorção de fármacos e/ou modificadoras da ação antibiótica vem sendo investigadas.

Os componentes químicos de plantas podem atuar como modificadores de atividade antibiótica não apenas como inibidores de bomba de efluxo (SILVA et al., 2009), mas também podem interagir com antibióticos, muitas vezes por mecanismos ainda não elucidados (GIBBONS, 2005). “Antibióticos não convencionais”, “adjuvantes de antibióticos” e “modificadores de atividade antibiótica” são termos usados para drogas que aumentam a atividade de (ou mesmo revertem a resistência bacteriana a) certos antibióticos como alguns fitoquímicos, inibidores da bomba de efluxo, tais como os diterpenos, alcalóides e flavonóides metoxilados. Ha três tipos de interferência que podem ocorrer entre produtos naturais e antibióticos – sinergismo, aditividade, indiferença, antagonismo (STAVRI et al., 2007).

Alguns estudos têm demonstrado que tantos os óleos essenciais como seus componentes individuais apresentam efeitos sinérgicos com os antibióticos, o que aumenta sua expectativa de uso combinado. Por exemplo, tem sido descrito que o óleo essencial de *Pelargonium graveolens* aumenta a atividade da norfloxacina sobre *B. cereus* e *S. aureus*

(ROSATO et al., 2007), que o cinamaldeido e a clindamicina apresentam efeitos sinérgicos frente a *Clostridium difficile* (SHAHVERDI et al., 2007), e que o óleo essencial de *Zataria multiflora* melhora a atividade da vancomicina sobre *S. aureus* (MAHBOUBI e GHAZIAN-BIDGOLI, 2010).

De acordo com AARESTRUP (2000) o monitoramento da resistência microbiana aos antibióticos pode ser realizado a partir da determinação da concentração inibitória mínima. ZANINI et al. (2014) avaliou a sensibilidade das bactérias *Listeria innocua* (*L. innocua*) e *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes)* aos antibióticos (eritromicina, bacitracina e colistina) semeadas em meio de cultura suplementado com os terpenos, citral e carvacrol. A presença de terpenos nos meios de cultivo de *L. monocytogenes* e *L. innocua* resultou em uma redução da CIM de todos os antibióticos testados. Estes efeitos foram dependentes da concentração de terpenos presentes no meio de cultura. A combinação de citral e carvacrol potenciou a actividade antibiótica, reduzindo os valores de CIM de bacitracina e colistina de 32,0 e 128,0µgmL^{-1} a 1,0 e 2,0µgmL^{-1}, respectivamente. Assim, ambas as espécies de *Listeria* tornaram-se mais suscetíveis a essas drogas. Desta forma, a colistina e bacitracina a resistência de *L. monocytogenes* e *L. innocua* a colistina e bacitracina foi revertida invertida na presença de terpenos. Os resultados obtidos neste estudo mostraram que os fitoquímicos puderam potenciar a atividade antibiótica, reduzindo os valores de CIM de *L. monocytogenes* e *L. innocua*.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de antimicrobianos em medicina humana ou veterinária produz pressão seletiva que favorece a emergência de microorganismos resistentes que compromete gradativamente a antibioticoterapia. Os fitoquímicos podem tornar-se uma opção aos antibióticos pela ação antimicrobiana e por apresentarem propriedades promotoras de absorção de fármacos e/ou modificadoras da ação antibiótica.

REFERÊNCIAS

AARESTRUP, F. M. Association between decreased susceptibility to a new antibiotic for treatment of human diseases, everninomicin (SCH 27899), and resitance to an antibiotic used for growth promotion in animals, avilamycin. Microbial Drug Resistance. v. 4, p. 137-141, 1998.

AARESTRUP, F. M.; AHRENS, P.; MADSEN, M.; PALLESEN, L. V.; POULSEN, R. L.; WESTH, H. Glycopeptide susceptibility among Danish *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* isolates of animal and human origin and PCR identification of genes within the VanA cluster. Antimicrobial Agents Chemotherapy, v. 40, p. 1938-1940, 1996.

AARESTRUP, F. M.; KRUSE, H.; TAST, E.; HAMMERUM, A. M.; JENSEN, D. L. B. Associations between the use of antimicrobial agents for growth promotion and the occurrence of resistance among *Enterococcus faecium* from broilers and pigs in Denmark, Finland, and Norway. Microbial Drug Resistance. 6:63–70, 2000.

ALBUQUERQUE R. Antimicrobianos como promotores do crescimento. In: Palermo-Neto, J, Spinosa HS e Górniak SL. Farmacologia Aplicada à Avicultura. 1ª Ed. Roca Ed. São Paulo, pp 149-159. 2005

ALONSO, A.; SANCHEZ, P.; MARTINEZ, J.L. Environmental selection of antibiotic resistance genes-Minireview. Environmental Microbiology. v.3, n. 1, p. 1-9, 2001.

ANADÓN A, ABROIX ARZO M, BORIES G, et al. Opinionof the FEEDAP Panel on the updating ofthe criteria used in the assessment of bacteriafor resistance to antibiotics of human or veterinaryimportance. European Food Safety Authority Journal, v. 223, p. 1–12, 2005.

ARTHUR, M.; COURVALIN, P.Genetics and Mechanisms of Glycopeptide Resistance in Enterococci. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, v. 37, n. 8, p. 1563-1571, 1993.

ARTHUR, M.; MOLINAS, C.; DEPARDIEU, F.; COURVALIN, P. Characterization of Tn1546, a Tn3-Related Transposon Conferring Glycopeptide Resistance by Synthesis of depsipeptide Peptidoglycan Precursors in *Enterococcus faecium* BM4147. Journal of Bacteriology, v. 175, n. 1, p. 117-127, 1993.

BAGER, F.; MADSEN, M.; CHRISTENSEN, J.; AARESTRUP, F. M. Avoparcin used as a growth promoter is associated with the occurrence of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* on Danish poultry and pig Farms. Preventive Veterinary Medicine, v. 3, n. 1, p. 95- 11, 1997.

BARTON, M. D. Antibiotic use in animal feed and its impact on human health. Nutrition Research Reviews, v. 13, p. 279-299, 2000.

BILLOT-KLEIN, D.; GUTMAN, L.; SABLE, S.; GUITTET, E.; VAN HEIJENOORT, J. Modification of peptidoglycan precursors is a common feature of the low-level vancomycin-resistant VANB-type Enterococcus D366 and the naturally glycopeptide-resistant species *Lactobacillus casei*, *Pediococcus pentosaceus*, *Leuconostoc mesenteroides*, and *Enterococcus gallinarum*. Journal of Bacteriology, v. 176, p. 2398–2405, 1994.

BLANCO, J. E.; BLANCO, M.; MORA, A.; BLANCO, J. Prevalence of bacterial resistance to quinolones and other antimicrobials among avian Escherichia coli strains isolated from septicemic and healthy chickens in Spain. Journal of Clinical Microbiology, v. 35, n. 8, p. 2184-2185, 1997.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Programa Nacional de Monitoramento da Prevalência e da Resistência Bacteriana em Frangos-PREBAF. Manual de Procedimentos. Primeira versão revisada, julho/2004.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa n. 26. Aprova o regulamento técnico para a fabricação, controle de qualidade, comercialização e o emprego de produtos antimicrobianos de uso veterinário. Diário Oficial da União. 09 julho de 2009, disponível em http://www.fiscolex.com.br/doc 2181363 INTRUÇÃO NORMATIVA 26 (9 de julho de 2009. Aspx), acesso em 19 de novembro de 2010.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Portaria nº 808. Institui Grupo de Trabalho para analisar e reavaliar o uso das substâncias químicas Carbadox, Olaquindox, Bacitracina de Zinco, Espiramicina, Virginiamicina e Fosfato de Tilosina como aditivos de rações para animais. Diário Oficial da União.10, 2003.

BREMNER, A.S. Higiene e Inspeccion de carne de aves. Zaragoza: Editorial Acribia, 1981. 209p.

BRUGALLI, I. Alimentação alternativa: a utilização de fitoterápicos ou nutracêuticos como moduladores da imunidade e desempenho animal. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS, 2003, Campinas, SP. Anais... Campinas: CBNA, 2003. p. 167-182.

CABALLERO, B., TRUGO, L.C., FINGLAS, P.M. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition. Amsterdam: Academic Press. 2003.

CASEWELL, M; FRIIS, C.; MARCO, E.; MCMULLIN, P.; I. PHILLIPS. The European ban on growth-promoting antibiotics and emerging consequences for human and animal health. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, v.52, p.159–161, 2003.

DORMAN, H. J. D.; DEANS, S. J. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology. v. 88, p. 308-316, 2000.

EDENS, F.W. An alternative for antibiotic use in poultry: Probiotics. Brazilian Journal of Poultry Science, v.5, n.2, p.75-97, 2003.

ELWINGER, K., E. BERNDTSON, B. ENGSTRO, M, O. FOSSUM, AND L. WALDENSTEDT. Effect of antibiotic growth promoters and anticoccidials on growth of Clostridium perfringens in the caeca and on performance of broiler chickens. Acta Veterinaria Scandinavica, v. 39, p. 433–441, 1998.

ENDTZ, H. P.; RUIJS, G. J.; KLINGEREN, B. V.; JANSEN, W. H.; REYDEN, T. V. D.; MOUTON, R. P. Quinolone resistance in campylobacter isolated from man and poultry following the introduction of fluoroquinolones in veterinary medicine. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. v. 27, 199-208, 1991.

EUROPEAN COMMUNITY (EC) Commission Regulation. Additivies for use in animal Nutrition. Official Journal of the European Union, Nº 1831, p. 29-43. Sept 2003.

FABIANE, K. C.; FERRONATTO, R.; SANTOS A. C.; BECKER ONOFRE, S. B. Physicochemical characteristics of the essential oils of *Baccharis dracunculifolia* and *Baccharis uncinella* D.C. (Asteraceae), Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 18, n. 2, p.197-203, 2008.

FAO/WHO. Manual de Procedimiento,16a Ed, *Codex alimentarius* Comission FAO Eds, Roma, Itália, pp.185. 2006.

FAO/WHO, *Codex alimentarius* Commission. Report of the third session of the Codex *ad hoc* intergovernmental task force on antimicrobial resistance. Jeju, Republic of Korea, 12-16 outubro. 55 pp, 2009.

FLEMMING, J.S.; FREITAS,R.J.S. avaliação do efeito de prebióticos (MOS), probióticos (Bacillus Licheniformis E Bacillus Subtilis) e promotor de crescimento na alimentação de frangos de corte. Archives of Veterinary Science, v. 10, n. 2, p. 41-47, 2005.

FUKAYAMA, E.H.; BERTECHINI, A. G.; GERALDO, A.; KATO, R. K.; MURGAS, L. D. S. Extrato de orégano como aditivo em rações para frangos de corte. Revista Brasileira de Zootecnia, v.34, n.6, p.2316-2326, 2005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982005000700018>. Acesso em: 03 out. 2014.

GIBBONS, S. Plants as a source of bacterial resistance modulators and anti-infective agents. Phytochemistry Reviews, v.4, n.1, p.63-78, 2005.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P.; Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários, Química Nova, v.30, n.2, 2007.

HYLDGAARD, M., MYGIND, T., MEYER, R.L. (2012). Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. Frontiers in Microbiology, v. 3, p. 1-24.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Pesquisas Trimestrais do Abate de Animais, do Leite, do Couro e da Produção de Ovos. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/

Acesso em 20 de setembro de 2014

INSTITUTO DE DEFESA DO CONSUMIDOR (IDEC). Idec e Procuradoria da República obrigam Ministério da Agricultura a proibir o carbadox. IDEC em ação. Disponível em: http://www.idec.org.br. Acesso em 20 de dezembro de 2010.

IZAT, A. L.; THOMAS, R. A.; ADAMS, M. H. Effects of dietary antibiotic treatment on yield of commercial broilers. Poultry Science, v.68, p.651-655, 1989.

KLARE, I.; COLLATZ, E.; AL-OBEID, S.; WAGNER, J.; RODLOFF, A.C.; WITTE, W. Glycopeptidresistenz bei *Enterococcus faecium* aus Besiedlungen und Infektionen von Patienten aus Intensivstationen Berliner Kliniken und einem Transplantationszentrum. ZAC, Z. Antimikrob., Antineoplast. Chemother. v.10, p. 45– 53, 1992.

KLEIN, G. Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract. International Journal of Food Microbiology, vol. 88, p. 123– 131, 2003. Disponível em http://www.sciencedirect.com. Acesso em 13 de março de 2014.

LAMBERT, R.J.W.; SKANDAMIS, P.N.; COOTE, P.S.; NYCHAS, G. J. E. A study of the minimum inhibitory concentrarion and mode of action of orégano essential oil, thimol and carvacrol. Journal of Applied Microbiology, v.91, p. 453-462, 2001.

LESTER, S. C.; PLA, M. D. P.; WANG, F.; SCHAEL, I. P.; JIANG, H.; O'BRIEN, T. F. The Carriage of *Escherichia coli* Resistant to antimicrobial Agents by Healthy Children in Boston, in Caracas, Venezuela and in Qin Pu, China. The New England Journal of Medicine, v. 323, n. 5, p. 285-289, 1990.

LIMA, E. O.; SOUZA, E. L.; TRAJANO, V. N.; LIMA I. O.; PEREIRA, F. O. *Schinus terebinthifolius* Raddi: avaliação do espectro de ação antimicrobiana de seu extrato aquoso. Infarma, v. 16, n. 7, p. 81-83, 2004.

LINTON, A. H.; HINTON, M. H.; AL CHALABY, Z. A. M. Monitoring for antibiotic resistance in enterococci consequent upon feeding growth promoters active against gram-positive bacteria. J Vet Pharmacol Ther, v.8, p. 62–706, 1985.

MAHBOUBI, M., GHAZIAN-BIDGOLI, F. Antistaphylococcal activity of Zataria multiflora essential oil and its synergy with vancomycin. Phytomedicine,v. 17, p. 548-550, 2010

MARTINEZ, J. L.; BAQUERO, F. Mutation Frequencies and Antibiotic Resistance. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, v. 44, n. 7, p. 1771-1777, 2000.

MACDONALD, L. C.; MATTHEW J. KUEHNERT, M. J.; TENOVER, F. C.; JARVIS, W. R. Vancomycin-Resistant Enterococci Outside the Health-Care Setting: Prevalence, Sources and Public Health Implications. Emerging Infectious Diseases, v. 3, n.3, p. 31-317, 1997.

MCKESSAR, S. J.; BERRY, A. M.; BEL, J. M.; TURNIDGE, J. D.; PATON, J. C. Genetic characterization of vanG, a novel resistance locus of *Enterococcus faecalis*. Antimicrobial Agents and Chemoterapy. v. 44, n. 11, p. 3224-3228, 2000.

MENTEN, J. F. M. Aditivos alternativos na nutrição de aves: probióticos e prebióticos. In: REUNIÃO ANUAL DA SBZ, 38., 2001, Piracicaba. Anais... Piracicaba: SBZ, 2001. 1 CD-ROM

NORMARK, B.H.; NORMARK, S. Evolution and spread of antibiotic resistance. Journal of Internal Medicine, v. 252, p. 91–106, 2002.

OCHMAN, H.; LAWRENCE, J. G.; GROISMAN, E. A. Lateral gene transfer and the nature of bacterial innovation. Nature, v. 405, n. 18, p. 299-304, 2000.

OLIVEIRA, F. P.; LIMA, E. O.; JÚNIOR, J. P. S.; SOUZA, E. L.; SANTOS, B. H. C.; BARRETO, H. M. Effectiveness of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) essential oil in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical material. Revista Brasileira de Farmacognosia. v.16, n. 4, p. 510-516, 2006.

PALERMO-NETO J. Antimicrobianos como aditivos em animais de produção. In: Spinosa HS, Bernardi MM e Górniak S. Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária, 4ª Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, pp 641-658. 2006.

PERICHON, B.; REYNOLDS, P.; COURVALIN, P. VanD-Type Glycopeptide-Resistant *Enterococcus faecium* BM4339. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, v. 41, n. 9 p. 2016–2018, 1997.

POWER EGM, ABDULLA YH, TALSANIA HG, SPICE W, AATHITHAN S, FRENCH GL. *vanA* genes in vancomycin-resistant clinical isolates of *Oerskovia turbata* and *Arcanobacterium (Corynebacterium) haemolyticum.* Journal of Antimicrobial Chemotherapy, v. 36, p. 595-606, 1995.

POYART, C.; PIERRE, C.; QUESNE, G.; PRON, B.; BERCHE, P.; TRIEU-CUOT, P. Emergence of vancomycin resistance in the genus *Streptococcus:* characterization of a *vanB* transferable determinant in *Streptococcus bovis.* Antimicrobial Agents and Chemotherapy, v. 41, n.1, p. 24-29, 1997.

QUINTILIANI R JR, COURVALIN P. Conjugal transfer of the vancomycin resistance determinant *vanB* between enterococci involves the movement of large genetic elements from chromosome to chromosome. FEMS Microbiology Letters, v. 119, p.359-64, 1994.

REGITANO, J. B.; LEAL, R. M. P. Comportamento e impacto ambiental de antibióticos usados na produção animal brasileira. Revista Brasileira de Ciências do solo, v.34, p. 601-616, 2010.

REYNOLDS, P. E.; SNAITH, H. A.; MAGUIRE, A. J.; DUTKA-MALEN, S.; COURVALIN, P. Analysis of peptidoglycan precursors in vancomycin-resistant *Enterococcus gallinarum* BM4174. Biochemistry Journal. 301:5-8, 1994.

ROCHA, A. P.; ABREU, R. D; COSTA, M. C. M. M.; OLIVEIRA, G. J. C.; ALBINATI, R. C. B.; PAZ, A. S.; QUEIROZ, L. G.; PEDREIRA, T. M. Prebióticos, ácidos orgânicos e probióticos em rações para frangos de corte. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal, v.11, n.3, p. 793-801, 2010.

ROE, M. T.; PILLAI, S. D. Monitoring and Identifying Antibiotic Resistance Mechanisms in Bacteria. Poultry Science, v. 82, p. 622–626, 2003.

ROSATO, A., VITALI, C., DE LAURENTIS, N., ARMENISE, D., MILILLO, M.A. Antibacterial effect of some essential oil administered alone or in combination with norfloxacin. Phytomedicine, v. 14, p. 727-732, 2007.

SALEHA, A.A.; MYAING, T.T.; GANAPHATY, K.K.; ZULKIFLI, I.; RAHA, R.; ARIFAH, K. Possible effect of antibiotic-supplemented feed and environment on the occurrence of Multiple Antibiotic Resistant *Escherichia coli* in Chickens.International Journal of Poultry Science, v.8, n.1, p.28-31, 2009.

SCIENTIFIC COMMITTEE ON EMERGING AND NEWLY IDENTIFIED HEALTH RISKS (SCENIHR). Assessment of the Antibiotic Resistance Effects of Biocides. Disponível em http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_scenihr/docs/scenihr_o_021.pdf. Acesso em 20 de setembro de 2014.

SHAH, G., SHRI, R., PANCHAL, V., SHARMA, N., SINGH, B., MANN, A.S. Scientific basis for the therapeutic use of Cymbopogon citratus, stapf (Lemon grass). Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research, v. 2, p. 3-8, 2011.

SHAHVERDI, A.R., MONSEF-ESFAHANI, H.R., TAVASOLI, F., ZAHERI, A., MIRJANI, R. Trans-cinnamaldehyde from Cinnamomum zeylanicum bark essential oil reduces the clindamycin resistance of Clostridium difficile in vitro. Journal of Food Science, v. 72, p. 055-058, 2007.

SHER, A. ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF NATURAL PRODUCTS FROM MEDICINAL PLANTS. Gomal Journal of Medical Sciences, v. 7, n. 1, 2009.

SHERE, J. A.; K. J. BARTLETT, K. J.; KASPAR, C. W. Longitudinal Study of *Escherichia coli* O157:H7 Dissemination on Four Dairy Farms in Wisconsin. Applied and Environmental Microbiology, v. 64, n. 4, p. 1390-1399, 1998.

SILVA, M. A.; PESSOTTI, B. M. S.; ZANINI, S. F.; et al. Intestinal mucosa structure of broiler chickens infected experimentally with Eimeria tenella and treated with essential oil of oregano. Ciência Rural, v.39, n.5, p.1471-1477, 2009.

SILVA, M. A.; PESSOTTI, B. M. S.; ZANINI, S. F.; COLNAGO, G. L.; NUNES, L. C.; RODRIGUES, M. R. A.; FERREIRA, L. Óleo de aroeira-vermelha sobre o desempenho e a morfometria intestinal de frangos de corte. Ciência Rural, Santa Maria, v.40, n.10, p.2151-2156, 2010.

SILVA, M. A.; PESSOTTI, B. M. S.; ZANINI, S. F.; COLNAGO, G. L.; NUNES, L. C.; RODRIGUES, M. R. A.; FERREIRA, L. Óleo essencial de aroeira-vermelha como aditivo na ração de frangos de corte. Ciência Rural, Santa Maria, v.41, n.4, p.676-681, 2011.

SPISSO, B. F.; NÓBREGA, A. M.; MARQUES, M. A. S. Resíduos e contaminantes químicos em alimentos de origem animal no Brasil: histórico, legislação e atuação da vigilância sanitária e demais sistemas regulatórios. Ciência e Saúde Coletiva, v.14, p. 6, p. 2091-2106, 2009.

STAVRI, M., PIDDOCK, L.J.V., GIBBONS, S. Bacterial efflux pump inhibitors from natural sources. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, v. 59, p. 1247–1260, 2007.

TANNOCK, G. W.; DASHKEVICZ, M. P.; FEIGHNER, S. D. Lactobacilli and bile salt hydrolase in the murine intestinal tract. Apply Environmental Microbiology. 55:1848–1851, 1989.

THRELFALL, E. J. Antimicrobial drug resistance in Salmonella: problems and perspectives in food- and water-borne infections. FEMS Microbiology Reviews, v. 26, p.141-148, 2002.

TOLEDO, G. S. P.; COSTA, P. T. C.; SILVA, L. P.; PINTO, D.; FERREIRA, P.; POLETTO, C. J. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo antibiótico e/ou fitoterápico como promotores, adicionados isoladamente ou associados. Ciência Rural, v.37, n.6, p.1760-1764, 2007.

TORRES, C.; ZARAZAGA, M. Antibióticos como promotores del crecimiento en animales. Vamos por el buen camino? Gaceta Sanitaria, v.16, n. 2, p.109-12, 2002.

TRAESEL, C. K.; WOLKMER, P.; SCHMIDT, C.; SILVA C, B.; PAIM, F. C.; ROSA, A. P.; ALVES, S. H.; SANTURIO, J. M.; LOPES, S. T. A. Serum biochemical profile and performance of broiler chickens fed diets containing essential oils and pepper. Comparative Clinical Pathology, 2010.

TURNIDGE, J. Antibiotic use in animals-prejudices, perceptions and realities. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, v. 53, p. 26-27, 2004.

UTIYAMA, C. E. Utilização de agentes antimicrobianos, probióticos, prebióticos e extratos vegetais como promotores de crescimento de leitões recém-desmamados.Tese de doutorado apresentada a Escola Superior de Agricultura - Luiz de Queiroz, Piracicaba, São Paulo 2004.

VAN DEN BOGAARD, A. E.; WILLENS, R.; LONDON, N.; TOP, I.; STOBBERINGH, E. E. Antibiotic resistance of fecal enterococci in poultry, poultry farmers and poultry slaughterers. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, v.49, p.497–505, 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Second Joint FAO/OIE/WHO Expert Workshop on Non-Human Antimicrobial Usage and Antimicrobial Resistance: management options. Oslo, Norway, March 15-18, 2004. Disponível em: http://who.int./foodsafety/publications/micro/en/oslo_report.pdf. Acesso em 06 de novembro de 2010.

ZANINI, S. F.; SILVA-ANGULO, A. B. ; ROSENTHAL, A. ; Rodrigo, M.D ; MARTINEZ, A. . Effect of citral and carvacrol on the susceptibility of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* to antibiotics. Letters in Applied Microbiology, v. 58, p. 486-492, 2014.

ZANINI, M.S. et al. Avaliação do óleo de orégano e da suplementação de vitamina E na dieta de frangos de corte sobre a microbiota intestinal na ausência de promotor de crescimento e anticoccidiano. Brazilian Journal of Poultry Science, v.8, p.140, 2006.

Capítulo 12- Fatores que influenciam a diferenciação condrogênica das células-tronco mesenquimais da medula óssea e do tecido adiposo

Boeloni, J. N.[1]; Faria, B. P. de[2]

INTRODUÇÃO

As pesquisas com células-tronco (CT) é um desafio para a ciência atual e têm aumentado de forma extraordinária nos últimos anos, enfocando, dentre outros fatores, a biologia e os diversos fatores que influenciam na proliferação e diferenciação dessas células, além dos mecanismos pelos quais esses fatores agem na diferenciação condrogênica *in vivo* e *in vitro* das células-tronco (KIM; IM, 2009b; PARK et al., 2011; DANISOVIC et al., 2012; ZHANG et al., 2014ab). Adicionalmente, os estudos, predominantemente em caráter experimental, buscam principalmente a utilização das células-tronco para o tratamento de diversas doenças (RASTEGAR et al., 2010), incluindo as doenças ou defeitos cartilaginosos (CANCEDDA et al., 2003; WAKITANI et al., 2007; CHENG et al., 2014).

As CT são células indiferenciadas que podem ser obtidas do embrião, do feto ou de indivíduos adultos (SHENFIELD et al., 2002). As células-tronco mesenquimais (CTM), que são exemplos de CT adultas, podem ser obtidas de vários tecidos, mas, a medula óssea e o tecido adiposo são considerados os sítios doadores mais importantes devido à maior quantidade e facilidade de obtenção dessas células (BIANCO et al, 2001; ZUK et al., 2002).

As CTM podem se diferenciar em osteoblastos, condrócitos, adipócitos, tenócitos e miócitos, dentre outros tipos celulares (PAYUSHINA et al., 2006). Essa característica de multipotencialidade, associada ao fato de que as CTM são facilmente isoladas e expandidas *ex vivo*, favorecem a utilização dessas células para a terapia celular (RASTEGAR et al., 2010; DANISOVIC et al., 2012). Assim, a maioria dos estudos tem o interesse voltado para melhorar o potencial de diferenciação das CTM, incluindo a condrogênese *in vitro* e *in vivo* (KIM; IM, 2009b; PARK et al., 2011; DANISOVIC et al., 2012; ZHANG et al., 2014b).

As doenças que ocorrem no tecido cartilaginoso podem resultar de anomalias congênitas, de doenças articulares degenerativas ou de injúrias traumáticas (DANISOVIC et al., 2012). O tecido cartilaginoso tem um potencial limitado de regeneração decorrente de propriedades intrínsecas como baixa vascularização, inervação (DANISOVIC et al., 2012) e potencial mitótico (BROWN et al., 2006). Assim, em casos de grandes lesões na cartilagem, a cura espontânea é rara e normalmente progride para a formação de fibrocartilagem (BEANE; DARLING, 2012; DANISOVIC et al., 2012). Dessa forma, terapias alternativas podem ser necessárias como o tratamento autólogo com condrócitos, porém esse método, muitas vezes, não oferece benefícios satisfatórios para o paciente (BREINAN et al., 1997; LEE et al., 2000). Assim, a utilização de uma terapia celular alternativa com CTM tanto da medula óssea quanto do tecido adiposo pode ser empregada (CANCEDDA et al., 2003; WAKITANI et al., 2007; CHENG et al., 2014).

No entanto, apesar de já existirem protocolos bem definidos para a diferenciação condrogênica das CTM, tanto da medula óssea quanto do tecido adiposo (ESTES et al., 2010;

[1] Professora Adjunto A do Departamento de Medicina Veterinária- Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias. E-mail: jankerle@gmail.com
[2]Pós-graduando - Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias.

SOLCHAGA et al., 2011), muitos fatores e mecanismos ainda precisam ser elucidados, principalmente com relação ao aumento do potencial condrogênico dessas células.

O objetivo principal do presente trabalho é descrever os principais fatores que influenciam a diferenciação condrogênica das células tronco mesenquimais da medula óssea e do tecido adiposo.

2. Células-tronco

As CT são células indiferenciadas classificadas em células-tronco embrionárias (CTE), obtidas do embrião na fase de blastocisto, e em células-tronco adultas (CTA) oriundas do feto ou de indivíduos adultos. Essas células não são especializadas, são capazes de se dividir por longos períodos e podem gerar tipos celulares especializados (SHENFIELD et al., 2002).

As CTE são derivadas do blastocisto e podem originar qualquer tipo celular advindo de uma das três camadas germinativas: ectoderma, mesoderma e endoderma (THOMSON et al., 1998).

As CTA são células multipotentes, encontradas entre as células diferenciadas de um tecido (PRESNELL et al., 2002) com função de se auto renovar e manter ou reparar os tecidos nos quais residem (SHENFIELD et al., 2002).

Com relação à terapia celular, tanto as CTE quanto as CTA, podem ser utilizadas, no entanto, apresentam vantagens e desvantagens. Como exemplo, a utilização das CTE pode acarretar riscos como a proliferação celular descontrolada resultando na formação de tumores (SHENFIELD et al., 2002; RAO, 2004). Além disso, as questões éticas e religiosas que envolvem o uso destas células não se aplicam as CTA (MCLAREN, 2001). As CTA apresentam outra vantagem, pois as mesmas podem ser expandidas *ex vivo* e depois reintroduzidas no próprio paciente, não induzindo rejeição pelo sistema imunológico (RICARDO; DEANE, 2005) ao contrário das CTE (BOBIS et al., 2006). Mas a capacidade proliferativa e de diferenciação das CTA diminui com a idade ou com a presença de doenças, o que limita o transplante autólogo dessas células para tratamento de doenças osteoarticulares degenerativas decorrentes da idade (HENG et al., 2004; BOELONI et al., 2013a).

2.1 Células-tronco mesenquimais da medula óssea e do tecido adiposo

As CTM são exemplos de CTA e podem ser encontradas em diversos tecidos, incluindo a medula óssea e o tecido adiposo (MEIRELLES et al., 2006; ZUK et al., 2001; PITTENGER et al., 1999) e podem se diferenciar em diversas linhagens como osteogênica, condrogênica, adipogênica e miogênica (PAYUSHINA et al., 2006).

As CTM-MO foram primariamente descritas por Friedenstein et al. (1968), enquanto as CTM-TA foram primariamente descritas por Zuk et al. (2001) e desde então inúmeras pesquisas vem sendo desenvolvidas com o intuito de caracterizar fenotipicamente e estudar o potencial de diferenciação dessas células.

As CTM-MO podem ser obtidas da medula óssea (BIANCO et al, 2001; BOELONI et al., 2009; BOELONI et al., 2013a), enquanto as CTM-TA podem ser extraídas do tecido adiposo intra-abdominal ou subcutâneo (ZUK et al., 2002; LOCKE et al., 2009; RADA et al., 2009; BOELONI et al., 2013c).

Tanto as CTM da medula óssea (CTM-MO) quanto do tecido adiposo (CTM-TA) não apresentam marcadores exclusivos, no entanto, a "*International Society for Cellular Therapy*" definiu três critérios para identificar as CTM: 1) aderência a superfícies plásticas; 2) expressão de marcadores como CD73, CD90 e CD105 em mais de 95% das células da cultura e ausência de expressão de marcadores como CD34, CD45, CD14 (CD11B) e CD79A (CD19) e; 3) capacidade de se diferenciarem em osteoblastos, adipócitos e condrócitos (DOMINICI et al.,

2006). Além disso, todas as CTM expressam marcadores de células embrionárias como Oct4, Nanog e SSEA-4 (*stage-specific embryonic antigem-4*) (GANG et al., 2007).

Adicionalmente, sabe-se que as CTM-MO expressam STRO-1, CD44, CD71, CD106, CD120a e CD124 (PITTENGER et al., 1999) e que as CTM-TA expressam marcadores semelhantes as CTM-MO (BARRY et al., 2001; DIEKMAN et al., 2010a). Essas células expressam CD29, CD44, CD71 (ZUK et al., 2002; KATZ et al., 2005), CD49e, CD51, CD90 (KATZ et al., 2005), CD49d, CD9, CD105, CD166, CD73 e CD44 (GRONTHOS et al., 2001). Mas não expressam CD45, CD31, CD34 (ZUK et al., 2002; KATZ et al., 2005), CD56, CD50, CD11a, CD11b e CD11c (KATZ et al., 2005).

3. Diferenciação condrogênica das células-tronco mesenquimais da medula óssea e do tecido adiposo

A diferenciação condrogênica, tanto das CTM-MO quanto das CTM-TA, tem protocolos bem definidos (ESTES et al., 2010; SOLCHAGA et al., 2011), sendo necessário que ocorra em um sistema de cultura de *pellets* (SOLCHAGA et al., 2011; BEANE; DARLING, 2012). O meio de indução consiste, de uma forma geral, de meio básico representado por *Dulbecco's modified Eagle's medium* (DMEM) enriquecido com antibióticos, antifúngicos e 10% de soro fetal bovino, além de fatores como insulina, piruvato, transferrina, dexametasona, ácido ascórbico e de fatores de crescimento como TGF-β3 (MACKAY et al., 1998; ESTES et al., 2010; PUETZER et al., 2010; SOLCHAGA et al., 2011; DANISOVIC et al., 2012; BEANE; DARLING, 2012).

Durante a diferenciação condrogênica, que ocorre em aproximadamente duas a três semanas, as células aumentam de volume e sintetizam matriz cartilaginosa que contem, dentre outros constituintes, colágenos I (LARSSON et al., 1991; BARRY et al., 2001), II (LARSSON et al., 1991; SOLCHAGA et al., 2011; BARRY et al., 2001) e X (LARSSON et al., 1991; BARRY et al., 2001), proteoglicanos como agrecan (LARSSON et al., 1991; SOLCHAGA et al., 2011; BARRY et al., 2001), versican (MEHLHORN et al., 2006), decorin, biglican e fibronectina (LARSSON et al., 1991; BARRY et al., 2001), glicosaminoglicanos (BARRY et al., 2001). Sendo o colágeno II e o agrecan os constituintes da matriz observados em maior quantidade (PUETZER et al., 2010; SOLCHAGA et al., 2011).

Estudo prévio realizado por Barry et al. (2001) demonstrou que durante a diferenciação condrogênica ocorrem três estágios bem definidos: 1) estágio I, diferenciação inicial com expressão de fibromodulina, *cartilage oligomeric matrix protein* (COMP), agrecan, versican e decorin, bem como a deposição inicial de glicosaminoglicanos, além da formação de colágeno I e X; 2) estágio II, expressão de colágeno II e condroaderin e produção de sulfato de condroitina e; 3) estágio III, acúmulo de glicosaminoglicanos e formação de condrócitos maduros.

Utilizam-se como marcadores da condrogênese a formação de colágeno I, II e X (SOLCHAGA et al., 2011), proteoglicanos e glicosaminoglicanos (PUETZER et al., 2010; SOLCHAGA et al., 2011; VATER et al., 2011). Os proteoglicanos são detectados por colorações como azul de toluidina, os glicosaminoglicanos pelas colorações de alcian blue ou safranina-O (ESTES et al., 2010; SOLCHAGA et al., 2011; BEANE; DARLING, 2012), e os tipos de colágeno podem ser detectados pela técnica de imunohistoquímica ou pela expressão gênica por RT-PCR (ESTES et al., 2010; SOLCHAGA et al., 2011).

Além do meio de indução básico utilizado para a condrogênese, outros fatores que influenciam ou potencializam a diferenciação condrogênica *in vitro* e *in vivo* das CTM, tanto da medula óssea quanto do tecido adiposo, têm sido pesquisados (DIEKMAN et al., 2010b; DANISOVIC et al., 2012), incluindo fatores de crescimento, fatores hormonais, estímulo mecânico, condições de hipóxia, uso de biomateriais ou a associação desses fatores

(MEHLHORN et al., 2007; MARKWAY et al., 2010; PUETZER et al., 2010; DANISOVIC et al., 2012; ZHANG et al., 2014a; ZHANG et al., 2014b). E, muitas vezes, a interação de múltiplos fatores é requerida para a diferenciação condrogênica de CTM (DIEKMAN et al., 2010b; DANISOVIC et al., 2012).

Nesse contexto, os membros da superfamília TGF-β (TGF-β [fator de crescimento transformante beta] e BMP [proteína morfogenética óssea]) têm papel importante no desenvolvimento ósseo e cartilaginoso agindo nos condrócitos e nas células-tronco mesenquimais (WU et al., 1992; GALÉRA et al., 1992; BESSA et al., 2008; DANISOVIC et al., 2012).

Os fatores de crescimento como TGF-β1 (BARRY et al., 2001; ESTES et al., 2010), TGF-β2 (ESTES et al., 2010), e TGF-β3 (BARRY et al., 2001; PARK et al., 2011) potencializam a diferenciação condrogênica tanto das CTM-MO quanto das CTM-TA (PETZER et al., 2010). Sendo que um estudo demonstrou que o TGF-β2 e o TGF-β3 foram mais efetivos que o TGF-β1 em potencializar a diferenciação condrogênica das CTM aumentando a formação de glicosaminoglicanos e de colágeno II (BARRY et al., 2001).

As BMP como BMP-2 (SEKIYA et al., 2005; KIM; IM, 2009ab), BMP-6 (SEKIYA et al., 2001; KIM; IM, 2009ab; Estes et al., 2010) e BMP-7 (KNIPPENBERG et al., 2006; KIM; IM, 2009ab; SHEN et al., 2010) também são fatores importantes para a diferenciação condrogênica tanto de CTM-MO quanto de CTM-TA. Sendo que a BMP-7 potencializa a diferenciação por aumentar a expressão de colágeno II (SHEN et al., 2010).

O fator de crescimento fibroblástico 2 (FGF-2) também conhecido como FGF básico (FGFb) é outro fator que melhora a diferenciação condrogênica *in vitro* tanto das CTM-MO quanto das CTM-TA (CHIOU et al., 2006; SOLCHAGA et al., 2010).

Além disso, estudos demonstram uma potencialização na diferenciação condrogênica das CTM-TA (KIM; IM, 2009b; ESTES et al., 2010) quando é utilizada a combinação de TGF-β3 e BMP-6 (ESTES et al., 2010), TGF-β2 e BMP-7 (KIM; IM, 2009b), e TGF-β1 e BMP-2, onde neste ocorre um aumento da expressão de colágeno I e II e a síntese de glicosaminoglicanos (MEHLHORN et al., 2007).

Estudos demonstram ainda uma potencialização na diferenciação condrogênica das CTM-MO com a combinação de TGF-β3 e BMP-2 (SCHMITT et al., 2003; SHEN et al., 2009) e TGF-β1 e BMP-6 (DIEKMAN et al., 2010b) aumentando a expressão de colágeno II (SCHMITT et al., 2003; DIEKMAN et al., 2010b) e, com a combinação de TGF-β3 e BMP-7, neste caso por aumentar a síntese de proteoglicanos e a expressão de colágeno II e Sox9 (SHEN et al., 2010). O Sox9 e outros fatores de transcrição como Sox5 e Sox6 apresentam uma função importante na formação da cartilagem (DE CROMBRUGGHE et al., 2001). Sox 9, por sua vez estimula a expressão de colágeno II, IX e XI (SEKIYA et al., 2000).

Runx2 (*Runt-related trasnscription fator 2*), *in vitro*, atua sinergicamente com o TGFβ aumentando a expressão de IL-11 (interleucina 11), que por sua vez promove a diferenciação condrogênica (ENOMOTO et al., 2004).

Fatores hormonais também são considerados importantes para a diferenciação condrogênica das CTM-MO (DERFOUL et al., 2006; RANDAU et al., 2013; KARL et al., 2014; ZHANG et al., 2014a). O paratormônio potencializa a diferenciação de uma forma dose-dependente, ou seja, em concentrações baixas a moderadas (0,1 a 10nM) aumenta a diferenciação de CTM-MO de ratos e em altas concentrações (100nM) o efeito é oposto (ZHANG et al., 2014a). A dexametasona potencializa a diferenciação por aumentar a produção de glicosaminoglicanos (RANDAU et al., 2013). Os glicocorticoides aumentam a expressão de agregan e colágeno XI (DERFOUL et al., 2006). E os hormônios tireoidianos, na dose de 1nM promovem a hipertrofia das CTM-MO de seres humanos durante a diferenciação condrogênica (KARL et al., 2014) e, na dose de 100nM aumenta a expressão de colágeno X em CTM-MO de bovinos (RANDAU et al., 2013).

Estudos recentes demonstram que os condrócitos podem aumentar a diferenciação condrogênica das CTM-TA quando cultivados em sistema de co-cultura, promovendo aumento da produção de glicosaminoglicanos (LEE; IM, 2010).

Além disso, estudos associando CTM-MA com biomateriais como agarose, alginato e gelatina têm sido realizados para verificar a potencialização da diferenciação condrogênica dessas células (AWAD et al., 2004). Adicionalmente, verificou-se que o potencial de diferenciação condrogênico melhorou, aumentando os níveis de colágeno e proteoglicanos, quando se promoveu um estímulo mecânico sobre CTM-TA transfectadas com fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1) e cultivadas com biomaterial de quitosana/gelatina (LI et al., 2012). Além disso, quando CTM-MO e CTM-TA foram cultivadas em hidrogel de fibrina associado a TGF-β3, houve um aumento da diferenciação condrogênica dessas células (PARK et al., 2011).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

É importante ressaltar que, apesar das CTM-TA e das CTM-MO apresentarem muitas semelhanças como marcadores de superfície e forma de indução da diferenciação condrogênica, essas células podem responder de formas diferentes aos mesmos fatores de crescimento ou outros fatores como estímulos mecânico e hormonal. Além disso, a maioria dos mecanismos pelos quais esses fatores atuam na condrogênese ainda precisam ser elucidados. Dessa forma, pesquisas futuras serão necessárias enfocando outros fatores, bem como o mecanismo como os mesmos agem sobre a diferenciação condrogênica das CTM. Buscando, no futuro, melhorar esse potencial e posteriormente utilizar células-tronco do próprio paciente para o tratamento de doenças ou defeitos cartilaginosos, uma vez que o tecido cartilaginoso apresenta potencial de renovação limitado, além de evitar possíveis rejeições e melhorar a qualidade de vida dos pacientes.

6. REFERÊNCIAS

AWAD, H. A.; WICKHAM, M. Q.; LEDDY, H. A.; GIMBLE, J. M.; GUILAK, F. Chondrogenic differentiation of adipose-derived adult stem cells in agarose, alginate, and gelatin scaffolds. Biomaterials, v.25, n.16, p.3211-3222, 2004.

BARRY, F.; BOYNTON, R. E.; LIU, B.; MURPHY, M. Chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells from bone marrow: differentiation-dependent gene expression of matrix components. Experimental Cell Research, v.268, n.2, p.189-200, 2001.

BEANE, O. S.; DARLING, E. M. Isolation, characterization, and differentiation of stem cells for cartilage regeneration. Annals of Biomedical Engineering, v.40, n.10, 2012.

BESSA, P. C.; CASAL, M.; REIS, R. L. Bone morphogenetic proteins in tissue engineering: the road from laboratory to clinic, part II (BMP delivery). Journal of Tissue Engineering, v.2, n.2-3, p.81-96, 2008.

BIANCO, P.; RIMINUCCI, S.G.; ROBEY, P.G. Bone Marrow stromal stem cells: nature, biology, and potential applications. Stem Cells, v.19, n.3, p.180-192, 2001.

BOBIS, S.; JAROCHA, D.; MAJKA, M. Mesenchymal stem cells: characteristics and clinical applications. Folia Histochemica et Cytobiologica, v.44, n.4, p.215-30, 2006.

BOELONI, J.N.; OCARINO, N.M.; BOZZI, A.; SILVA, J. F.; CASTANHEIRA, P.; GOES, A. M.; SERAKIDES, R. Dose-dependent effects of triiodothyronine on osteogenic differentiation of rat bone marrow mesenchymal stem cells. Hormone Research, v.71, p.88-97, 2009.

BOELONI, J. N.; OCARINO, N. M.; SILVA, J. F.; CORRÊA, C. R; BERTOLLO, C. M.; HELL, R. C. R.; PEREIRA, M. M.; GOES, A. M.; SERAKIDES, R. Osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells of ovariectomized and non-ovariectomized female rats with thyroid dysfunction. Pathology Research and Practice, v.209, n.1, p. 44-51, 2013a.

BOELONI, J.N.; OCARINO, N.M.; GOES, A.M.; SERAKIDES, R. Triiodotironina não aumenta a diferenciação osteogênica reduzida pela idade de células tronco mesenquimais da medula óssea de ratas. Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia, v.57, n.1, p.62-70, 2013b.

BOELONI JN, OCARINO NM, GOES AM, Serakides R. Efeito *in vitro* da triiodotironina sob o potencial osteogênico reduzido de células tronco mesenquimais do tecido adiposo de ratas ovariectomizadas e com osteoporose. Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia, v.57, n.2, p.98-111, 2013c.

BREINAN, H. A.; MINAS, T.; HSU, H. P.; NEHRER, S.; SLEDGE, C. B.; SPECTOR, M. Effect of cultured autologous chondrocytes on repair of chondral defects in a canine model. The Journal of Bone and Joint Surgery, v.79, n.10, p.1439-1451, 1997.

BROWN, T. D.; JOHNSTON, R. C.; SALTZMAN, C. L.; MARSH, J. L.; BUCKWALTER, J.A. Post-traumatic osteoarthritis: a first estimate of incidence, prevalence, and burden of disease. Journal of Orthopaedic Trauma, v.20, n.20, p.739-744, 2006.

CANCEDDA, R.; DOZINA, B.; GIANNONIA, P.; QUARTOB, R. Tissue engineering and cell therapy of cartilage and bone. Matrix Biology, v.22, n.1, p.81-91, 2003.

CHENG, Y.; CHENG, P.; XUE, F.; WU, K. M.; JIANG, M. J.; JI, J. F.; HANG, C. H.; WANG, Q. P. Repair of ear cartilage defects with allogenic bone marrow mesenchymal stem cells in rabbits. Cell Biochemistry and Biophysics, v.31, p.1-7, 2014.

CHIOU, M.; XU, Y.; LONGAKER, M. T. Mitogenic and chondrogenic effects of fibroblast growth factor-2 in adipose-derived mesenchymal cells. Biochemical and Biophysical Research Communications, v.343, n.2, p.644-652, 2006.

DANISOVIC, L.; VARGA, I.; POLÁKI, S. Growth factors and chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells. Tissue and Cell, v.44, n.2, p.69-73, 2012.

DE CROMBRUGGHE, B.; LEFEBVRE, V.; NAKASHIMA, K. Regulatory mechanisms in the pathways of cartilage and bone formation. Current Opinion in Cell Biology, v.13, n.6, p.721-727, 2001.

DERFOUL, A.; PERKINS, G. L.; HALL, D. J.; TUAN, R. S. Glucocorticoids promote chondrogenic differentiation of adult human mesenchymal stem cells by enhancing expression of cartilage extracellular matrix genes. Stem Cells, v.24, n.6, p.1487-1495, 2006.

DIEKMAN, B. O.; ROWLAND, C. R.; LENNON, D. P.; CAPLAN, A. I.; GUILAK, F. Chondrognesis of adult stem cells from adipose tissue and bone marrow: induction by growth factors and cartilage-derived matrix. Tissue Engineering Part A, v.16, n.2, p.523-533, 2010a.

DIEKMAN, B. O.; ESTES, B. T.,GUILAK, F. The effects of BMP6 overexpression on adipose stem cell chondrogenesis: Interactions with dexamethasone and exogenous growth factors. Journal of Biomedical Materials Research Part A, v.93, n.3, p.994-1003, 2010b.

DOMINICI, M.; LE BLANC, K.; MUELLER, I.; SLAPER-CORTENBACH, I.; MARINI, F.; KRAUSE, D.; DEANS, R.; KEATING, A.; PROCKOP, DJ.; HORWITZ, E. Minimal criteria form defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. Cytotherapy, v.8, n.4, p.315-317, 2006.

ENOMOTO, H.; FURUICHI, T.; ZANMA, A.; YAMANA, K.; YOSHIDA, C. SUMITANI, S.; YAMAMOTO, H.; ENOMOTO-IWAMOTO, M.; IWAMOTO, M.; KOMORI, T. Runx2 deficiency in chondrocytes causes adipogenic changes *in vitro*. Journal of Cell Science, v.117, n.3, p.417-425, 2004.

ESTES, B. T.; DIEKMAN, B. O.; GIMBLE, J. M.; GUILAK, F. Isolation of adipose derived stem cells and their induction to a chondrogenic phenotype. Nature protocols, v.5, n.7, p.1294-1311, 2010.

FRIEDENSTEIN, A. J.; PETRAKOVA, K. V.; KUROLESOVA, A. I.; FROLOVA, G. P. Heterotopic of bone marrow. Analysis of precursor cells for osteogenic and hematopoietic tissues. Transplantation, v.6, n.2, p.230-247, 1968.

GALÉRA, P.; RÉDINI, F.; VIVIEN, D.; BONAVENTURE, J.; PENFORNIS, H.; LOYAU, G.; PUJOL, J. P. Effect of transforming growth factor-beta 1 (TGF-beta 1) on matrix synthesis by monolayer cultures of rabbit articular chondrocytes during the dedifferentiation process. Experimental Cell Research, v.200, n.2,p.379-392, 1992.

GANG, E. J.; BOSNAKOVSKI, D.; FIGUEIREDO, C. A.; VISSER, J. W.; PERLINGEIRO, R. C. SSEA-4 identifies mesenchymal stem cells from bone marrow. Blood, v.109, n.4, p.1743-1751, 2007.

GRONTHOS, S.; FRANKLIN, D.M.; LEDDY, H.A.; ROBEY, P. G.; STORMS, R. W.; GIMBLE, J. M. Surface protein characterization of human adipose tissue-derived stromal cells. Journal of Cellular Physiology, v.189, n.1, p.54-63, 2001.

HENG, B. C.; CAO, T.; STANTON, L. W.; ROBSON, P.; OLSEN, B. Strategies for directing the differentiation of stem cells into the osteogenic lineage *in vitro*. Journal of Bone and Mineral Research, v.19, n.9, p.1379-1394, 2004.

KARL, A.; OLBRICH, N.; PFEIFER, C.; BERNER, A.; ZELINER, J.; KUJAT, R.; ANGELE, P.; NERLICH, M.; MUELLER, M. B. Thyroid hormone-induced hypertrophy in mesenchymal stem cell chondrogenesis is mediated by bone morphogenetic protein-4. Tissue Engeneering Part A, v.20, n.1-2, 2014.

KATZ, A. J.; THOLPADY, A.;THOLPADY, S. S.; SHANG, H.; OGLE, R. C. Cell surface and transcriptional characterization of human adipose-derived adherent stromal (hADAS) cells. Stem Cells, v.23, n.3, p.412-423, 2005.

KIM., H. J.; IM, G. I. Chondrogenic differentiation of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells: greater doses of growth factor are necessary. Journal of Orthopaedic Research, v.27, n.5 p.612-619, 2009a.

KIM, H. J.; IM, M. D. Combination of transforming growth fator-beta2 and bone morphogenetic protein 7 enhances chondrogenesis from adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. Tissue Engineering Part A, v.15, n.7, p.1543-1551, 2009b.

KNIPPENBERG, M.; HELDER, M.N.; DOULABI, B.Z.; WUISMAN, P. I.; KLEIN-NULEND, J. Osteogenesis versus chondrogenesis by BMP-2 and BMP-7 in adipose stem cells. Biochemical and Biophysical Research Communications, v.342, n.3, p.902-908, 2006.

LARSSON, T.; SOMMARIN, Y.; PAULSSON, M.; ANTONSSON, P. HEDBOM, E.; WENDEL, M.; HEINEGÁRD, D. Cartilage matrix proteins. A basic 36-kDa protein with a restricted distribution to cartilage and bone. The Journal of Biological Chemistry, v.266, n.30, p.20428-20433, 1991.

LEE, C. R.; GRODZINSKY, A. J.; HSU, H. P.; MARTIN, S. D.; SPECTOR, M. Effects of harvest and selected cartilage repair procedures on the physical and biochemical properties of articular cartilage in the canine knee. Journal of Orthopaedic Research, v.18, n.5, p.790-799, 2000.

LEE, J-S.; IM, G-I. Influence of chondrocytes on the chondrogenic differentiation of adipose stem cells. Tissue Engineering Part A, v.16, n.12, p.3569-3577, 2010.

LI, J. J.; ZHAO, Q.; WANG, E. B.; ZHANG, C. H.; WANG, G. B.; YUAN, Q. Dynamic compression of rabbit adipose-derived stem cells transfected with insulin-like growth factor 1 in chitosan/gelatin scaffolds induces chondrogenesis and matrix biosynthesis. Journal of Cellular Physiology, v.227, n.5, p.2003-2012, 2012.

LOCKE, M.; WINDSOR, J.; DUNBAR, P. R. Human adipose-derived stem cells: isolation, characterization and applications in surgery. ANZ Journal of Surgery, v.79, n.4, p.235-244, 2009.

MARKWAY, B. D.; TAN, G-K.; BROOKE, G.; HUDSON, J. E.; COOPER-WHITE, J. J.; DORAN, M. R. Enhanced chondrogenic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells in low oxygen environment micropellet cultures. Cell Transplantation, v.19, n.1, p.29-42, 2010.

MACKAY, A. M.; BECK, S. C., MURPHY, J. M.; BARRY, F. P.; CHICHESTER, C. O.; PITTENGER, M. F. Chondrogenic differentiation of cultured human mesenchymal stem cells from marrow. Tissue Engineering, v.4, n.4, p.415-428, 1998.

MCLAREN, A. Ethical and social considerations of stem cell research. Nature, v.414, n.6859, p.129-131, 2001.

MEHLHORN, A. T.; NIEMEYER, P.; KAISER, S.; FINKENZELLER, G.; STARK, G. B.; S6UDKAMP, N. P.; SCHMAL, H. Differential expression pattern of extracellular matrix molecules during chondrogenesis of mesenchymal stem cells from bone marrow and adipose tissue. Tissue Engineering, v.12, n.10, p.2853-2862, 2006.

MEHLHORN, A. T.; NIEMEYER, P.; KASCHTE, K.; MULLER, L.; FINKENZELLER, G.; HARTL, D.; SUDKAMP, N. P.; SCHMAL, H. Differential effects of BMP-2 and TGF-B1 on chondrogenic differentiation of adipose derived stem cells. Cell Proliferation, v.40, n.6, p.809-823, 2007.

MEIRELLES, L. da S.; CHAGASTELLES, P. C.; NARDI, N. B. Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues. Journal of Cell Science, v.119, n.11, 2006.

PARK, J. S.; SHIM, M. S.; SHIM, S. H., YANG, H. N.; JEON, S. Y.; WOO, D. G.; LEE, D.R. YOON, T. K.; PARK, K-H. Chondrogenic potential of stem cells derived from amniotic fluid, adipose tissue, or bone marrow encapsulated in fibrin gels containing TGF-β3. Biomaterials, v.32, n.32 p.8139-8149, 2011.

PAYUSHINA, O. V.; DOMARATSKAYA, E. I.; STAROSTIN, V. I. Mesenchymal stem cells: sources, phenotype, and differentiation potential. Cell Biology, v.33, n.1, p.2-18, 2006.

PITTENGER, M. F.; MACKAY, A. M.; BECK, S.C.; JAISWAL, R. K.; DOUGLAS, R.; MOSCA J. D.; MOORMAN, M. A.; SIMONETTI, D. W., CRAIG, S., MARSHAK, D. R. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. Science, v.284, n.5411, 1999.

PRESNELL S. C.; PETERSEN, B.; HEIDARAN, M. Stem cells in adult tissues. Cell & Developmental Biology, v.13, n.5, p.369-76, 2002.

PUETZER, J. L.; PETITTE, J. N.; LOBOA, E. G. Comparative review of growth factors for induction of three-dimensional *in vitro* chondrogenesis in human mesenchymal stem cells isolated from bone marrow and adipose tissue. Tissue Engineering Part B, v.16, n.4, p., 2010.

RADA, T.; REIS, R. L.; GOMES, M. E. Adipose tissue-derived stem cells and their application in bone and cartilage tissue engineering. Tissue Engineering Part B, v.15, n.2, p.113-125, 2009.

RANDAU, T. M.; SCHILDBERG, F. A.; ALINI, M.; WIMMER, M. D.; HADDOUTI, E-M.; GRAVIUS, S.; ITO, K.; STODDART, M. The effect of dexamethasone and triiodothyronine on terminal differentiation of primary bovine chondrocytes and chondrogenically differentiated mesenchymal stem cells. Plos One, v.8, n.8, p.e72973, 2013.

RAO, M.S. Stem sense: a proposal for the classification of stem cells. Stem Cells and Development, v.13, n.5, p.452-455, 2004.

RASTEGAR, F.; SHENAQ, D.; HUANG, J. ZHANG, W.; ZHANG. B.; HE, B.; CHEN, L.; ZUO, G.; LUO, Q.; SHI, Q.; WAGNER, E. R.; HUANG, E.; GAO, Y.; GAO, J.; KIM, S. H.; ZHOU, J.; BI, Y.; SU, Y.; ZHU, G.; LUO, J.; LUO, X.; QIN, J.; REID, R. R.; LUU, H. H.; HAYDON, R. C.; DENG, Z.; HE, T. Mesenchymal stem cells: molecular characteristics and clinical applications. World Journal of Stem Cells, v.2, n.4, p.67-80, 2010.

RICARDO, S.D.; DEANE, J.A. Adult stem cells in renal injury and repair. Nephrology, v.10, n.3, p.276-282, 2005.

SEKIYA, I.; TSUJI, K.; KOOPMAN, P.; WATANABE, H.; YAMADA, Y.; SHINOMIYA, K.; NIFUJI, A.; NODA, M. SOX9 enhances aggrecan gene promoter/enhancer activity and is up-regulated by retinoic acid in a cartilage-derived cell line, TC6. The Journal of Biological Chemistry, v.275, n.15, p.10738-10744, 2000.

SEKIYA, I.; COLTER, D.C.; PROCKOP, D.J. BMP-6 enhances chondrogenesis in a subpopulation of human marrow stromal cells. Biochemical and Biophysical Research Communications, v.284, n.2, p.411-418, 2001.

SEKIYA, I.; LARSON, B. L.; VUORISTO, J. T.; REGER, R. L.; PROCKOP, D. J. Comparison of effect of BMP-2, -4, and -6 on *in vitro* cartilage formation of human adult stem cells from bone marrow stroma. Cell and Tissue Research, v.320, n.2, p.269-276, 2005.

SHEN, B.; WEI, A.; TAO, H.; DIWAN, A. D.; MA, D. D. BMP-2 enhances TGF-beta3-mediated chondrogenic differentiation of human bone marrow multipotent mesenchymal stem cells in alginate bead culture. Tissue Engineering Part A, v.15, n.6, p.1311-1320, 2009.

SHEN, B.; WEI, A.; WHITTAKER, S.; WILLIAMS, L. A.; TAO, H.; MA, D. D. F.; DIWAN, A. D. The role of BMP-7 in chondrogenic and osteogenic differentiation of human bone marrow multipotent mesenchymal stromal cells *in vitro*. Journal of Cellular Biochemistry, v.109, n.2, p.406-416, 2010.

SHENFIELD, F.; PENNINGS, G.; SUREAU, C.; COHEN, J.; DEVROEY, P.; TARLATZIS, B. Stem cells. Human Reproduction, v.17, n.5, p.1409-1410, 2002.

SCHMITT, B., RINGE, J.; HÄUPL, T.; NOTTER, M.; MANZ, R.; BURMESTER, G-R.; SITTINGER, M.; KAPS, C. BMP2 initiates chondrogenic lineage development of adult human mesenchymal stem cells in high-density culture. Differentiation, v.71, n.9-10, p.567-577, 2003.

SOLCHAGA, L. A.; PENICK, K.; GOLDBERG, V. M.; CAPLAM, A. I.; WELTER, J. J. Fibroblast growth factor-2 enhances proliferation and delays loss of chondrogenic potential in human adult bone-marrow-derived mesenchymal stem cells. Tissue Engineering Part A, v.16, n.3, p.1009-1019, 2010.

SOLCHAGA, L. A.; PENICK, K.; WELTER, J. F. Chondrogenic differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells: tips and tricks. Methods in Molecular Biology, v.698, p.253-278, 2011.

THOMSON, J. A.; ITSKOVITZ-ELDOR, J.; SHAPIRO, S. S.; WAKNITZ, M. A.; SWIERGIEL, J. J.; MARSHALL, V. S.; JONES, J. M. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. Science, v.282, n.5391, p.1145-1147, 1998.

VATER, C.; KASTEN, P.; STIEHLER, M. Culture media for the differentiation of mesenchymal stromal cells. Acta Biomaterialia, v.7, n.2, p.463-477, 2011.

WAKITANI, S.; NAWATA, M.; TENSHO, K.; OKABE, T.; MACHIDA, H.; OHGUSHI, H. Repair of articular cartilage defects in the patello-femoral joint with autologous boné marrow mesenchymal cell

transplantation: three case reports involving nine defects in five knees. Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine, v.1, n.1, p.74-79, 2007.

WU, L. N. Y.; GENGE, B. R.; ISHIKAWA, Y.; WUTHIER, R. E. Modulation of cultured chicken growth plate chondrocytes by transforming growth factor-β1 and basic fibroblast growth factor. Journal of Cellular Biochemistry, v.9, n.2, p.181-198, 1992.

ZHANG, Y.; KUMAGAI, K.; SAITO, T. Effect of parathyroid hormone on early chondrogenic differentiation from mesenchymal stem cells. Journal of Orthopaedic Surgery and Research, v.9, n.1, p.68-74, 2014a.

ZHANG, X.; ZHANG, Y.; WANG, Z. The effect of non-growth factors on chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells. Cell and Tissue Banking, v.15, n.3, p.319-327, 2014b.

ZUK, P. A.; ZHU, M.; MIZUNO, H.; HUANG, J.; FUTRELL, J. W.; KATZ, A. J.; BENHAIM, P.; LORENZ, H. P.; HEDRICK, M.H. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. Tissue Engineering, v.7, n.2, p.211-228, 2001.

ZUK, P.A.; ZHU, M.; ASHJIAN, P.; DE UGARTE, D. A.; HUANG, J. I.; MIZUNO, H.; ALFONSO, Z. C.; FRASER, J. K.; BENHAIM, P.; HEDRICK, M.H. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. Molecular Biology of the Cell, v.13, n.12, p.4279-4295, 2002.

Capítulo 13- Efeito do rbST na reprodução de fêmeas bovinas

Oliveira, F.A.[1]; Almeida, I.C. [2]; Lopes, A.C. [3]; Torres, C.A.A.[4]; Bolzan, R.P.[5]; Penitente Filho, J.M. [6]

INTRODUÇÃO

A somatotrofina bovina recombinante (rbST) foi um dos primeiros fatores de crescimento, produzidos em escala comercial, com proteína recombinante, com múltiplos efeitos no crescimento e diferenciação celular (GLUKMAN *et al*., 1987). O primeiro estudo em 1982 demonstrou que a aplicação de rbST resultava em aumento na produção de leite em vacas leiteiras (BAUMAN *et al*., 1982), aumentando entre 10 a 15% na produção de leite (ETHERTON & BAUMAN, 1998). Em 1994, a rbST começou a ser comercializada para uso em vacas leiteiras e foi associada a uma formula de liberação lenta que permitiu que as aplicações de rbST (Posilac 500mg, Monsanto Co., St. Louis, Missouri) pudessem ser administradas a cada duas semanas a partir do dia 60 da lactação, aproximadamente.

A rbST estimula a produção do GH endógeno e do fator de crescimento semelhante a insulina I (IGF-I; LUCY, 2000). A administração de rbST em animais sadios duplica os níveis de IGF-1 no sangue. Sendo assim, provavelmente o aumento na produção de leite ocorre em resposta a essa elevação nas concentrações de IGF-I no sangue. Alguns efeitos importantes mediados pelo IGF-I são aumento na proliferação celular e potente inibição da apoptose (PERUZZI *et al*., 1999) por vias endócrina, parácrina e autócrina.

Nos ovários, sobretudo no crescimento folicular (KIRBY *et al.*, 1997). Em novilhas e vacas européias o tratamento com rbST elevou o número de folículos pequenos (GONG *et al*. 1996; KOZICKI *et al*., 2005;), assim como em novilhas da raça Nelore (BURATINI Jr. *et al*., 2000). Essas alterações nos ovários são provavelmente a combinação do efeito direto da rbST e indireto do IGF-1 (KIRBY *et al*., 1997; LUCY, 2001). Os IGFs exercem uma importante função no crescimento folicular através do estímulo à proliferação das células da granulosa, em sinergismo com as gonadotrofinas (GONG *et al*., 1996; RIVERA *et al*., 2004). Desse modo, a aplicação de rbST induz aumento de IGF-1 e consequentemente altera o desenvolvimento folicular, possibilitando melhora no desenvolvimento das biotécnicas reprodutivas.

Os fatores que controlam a manifestação de estro em bovinos não são totalmente conhecidos (LUCY, 2001). Lefebre & Block (1992), estudaram o efeito do rbST na manifestação do estro em novilhas ovariectomizadas tratadas com estradiol. As novilhas tratadas com rbST apresentaram menor número de montas em relação às tratadas com soro fisiológico. Essas mudanças na intensidade do estro em novilhas ovariectomizadas pode indicar uma menor sensibilidade do cérebro ao estradiol em novilhas tratadas com rbST.

Morbeck *et al*. (1991), observaram que detecção de estro diminuiu de 75% para 48% em vacas em lactação tratadas com rbST. Em outro estudo, Kirby *et al*. (1997) detectaram redução na manifestação de cio e aumento na porcentagem de ovulações não detectadas, neste estudo nem as concentrações de progesterona nem de estradiol foram afetadas pelo tratamento

[1]Médico Veterinário Dr. - Instituto Federal do Espírito Santo - Campus Alegre. email: falboli@hotmail.com
[2] Mestrando do Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, CCA/UFES, Alegre-ES, Bolsista CAPES. email: almeidaicvet@gmail.com
[3] Profª - Departamento de Engenheira Ambiental - Faculdade do Centro Leste - ES;
[4] Prof Dr - Departamento de Zootecnia - Universidade Federal de Viçosa;
[5] Zootecnista. - Instituto Federal do Espírito Santo - Campus Alegre. email: rpbolzan@ifes.edu.br
[6] Médico Veterinário.

com rbST. Segundo LUCY (2001), o maior número de vacas com maior intervalo entre partos, está associado a uma menor manifestação do estro em vacas tratadas com rbST.

Cole *et al*. (1992) relataram aumento no intervalo entre o primeiro estro e a primeira inseminação e atribuíram esse efeito a redução na manifestação de cio. Essa redução na manifestação de estro foi associada a aumento no balanço energético negativo. Concluindo que a rbST reduz a manifestação de cio por aumentar a produção de leite; o que aumenta a renovação de esteroides ou possivelmente através de um efeito direto sobre os centros do comportamento no cérebro.

Em revisão Santos *et al*., (2004) também relataram que o tratamento de vacas com rbST pode reduzir a taxa de detecção de estro. Com base na maioria dos estudos citados acima pode-se concluir que a rbST reduz a manifestação do estro, sendo importante descobrir maneiras de contornar esse problema para não afetar negativamente a reprodução.

O corpo lúteo (CL) possui receptores para rbST (LUCY *et al*., 2000) e IGF-1 (PATE el al., 1996), assim a administração de rbST é capaz de acelerar o crescimento do CL e controlar os níveis de progesterona produzidos pelo CL (LUCY *et al*., 1994). Waterman *et al*. (1993), relataram que vacas que recebem rbST têm CL mais pesado, devido ao aumento na produção de progesterona, já De La Sota *et al*. (1993), relataram que este CL responde da mesma maneira aos agentes luteotróficos.

Este processo, de forma direta ou indireta, pode acelerar o crescimento do CL e a secreção de P4 (LUCY *et al*., 1995), estimular a atividade secretória das glândulas endometriais e aumentar o desenvolvimento e a sobrevivência embrionária (MOREIRA *et al*., 2002). Entretanto, outros estudos têm encontrado ausência de elevação na concentração de P4 ao ser administrado rbST no momento do estro (STARBUCK *et al*., 2006; HAAS, 2004) ou no quinto dia do ciclo estral (FONSECA *et al*., 2001).

Entretanto, Thatcher *et al*. (2004), em estudo mais recente, relatou que vacas lactantes tratadas com 500 mg de rbST no momento da inseminação e 11 dias após, apresentaram decréscimo na concentração sérica de P4, o que pode estar associado a aumento na taxa de metabolismo geral do animal, induzido pelo rbST.

No útero o IGF-1 também pode regular a atividade secretória das glândulas endometriais, melhorando, assim, o ambiente uterino para manutenção da gestação (WATHES *et al*., 1998), aumentando o desenvolvimento e a sobrevivência embrionária (MOREIRA *et al*., 2002).

Moreira *et al*. (2002), relataram que o rbST melhorou a taxa de prenhez quando administrado em receptoras no momento da inovulação, talvez em função da melhor produção de fluídos uterinos, uma vez que as glândulas endometriais são ricas em receptores de IGF-1 e somatotropina.

A utilização do rbST e/ou IGF-1, em cultura de células embrionária de bovinos, acelerou o desenvolvimento embrionário no oitavo dia após a fertilização, bem como aumentou o número de células por embrião, resultando em maior secreção de interferon-tau no momento do reconhecimento materno da gestação (MANN & LAMMING, 2001). O aumento no desenvolvimento embrionário ocorre porque a rbST estimula a proliferação e/ou diferenciação das células e modula o seu metabolismo por aumentar o transporte de glicose. Assim, o aumento da concentração plasmática desses hormônios pode resultar em altas concentrações destes dentro das tubas uterinas e do endométrio, as quais podem estimular o desenvolvimento embrionário (PALMA *et al*., 1997).

Bilby *et al*.(1995), relataram que ao se administrar uma pequena dose de rbST (167mg), a taxa de concepção das vacas aumenta, mas não a das novilhas, sendo que esta pequena dose de rbST causa um leve aumento da concentração de IGF-1 melhorando a função ovariana e uterina, pois os ovários e o útero são sensíveis ao IGF-1.

Vacas lactantes, que possuem baixa concentração de IGF-1 em decorrência da lactação, a rbST pode resultar em incrementos na concentração de IGF-1, corrigindo, assim, um desequilíbrio endócrino e metabólico (THATCHER *et al*., 2004). Segundo Lucy *et al*. (1995), a aplicação de 25 mg/dia de rbST do estro até o 16º dia do ciclo estral em vacas lactantes resultou em aumento de 12,5% na taxa de prenhez.

A aplicação da rbST na inseminação em um protocolo Ovsynch foi eficiente em melhorar a fertilidade, aumentando as taxas de prenhez (MOREIRA *et al*., 2000; MOREIRA *et al*., 2001), fato também observado em protocolos Presynch (MOREIRA *et al*., 2001). Confirmando o proposto que ela estimula o desenvolvimento e a sobrevivência do embrião de vacas em lactação. Além disso, as taxas de prenhez aumentaram e as perdas embrionárias diminuíram em vacas que receberam rbST no mesmo dia da administração de GnRH tanto no protocolo Ovsynch quanto no Selectsynch; independentemente de se as vacas haviam sido submetidas à IATF ou inseminadas após a observação do cio, respectivamente (SANTOS *et al*., 2004).

Em um estudo feito no México (MORALES-ROURA *et al*., 2001) com vacas submetidas a três ou mais IA sem sucesso houve melhora nas taxas de prenhez quando a rbST foi administrada no estro e novamente 10 dias depois. As taxas de concepção foram de 29% em vacas tratadas com rbST *vs*. 17% para as vacas controle. Esses trabalhos ilustram a importância da rbST e/ou do IGF-I para melhorar a fertilidade, possivelmente por melhorar a sobrevivência e manutenção do embrião.

Santos *et al.* (2004) indicam que o efeito de rbST sobre a fertilidade ao primeiro serviço dependeram do protocolo de manejo reprodutivo adotado para a primeira inseminação. Quando somente vacas cíclicas foram avaliadas, o efeito do rbST foi significativo. As taxas de concepção em vacas inseminadas após detecção de estro foram 53% e 40% para o grupo rbST e controle, respectivamente, enquanto as taxas de concepção em vacas inseminadas após protocolo Presynch/Ovsynch foram 39% *vs* 35% para o grupo rbST e controle, respectivamente. O tratamento com rbST também reduziu as perdas de prenhez depois da primeira IA.

Em outro estudo, Moreira *et al*., (2002), relataram que o rbST ou IGF-1 parecem melhorar a capacidade de fertilização dos espermatozoides e a competência dos oócitos em se tornarem fertilizados, melhorando assim a taxa de prenhez.

Novilhas parecem não responder à aplicação de rbST de modo satisfatório, provavelmente devido as concentrações de IGF-1 serem superiores àquelas encontradas em vacas (BILBY *et al.*, 1999).

Outros pesquisadores não observaram efeito da rbST sobre o numero de dias em aberto (LUNA-DOMINGUEZ *et al*., 2000), comprimento do ciclo estral (GONG *et al*., 1996) ou numero de serviços por concepção (COLE *et al*., 1991; ESTEBAN *et al*., 1994; LUNA-DOMINGUEZ *et al*., 2000). Santos *et al*. (2000), Lucy (2000) e Rennó *et al.* (2006) citaram que a aplicação de rbST não apresentou efeito direto sobre o desempenho reprodutivo de vacas em lactação.

Jousan *et al*. (2007) não observaram nenhum efeito benéfico da administração de rbST sobre as taxas de prenhez ao primeiro serviço em vacas em lactação expostas a stress calórico. Uma possibilidade é que os efeitos de promoção da fertilidade do rbST foram anulados pela ligeira elevação da temperatura corporal nas vacas tratadas com rbST. Em estudos em que o rbST resultou em melhora da fertilidade ao primeiro serviço, não houve efeito positivo sobre a fertilidade ao segundo serviço (MOREIRA *et al*., 2001; Santos *et al*., 2004). Talvez as alterações de dinâmica folicular ou condição corporal induzidas pelo rbST tenham obscurecido os efeitos de promoção da fertilidade do rbST.

Contrapondo os estudos anteriores, alguns pesquisadores relataram efeito negativo da rbST sobre a reprodução, onde vacas em lactação tratadas com rbST apresentavam redução nas taxas de concepção (DOWNER *et al*., 1993; LUNA-DOMINGUEZ *et al*., 2000), redução nas

taxas de prenhez (ESTEBAN *et al*., 1994), aumento na incidência de ovários císticos, aumento no número de dias até a primeira inseminação (ESTEBAN *et al*., 1994), aumento no número de dias em anestro (WATERMAN *et al*., 1993; ESTEBAN *et al*., 1994) e aumento no número de serviços por concepção (COLE *et al*., 1991; SANTOS *et al*., 2000).

Entretanto, Lucy (2000), citou que não existem efeitos negativos inerentes à aplicação do rbST na reprodução. Esta é mais influenciada pelo aumento da produção de leite e do balanço energético negativo pós-parto. Dessa forma, quando vacas leiteiras são submetidas ao tratamento com rbST, espera-se máxima resposta produtiva e nenhuma alteração nos índices reprodutivos. As condições para a obtenção desses resultados dependem da habilidade dos especialistas em avaliar o estado nutricional e alimentar dos animais, para que seja proporcionado consumo adequado de nutrientes que sustentem as atividades produtiva e reprodutiva (COLE & LUCY, 1997; LUCY, 2001). Já Bilby *et al*. (2004) relatou que a diminuição nas taxas de prenhez também podem ser atribuídas à hiperestimulação do IGF1, produção induzida pelo tratamento com o rbST.

Foi relatado a presença de receptores de GH em células do cumulus e demonstrado que oócitos bovinos *in vitro* tratados com rbST demonstravam maior maturação (IZADYAR *et al*., 1997). Adicionalmente, Izadyar *et al*. (2000) relataram aumento na proporção de embriões em estagio > 8 células no terceiro dia após a fertilização, bem como aumento na porcentagem de blastocistos formados e eclodidos no nono dia após a fertilização.

Moreira *et al*. (2002) confirmaram essas observações anteriores de que a adição de GH e IGF-I aumenta o desenvolvimento até o estágio de blastocisto e o número de células *in vitro* e *in vivo*. Outro mecanismo pelo qual a rbST pode aumentar o desenvolvimento a blastocisto pode estar relacionado com a inibição da apoptose. Jousan & Hansen (2004) mostraram que o IGF-I aumenta o número total de células e reduz o numero de blastômeros que se tornam apoptóticos em embriões bovinos. Esses resultados sugerem que a manipulação do sistema do IGF-I pode melhorar a sobrevivência dos embriões em vacas expostas a estresse térmico ou outros fatores de estresse que podem induzir a apoptose.

Embora a rbST tenha ação direta no oviduto (PERSHING *et al*., 2002), no útero e no desenvolvimento embrionário precoce (KIRBY *et al*., 1996; MOREIRA *et al*., 2002), sabe-se muito pouco sobre seus efeitos entre 7 e 32 dias após a IA, que parece ser um período critico para que a rbST tenha efeito direto sobre o embrião ou indireto via unidade materna (ou seja, útero) ou hormônios circulantes como IGF-I.

Outro evento importante nessa janela critica entre os dias 16 e 17 após o estro é a manutenção do corpo lúteo (CL). O tratamento com rbST tanto *in vivo* quanto *in vitro* afetou os genes que regulam a produção de $PGF_2\alpha$. BADINGA *et al*. (2002) demonstraram em uma linhagem de células de endométrio bovino que tanto GH bovino quanto interferon-tau (IFN-τ) suprimiram a produção de $PGF_2\alpha$ e quando combinados resultaram em um efeito aditivo na redução da secreção de $PGF_2\alpha$.

Nas amostras de endométrio coletadas nos dias 3 e 7 após a ovulação sincronizada de vacas leiteiras que receberam aplicação de rbST, as concentrações da proteína PGHS-2 (um metabólito do $PGF_2\alpha$) diminuíram quando comparadas com os controles não tratados (BALAGUER *et al*., 2005).

Kolle *et al*. (1997) encontraram RNAm de receptores de GH em embriões. Seus dados sugerem que o GH pode atuar junto com outros fatores de crescimento (IGF-I e IGF-II) para aumentar o desenvolvimento dos embriões pré-implantação. Além disso, receptores de IGF-I podem ser encontrados em todos os estágios de embriões bovinos pré-implantação (YASEEN *et al*., 2001). Como a administração de rbST eleva a taxa de desenvolvimento ao estágio de blastocisto e o número de células do embrião, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, ela pode consequentemente melhorar o desenvolvimento do concepto permitindo uma maior liberação de

IFN-τ no dia 17 da gestação. O aumento no IFN-τ pode contribuir para um número maior de animais mantendo a gestação e menor com perda embrionária precoce.

Foram realizados estudos com vacas não lactantes (BILBY *et al*., 2004) quanto lactantes (BILBY *et al*., 2006), avaliando a utilização de rbST em protocolo de IATF. Os animais avaliados nesse experimento, recebendo rbST, apresentaram maiores tamanhos e concentrações de IFN-τ comparado com os animais controle (BILBY *et al*., 2004; BILBY *et al*., 2006). Esses aumentos foram na faixa de duas vezes no tamanho dos conceptos e de três vezes nas concentrações de IFN-τ. Esse crescimento embrionário avançado pode ter ocorrido devido a uma hiperestimulação das concentrações de IGF-I resultante da administração da rbST.

Sabe-se que a rbST também exerce efeitos diretos é a embriogênese (KAISER *et al*. 2001, SIROTKIN, 2005), e que o IGF1 possui uma ação benéfica no desenvolvimento embrionário durante a superovulação, o que pode ser constatado a partir da correlação positiva entre as concentrações plasmáticas de IGF-1 e o número de embriões viáveis produzidos por vaca superovulada.

Alguns autores têm estudado a possibilidade de melhorar a resposta superovulatória de fêmeas bovinas com a aplicação de rbST, pelo recrutamento de folículos no início da onda folicular, aumentando o número de folículos ovulatórios e, consequentemente, o número de ovulações e embriões viáveis (GONG *et al*., 1996; MOREIRA *et al*., 2002; NAGANO, 2004).

Maffili *et al*. (2001), relataram que o uso da rbST em conjunto com a superovulação não aumentou a quantidade de embriões produzidos, mas melhora o desenvolvimento e a qualidade embrionária. Fato este, não verificado por Borges *et al*. (2001), onde o efeito do pré-tratamento com aplicação de 500mg de rbST, no terceiro dia o ciclo estral, não modificou a resposta superovulatória. Segundo Gong *et al*. (1996) e Herrler *et al*. (1994), esta melhora da qualidade embrionária é devido melhora na maturação oocitária.

Maffili *et al*. (2001), observaram que o rbST, não modificou o resultado do grupo tratado em relação ao grupo controle, nas variáveis total de estruturas e embriões transferíveis, mas melhorou o desenvolvimento e a qualidade embrionária. O tratamento com rbST aumentou as concentrações de progesterona, condição também observados por Herrier *et al*. (1992) quando, em vacas, observaram maior número de embriões transferíveis no grupo do rbST em relação ao controle (4.2±1.0 x 2.5±0.7). Além do maior número de embriões viáveis, Kuehner *et al*. (1993) relataram que o rbST aumentou o número dos corpos lúteo (18.1 x 13.4) e de embriões transferíveis (74.6 x 58.6%), em relação ao grupo controle.

Um experimento foi conduzido para determinar o efeito do rbST sobre o desenvolvimento de embriões de doadoras superovuladas e sobre as taxas de prenhez de vacas receptoras também tratadas com rbST (THATCHER *et al*., 2001). No momento da primeira inseminação, as vacas foram alocadas para receber uma dose única de rbST ou para o grupo não tratado com rbST. Os ovos e embriões foram coletados 7 dias depois da IA. De uma forma geral, este estudo indicou que o tratamento das vacas doadoras com rbST aumentou as taxas de fertilização (menor número de ovos não fertilizados), a porcentagem de embriões transferíveis ou congeláveis e acelerou a maturação embrionária (maior número de embriões na fase inicial de blastocisto e blastocisto expandido).

A segunda fase do experimento determinou se a transferência de embriões de vacas doadoras tratadas com rbST ou controles, para vacas receptoras tratadas com rbST ou controles, afetaria as taxas de prenhez. Vacas holandesas em lactação foram usadas como receptoras e receberam tratamento com rbST 1 dia depois da observação de estro ou atuaram como controles não tratados. Depois do tratamento inicial com rbST, os tratamentos com rbST foram continuados a cada 14 dias durante a lactação. Embriões rbST ou controles foram descongelados e transferidos diretamente a receptoras tratadas com rbST ou controles no dia 7 depois da detecção de estro. O diagnóstico de prenhez foi realizado aos 40 a 45 dias depois da TE. Entre as receptoras controle, a transferência de embriões de doadoras tratadas com rbST

aumentou as taxas de prenhez em comparação à transferência de embriões controle (56 *vs*. 26%), mas não houve diferenças entre as receptoras tratadas ou não com rbST. Independentemente da fonte dos embriões, as taxas de concepção das receptoras tratadas com rbST (43%) foram mais elevadas que as de receptoras controle recebendo embriões controle (26%). De uma maneira geral, estes resultados indicam que o rbST pode elevar as taxas de prenhez em vacas leiteiras em lactação ao aumentar as taxas de fertilização, acelerar o desenvolvimento embrionário precoce e afetar fatores nas vacas prenhês que estimulam o desenvolvimento do embrião.

Vários estudos têm mostrado que a rbST tem a capacidade de aumentar o número de folículos recrutados e, portanto, de embriões viáveis, após diferentes tratamentos superovulatórios (GONG *et al*., 1996, LUCY, 2000; NAGANO *et al*., 2004; NEVES *et al*., 2005), sinalizando que a utilização de rbST, independente da dose, aumentou o percentual de embriões viáveis, provavelmente em decorrência da ação direta ou indireta da rbST no estímulo metabólico de folículos antrais que normalmente entrariam em atresia.

A rbST afeta alguns, mas não todos os aspectos do crescimento folicular, sendo que o rbST estimula a quantidade de folículos que entram na fase de recrutamento da onda folicular. De modo geral, nas vacas tratadas com rbST são recrutados duas vezes mais folículos. Esta resposta é observada tanto na primeira como na segunda onda de crescimento folicular, estando associada provavelmente ao aumento no nível de IGF-1 sanguíneo em vacas tratadas com rbST. O IGF-1 atua de forma sinérgica com as gonadotrofinas (LH e FSH), para estimular o crescimento folicular (LUCY, 2000). Assim, as gonadotrofinas normalmente encontradas no sangue se tornam mais potentes em vacas tratadas com rbST, o que ocasiona um maior recrutamento de folículos (LUCY, 2001), entretanto um aumento no número de folículos recrutados não leva a maiores quantidades de folículos dominantes, sendo que a fase de seleção é rigorosamente controlada nos bovinos, o que impede ovulações múltiplas. Aparentemente a seleção não é influenciada pelo rbST (LUCY, 2001).

Segundo Thatcher *et al*. (2001), os efeitos que são atribuídos ao rbST são, basicamente, aceleração do desenvolvimento embrionário e modulação dos fatores de crescimento das proteínas do útero e oviduto, induzida por tratamento rbST.

Vários trabalhos, incluindo os de Gong *et al*. (1996) e Kuehner *et al*. (1993), demonstraram a capacidade do rbST em aumentar o número de pequenos folículos nos ovários, levando à uma melhor resposta superovulatória. Kirby *et al*., (1997) relatam que a estimulação da rbST sobre o desenvolvimento folicular é de modo indireto, via IGF-1, que é um importante fator de crescimento intraovariano, ou por ação direta, uma vez que o ovário apresenta receptor para rbST (LUCY *et al*., 2000).

Em um estudo, no Brasil, com vacas Holandesas o diâmetro ovulatório foi significativamente maior no grupo tratado com rbST (18,2 mm) em relação ao grupo controle (15 mm) (KOZICKI *et al*., 2005). Novilhas Nelore após aplicação de rbST apresentaram aumento no número de folículos pequenos, mas foi menor que o observado em fêmeas *Bos taurus.*

Já Arnone (2008) avaliando o uso do rbST em vacas Tabapuã com baixo escore corporal, não encontrou aumento de IGF-1 nas concentrações necessárias para afetar o crescimento folicular, corroborando com Lucy *et al*. (1992) que demonstrou que quando as fêmeas são submetidas à dieta de baixa energia ocorre diminuição nas concentrações de IGF-1 e desta forma redução no crescimento folicular.

Experimentos com a utilização da rbST tem demonstrado que promovem o aumento da população de folículos (GONG *et al*., 1996; KIRBY *et al*., 1997). Sua utilização em programas de superovulação e transferência de embriões têm o objetivo de reduzir a variabilidade da resposta entre os animais.

Segundo o trabalho de Moreira *et al*. (2002), ao se acrescentar somatotropina ao meio de maturação, do cultivo de embriões *in vitro*, é possível se elevar à taxa de clivagem dos ovócitos e a proporção de embriões que alcançam o estádio de blastocisto, sendo que ao se neutralizar os efeitos do IGF-1, não se reduziu os efeitos estimulatórios da somatotropina no desenvolvimento embrionário precoce. Portanto, concluiu-se que a somatotropina afeta o desenvolvimento embrionário independentemente da ação do IGF-1, no entanto, não se exclui a possibilidade da somatotropina estimular a produção de IGF-1 intracelular.

Mtango *et al*. (2003) também relatou que a presença de somatotropina no meio de cultivo acelera o processo de maturação nuclear, diminui a apoptose, aumenta a proliferação celular, melhora a congelabilidade e a sobrevivência após o descongelamento para embriões *in vitro*.

Em estudo *in vivo*, Bols *et al*. (1998), descreveram um protocolo de aspiração folicular com rbST por longos períodos em vacas holandesas e obtiveram melhora de 25% no número de folículos, mas este protocolo não afetou a quantidade nem a qualidade dos oócitos aspirados, entretanto Gray *et al*. (1993) e Pavlok *et al*. (1996), relataram que uma única aplicação de rbST melhora a qualidade e a quantidade de oócitos aspirados, contudo sem afetar o número de folículos.

No intuito de prevenir maiores perdas embrionárias, vários autores têm sugerido a utilização da rbST, que participa dos processos fisiológicos e metabólicos (DAVIS, 1998), aumentando as concentrações rbST, do IGF-I e a frequência de pulsos do LH (MOREIRA *et al*., 2002), aumentando direta ou indiretamente a concentração de IFN-τ no lúmen uterino, as taxas de prenhez e o tamanho do concepto e acelerando o desenvolvimento do embrião.

Moreira *et al*. (2002) observaram que a aplicação de rbST nas receptoras de embriões aumenta as concentrações de IGF-1 e rbST e as taxas de fertilização, acelerando o desenvolvimento embrionário e melhorando a qualidade do embrião. Neste contexto, maior desenvolvimento embrionário inicial é importante para melhor sinalização do embrião no útero materno e contribui para o reconhecimento materno da gestação. Esta condição foi verificada por Thatcher *et al*. (2006), que observaram aumento na concentração de IFN-τ no fluido uterino após a administração de rbST. Adicionalmente, estes mesmos autores encontraram maior concentração plasmática de IGF-1 em vacas gestantes em comparação a vacas não-gestantes e esta diferença pode ter contribuído para o estabelecimento da gestação, em razão do aumento no desenvolvimento embrionário (MOREIRA *et al*., 2002).

No endométrio de vacas também existe receptores para rbST e IGF-1 (WATHES *et al*., 1998) e, em alta concentração, nas glândulas epiteliais uterinas, o que sugere uma função para o IGF-1 na regulação da atividade secretória das glândulas endometriais, com efeito somatório na manutenção da gestação, em virtude da melhoria no ambiente uterino (MOREIRA *et al*., 2002). Em estudo recente Marques *et al*. (2009), também encontrou maior taxa de prenhez para receptoras tratadas com rbST em relação as controle, esta taxa foi de 65,7%.

O estresse térmico influencia negativamente a reprodução e a produção de vacas leiteiras, reduzindo o número de células no embrião e aumentando a porcentagem de células em apoptose (JOUSAN & HANSEN, 2004). Sendo assim, diversos estudos investigaram se a utilização de rbST poderia melhorar a tolerância dos embriões ao estresse térmico e melhorar tanto as taxas de prenhez quanto a produção de leite em períodos de calor.

Jousan & Hansen (2004) conduziram uma serie de estudos utilizando embriões bovinos fertilizados *in vitro* (FIV) cultivados com ou sem IGF-I. O IGF-I bloqueou a redução no número de células e reduziu a porcentagem de células em apoptose em embriões submetidos a um estresse término no dia 5 e no dia 8.

Como o IGF-I tem propriedades de proteção térmica *in vitro*, foram delineados estudos para avaliar se a transferência de embriões cultivados com IGF-I para vacas receptoras em situações de estresse térmico melhoraria as taxas de prenhez (BLOCK *et al*., 2003). Vacas

holandesas em lactação e em situação de estresse térmico (n = 260) foram sincronizadas com um protocolo de IATF e receberam embriões de FIV cultivados com e sem IGF-I no dia 7. A transferência de embriões tratados com IGF-I aumentou a taxa de prenhez no dia 53 e melhorou as taxas de parição (BLOCK *et al*., 2003).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em relação aos efeitos sobre a reprodução, pode ser observado que a utilização da rbST em vacas e novilhas apresentaram resultados discrepantes nos diversos trabalhos pesquisados.

As causas da diferença nos resultados são difíceis de serem identificadas, pois os resultados dependem de muitos fatores, como exemplos dose, temperatura e status de lactação (ou seja, lactante *vs*. não lactante) e principalmente balanço de energia, o que não é citado na maioria dos trabalhos.

No geral a utilização de rbST:

- Diminui a expressão do estro em vacas lactantes e não altera em novilhas;
- Aumenta as concentrações de progesterona;
- Na superovulação, aumenta o número de estruturas totais coletadas e o percentual de embriões viáveis, devido melhorar a maturação oocitária e o desenvolvimento embrionário inicial;
- Na FIV aumenta o número de folículos e qualidade dos oócitos;
- Aumenta as taxas de prenhez;
- Diminui as perdas embrionárias e pode prevenir redução adicional na fertilidade durante estresse térmico.

Assim, os fatores que podem influenciar a resposta do animal frente a administração da rbST devem ser levados em consideração quando for ser usada como ferramenta para melhorar a produção de leite e a reprodução. Mais estudos são necessários para avaliar outras ferramentas nutricionais e farmacológicas que possam aumentar a IGF-I ou fatores de crescimento importantes que melhorem o crescimento e a sobrevivência dos embriões.

REFERÊNCIAS

ARNONE, B. Caracterização morfológica da divergência folicular em vacas da raça Tabapuã (*Bos taurus indicus*) tratadas com somatotrofina bovina. Dissertação de mestrado, UNOESTE, Presidente Prudente-SP, 51f. 2008.

BADINGA, L. et al. Bovine somatotropin attenuates phorbol ester-induced prostaglandin F2 production in bovine endometrial cells. Journal Dairy Science, Philadelphia, v.85, p.537–543, 2002.

BALAGUER, S. A. et al. Effects of bovine somatotropin on uterine genes related to the prostaglandin cascade in lactating dairy cows. Journal Dairy Science, Philadelphia, v. 88, p.543-552, 2005.

BAUMAN, D.E. et al. Bovine somatotropin: review of an emerging animal technology. Journal Dairy Science, Philadelphia, v.75, p.3432-3451,1992.

BILBY, T.R. et al. Effects of bovine somatotropin (bST), pregnancy and a diet enriched in omega-3 fatty acids on the uterine GH system in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, Philadelphia, v.87, p.197, 2004.

BILBY, C.R. et al. Insulin-like growth factor-l and conception rate in cattle treated with low doses of recombinant bovine GH. Theriogenology, Melbourne, v.43, p.1285-1296, 1995.

BILBY, T.R. et al. Effects of bovine somatotropin (bST), pregnancy and a diet enriched in omega-3 fatty acids on the uterine GH system in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, Philadelphia, v.87 (suppl), p.197 (abstract), 2004.

BILBY, T.R. et al. Pregnancy, Bovine Somatotropin, and Dietary n-3 Fatty Acids in Lactating Dairy Cows: I. Ovarian, Conceptus, and Growth Hormone-Insulin-Like Growth Factor System Responses. Journal Dairy Science, Philadelphia, v. 89, p.3360-3374, 2006.

BILBY, C.R. et al. Plasma GH, IGF-I, and conception rate in cattle treated with low doses of recombinant bovine GH. Theriogenology, Melbourne, v. 51, p. 1285-1296, 1999.

BLOCK J. et al. Use of insulin-like growth factor-I during embryo culture and treatment of recipients with gonadotropin-releasing hormone to increase pregnancy rates following the transfer of in vitro-produced embryos to heat-stressed, lactating cows. Journal Animal Science, Champaign, v.81, p.1590-1602, 2003.

BOLS, P.E.J. et al. Effects of long-term treatment with bovine somatotropin on follicular dynamics and subsequent oocyte and blastocyst yield in an opu-ivc program. Theriogenology, Melbourne, v.49, p.983-995, 1998.

BORGES A.M. et al. Concentração plasmática de progesterona e metabólitos lipídicos em novilhas mestiças tratadas ou não com hormônio de crescimento e superovuladas. Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v.30, p.1689-1696, 2001.

COLE, W.J. et al. Effects of recombinantly derived bovine somatotropin on reprodutive performance of dairy cattle. Theriogenology, Melbourne, v.36, p.573-595, 1991.

COLE, W.J. et al. Response of dairy cows to high doses of a sustained-release bovine somatotropin administered during two lactations. 2. health and reproduction. Journal Dairy Science, Philadelphia, v.75, p.111-123, 1992.

COLE, W.J. & LUCY, M.C. Management of reproduction in dairy herds utilizing bovine somatotropin. In: YOUNGQUIST, R.S. (Ed.). Current therapy in large animal Theriogenology. Philadelphia: W.B. Saunders, 1997. p.473-478, 1997.

DAVIS, S.L. Recent concepts in regulation of growth by GH and IGF. Journal of Animal Science, Melbourne, v.66, p.84-97, 1998.

DE LA SOTA, R.L. et al. Effect of recombinant bovine somatotropin (sometribove) on ovarian function in lactating and nonlactating cows. Journal Dairy Science, Savoy, v.76, p. 1002-1013, 1993.

DOWNER, J.V. et al. Dose titration of sustained-release recombinant bovine somatotropin in lactating dairy cows. Journal Dairy Science, Philadelphia, v.75, p.111-123, 1993.

ETHERTON, T.D. & BAUMAN, D.E. Biology of somatotropin in growth and lactation of domestic animals. Physiology Reviews, Bethesda, v.78, p.745-761, 1998.

ESTEBAN, E. et al. Reproductive performance in high producing dairy cows treated with recombinant bovine somatotropin. Journal Dairy Science, Savoy, v.77, p.3371-3381, 1994.

FONSECA, J.F. et al. Concentração plasmática de progesterona em novilhas receptoras submetidas à administração de rbST, GnRH ou hCG no quinto dia do ciclo estral. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, v.53, n.4, p.451-458, 2001.

GLUCKMAN, P.D., BREIER, B.H., DAVIS, S.R. Physiology of the somatotropic axis with particular reference to the ruminant. Journal of Dairy Science, Sayo, v.70, p.442-466, 1987.

GONG, J.G. et al. Pretreatment with recombinant bovine somatotropin enhances the superovulatory response to FSH in heifers. Theriogenology, Melbourne, v.45, p.611-622, 1996.

GRAY, B. et al. The effect of treatment with bovine somatotropin (BST) on the superovulatory response of cattle. Theriogenology, Melbourne, v.39, p.227, 1993.

HERRLER, A. et al. Effect of recombinant bovine somatotropin on follicular IGF-1 contents and the ovarian response following superovulation treatment in dairy cows: A preliminary study. Theriogenology, Melbourne, v.41, p.601-611, 1994.

IZADYAR F. et al. Preimplantation bovine embryos express mRNA of growth hormone receptor and response to growth hormone addition during in vitro development. Molecular Reproduction and Development, Hoboken, v.57, p.247-255, 2000.

IZADYAR, F. et al. Stimulatory effect of growth hormone on in vitro maturation of bovine oocytes is exerted through cumulus cells and not mediated by IGF-I. Molecular Reproduction and Development, Hoboken,v.45, p.175-180, 1997.

JOUSAN, F.D. & HANSEN, P.J. Insulin-like growth factor-1 promotes resistance of bovine preimplantation embryos to heat shock through actions independent of its anti-apoptotic actions requiring PI3K signaling. Molecular Reproduction and Development, Hoboken, v.74, p.189–196, 2007

JOUSAN, F.D. & HANSEN, P.J. Insulin-like growth factor-I as a survival factor for the bovine preimplantation embryo exposed to heat shock. Biology of Reproduction, Washington, v.71, p.1665–1670, 2004.

KAISER, G.G. et al. Effects of growth hormone on female reproductive organs. Anatomia, Histologia, Embryologia, Hoboken, v.30, p.265–271, 2001.

KIRBY, C.J. et al. Effects of growth hormone and pregnancy on expression of growth hormone receptor, insulin-like growth factor-I, and insulin-like growth factor binding protein-2 and -3 genes in bovine uterus, ovary, and oviduct. Biology Reproduction, Washington, v.55, p.996-1002, 1996.

KIRBY, C.J. et al. Follicular function in lactating dairy cows treated with sustained release bovine somatotropin. Journal Dairy Science, Savoy, v.80, p.273–285, 1997.

KOLLE, S. et al. Expression of growth hormone receptor and its transcript during bovine early embryonic development. Reproduction in Domestic Animals, Hoboken, v.32, p.51, 1997.

KOZICKI, L. E. A somatotrofina bovina (bST) e sua relação com o recrutamento folicular ovariano durante o ciclo estral de vacas. Archives of Veterinary Science, Paraná, v.10, p. 35-44, 2005.

KUEHNER, L.F. et al. The effect of depot injection of recombinant bovine somatotropin on follicular development and embryo yield in superovulated Holstein heifers. Theriogenology, Melbourne, v.40, p.1003, 1993.

LEFEBRE, D.M. & BLOCK, E. Effect of recombinant bovine somatotropin on estradiolinduced estrous behavior in ovariectomized heifers. Journal Dairy Science, Philadelphia, v.75, p.1461-1464, 1992.

LUCY, M.C. et al. Effects of somatotropinon the conceptus, uterus, and ovary during maternal recognition of pregnancy on cattle. Domestic Animal Endocrinology, Hoboken, v.12, p.73-82, 1995.

LUCY, M.C. et al. Extend function of the corpus luteum and earlier development of the second follicular wave in heifers treated with bovine somatotropin, Theriogenology, Melbourne, v. 41, p. 561- 572, 1994.

LUCY, M.C. Regulation of follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle. Journal Dairy Science, Savoy, v.83, p. 1635-1647, 2000.

LUCY, M.C. Reprodutive loss in high producing dairy cattle: where will it end. Journal Dairy Science, Savoy, v.84, p.1277-1293, 2001.

LUNA-DOMINGUEZ, J.E. et al. Reprodutive performance of Holstein cows receiving somatotropin. Journal Dairy Science, Savoy, v.83, p.1451-1455, 2000.

MAFFILI, V.V. et al. Efeitos da somatotropina bovina na resposta superovulatória e na taxa de clivagem de zigotos de camundongas (Mus musculus). Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte, v.25, n.3, p.377-379, 2001.

MANN, G.E. & LAMMING, G.E. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of luteolytic mechanism in cows. Reproduction, London, v.121, p.175-180, 2001.

MARQUES, P.A.F. et al. Inovulação de embriões bovinos recém-colhidos em receptoras tratadas com rbST no dia do estro. Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v.38, n.3, p.462-466, 2009.

MORALES-ROURA, J.S. et al. Effect of short-term treatment with bovine somatotropina at estrus on conception rate and luteal function of repeatbreeding dairy cows. Theriogenology, Melbourne, v.55, p.1831-1841, 2001.

MORBECK, D.E. et al. Relationships among milk yield, metabolism, and reproductive performance of primiparous Holstein cows treated with somatotropin. Journal Dairy Science, Savoy, v.74, p.2153-2164, 1991.

MOREIRA, F. et al. Effects of growth hormone and insulin-like growth factor-I on development of in vitro derived bovine embryos. Theriogenology, Melbourne, v.57, p.895-907, 2002.

MOREIRA et al. Effects of day of the estrous cycle at the initiation of a timed artificial insemination protocol on reproductive responses in dairy heifers. Journal of Animal Science, Philadelphia, v.78, p.1568-1576, 2000.

MOREIRA, F. et al. Effects of growth hormone and insulin-like growth factor-I on development of in vitro derived bovine embryos. Theriogenology, Melbourne, v.57, p.895-907, 2002.

MOREIRA, F. et al. Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. Journal Dairy Science, Savoy, v.84, p.1646-1659, 2001.

MTANGO, N.R. et al. Growth factors and growth hormone enhance in vitro embryo production and postthaw survival of vitrified bovine blastocysts. Theriogenology, New York, v.59, p.1393-1402, 2003.

NAGANO, A.Y. et al. A somatotropina bovina recombinamento (rbst) na superovulação de fêmeas bovinas. Archives of Veterinary Science, Paraná, v.9, p. 101-106, 2004.

NEVES, E.F. et al. Pré-tratamento com somatotropina bovina (rbST) na superovulação de doadoras da raça Holandesa. Arquivos Brasileiro de Medicina Veteterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, v.57, p.205-209, 2005.

PALMA, G.A. et al. Effect of insulin-like growth factor I (IGF-I) at high concentration on blastocyst development of bovine embryos produced in vitro. Journal of Reproduction and Fertility, Paris, v.110,p.347-353, 1997.

PAVLOK, A. et al. Effect of recombinant bovine somatotropin on follicular growth and quality of oocytes in cattle. Animal Reproduction Science, San Diego, v.41, p.183-192, 1996.

PERUZZI, F. et al. Multiple signaling pathways of the insulin-like growth factor 1 receptor in protection from apoptosis. Molecular Cellular Biology, France, v.19, p.7203-7215, 1999.

PERSHING, R.A. et al. Effects of bST on oviductal and uterine genes encoding components of the IGF system in lactating dairy cows. Journal Dairy Science, Savoy, v.85, p.3260-3267, 2002.

RENNÓ, F.P. et al. Efeito da somatotropina bovina recombinante (rBST) sobre o desempenho produtivo e reprodutivo de vacas da raça Holandesa, Arquivos Brasileiro de Medicina Veteterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, v.58, n.2, p.158-166, 2006

RIVERA, G.M. & FORTUNE, J.E. Development of codominant follicles in cattle is associated with a follicle-stimulating hormone-dependent insulin-like growth factor binding protein-4 protease. Biology of Reproduction, Washington, v.65, p.112–118, 2004.

SANTOS, J.E.P. et al. Effect of bST and reproductive management on reproductive performance of Holstein dairy cows. Journal Dairy Science, Savoy, n.87, p.868–881, 2004.

SANTOS, I.W. et al. Sincronização do estro em vacas de corte. Archives of Veterinary Science, Paraná, v.5, p.1-4, 2000.

SIROTKIN, A.V. Control of reproductive processes by growth hormone: extra- and intracellular mechanisms. Veterinary Journal, v.170, p.307–317, 2005.

STARBUCK, M.J. et al. Effect of a single growth hormone (rbST) treatment at breeding on conception rates and pregnancy retention in dairy and beef cattle. Animal Reproduction Science, San Diego, v.93, p.349-359, 2006.

THATCHER, W.W. et al. Strategies for improving fertility in the modern dairy cow. Theriogenology, Melbourne, v.65, p.30-44, 2006.

THATCHER, W.W. et al. Uterineconceptus interactions and reproductive failure in cattle. Theriogenology, Melbourne, v.56, p.1435-1450, 2001.

THATCHER, W.W. Utilização de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) como estratégia para aumentar a taxa de prenhez em vacas leiteiras em lactação. In: VIII Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos, Uberlândia. Anais, CONAPEC. p.03-17, 2004.

WATERMAN, D.F., et al. Effect of bovine somatotropin on reproductive function in lactating dairy cows. Theriogenology, Melbourne, v.40, p.1015-1028, 1993.

WATHES, D.C., et al. Role of the insulin-like growth factor system in uterine function and placental development in ruminants. Journal of Dairy Science, Soya v.81, p.1778–1789, 1998.

YASEEN, M.A. et al. Changes in the relative abundance of mRNA transcripts for insulin-like growth factor (IGF-I and IGF-II) ligands and their receptors (IGF-IR/IGF-IIR) in preimplantation bovine embryos derived from different in vitro systems. Reproduction, London, v.122, p.601–610, 2001.

Capítulo 14- Efeitos do Balanço Energético Negativo no pós-parto de vacas leiteiras e de corte

Oliveira, F. A.[1]; Almeida, I.C.[2]; Lopes, A.C. [3]; Torres, C.A.A.[4]; Bolzan, R.P. [5]; Penitente Filho, J. M.[6]

INTRODUÇÃO

A eficiência reprodutiva de bovinos é dependente do tempo decorrente entre o parto e o retorno a ciclicidade pós-parto. Muitos dos mecanismos que controlam o retorno a ciclicidade no pós parto estão diretamente ligados à nutrição do animal (BUTLER, 2000; LUCY, 2003). Hormônios e metabólitos do trato gastrointestinal e de tecidos que respondem aos nutrientes afetam a secreção do GnRH e LH pela ação sobre o sistema nervoso central (SNC) e hipotálamo. Estes mesmo hormônios e metabólitos podem ter efeitos diretos sobre a função ovariana (tanto folículos como corpos lúteos), bem como sobre o oócito, oviduto e útero, os efeitos combinados de cada um destes eixos determinam a fertilidade pós-parto (LUCY, 2003).

São vários fatores envolvidos na duração do período de anestro em bovinos, destacam-se o estado nutricional pré e pós-parto, a ocorrência de balanço energético negativo (BEN), o estímulo da mamada, presença do terneiro, distocia, retenção de placenta e variações genéticas individuais. Estes fatores influenciam o funcionamento do eixo hipotalâmico-hipofisiário, pois atuam na regulação da liberação de GnRH e gonadotrofinas hipofisiárias (WILLIAMS et al., 1996).

Entre esses fatores que influenciam a reprodução, o balanço energético provavelmente seja o fator nutricional isolado mais importante, relacionado a função reprodutiva baixa em vacas durante o período periparto, sendo geralmente a principal causa do anestro. O balanço energético é definido como a energia líquida que é consumida menos a energia líquida necessária para a manutenção e produção. Durante as últimas semanas de gestação e início da lactação, as vacas passam por um período de BEN (SANTOS, 2000).

Durante as últimas semanas de gestação e início da lactação, as vacas passam por um período de BEN (SANTOS, 2000). A baixa ingestão de nutrientes está associada à perda de peso corporal que é manifestada por mudanças no ECC, atraso na primeira ovulação pós-parto, decréscimo na atividade luteal e anestro (FERREIRA, 1993).

O início do anestro nutricional ocorre, normalmente, quando os animais perdem de 22 a 24% do seu peso vivo ao início dos tratamentos. Também, existe variabilidade individual, sendo os animais que levam mais tempo para entrarem em anestro, os primeiros a retomarem a atividade ovariana, enquanto que aqueles que entraram em anestro mais rapidamente retornaram mais lentamente após a realimentação (STAGG, 2000).

O sucesso reprodutivo é dependente de nutrição adequada. Atualmente, há pouca dúvida de que a eficiência reprodutiva é minimizada durante momentos de restrição nutricional (AHIMA et al. 1996, FERNANDEZ-FERNANDEZ et al. 2006). Na verdade, o funcionamento

[1] Médico Veterinário Dr. - Instituto Federal do Espírito Santo - Campus Alegre. email: falboli@hotmail.com
[2] Mestrando do Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, CCA/UFES, Alegre-ES, Bolsista CAPES. email: almeidaicvet@gmail.com
[3] Profª - Departamento de Engenheira Ambiental - Faculdade do Centro Leste - ES;
[4] Prof Dr - Departamento de Zootecnia - Universidade Federal de Viçosa;
[5] Zootecnista. - Instituto Federal do Espírito Santo - Campus Alegre. email: rpbolzan@ifes.edu.br
[6] Médico Veterinário.

dos órgãos reprodutivos está sujeito ao *status* energético que limita a fertilidade a momentos de reserva energética adequada.

O BEN diminui as concentrações de glicose, insulina e IGF1 no sangue, e também baixa as concentrações de progesterona no plasma (SANTOS et al., 2006; AS FILHO, 2006). Há diminuição da atividade e concentração de leptina, provavelmente o metabólito responsável pela interação entre o estado metabólico do animal e sua capacidade reprodutiva (GONÇALVES et al., 2006). Todas estas substâncias e hormônios afetam a foliculogênese, ovulação e produção de esteróides (SANTOS e SA FILHO, 2006).

Para Short & Adams (1988), o nível de glicose no sangue é um mediador dos efeitos do nível de alimentação sobre a reprodução. O hipotálamo é o objetivo primário para a interpretação e reação ao estádio nutricional, e a liberação hipotalâmica de GnRH se suprime em fêmeas que recebem ração de baixo conteúdo de energia (RANDEL, 1990). Tal fato, segundo Short & Adams, (1988) e Lucy et al. (1991), o nível de glicose parece afetar a secreção de hormônios gonadotróficos pela pituitária, a sensibilidade diferencial do eixo hipotálamo-hipófise aos esteróides e a liberação de hormônios, assim como a função ovariana. Todavia, não há provas suficientes de que tudo isso seja consequência direta da falta de GnRH, ou se a deficiência energética afeta diretamente a hipófise, ovário, óvulo fecundado, embrião e feto.

A leptina é uma substância produzida pelos adipócitos e age diretamente sobre o hipotálamo regulando a ingestão de alimento e o balanço energético, mas também pode agir diretamente em nível hipotalâmico e ovariano (WILLIAMS, 2001). Em bovinos, quedas acentuadas no ECC diminuem a síntese e a secreção de leptina (WILLIAMS, 2001). A concentração de leptina plasmática varia com as mudanças agudas na nutrição e estão correlacionadas com a adiposidade (CHILLIARD et al., 1998).

A concentração de leptina está positivamente correlacionada com as concentrações de insulina e glicose, e negativamente correlacionada com as concentrações de GH e AGNE. A redução da leptina circulante coincide com reduções nas concentrações de insulina, IGF-I e com a frequência de pulsos de LH (AMSTALDEN et al., 2000). Os efeitos da leptina podem ser mediados, em parte, pelo neuropeptídeo Y (NPY), que ao contrário, tem sido mostrado como controlador da secreção de LH por meio da inibição da liberação de GnRH (WILLIAMS et al., 1999). A infusão de NPY no fluido cérebro-espinhal suprime a liberação de LH e, em animais desnutridos, verifica-se aumento na síntese de NPY e, consequentemente, reduz a liberação de GnRH (McSHANE et al., 1993) e tem mostrado modular negativamente a secreção de LH.

A insulina apresenta reduzida no caso de BEN e esta media a expressão de GHR-1A em vacas leiteiras (BUTLER et al., 2003; RHOADS et al., 2004), que resulta em menores concentrações de IGF-I no plasma. A insulina e o IGF-I influenciam a secreção de GnRH e LH. O controle hormonal (endócrino) origina de tecidos que respondem ao *status* metabólico ou nutricional do animal (por exemplo, insulina do pâncreas e IGF-I do fígado). Faz sentido que estas informações periféricas atuem sobre o hipotálamo para levar a informação de tecidos metabolicamente importantes. Uma variedade de metabólicos (glicose, ácidos graxos, etc) e outros hormônios atuando como mensageiros transportados pelo sangue e também podem estar envolvidos.

O IGF-I é um importante sinal hormonal que influencia os eventos reprodutivos como a mitogênese celular, produção hormonal e desenvolvimento embrionário, entre outras funções. Tem sido demonstrado que melhorando o *status* energético aumenta os níveis de IGF-I e insulina no plasma de bovinos (SPICER & ECHTERNKAMP, 1995). Insulina e IGF-I têm efeitos diretos em células ovarianas em cultivo *in vitro*. Alguns desses efeitos incluem o estímulo da mitogênese nas células granulosas e da produção de progesterona pelas células da granulosa e luteais (SPICER & ECHTERNKAMP, 1995).

Os mesmos metabólicos e hormônios que influenciam a secreção de GnRH e, em última análise a secreção de LH e FSH, podem atuar diretamente sobre o ovário para influenciar

a sensibilidade do ovário ao LH e ao FSH. Células ovarianas tratadas com insulina ou com IGF-I têm números maiores de receptores de gonadotrofina e maior ativação de vias de mensageiro secundário em resposta a gonadotropinas (LUCY, 2000). Há também um potencial para efeitos de insulina e IGF-I que são completamente independentes de LH e de FSH.

Os efeitos dos *status* energético sobre a reprodução são primariamente causados por mudanças na secreção do LH hipofisário (HANSEN, 1991). Há sincronia entre as secreção de GnRH e LH, de maneira que para cada pulso de LH pela adenohipófise, resulta de um pulso de GnRH (CLARKE & CUMMINS, 1982). A hipoglicemia resultante de BEN, reduz a secreção de GnRH.

A restrição nutricional crônica (prolongada) e a aguda (curta duração) comprometem o desenvolvimento folicular (DISKIN et al., 2003), com redução gradual na taxa de crescimento, no diâmetro máximo e na persistência do folículo dominante e no tamanho do corpo lúteo de novilhas (MURPHY et al., 1991) e vacas em lactação (STAGG, 2000).

A subnutrição, pelos efeitos sobre o corpo lúteo, pode comprometer a gestação. Há associação positiva entre as concentrações séricas e progesterona e a gestação (LAMMING & DARWASH, 1998). Bovinos subalimentados tem corpos lúteos menores e concentrações séricas de progesterona mais baixas. É provável que o efeito da nutrição sobre o tamanho dos corpos lúteos seja consequência dos efeitos nutricionais sobre o folículo antes da cobertura. Quando subalimentados, os bovinos que está ciclando têm folículos dominantes progressivamente menores e menos estrogênicos antes de sucumbirem ao anestro (BOSSI et al., 1999). Os folículos dominantes menores dão lugar a corpos lúteos menores. A capacidade esteroidogênica das células lúteas também depende de hormônios como GH, insulina e IGF-I, que são controlados pela nutrição da vaca (LUCY, 2000).

Pode ocorrer que embriões aparentemente normais não se desenvolvam no útero porque bovinos em baixo ECC não podem sintetizar teores adequados de fatores de crescimento embriotrópicos, necessários aos embriões filamentosos. Mapletoft et al. (1986) examinaram taxas de prenhez após a transferência de embriões e verificaram que as receptoras com ECC baixo tinham taxas de concepção menores em comparação com receptoras com ECC elevado. A perda embrionária depois do 28º dia da gestação era maior em vacas que tinham perdido mais ECC (SILKE et al., 2002). O sistema IGF é regulado nutricionalmente e claramente reside dentro do útero e do embrião. O tratamento de vacas com GH depois da inseminação aumentou as taxas de concepção, talvez por mecanismo embriotrófico envolvendo IGF-I (BILBY et al., 1999; MOREIRA et al., 2000). Por isso, os IGFs podem estar ligados a um efeito nutricional (ECC) sobre o embrião.

A perda de peso excessiva pode levar ao anestro em vacas, principalmente naquelas que pariram com um baixo ECC ou que ainda estão em crescimento. Normalmente, ao parto, vacas primíparas devem ter alcançado 83% do seu tamanho adulto. Caso a ingestão de nutrientes não seja suficiente para suprir a demanda da lactação, crescimento e manutenção a novilha irá mobilizar reservas corporais para sustentá-la e entrará em BEN (FREETL, 1999). Os efeitos do BEN sobre a fertilidade parecem ser mediados por alterações endócrinas e metabólicas (SANTOS, 2000). O metabolismo basal, atividade, crescimento, manutenção das reservas corporais têm prioridade sobre a reprodução, assim como, sobre a atividade cíclica ovariana e sobre o estabelecimento e manutenção da gestação (YAVAS & WALTON, 2000).

A ação da nutrição sobre a reprodução incluem efeitos sistêmicos: 1) hipotálamo via síntese e liberação de hormônio liberador de gonadotropinas (GnRH); 2) hipófise pela síntese e liberação de FSH, LH e hormônio de crescimento (GH); e 3) ovários regulando o crescimento folicular e a síntese de esteroides – estradiol e progesterona (DISKIN et al., 2003).

Vacas de corte

A duração do período de anestro pós-parto em vacas de corte em sistema de cria é de extrema importância econômica. Para esses animais, o retorno precoce à atividade ovariana pós-parto irá determinar quando estarão aptos para iniciar a estação de monta, e quanto tempo permanecerão ativos no período de monta. Bezerros nascidos de vacas com longo período de anestro pós-parto na estação de monta anterior tendem a ser mais jovens e pesar menos no período de desmama (FERREL, 1991).

É provável que a nutrição inadequada venha a ocorrer em sistemas de produção de bovinos de corte em que as vacas são submetidas a manejo para que produzam um bezerro por ano. Com uma duração média da gestação de 285 dias, nestes sistemas uma vaca precisa conceber dentro de um período de 80 dias após o parto para produzir um bezerro por ano. Nas novilhas e vacas em lactação, começando na segundo parição ou depois, a produção de leite geralmente alcança seu pico cerca de 2 meses após o parto, mas o consumo de matéria seca geralmente leva pelo menos 2 meses ou mais para alcançar seu máximo, o que resulta em BEN do início até o meio da lactação (BAUMAN & CURRIE, 1980). O baixo plano nutricional será mais evidente se o manejo das vacas for feito para que a parição ocorra durante a estação seca ou o inverno, quando é mais provável que a forragem seja de baixa qualidade e disponibilidade.

Embora seja difícil saber se nutrientes específicos limitam a reprodução através de mecanismos comuns ou discretos, quantidades apropriadas de nutrientes são necessárias para uma reprodução ideal. Em condições práticas, grande parte da variação do desempenho reprodutivo de vacas de corte pode ser creditada às diferenças de ingestão energética e ECC (LEMENAGER et al., 1991).

A má qualidade das pastagens brasileiras contribui para o cenário de BEN em vacas de corte no pós-parto, e a restrição alimentar no pré-parto leva à perda de peso e diminuição das reservas corporais, culminando com baixo escore corporal (PIRES et al., 2004). Uma perda excessiva de peso decorrente do BEN pode levar ao anestro em vacas de corte (RICE, 1991), principalmente naqueles animais que pariram com um baixo ECC, ou naqueles que ainda estão em crescimento (NRC, 1996).

O ECC ao parto e suas modificações no pós-parto interferem com o desempenho reprodutivo. Vacas perdendo mais de 10% de seu peso vivo entre o parto e a estação de monta, e apresentando escore corporal inferior a 4,5 (escala 1 a 9) ao parto, podem ter desempenho reprodutivo comprometido (DIAS, 1991), o que nos leva a tentar melhorar o ECC com o objetivo de maior fertilidade na estação de monta. O uso de reserva de pastagens no período que antecede o parto e a utilização de pastagens de boa qualidade após o parto são estratégias que garantem um bom escore corporal. Também, a utilização de estação de monta possibilita a adequação da época do ano mais adequada à reprodução, ou seja, a de maior disponibilidade de forragens de melhor qualidade (RUAS et al., 2000).

Segundo Randel (1990), o baixo escore não permite que haja utilização de fontes de reserva energética para o início da lactação, sendo que um ECC de no mínimo 5 – escala de 1 à 9 – deve ser preconizado. Isso asseguraria uma reserva de nutrientes adequada a um bom desempenho reprodutivo pós-parto. A influência do ECC é mais acentuada nas primíparas, pois sofrem mais com o BEN no pós-parto. Frente à isso é muito importante manter um escore adequado no momento do primeiro parto (PIRES et al., 2004).

O ECC do animal no momento da IATF influencia a taxa de prenhez nos protocolos hormonais (MENEGHETTI et al., 2005). Cutaia & Bó (2004) verificaram uma correlação de 90% entre o ECC e a taxa de prenhez a IATF. Os animais com melhor ECC responderam melhor ao tratamento hormonal.

O atraso na retomada da atividade ovariana nas vacas de corte tem uma relação direta com o BEN durante o pós-parto. A perda de ECC neste período, está associada à baixa ingestão

de nutrientes em relação às necessidades para manutenção das reservas corporais, da produção de leite e da função reprodutiva.

Segundo MURPHY et al. (1991), o balanço energético influencia o reinicio da atividade ovariana no período pós-parto, em vacas de corte e vacas de leite devido esses períodos prolongados de restrição alimentar no pós-parto aumentarem o intervalo entre o parto e a primeira ovulação.

Segundo LUCY et al.(1991) uma falha na expressão do estro e resposta insuficientes aos protocolos de sincronização de estro podem estar associados com um crescimento e desenvolvimento inconsistente dos folículos causados pelo BEN.

Isso vem de encontro com Ferreira (1995), que relatou que as principais causa no anestro prolongado em vacas de corte são ao péssimo ECC no período do parto e a excessiva perda de peso (BEN) nas primeiras semanas após o parto.

Vacas de corte em anestro pós-parto apresentam menores concentrações de insulina plasmática e, por isso, são incapazes de ovular o folículo dominante em resposta à restrição da amamentação, ao contrário de vacas com maiores concentrações de insulina, que apresentam maior frequência de pulsos de LH (SINCLAIR et al., 2002).

Verifica-se redução linear nas concentrações de IGF-I plasmático do início da restrição alimentar até o início do anestro (STAGG, 2000), e as baixas concentrações de IGF-I estão associadas com o maior período de serviço em vacas de corte (ROBERTS et al., 1997). Durante a realimentação de animais em anestro nutricional, verifica-se aumento linear da concentração de IGF-I até a ovulação. Contudo, o nível necessário para a retomada da atividade ovariana está em torno dos 50% dos valores que antecederam a restrição alimentar (STAGG, 2000).

O BEN reduz a disponibilidade de glicose e aumenta a mobilização de reservas corporais. Durante o jejum prolongado, o nível sanguíneo de glicose pode baixar, devido a sua utilização oxidativa por tecidos dependentes desta fonte energética, como o sistema nervoso central (McCANN & HANSEL, 1986). Quando o suplemento energético é inadequado, há utilização de corpos cetônicos por tecidos da eminência mediana da hipófise, com redução na secreção de GnRH e menor função ovariana. Estes mesmos autores citam que a utilização de glicose é muitas vezes maior no hipotálamo do que na hipófise, sendo a glicose importante na secreção de aminoácidos nesses tecidos, essenciais na formação dos hormônios peptídeos. Ferreira (1990), verificou que vacas cruzadas Holandês X Zebu, com adequado ECC, adequadamente alimentadas e com atividade ovariana luteal cíclica, apresentaram um nível sanguíneo médio de glicose de 65,2mg/100ml. Após, um período de mais de 150 dias de subnutrição severa, os animais entraram em anestro e o nível sanguíneo de glicose baixou para 53,2mg/ml.

Em gado de corte, a retirada temporária do bezerro (48 a 72 horas), o desmame precoce e amamentação uma ou duas vezes ao dia podem levar ao aumento na frequência de pulsos de LH e restabelecem mais precocemente a atividade reprodutiva, por explorarem menos os animais e por reduzirem a interferência negativa dos bezerros (decréscimo da concentração de opióides endógenos) sobre o retorno ao estro. Todavia, vale ressaltar que os efeitos da presença da cria junto com suas mães é mais acentuada em animais de menor ECC, uma vez existe um efeito aditivo destes fatores na produção de hormônios inibidores da produção de GnRH e LH (EDWARDS, 1985). Ao contrário, quanto mais precárias forem as condições nutricionais do rebanho, maiores serão os efeitos negativos da presença da cria (FONSECA et al., 1981).

Quando vacas de corte primíparas estão em BEN pré-parto, a variação no ECC no parto é o mais importante fator determinando a duração do período de anestro (LALMAN *et al*., 1997). Em um experimento realizado por Lalman et al. (1997), vacas primíparas foram submetidas a dietas com restrição de nutrientes no pré-parto, parindo com ECC médio de 4

(escala de 1 a 9), tendo como conseqüência um período de anestro pós-parto de 121±6 dias, concordando com resultados de outros estudos (RICHARDS et al., 1986; DEJARNETTE et al., 2001) que indicam que vacas parindo com baixos ECC têm o período parto/primeira ovulação prolongado.

Vacas de leite

Durante as últimas semanas de gestação e o início da lactação, vacas de leite passam por período de BEN chegando a 92% das fêmeas (CANFIELD & BUTLER, 1991; ZUREK et al., 1995; SANTOS, 1996). Vacas em início de lactação não conseguem consumir quantidades suficientes de energia para atingir seus requerimentos para produção e manutenção (BELL, 1995). De uma forma geral, o pico de produção de leite ocorre cerca de 4 a 6 semanas antes do pico de consumo de matéria seca. Várias alterações metabólicas e endócrinas ocorrem quando o balanço de energia líquida é negativo.

Os mecanismos de partição de nutrientes dão prioridade na sequência: 1) metabolismo basal; 2) atividade; 3) crescimento; 4) reservas de energia; 5) gestação; 6) lactação; 7) reservas de energia adicionais; 8) ciclos estrais e inicio da gestação; 9) reservas de excesso de energia (SHOR & ADAMS, 1988). Com isso as vacas em início de lactação irão mobilizar reservas corporais, principalmente as do tecido adiposo, e entrarão num período de balanço negativo de energia.

O monitoramento do BEN em rebanhos leiteiros é realizado através da observação de mudanças no ECC. Maiores perdas no BEN/ECC durante os primeiros 30 dias do pós-parto atrasam a primeira ovulação. Um número significativo de vacas (28-50%) permanecem anovulatórias além dos 50 dias de lactação (STEVENSON, 2001). Além disso, quando voltam a ovular a taxa de concepção cai à medida que as perdas no ECC aumentam. Por exemplo, a taxa de concepção cai aproximadamente 10%/0,5 unidade de perda no ECC (BUTLER, 2000).

Em vacas leiteiras de alta produção, o principal fator determinante para o prolongamento do anestro pós-parto é o BEN, devido à excessiva perda de peso após o parto (BUTLER et al., 2000; BUTLER et al., 2003). Mudanças nas taxas de lipólise/lipogênese decorrentes do menor nível de insulina plasmática levam à maiores níveis sanguíneos de ácidos graxos livres (AGL) e corpos cetônicos. Ao mesmo tempo, os níveis de glicose, IGF-I e progesterona estão reduzidos, assim como a pulsatilidade do LH.

Sendo assim, o fato do BEN afetar os níveis sistêmicos de IGF-1, insulina e GH, e alterar a freqüência de pulsos de LH, compromete, consequentemente, o crescimento folicular e atrasa a primeira ovulação pós parto. Em casos extremos, quantidades insuficientes de alimento na dieta influenciam o desenvolvimento folicular, chegando ao ponto de causar condição anovulatória quando as fêmeas são submetidas a períodos prolongados de subnutrição (SARTORI, 2007).

A insulina é importante por ser um sinal mediador dos efeitos das mudanças agudas na ingestão de nutrientes sobre os parâmetros reprodutivos em bovinos leiteiros. Nos bovinos leiteiros sob BEN no início do período pós-parto, a reduzida expressão do receptor hepático 1A do hormônio de crescimento (GHR-1A) parece ser responsável pelas concentrações mais baixas de IGF-I plasmático (RADCLIFF et al., 2003).

A maior mobilização de tecido adiposo, associada à hipoglicemia, eleva as concentrações de AGL. Os estudos demonstram que os AGL não são tóxicos somente para as células da granulosa, mas também agem diretamente sobre o complexo do cummulus oophorus e a competência do oócito, reduzindo a fertilidade. Esses estudos vão de encontro com relatos anteriores, folículos que crescem durante o período de BEN pós-parto podem ser afetados por mudanças metabólicas desfavoráveis e, por isso, têm ovócitos com pouca capacidade de gerarem embriões viáveis, haja visto que estruturas foliculares em estádios iniciais de

desenvolvimento podem estar submetidos a barreiras menos eficientes de proteção contra variações metabólicas sistêmicas.

O BEN reduz a liberação de LH e FSH pela hipófise e, conseqüentemente, reduz o nível de estrógeno e progesterona, constituindo-se fonte potencial de infertilidade em vacas (FERREIRA, 1993). Segundo o mesmo autor, cada vaca tem o seu peso mínimo, abaixo do qual não concebe ou cessa sua atividade ovariana luteal, e a subnutrição provoca atrofia dos órgãos do sistema reprodutivo, menor secreção de esteróides e anestro. Isto ocorre quando o animal de bom ECC perde de 20 a 35% do seu peso adulto, já a perda de 10 a 15% do peso corporal nas primeiras semanas pós-parto não influi no reinício da atividade ovariana luteal cíclica de animais de grande porte e com bom ECC ao parto.

O mecanismo pelo qual o BEN e a perda de condições corporais relacionam-se ao atraso da ovulação pós-parto está provavelmente associado à baixa pulsatilidade de LH. A progesterona é essencial à prenhez após a cobertura e deve estar presente no sangue em quantidades adequadas para garantir o desenvolvimento e a sobrevivência do embrião (BUTLER, 2000). Os níveis de progesterona aumentam ao longo dos primeiros três ciclos ovulatórios em vacas no pós-parto, com melhorias menos expressivas nas vacas com BEN maior (VILLA-GODOY et al., 1988). Os níveis inferiores de progesterona normalmente observados em vacas de alta produtividade também refletem provavelmente o metabolismo mais intenso pelo fígado. O período inicial crítico para a influência da progesterona parece ocorrer entre 5 e 7 dias após a inseminação, embora tentativas de pesquisa com a suplementação de progesterona após a inseminação tenham apresentado moderada taxa de sucesso.

O retorno precoce à atividade ovariana é importante para que se obtenha o maior número de concepções no início da lactação. Em rebanhos de leite, o período de espera voluntário é de 45 a 60 dias. Quanto antes ocorrer a primeira ovulação pós-parto, maior será o número de ciclos estrais durante esse período de espera voluntário. Tanto a expressão de sinais de estro quanto a fertilidade do oócito aumentam com um aumento no número de ciclos estrais antes da primeira inseminação artificial (BUTLER, 2000).

O BEN compromete a função reprodutiva, atrasando a primeira ovulação pós-parto, por meio de alterações no perfil metabólico e hormonal que incluem o GH, a insulina, o IGF-1, a glicose, insulina e os ácidos graxos livres. Quanto mais negativo este balanço, maior será a perda de escore corporal nas primeiras semanas de lactação, e maior o intervalo parto-primeiro cio, menor fertilidade à primeira cobertura ou à inseminação artificial. O número de dias ate a primeira ovulação esta correlacionado com o ponto mais baixo do balanço energético (CANFIELD & BUTLER, 1991), ocorrendo cerca de 10 a 14 dias após o valor mais baixo do BEN (BEAM & BUTLER, 1998).

O BEN de vacas de leite foi associado com o aumento no número de folículos de médio tamanho e reduziu o diâmetro máximo do folículo dominante (LUCY et al., 1991). Sendo que o atraso na ovulação pós-parto está diretamente relacionada com o *status* energético da vaca, ou seja, quanto maior o BEN, maior o tempo para a primeira ovulação pós parto, assim aumentando o período de serviço (SARTORI, 2007).

Outro possível efeito residual do BEN inicial podem ser oócitos com ´´imprint´´ resultante de condições prejudiciais no interior do folículo, durante o desenvolvimento por período de 60-80 dias, indicando os efeitos tóxicos de altas concentrações de AGNEs no periparto (KRUIP et al., 2001). Outro estudo revelou alta incidência de qualidade e viabilidade embrionária inferior em vacas saudáveis, de alta produtividade e no início da lactação em comparação a vacas não-lactantes (SARTORI et al., 2002). Embora esses resultados ajudem a justificar as preocupações quanto ao efeito do BEN inicial nos oócitos, os resultados de outro estudo revelaram que o desenvolvimento embrionário inicial é comprometido até mesmo posteriormente, na fase intermediária da lactação, através de efeitos metabólicos correntes associados a baixo ECC < 2,5; (SNIJDERS et al., 2000). Portanto, estes resultados indicam um

impacto prejudicial do BEN na competência dos oócitos em termos de desenvolvimento embrionário, embora os efeitos metabólicos não se restrinjam a folículos na fase inicial da lactação e possam ser exercidos de forma contínua nos casos de alto rendimento leiteiro.

Snijders et al. (2000) verificaram que oócitos de vacas leiteiras em más condições corporais fertilizados *in vitro* tinham taxa de clivagem mais baixa e taxa de desenvolvimento menor, quando comparados com oócitos de vacas leiteiras em melhores condições corporais. Vacas com balanço energético líquido mais favorável apresentam níveis mais altos de IGF-I intrafolicular e de progesterona plasmática, e apresentam uma tendência a produzir maior número de oócitos de boa qualidade. É provável que os níveis mais altos de progesterona plasmática tenham maior efeito inibitório sobre a secreção de LH, o que reduziria o período de dominância folicular e aumentaria a taxa de reposição de folículos ovulatórios. Oócitos contidos em folículos com menor período de dominância parecem estar mais aptos à fertilização (REVAH & BUTLER, 1996).

Estudos recentes têm confirmado que o oócito e os embriões de vacas de leite de alta produção estão, provavelmente, em "perigo" (LEROY, 2005). Sartori et al. (2002) têm demonstrado que os embriões de vacas secas e novilhas são de melhor qualidade que o de vacas em lactação, o que pode justificar, pelo menos em parte, a menor fertilidade, as menores taxas de concepção e a alta mortalidade embrionária precoce das últimas. Assim, a baixa qualidade dos ovócitos e o comprometimento ao desenvolvimento embrionário pode ser resultado da modificação no desenvolvimento do folículo, do ambiente folicular, da tuba e do útero (LEROY, 2005).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A fisiologia da reprodução de bovinos apresenta vários fatores intrínsecos relacionados diretamente com os efeitos do meio. Destaca-se a importância do conhecimento dessas relações, sobretudo as relacionadas com o manejo alimentar, para serem adotadas medidas que acarretem incremento na eficiência reprodutiva.

A energia da alimentação é importante para eficiência reprodutiva, pois a longo prazo reflete no ECC das fêmeas e a curto prazo influencia por estímulos de hormônios e metabólitos, sendo percebido pelo eixo reprodutivo como uma variedade de sinais nutricionalmente induzidos, possuindo efeito profundo na duração do anestro pós-parto.

Atualmente diversos pesquisadores concordam que o BEN é o principal fator nutricional relacionado à baixa fertilidade das vacas no pós parto, tanto com aptidão leiteira como de corte.

A interação nutrição-reprodução constitui importante campo de estudo para o eficiente desempenho reprodutivo de fêmeas bovinas de corte ou de leite, já que fisiologicamente a reprodução é influenciada diretamente pelos hormônios, metabólitos nutricionais e da interação entre estes.

REFERÊNCIAS

AHIMA, R.S.; PRABAKARAN, D.; MANTZOROS, C.; QU, D.; LOWELL, B.; MARATOS-FLIER, E.; FLIER, J.S. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. Nature, London, v. 18, p.382, 1996.

AMSTALDEN, M.; GARCIA, M.R.; WILLIAMS, S. W.; STANKO, R. L.; NIZIELSKI, S. E.; MORRISON, C. D.; KLEISLER, D. H.; WILLIAMS, G. L. Leptin gene expression, circulating leptin, and luteinizing hormone pulsatility are acutely responsive to short-term fasting in prepubertal heifers: relationships to circulating insulin and insulin like-growth factor I. Biology of Reproduction, Washington, v. 63, p.127-33, 2000.

BAUMAN, D.E. & CURRIE, W,B. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. Journal Dairy Research, Cambridge, v.63, p.1514-1529, 1980.

BEAM, S.W. & BUTLER, W.R. Energy balance, metabolic hormones and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid. Journal of Dairy Science, Philadelphia, v.81, p.121-131, 1998.

BELL, A.W. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. Journal of Animal Science, Champaign, v.73, p.2804-2819, 1995.

BILBY, C.R.; BADER, A. J. F.; SALFEN, B. E.; YOUNGQUIST, R.S.; MURPHY, C. N.; GARVERICK, H.A.; CROOKER, B.A.; LUCY, M.C. Plasma GH, IGF-I, and conception rate in cattle treated with low doses of recombinant bovine GH. Theriogenology, Melbourne, v. 51, p. 1285-1296, 1999.

BOSSIS, I.; WETTEMANN, R.P.; WELTY, S. D.; VIZERRA, J. A.; SPICER, L.J.; DISKIN, M.G. Nutritionally induced anovulation in beef heifers: ovarian and endocrine function preceding cessation of ovulation. Journal of Animal Science, Champaign, v.77, p.1536-1546, 1999.

BUTLER, S.T.; MARR, A.L.; PELTON, S. H.; RADCLIFF, R. P.; LUCY, M. C.; BUTLER, W.R. Insulin restores GH responsiveness during lactation-induced negative energy balance in dairy cattle: effects on expression of IGF-I and GH receptor 1A. Journal of Endocrinology, France, v.176, p.205–217, 2003.

BUTLER, W. R. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. Animal Reproduction Science, San Diego, v. 60, p.449–457, 2000.

CANFIELD, R.W. & BUTLER W.R. Energy balance, first ovulation and the effects of naloxone on LH secretion in early postpartum dairy cows. Journal Animal Science, Philadelphia, v.69, p.740-746, 1991.

CHILLIARD, Y.; BOCQUIER, F.; DOREAU, M. Digestive and metabolic adaptations of ruminant to undernutrition, and consequences on reproduction. Reproduction Nutrition and Development, France, v.38, p.131-152, 1998.

CLARKE, I.J. & CUMMINS, J.T. The temporal relationship between gonadotropin releasing hormone (GnRH) and leteinining hormone (LH) secretion in ovariectomized ewes. Endocrinology, San Diego, p.1737-1739, 1982.

CUTAIA, L. & BÓ, G.A. Avaliação de diferentes fatores que afetam a procentagem de prenhez em vacas inseminadas em tempo fixo. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN BOVINA, 1, Barquisimeto. 2004. Anais… Barquisimeto, 2004.

DARWASH, A.O. Identifying heritable endocrine parameters associated with fertility in postpartum dairy cows. in: Proc. Int. Worksh. on Genetic Improvement of Functional Traits in Cattle; Fertility and Reproduction. 1998.

DEJARNETTE, J.M.; DAY, M.L.; HOUSE, R. B.; WALLACE, R.A.; MARSHAL, C. E. Effect of GnRH pretreatment on reproductive performance of postpartum suckled beef cows following synchronization of estrus using GnRH and PGF2α. Journal of Animal Science, Philadelphia, v.79, p.1675–1682, 2001.

DIAS, F.M.G.N. Efeito da condição corporal, razão peso/altura e peso vivo sobre o desempenho reprodutivo pós-parto de vacas de corte zebuínas. Belo Horizonte: UFMG-EV, Dissertação de mestrado – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, 100p. 1991.

DISKIN, M.G.; AUSTIN, E.J.; ROCHE, J. F. Effects of nutrition and metabolic status on circulation hormones and ovarian follicle development in cattle. Animal Reproduction Science, San Diego, v.78, n.3-4, p.345-370, 2003.

EDWARDS, S. The effect of short term calf removal on pulsatile LH secretion in the postpartum beef cow. Theriogenology, Melbourne, v.23, p.777-785, 1985.

FERNANDEZ-FERNANDEZ, M.; MARTINI, A. C.; NAVARRO, V. M.; CASTELLANO, J.M.; DIEGUEZ, C.; AGUILAR, E. et al. Efects of kiss-1 peptide, the naturalligand of GPR54, on the follicle-stimulating hormone secretion in the rat. Endocrinology, San Diego, v.146, p.1689-1697, 2006.

FERREIRA, A. M. Efeito da amamentação e do nível nutricional na atividade ovariana de vacas mestiças leiteiras. Tese de Doutorado - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 134f. 1990.

FERREIRA, A.M. Novos conceitos sobre anestro pós-parto. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 11, 1995, Belo Horizonte. Anais... Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, p.62-70, 1995.

FERREIRA, A. M. Redução do período de serviço em taurinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 9., 1993, Belo Horizonte. Anais… Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, p.22-32, 1993.

FERREL, C.L. Nutritional influences on reproduction. In: CUPPS, P.T. Reproduction in Domestic Animals, Hoboken, v.4, p.577-603, 1991.

FONSECA, T. C.; VENCOVSKY, R. Estimação de parâmetros visando à seleção de híbridos artificiais de amoreira. Boletim da Indústria Animal, Nova Odessa, 1981.

FREETLY, H. The replacement heifer and primiparous cow. In: XXXVI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1999. Porto Alegre. Anais... Porto Alegre: SBZ, p.241-249, 1999.

HANSEN, P.J. Rescue of the corpus luteum from luteolysis by bovine trophoblast protein-1: ans example of maternal recognition of pregnancy. Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte, v. 3, supl. 1, p. 42-65, 1991.

KRUIP, T.A.M.; WENSING, T; VOS, P.L.A.M. Characteristics of abnormal puerperium in dairy cattle and the rationale for common treatments. Animal Science Occasional Publication, New York, v.26, p.63-79, 2001.

LALMAN, D.L.; KEISLER, D.H..; WILLIAMS, J. E.; SCHOLLJEGERDES, E. J.; MALLET, D. Influence of postpartum weight and body condition change on duration of anestrus by undernourished suckled beef heifers. Journal of Animal Science, Philadelphia, v.75, p.2003–2008, 1997.

LEMENAGER, R.P.; FUNSTON, R.N.; MOSS, G.E. Manipulating nutrition to enhance (optimize) reproduction. In: F.T. McCollum and M.B. Judkins, Oklahoma, Pp. 13-31, 1991.

LEROY, J.M.L.R. Metabolic changes in high producing dairy cows and the consequences on oocyte and embryo quality. Maandag: Ghent, 2005. 252p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade de Ghent, 2005.

LUCY, M. C.; STAPLES, C. R.; MICHEL, F.M.; TATCHER, W.W. Effect of calcium soaps to early postpartum dairy cows on prostaglandin F2I, luteinizing hormone and follicular growth. Journal of Dairy Science, Philadelphia, v. 74, p. 483-492, 1991.

LUCY, M.C. Mechanisms linking nutrition and reproduction in postpartum cows. Reproduction Supplements., London, v.61, p.415-427, 2003.

LUCY, M.C. Regulation of follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle. Journal Dairy Science, Savoy, v.83, p. 1635-1647, 2000.

MAPLETOFT, R.J. et al. Effects of clenbuterol, body condition, and nonsurgical embryo transfer equipment on pregnancy rates in bovine recipients. Theriogenology, Montgomery, v.25, p.172, 1986.

McCANN, J.P.; HANSEL, W. Relationships between insulin abd glucose metabolism and pituitary-ovarian function in fasted heifers. Biology Reproduction, Washington, v.34, p. 630-641, 1986.

McSHANE, T.M.; MAY, T.; MINER, J.L.; KLEILER, D. H.. Influence of food restriction on neuropeptide-Y, proopiomelanocortin, and luteinizing hormone – releasing hormone gene expression in sheep hypothalami. Biology of Reproduction, Washington, v.49, p.831-839, 1993.

MENEGHETTI, M.; LOSI, T.C.; MARTINS, Jr A. P.; VILELA, E.R.; VASCONCELOS, J.L.M. Uso de protocolo de IATF associado a diagnostico precoce de gestação e ressincronização como estratégia para maximizar o número de vacas gestantes por IA em estação de monta reduzida. A Hora Veterinária, Porto Alegre, v.147, p.25-27, 2005.

MOREIRA, F.; DE LA SOTA, R.; THATCHER, W.W. Effects of day of the estrous cycle at the initiation of a timed artificial insemination protocol on reproductive responses in dairy heifers. Journal of Animal Science, Savoy, v.78, p.1568-1576, 2000.

MURPHY, B.D & MARTINUK, S.D. Equine chorionic gonadotropin. Endocrine Reviews, Washington, v.12, n.1, p.27-44, 1991.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requirements of beef cattle. 7.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 242p, 1996.

PIRES, A.V.; GRACIA, R.; VALADARES FILHO, S. C. Fatores que interferem na eficiência reprodutiva de bovinos de corte. In: SANTOS, F. A. P. In: ANAIS... DO 5º SIMPÓSIO SOBRE BOVINOCULTURA DE CORTE - PECUÁRIA INTENSIVA NOS TRÓPICOS, 2004, Piracicaba, FEALQ, p.355-398, 2004.

RADCLIFF, R.P.; McCORMACK, B. A.; CROOKER, B.A.; LUCY, M.C. Plasma hormones and expression of growth hormone receptor and insulin-like growth factor-I mRNA in hepatic tissue of periparturient dairy cows. Journal of Dairy Science, Champaign, v.86, p.3920–3926, 2003.

RANDEL, R.D. Nutrition and postpartum rebreeding in cattle. Journal of Animal Science, Philadelphia, v.68, p.853-862, 1990.

REVAH, I. & BUTLER, W.R. Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. Journal of Reproduction and Fertility, Bristol, v. 106, p. 39-47, 1996.

RHOADS, M.L.; GILBERT, R. O.; LUCY, M. C. Effects of urea infusion on the uterine luminal environment of dairy cows. Journal of Dairy Science, Champaign, v.87, p.2896-2901, 2004.

RICE, L.E. The effects of nutrition on reproductive performance of beef cattle. Dairy Nutrition Management, Penn State, v.7, n.1, p.1-26, 1991.

RICHARDS, M.W.; SPITZER, J.C.; WARNER, M. B. Effect of varying levels of postpartum nutrition and body condition at calving on subsequent reproductive performance in beef cattle. Journal Animal Science, Champaign, v.62 p.300-306, 1986.

ROBERTS, A.J.; et al. Circulating insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor binding proteins, growth hormone, and resumption of estrus in postpartum cows subjected to dietary energy restriction. Journal of Animal Science, Champaign, v.75, p.1909–1917, 1997.

RUAS, J.R.M.; TORRES, C. A. A.; SANTOS, M.D. et al. Considerações sobre o manejo no pré e pós-parto de vacas de corte e seus reflexos sobre a eficiência reprodutiva. Informe Agropecuário, Botucatu, v.21: p.70-75, 2000.

SANTOS, M. D. S.; MACHADO, G.V.; TORRES, C.A.A.; et al. Dose mínima para androgenização de fêmeas bovinas como auxílio na detecção do estro. In: XXXIII REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 1996, Fortaleza. Anais... Fortaleza, 1996.

SANTOS, I.W. et al. Sincronização do estro em vacas de corte. Archives of Veterinary Science, Paraná, v.5, p.1-4, 2000.

SANTOS, J.E.P. & SA FILHO, M.F. Nutrição e reprodução em bovinos. Biotecnologias da Reprodução em Bovinos (Simpósio Internacional de Reprodução Aplicada), Londrina, p.30-54, 2006.

SARTORI, R. & MOLLO, M.R. Influência da ingestão alimentar na fisiologia reprodutiva da fêmea bovina. Revista Brasileira Reprodução Animal, Belo Horizonte, v.31, n.2, p.197-204, abr./jun. 2007.

SARTORI, R.; SARTOR-BERGFLET, R.; MERTENS, S. A.; et al. Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. Journal of Animal Science, Champaign, v.85, p.2803-2812, 2002.

SHORT, R.E. & ADAMS, D.C. Nutritional and hormonal interrelationships in beef cattle reproduction. Journal Animal Science, Champaign, v.68, p.29-39, 1988.

SILKE, V.; DISKIN, M. G.; KENNY, D. A.; BOLAND, M. P. et al. Extent, pattern and factors associated with late embryonic loss in dairy cows. Animal Reproduce Science, San Diego, v.71, p.1–12. 2002.

SINCLAIR, K.D.; MOLLE,G.; REVILLA, R. Ovulation of the first dominant follicle arinsing after day 21 post partum in suckling beef cows. Animal Science, Philadenphia, v.75, n.1, p.115-126, 2002.

SNIJDERS, S.E.M.; O'CALLAGHAN, D. O.; DILLON, P.; BOLLAND, M. P. Effect of genetic merit, milk yield, body condition and lactation number on in vitro oocyte development in dairy cows. Theriogenology, California, v.53, p.981–989, 2000.

SPICER, L.J. & ECHTERNKAMP, S.E. The ovarian insulin and insulin-like growth factor system with an emphasis on domestic animals. Domestic Animal Endocrinology, Philadelphia, v.12, p.223-245, 1995.

STAGG, K. Anoestrous in the post-partum suckled beef cow and in the nutritionally restricted beef heifer. Ph.D. Dissertation. The National University of Ireland, Dublin, 2000.

STEVENSON, J. S. Stage of cycle, incidence, and timing of ovulation, and pregnancy rates in dairy cattle after three timed breeding protocols. Journal of Dairy Science, Champaign, v.84, p.1051–1059, 2001.

VILLA-GODOY, A..; HUGES, T. L.; EMERY, R. S.; CHAPAIN, L. T.; FLOGWELL, R. L. Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, Champaign, v.71, n.4, p.1063-1072, 1988.

WILLIAMS, L.M.; ADAM, C. L.; MERCER, J.G.; MOAR, K. M.; SLATER, D.; et al. Leptin receptor and neuropeptide Y gene expression in the sheep brain. Journal Neuroendocrinology, Hoboken, v. 11 p.165–169, 1999.

WILLIANS, G.L; AMSTADEN, M.; NIX, J.; ROWDEN, L. Mechanisms regulation suckling mediated anovulation in the cow. Animal Reproduction Science, Philadelphia, v.42, n.1, p.289-297, 1996

WILLIAMS, G.L. Implicações da amamentação e manejo da cria na eficiência reprodutiva futura de vacas de corte. In: Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos, V, 2001, Uberlândia. Anais... Uberlândia, p.65-73, 2001.

YAVAS, Y. & WALTON, J. S. Induction of ovulation in postpartum suckled beef cows: a rewiew. Theriogenology, California, v. 54, p. 1-23, 2000.

ZUREK, E.; FOXCROFT, G. R.; KENNELLY, J. J. Metabolic status and interval to first ovulation in postpartum dairy cows. Journal Dairy Science, Edmonton, v. 78, p.1909-1920, 1995.

Capítulo 15- Aspectos epidemiológicos da interação de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) com resíduos antropogênicos no litoral capixaba

Uzai, L.M.S. [1] ; Calais Junior, A.[1]; Nunes, L. C. [2*]

INTRODUÇÃO

O Brasil apresenta a segunda maior riqueza de répteis do mundo (744 espécies), ficando atrás apenas da Austrália (com 864 espécies). Das 744 espécies encontradas no Brasil, 36 são quelônios (SBH, 2014) e, atualmente, o desenvolvimento e ocupação desenfreada das regiões costeiras, além da pesca artesanal e industrial, estão direta ou indiretamente associados à destruição do habitat e redução desses animais (MARCOVALDI et al., 2002).

As tartarugas marinhas são agrupadas em duas famílias: Demochelyidae e Cheloniidae. A família Demochelydae é composta apenas por um representante, *Demochelys coreacea* (tartaruga-de-couro) a maior espécie entre os quelônios atuais. As outras seis espécies existentes fazem parte da família Cheloniidae: *Lepidochelys olivacea* (tartaruga-oliva), *Lepidochelys kempii* (tartaruga-de-Kemp), *Caretta caretta* (tartaruga-cabeçuda), *Eretmochelys imbricata* (tartaruga-de-pente), *Natator depressus* (tartaruga-*flatback*) e *Chelonia mydas* (tartaruga-verde) (BOWEN et al.,1993; PRITCHARD 1997, KARL; BOWEN, 1999; AVISE, 2007; JORDÃO, 2013).

No Brasil, das sete espécies existentes nos oceanos, podem-se encontrar cinco: a tartaruga-cabeçuda; tartaruga-verde; tartaruga-de-pente; tartaruga-oliva e a tartaruga-de-couro que fazem uso do litoral brasileiro para reproduzir e se alimentar (SANTOS, 1994). Essas espécies são consideradas ameaçadas de extinção em âmbito nacional e mundial e integram o Apêndice I da Convenção sobre o Comércio Internacional de Espécies Ameaçadas da Fauna e Flora Silvestres - CITES (CITES, 2010) e o Apêndice I da Convenção sobre a Conservação de Espécies Migratórias de Animais Silvestres - CMS (CMS, 2009).

Durante muito tempo as comunidades costeiras fizeram amplo uso, e algumas ainda o fazem, das tartarugas marinhas e de seus ovos para obtenção de proteínas e outros produtos para confecção de adornos e artefatos em geral (ECKERT et al., 2000; CAMPBELL, 2003) e devido à ação antrópica, populações de tartarugas-verdes se encontram no *status* de globalmente em perigo levando à preocupação com futuro da espécie (CHALOUPKA et al., 2008).

Os principais fatores antrópicos que causam um impacto negativo nas populações de tartarugas marinhas são: movimentação da areia da praia (extração de areia e aterros); fotopoluição; tráfego de veículos; uso da praia por banhistas; portos, ancoradouros; processo de edificação na orla (hotéis e condomínios); e a extração (produção e distribuição) de petróleo e gás (ALMEIDA et al., 2011). Entretanto, segundo estes mesmos autores, este tipo de ameaça, no Brasil, está sendo controlada em locais considerados prioritários para a reprodução desde a implantação em 1982 do Projeto TAMAR/ ICMBio.

[1]Estudante de pós-graduação em nível mestrado do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Espírito Santo, leticiauzai@hotmail.com, vetcalais@gmail.com
[2]Professor, Universidade Federal do Espírito Santo, louisianecn@yahoo.com

As enfermidades que acometem as tartarugas marinhas não estão totalmente elucidadas, sendo, dessa forma, necessários estudos que visem conhecer o padrão das doenças e o estado de saúde das populações de tartarugas que, assim como outros grupos de vertebrados, são susceptíveis a agentes patogênicos bacterianos, fúngicos, virais e parasitários que podem causar moléstias e até levar a óbito (ECKERT, 2000). A ingestão de todo tipo de resíduo proveniente de ação antropogênica revela um quadro preocupante de grande ameaça às tartarugas marinhas e tem sido um dos problemas mais rotineiros e documentados em todo o Atlântico Sul Ocidental (TOURINHO et al., 2010).

A região costeira e de ilhas no estado do Espírito Santo, está entre as principais áreas de vivência das tartarugas marinhas principalmente as da espécie *Chelonia mydas*. Sendo assim, objetivou-se descrever os principais aspectos epidemiológicos da interação destes animais com resíduos antropogênicos com o intuito de auxiliar na melhoria da qualidade do manejo dispensado aos animais enfermos, possibilitando a busca pelas causas, origem e interações com o meio ambiente.

2. Informações ecológicas de *Chelonia mydas*

Conhecidas popularmente como tartaruga-verde ou aruanã, a espécie *Chelonia mydas*, é amplamente distribuída pelos mares desde os trópicos até as zonas temperadas, sendo a espécie de tartaruga marinha que apresenta hábitos mais costeiros, com relatos de ocorrência em estuários de rios e lagos. No Brasil, os principais sítios de desova são as ilhas oceânicas, Ilha da Trindade (ES), Atol das Rocas (RN) e Fernando de Noronha (PE). Áreas secundárias de desova ocorrem no litoral norte do estado da Bahia e nos estados do Espírito Santo, Sergipe e Rio Grande do Norte (ALMEIDA et al., 2011).

Pertencem à família Cheloniidae e são encontradas nos Oceanos Atlântico, Pacífico e Índico (ERNST; BARBOUR, 1989). Apresentam carapaça com coloração enegrecida nos filhotes, café nos indivíduos jovens e uma ampla variedade em indivíduos com maturidade completa, sendo geralmente café, amarelo creme (PRITCHARD; MORTIMER, 2000) ou tons que variam do oliva ao marrom; com formato oval e margem ocasionalmente ondulada, possui quatro pares de escudos costais (ERNST; BARBOUR, 1989).

O plastrão evidencia coloração brancacenta nos filhotes e amarelada em indivíduos adultos. A cabeça, com até 15 cm de largura, possui formato arredondado e quatro pares de escamas pós-orbitais (PRITCHARD; MORTIMER, 2000), um par de escamas pré-frontais e uma mandíbula serrilhada (ERNST; BARBOUR, 1989).

Onívoras (com tendências carnívoras) nos primeiros anos de vida passando a ser exclusivamente herbívoras em sua fase adulta. Alimenta-se de diferentes espécies de grama marinha e microalgas (GAMA, 2012).

O acasalamento ocorre no mar durante a estação reprodutiva em que a corte pode ser realizada por vários machos simultaneamente (até cinco). O macho se posiciona sobre a fêmea utilizando as unhas presentes nas nadadeiras anteriores para se manter fixo à carapaça da fêmea (ERNST; BARBOUR, 1989).

As tartarugas marinhas, em geral, apresentam maturação tardia e ciclo de vida longo, havendo assim um aumento do risco de morte antes da reprodução (HEPPEL et al., 2003). Este ciclo de vida complexo contribui para tornar esses indivíduos ainda mais suscetíveis às ameaças oferecidas, que ocorrem tanto nas praias de nidificação como no ambiente marinho (BOLTEN, 2003).

O período de três gerações ultrapassa facilmente os 100 anos (SEMINOFF, 2004) e, durante todo o seu ciclo de vida, ocupa vários nichos ecológicos, a saber: a fase juvenil oceânica, na qual se acredita que as jovens tartarugas derivam seguindo as principais correntes oceânicas superficiais; uma fase nerítica subsequente, quando os animais atingem certo

tamanho e se movimentam para zonas de alimentação em regiões costeiras; e a fase de migrações em larga escala, entre áreas de alimentação e reprodução, quando atingem a maturidade sexual (BOLTEN, 2003).

O ciclo de vida complexo, as grandes distâncias e barreiras geográficas e/ou temporais exigem uma investigação indireta e detalhada (como análises moleculares), a fim de auxiliar na elucidação de muitos aspectos da história de vida destes indivíduos para que dessa forma seja possível estabelecer parâmetros de a estrutura populacional, filogeografia, sistemática e origem (AVISE, 2007).

Pelo fato das áreas prioritárias de reprodução se localizarem em ilhas oceânicas isoladas, os indivíduos da espécie *C. mydas* sofreram menor impacto de predação sobre ovos e fêmeas que outras espécies que desovam prioritariamente em regiões costeiras. Estas ilhas utilizadas para desova não estão sujeitas à ocupação desordenada observada nas zonas costeiras. (ALMEIDA et al., 2011).

Devido suas funções ecológicas, as tartarugas são extremamente importantes no equilíbrio do ecossistema marinho contribuindo para a saúde e manutenção dos recifes de corais, estuários e praias arenosas (ECKERT et al., 2000). Ocorrências não reprodutivas desta espécie são registradas em praticamente toda a costa e também nas ilhas do Brasil (ALMEIDA et al., 2011).

A coleta sistemática de dados de animais encalhados é de extrema importância, pois, fornece informações biológicas úteis referentes a padrões sazonais e espaciais na ocorrência e mortalidade, estrutura etária, proporção sexual, dieta, variações interanuais associadas a eventos climáticos ou antropogênicos bem como as causas de mortalidade (BJORNDAL, 1997).

3. Interação com resíduos antropogênicos

3.1. Atividade pesqueira

As tartarugas-verdes apresenta o maior número de indivíduos juvenis mortos encalhados ao longo da costa brasileira em decorrência do aumento da pesca costeira de emalhe. (ALMEIDA et al., 2011).

Estudos afirmam que o aumento das atividades pesqueiras nos últimos anos é considerado a principal ameaça para *C. mydas* (MONTEIRO, 2004; PUPO; SOTO; HANAZAKI, 2006; BAHIA; BOUDIOLI, 2010; ALMEIDA et al., 2011, STEIGLEDER, 2011).

O Estado do Espírito Santo é composto por 48 municípios, 14 deles localizados na região litorânea (IBGE, 2014). Com 411 km de litoral, este estado é responsável por 4,8% da extensão do litoral brasileiro, apresentando significativa representatividade de ecossistemas costeiros (TEIXEIRA et al., 2012). O sul capixaba é composto por 18 comunidades pesqueiras (PIZETTA, 2004). A pesca realizada por pescadores da região é caracteristicamente artesanal e os principais pescados são: Peroá, Dourado, Cioba, Pargo, Badejo, Cherne, Arraia, Atum, Baiacu, Bagre, Cação, Corvina, Garoupa, Pescadinha e Vermelho (SEBRAEES, 2014).

De acordo com Netto e Di Beneditto (2007), a região sul do estado é mais desenvolvida e são empregados artefatos de pesca direcionados a espécie-alvo e com maior valor comercial. Os municípios que mais se destacam na pesca são: Piúma, Guarapari, Vitória, Itapemirim e Anchieta (SEBRAEES, 2014).

Das cinco espécies de tartarugas que ocorrem na costa brasileira, apenas duas (tartaruga-de-couro e tartaruga-oliva), não preferem as águas rasas para se alimentar, tal situação faz com que a presença da tartaruga-verde, tartaruga-de-pente e tartaruga-cabeçuda seja comum próximo à costa, deixando estas suscetíveis às capturas incidentais por redes de pesca (PUPO; SOTO; HANAZAKI, 2006).

Redes de arrasto e as redes de espera destacam-se como as de maior impacto para as tartarugas (MARCOVALDI et al, 2006; BRAGA, 2012). Vale ressaltar que a combinação das características da arte da pesca é o que as torna mais ou menos perigosas para a captura incidental desses animais, devido ao posicionamento da rede e ao tempo em que a rede é deixada na água (PUPO; SOTO; HANAZAKI, 2006).

Steigleder (2011) relatou que redes de malha 20 favorecem o enredamento de tartarugas que se prendem às redes pelas nadadeiras e cabeça. O mesmo autor, em entrevista com pescadores da região sul do Brasil, descreveu que a zona de 20 a 30 metros de profundidade é a que apresenta maior número de capturas incidentais, sendo esta uma das duas profundidades onde se concentra grande parte do esforço pesqueiro. A partir das entrevistas também foi possível saber qual pescaria ocasiona a captura mais tartarugas. Este estudo revelou que a pesca do cação foi a mais representativa seguida pela pesca do linguado, sendo que no verão o número de capturas aumenta. Este aumento está relacionado a dois fatores: período de alimentação das tartarugas e época que ocorre de forma mais intensiva a pesca do cação.

O afogamento por apreensão em rede de emalhe, é a causa mais marcante da interação da tartaruga-verde com a pesca. A aspiração de água salgada pode causar pneumonia aspirativa nas vítimas de afogamento, afetando o potencial de sobrevivência desses animais (BRAGA, 2012). Dessa forma, o tempo em que as redes permanecem na água é um fator fundamental para a sua sobrevivência (PUPO; SOTO; HANAZAKI, 2006). Redes que permanecem por longos períodos na água geram um nível alto de estresse e forçam as tartarugas a realizarem mergulhos forçados, resultando em estado letárgico e desmaios (BARREIRA, 2009).

Anzol:

Também é possível ocorrer acidentes nestes animais com anzóis, pois, uma vez jogado na água, o anzol pode se agarrar nas nadadeiras, pescoço e até mesmo ser engolido pelas tartarugas (LIMA, 2002). Este artefato de pesca muitas vezes se rompe da linha indo parar próximo as áreas de alimentação desses animais, podendo ser ingerido junto com o alimento (WERNECK et al., 2007). Segundo esses mesmos autores, as consequências causadas pelo anzol dependem do tamanho e formato deste, bem como do tamanho da tartaruga.

Anzóis circulares têm funcionado como uma medida mitigatória reduzindo a captura incidental de tartarugas e aumentando as chances de sobrevivência pós-captura (SALES et al., 2009).

3.2. Desenvolvimento urbano

3.2.1. Crescimento imobiliário, transito de pessoas e fotopoluição

A valorização de determinadas regiões, principalmente as regiões costeiras, de forma rápida e descontrolada tem um impacto muito grande na conservação da biodiversidade (SILVA, 2013). A falta de planejamento urbano e a crescente produção de matérias não acompanha o período de decomposição dos mesmos, resultando em um crescimento do volume de resíduos produzidos pelo ser humano (RIGON, 2012).

A expansão imobiliária e ocupação humana das áreas de desova das tartarugas tem sido acompanhada da iluminação artificial nas areias, o que acarreta alterações comportamentais reprodutivas das fêmeas, tais como a escolha do lugar do ninho e o processo de localização noturna do mar, tanto das fêmeas (WHITERINGTON, 1992), quanto dos filhotes, que se movem em direção à fonte artificial de emissão luminosa, ficando expostos à exaustão, desidratação e predação (FERREIRA; MOREIRA; PATIRI ,1992; PETERS; VERHOEVEN, 1994; SALMON; WHITERINGTON, 1995).

A foto poluição pode resultar na seleção negativa das praias com intensa iluminação pelas fêmeas durante a desova (SANTOS, 2011). A presença de iluminação artificial, nas

praias, faz com que os filhotes fiquem desorientados. A luz artificial que é mais forte que a luz natural refletida no mar e isto faz com que os filhotes sigam em direção ao continente, ficando perdidos. Fatalmente estes animais também podem ser atropelados (TAMAR, 2014).

A presença humana pode causar o abandono do processo de nidificação pela fêmea, o tráfego de pessoas e veículos pode compactar os ninhos; a extração de areia e aterros modificam fisicamente os locais de desova dificultando a escavação dos ninhos. O sombreamento gerado por edificações pode alterar a temperatura da areia e consequentemente a determinação sexual dos filhotes (SANTOS et al., 2011).

Segundo Coelho (2005), o desenvolvimento urbano acelerado e sem planejamento adequado, gera grande impacto na qualidade do meio ambiente, ocasionando intervenções urbanas danosas em áreas de reprodução de tartarugas marinhas.

Para construções portuárias, bem como da orla, há extração de areia e aterro de praias, ocasionando na modificação física do ambiente, o qual serve de local de desova para as tartarugas. Com isso, outros problemas relacionados à construção de ninhos, modificação da arquitetura das câmaras de ovos, alteração das taxas de absorção de água e trocas gasosas, acabam inviabilizando a utilização da praia pelas fêmeas e reduzindo as áreas de nidificação. Além disso, as construções afetam a temperatura dos ninhos, por causa do sombreamento, interferindo na determinação sexual dos filhotes (SANTOS et al., 2011). Baixas temperaturas na areia podem acarretar o aumento no nascimento de filhotes machos, causando desequilíbrio na população de tartarugas (TAMAR, 2014).

É possível notar ainda que o aumento de pessoas em áreas de desovas causam sérias consequências às tartarugas. Santos e outros (2011), relataram que o trânsito de pessoas pode danificar e compactar os ninhos, gerar abandono do processo de nidificação e aumentar a quantidade de lixo nessas praias.

Outro agravante para estes animais é trânsito de veículos que também levam a compactação das áreas de desova, dificultando a saída dos filhotes do ninho (COELHO , 2009). Desta forma há atropelamento de fêmeas e filhotes, marcas de pneus dificultando a chegada dos filhotes ao mar, fazendo com que estes fiquem mais expostos a predadores e ruídos interferindo no comportamento reprodutivo das fêmeas (SANTOS et al., 2011).

3.3. Ingestão de resíduos sólidos

A ingestão de todo tipo de resíduo proveniente de ação antropogênica revela um quadro preocupante de grande ameaça às tartarugas marinhas e tem sido um dos problemas mais rotineiros e documentados em todo o Atlântico Sul Ocidental (TOURINHO et al., 2010). Esta ingestão pode causar falsa saciedade, problemas com a flutuabilidade, redução do ganho nutricional e podem ser letais (TOURINHO, 2007).

Um estudo realizado no litoral Centro Norte do estado do Rio de Janeiro revelou que 44% dos animais cujo conteúdo gastrintestinal foi avaliado apresentavam resíduos de origem antropogênica demonstrando a degradação ambiental existente nesta região (REIS, et al., 2010).

Macedo e outros (2011), observaram a predominância dos resíduos de origem pesqueira, como: fios de nylon, usados na pesca e na confecção de redes de emalhe, bem como, cordas de nylon usadas para sustentar redes de pesca e para amarrações em barcos em 62,9% dos animais que apresentaram resíduos antropogênicos no trato gastrointestinal.

A ingestão de resíduos sólidos pode ter efeitos letais, quando considerados a causa direta do óbito, ou subletais, quando indiretamente responsáveis. A obstrução do trato gastrointestinal é considerada uma causa direta mesmo quando da ingestão de pequenas quantidades. Efeitos subletais estão relacionados à diminuição do crescimento e alterações reprodutivas (BJORDNAL,1997).

4. Medidas de prevenção

Uma das medidas mais antigas para a redução da mortalidade de tartarugas marinhas pela pesca é o TED (Dispositivo Exclusor de Tartarugas) utilizado em diversos países (COLUCHI, 2006). De acordo com estes autores, o TED funciona como uma "peneira" permitindo a passagem do camarão e outros organismos pequenos para o fundo do sacador e impedindo a passagem de outros animais maiores, além de excluir materiais indesejáveis como lixo, vegetais e conchas.

De acordo com a portaria n. 5, de 19 de fevereiro de 1997 do IBAMA a utilização do TED é obrigatória, entretanto por falta de capacitação para o seu manuseio e manutenção muitos pescadores artesanais não o utilizam (PEREIRA, 2013).

Atividades de inclusão social em vilas de pescadores vem sendo desenvolvidas pelo projeto TAMAR/ICMBio gerando uma nova fonte de renda e qualificação profissional para as comunidades, assim como a sensibilização pública com atividades de educação ambiental nos centros de visitação pública localizados junto às bases do TAMAR (ICMBIO, 2011).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A região costeira e de ilhas no estado do Espírito Santo, está entre as principais áreas de vivencia das tartarugas marinhas principalmente as da espécie *Chelonia mydas*. Investigações epidemiológicas podem auxiliar na melhoria da qualidade do manejo dispensado aos animais enfermos, possibilitando a busca pelas causas, origem e interações com o meio ambiente. A crescente preocupação com a conservação do meio ambiente, o interesse na proteção da vida selvagem e a criação de centros de recuperação e manutenção de espécies de vida livre são essenciais para a preservação dos mesmos. Investigações laboratoriais são de grande importância na busca de soluções para inúmeras enfermidades que acometem esses indivíduos, sendo que, muitas delas ainda nem foram descritas. Diante da situação de vulnerabilidade de todas as espécies de tartarugas marinhas, analisar sistematicamente os encalhes destes animais, enfatizando a busca das causas e gerando dados para ações futuras de minimização do problema e conservação das espécies, torna se imprescindível.

6. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A.P.; SANTOS, A.J.B.; THOMÉ, J.C.A.; BELINI, C.; BAPTISTOTTE, C.; MARCOVALDI, M.A.; SANTOS, A.S.; LOPEZ, M. Avaliação do Estado de Conservação da Tartaruga Marinha *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) no Brasil. BioBrasil – Biodiversidade Brasileira (ISSN: 2236-2886), 1:12-19 (Número Temático: Avaliação do Estado de Conservação das Tartarugas Marinhas), Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, Brasília, 2011.

AVISE, J.C. On Evolution. The John Hopkins University Pres: Baltimore, Maryland, USA, 2007, 186 p.

BAHIA, N.C.F.E.; BONDIOLI, A.C.V. Interação das tartarugas marinhas com a pesca artesanal de cerco-fixo em Cananéia, litoral sul de São Paulo. Revista Biotemas, v. 23, p. 203-213, 2010.

BARRERA, E.A.L. Análise da captura acidental de tartarugas marinhas em artes de pesca artesanal na desembocadura sul da Baía de Paranaguá, litoral do Paraná. 2009.85 f. Dissertação (Mestrado em Sistemas Costeiros e Oceânicos) - Universidade Federal do Paraná. Pontal do Paraná, 2009. Disponível em: < http://dspace.c3sl.ufpr.br/dspace/bitstream/handle/1884/18224/Dissertacao%20Ellie%20Anne%20Lopez%20Barrera.pdf?sequence=1>. Acesso em: 11 ago 2014.

BJORNDAL, K.A. Foraging ecology and nutrition of sea turtles, In: Lutz, P.L. & Musick, J.A. (Eds.). The Biology of Sea Turtles. CRC Press, p. 199-231, 1997.

BOLTEN. A.B. Variation in sea turtle life history patterns: neritic vs. oceanic developmental stages. In: Lutz, P.L.; Musick, J.A. e Wyneken, J. (Eds.), The Biology of Sea Turtle, Volume II. CRC Press, Boca Raton, Florida, p. 243-258, 2003.

BOWEN, B.W.; NELSON, W.S.; AVISE, J.C. A molecular phylogeny for marine turtles: trait mapping, rate assessment, and conservation relevance. Proceedings of the National Academy of Sciences, v. 90, p. 5574-5577, 1993.

BRAGA, C. S. Principais achados em tartaruga-verde (*Chelonia Mydas*) encalhadas no litoral do Rio Grande do Sul, Brasil. 2012. 32 f. Monografia de Graduação em Medicina Veterinária - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2012. Disponível em: <http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/52499/000829427.pdf?sequence=1> Acesso em: 11 de ago 2014.

CAMPBELL, L.M. Contemporary Culture, Use, and Conservation of Sea Turtles. In: Lutz, P.L.; Musick, J.A. e Wyneken, J. (Eds.), The biology of sea turtle, Volume II. CRC Press, Boca Raton, Florida, p. 307-338, 2003.

CHALOUPKA, M.; WORK, T.M.; BALAZS, G.H.; MURAKAWA, S.K.K.; MORRIS, R. Causespecific temporal and spatial trends in green sea turtle strandings in the Hawaiian Archipelago (1982–2003). Marine Biology, v. 154, p. 887–898, 2008.

CITES - Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora. Desponível em <http://www.cites.org/eng/app/ appendices.shtml>. Acesso em: 28 mar 2013.

CMS - Convention on the Conservation of Migratory Species of Wild Animals, 2009. Disponível em <http://www.cms.int/documents/appendix/Appendices_COP9_E.pdf>. Acesso em: 28 mar 2013.

COELHO, B.B., Análise espacial dos conflitos de uso dos espaços da orla e a conservação de tartarugas marinhas no litoral do município de Serra – ES. 2004. 133 f. Monografia de Graduação em Oceanografia – Universidade Federal do Espírito Santo. Vitória: 2004. Disponível em: < http://www.dern.ufes.br/oceano/link/monografias/2004/monog8_2004.pdf> Acesso em 17 ago. 2014.

COLUCHI, R. Caracterização da Captura Incidental de Tartarugas Marinhas pela Pesca de Espinhel Pelágico no Nordeste do Brasil. 2006. 66f. Dissertação (Mestrado em Bioecologia Aquática) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, 2006. Disponível em: < http://hdl.handle.net/1/7950>. Acesso em: 11 ago 2014.

ECKERT L.K.; BJORNDAL, A.K.; GROBOIS, F.A.; DONNELLY, M. Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas, Grupo especialista en tortugas marinas. Blanchard, Pennsylvania, USA: UICN/CSE, v. 4, p. 173, 2000.

ERNEST, C.H.; BARBOUR, R.W. Turtle of the world. Washington D.C.: Smithsonian Institution Press, 1989, 313p.

FERREIRA, S.N.M.; MOREIRA FILHO, G.C.; PATIRI, V.J. A. Influência da iluminação artificial na reprodução das tartarugas marinhas. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE DISTRIBUIÇÃO DE ENERGIA ELÉTRICA, 11, 1992. Blumenau. Resumos... Blumenau: COELBA, 1992, 29 p.

GAMA, L. R. Ecologia alimentar de Chelonia mydas (Linnaeus, 1758) no litoral do Paraná. 2012. 59f. Monografia de Graduação em Ciências Biológicas - Universidade Federal do Paraná. Pontal do Paraná 2012. Disponível em: < http://dspace.c3sl.ufpr.br:8080/dspace/bitstream/handle/1884/31547/Monografia%20Luciana%20Rolinski%20Gama.pdf?sequence=1> Acesso em: 11 ago 2014.

HEPPELL, S.S.; SNOVER, M.L.; CROWDER, L.B., Sea Turtle Population Ecology. In: Lutz, P.L.; Musick, J.A. e Wyneken, J. (Eds.), The biology of sea turtle, Volume II. CRC Press, Boca Raton, Florida, p. 275-306, 2003.

IBAMA- Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais. Disponível em <www.ibama.gov.br>. Acesso em 13 ago 2014.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em < www.ibge.gov.br>. Acesso em 15 ago 2014

JORDÃO, J. C. Estrutura populacional e história demográfica da tartaruga-verde *(Chelonia mydas)* no Atlântico Oeste. 2013. 59f. Tese (doutorado em Genética) - Universidade de São Paulo. São Paulo, 2013. Disponível em: < http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/41/41131/tde-24032014-103353/pt-br.php>. Acesso em 11 ago. 2014.

KARL, S.A.; BOWEN, B.W. Evolutionary significant units versus geopolitical taxonomy: molecular systematic of an endangered sea turtle (genus *Chelonia*). Conservation Biology, v. 13, p. 990-999, 1999.

LIMA, E.H.S.M. Registros de tartarugas verdes capturadas acidentalmente na pesca de anzol em Almofala-Ceará. In: Simpósio Brasileiro de Oceanografia, 1, 2002. São Paulo. Resumos, São Paulo: Instituto de Oceanografia da Universidade de São Paulo, 2002.

MACEDO, G.R. et al. Ingestão de resíduos antropogênicos por tartarugas marinhas no litoral norte do

estado da Bahia, Brasil. Ciência Rural, Santa Maria, v. 41, n. 11, Nov. 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782011001100015&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 19 set 2014.

MARCOVALDI, M. A. et al. Sea turtles and fishery interactions in Brazil: identifying and mitigating potential conflicts. Marine Turtle Newsletter, v. 112, p. 4-8, 2006.

MARCOVALDI, M.A.; THOMÉ, J.C.; SALES, G.; COELHO, A.C.; GALLO, B.; BELLINI, C. Brazilian plan for reduction of incidental sea turtle capture in fisheries.Marine Turtle Newsletter, v. 96, p. 24-25, 2002.

MONTEIRO, D. S. Encalhes e interação de tartarugas marinhas com a pesca no litoral do Rio Grande do Sul. 2004. 58 f. Monografia de Graduação do Curso de Ciências Biológicas - Fundação Universidade Federal do Rio Grande. Rio Grande, 2004. Disponível em: < http://www.nema-rs.org.br/files/publicacoes/tartarugas_pesca.pdf>. Acesso em 11 ago 2014.

NETO, R.F.E.; DI BENEDITTO, A.P.M. Diversidade de artefatos da pesca artesanal marinha do Espírito Santo. Revista Biotemas, v.20, p. 2, 2007.

PEREIRA, E.S. O Uso do Dispositivo Exclusor de Tartarugas Marinhas (TED) na Pesca Artesanal com Rede de Arrasto de Camarão na Região de Ubatuba (SP, Brasil). In: CONGRESSO NACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA FACULDADE ANHANGUERA DE CAMPINAS, 1, Campinas. *Anais*... Campinas 2013.

PETERS, A.; VERHOEVEN, K.J.F. Impact of artificial lighting on the seaward orientation of hatchling loggerhead turtles. Journal of Herpetologica, v. 48, n. 31, 1994.

PIZETTA, G. T. Avaliação Multidimensional dos Sistemas Pesqueiros da Região Sul do Espírito Santo, Brasil, e seus Indicadores de Sustentabilidade. 2004. 72f. Monografia de Graduação em Oceanografia - Universidade Federal do Espírito Santo. Vitória. 2004. Disponível em < http://www.dern.ufes.br/oceano/link/monografias/2003/monog4_2003.pdf> Acesso em 14 Ago 2014.

Projeto Tamar. Disponível em <http://www.tamar.org.br>. Acesso em 19 set 2014.

PRITCHARD, P.C.H. Evolution, phylogeny, and current status. In: The biology of sea turtles, v. I. Lutz, P. L., Musick, J. A. (eds). CRC Press. Boca Raton, Florida, USA, 432 p, 1997.

PRITCHARD, P.C.H.; MORTIMER, J.A. Taxonomy, external morphology and species identification. In: ECKERT, K. l.; BORNDAL, K. A.; ABREU-GROBOIS, F.A.; DONNELLY, M. (eds), Research and management Techniques for the conservation of Sea Turtles. Iucn/SSc marine Turtle Specialist Group Publication n. 4, p. 21-38. 1999.

PUPO, M.M.; SOTO, J. M.; HANAZAKI, N. Captura incidental de tartarugas marinhas na pesca artesanal da Ilha de Santa Catarina, SC. Revista Biotemas, v. 4, p. 63-72, 2006.

RIGON, C. T. Análise da ingestão de resíduos sólidos e impactos no trato gastrointestinal em juvenis de *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) no Litoral Norte e Médio Leste do Rio Grande do Sul, Brasil. 2012. 66 f. Monografia de Graduação em Ciências Biológicas - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Imbé, 2012. Disponível em: < http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/76609/000870333.pdf?sequence=1> Acesso em 17 set 2014.

REIS, E. C. et al. Condição de saúde das tartarugas marinhas do litoral centro-norte do estado do Rio de Janeiro, Brasil: avaliação sobre a presença de agentes bacterianos, fibropapilomatose e interação com resíduos antropogênicos. Oecologia Australis, v. 14, n. 3, p. 756-765, 2010.

SALES, G.; GIFFONI, B.B.; FIEDLER, F. N.; AZEVEDO, V.G.; JORGE E.; KOTAS, J.E.; SWIMMER, Y.; BUGONI, L. Eficiência dos anzóis circulares na captura das espécies-alvos e redução da captura de tartarugas marinhas na pescaria de espinhel pelágico. In: Jornada de Conservación e Investigación de Tortugas Marinas em Atlántico Sur Occidental, 4, 2009, Mar del Plata. Livro de resumes, p. 74-77, 2009.

SALMON, M.; WHITERINGTON, B.E. Artificial lighting and seafinding by loggerhead hatchlings: evidence for lunar modulation. Copeia, n. 4, p. 931-938, 1995.

SANTOS, E. Zoologia Brasílica. Belo Horizonte: Vila Rica, 1994, 263 p.

SANTOS, A.S.; ALMEIDA, A. P.; SANTOS, A. J. B.; GALLO, B.; GIFFONI, B.; BAPTISTOTTE, C.; COELHO, C.A.; LIMA E.H.S.M.; SALES, G.; LOPEZ,G.G.; STAHELIN, G.; BECKER, H.; CASTILHOS, J.C.; THOMÉ, J. C. A.; WANDERLINDE, J.; MARCONIVALDI, M.A.; LOPÉZ-MENDILAHARSU, M.; MELO, M.T.D.; BARATA, P.C.R.; SFORZA, R. Plano de ação nacional para a conservação das Tartarugas Marinhas. Brasília/ ICMBio, 120p. (Séries Espécies Ameaçadas, 25), 2011.

SBH- Sociedade Brasileira de Herpetologia. Disponível em http://www.sbherpetologia.org.br. Acesso em 13 ago 2014.

SEBRAES- Sebrae Espírito Santo. Desponível em <http:// www.sebrae.com.br>. Acesso em 15 ago 2014.

SEMINOFF, J.A., 2004. *Chelonia mydas*. In: IUCN 2010. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2010.4. Disponúvel em <http://www.iucnredlist.org>. Acesso em: 15 maio 2011.

SILVA, V.D. Urbanização e suas implicações em Matinhos–PR, 2013. TAMAR Disponível em <http://www.tamar.org.br> Acesso em: 18 set 2014.

STEIGLEDER, K. M. Percepção de pescadores artesanais sobre a interação da pesca com as tartarugas marinhas no Litoral Sul do Brasil. 2011. 57 f. Monografia de Graduação em Ciências Biológicas - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Imbé, 2011. Disponível em: < http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/40116/000786585.pdf?sequence=1> Acesso em: 11 Ago. 2014.

TEIXEIRA, J. B.; LIMA, A. C.; BOECHAT, F. P.; RODRIGUES, R. L. E.; FREITAS, R.R. Potencialidade social e econômica da pesca e maricultura no Estado do Espírito Santo, Brasil. Revista de Gestão Costeira Integrada, v. 12, p. 569-575, 2012.

TOURINHO, P. S. Ingestão de resíduos sólidos por juvenis de tartaruga-verde *(Chelonia mydas)* na costa do Rio Grande do Sul, Brasil. 2007. 44 f. Monografia de Graduação em Oceanografia - Universidade Federal do Rio Grande. Rio Grande, 2007. Disponível em < http://www.globalgarbage.org/monografia_paula_da_silva_tourinho.pdf> Acesso em: 14 Ago. 2014.

TOURINHO, P.S.; FILLMANN, G.; IVAR DO SUL, J. A. Is marine debris ingestion still a problem for the coastal marine biota of southern Brazil? Marine Pollution Bulletin, v. 60, p. 396-4010, 2010.

WERNECK, M.R.; GIFFONI, B.B.; GALLO, B. Relato de caso de ingestão de anzol por tartaruga verde (*Chelonia mydas*) In: Jornada de Conservación e Investigación de Tortugas Marinas em Atlántico Occidental, 3, 2007, Piriápolis. Livro de resumes, p. 72-73, 2007.

WHITERINGTON, B.E. Behavioral responses of nesting sea turtles to artificial lighting. Herpetologica, v. 48, 1992.

Capítulo 16- Metodologia para avaliação da performance muscular em equinos atletas

Martins, C.B.[1].; Silva, M.A.G.[2]; D'Angelis, F. H. [3]; Orozco, A.G.[4]; Marangonha, G.G. [1]; Duarte, C.A.[5]; Lacerda Neto, J.C.[3]

INTRODUÇÃO

A utilização do cavalo para a prática de esportes vem aumentando no Brasil e no mundo. Nos últimos anos muitas pesquisas sobre fisiologia do exercício têm sido realizadas em equinos, estudando a resposta desta espécie a diferentes estímulos, como o treinamento. Cada vez mais os cavalos são vistos como atletas e submetidos a protocolos de treinamento que visam a melhoria de seu desempenho.

O sistema muscular possui participação primordial no exercício, pois todo movimento é o resultado da contração de músculos esqueléticos por meio de uma articulação móvel. As fibras musculares exibem alta capacidade de adaptar-se estruturalmente frente ao trabalho muscular aos quais os animais são submetidos.

Tais adaptações envolvem trocas estruturais e metabólicas, que determinam a capacidade de locomoção e trabalho de um cavalo e, portanto, seu desempenho em programas de treinamento. Algumas dessas respostas adaptativas envolvem, entre outras coisas, características relacionadas à demanda energética em função do trabalho muscular desempenhado.

A habilidade atlética individual de um cavalo é o resultado da interação de vários sistemas corporais. O sistema muscular possui participação primordial no exercício, uma vez que o movimento é o resultado da contração de músculos esqueléticos por meio de uma articulação móvel. Esse fato justifica a importância de se conhecer a morfologia e a fisiologia muscular, assim como, as metodologias empregadas para as análises de composição da fibra muscular.

O uso combinado de diferentes técnicas de análise muscular no estudo das características do músculo possibilita identificar corretamente o fenótipo fibrilar, determinar o tipo de metabolismo que o músculo utiliza para obter a energia química e transformá-la em mecânica, proporciona informação à cerca do tamanho dos diferentes tipos de fibras dos músculos e possibilita o diagnóstico de afecções musculares.

Os efeitos do exercício sobre a composição fibrilar são variáveis e dependem de vários fatores, incluindo o tipo de exercício (força ou resistência), a intensidade e duração, o condicionamento físico prévio do indivíduo, o músculo estudado e a constituição genética.

No cavalo, o músculo glúteo médio possui grande importância na locomoção e na produção de força propulsora. Amostras musculares colhidas pela técnica de biópsia por agulha percutânea tem sido muito utilizadas em estudos da performance atlética para avaliar o grau de adaptação muscular ao treinamento.

[1]Depto de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES. Email: cbmvt@hotmail.com
[2]Depto de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Tocantins, Araguaína, TO.
[3]Depto de Clínica e Cirurgia Veterinária, FCAV/UNESP, Jaboticabal, SP.
[4]Depto de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Sergipe, Sergipe.
[5]Depto de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pampa, Uruguaiana, RS.

2.1. Estrutura do músculo estriado esquelético

O músculo esquelético, assim denominado porque se insere no esqueleto, é o tecido mais abundante do corpo, compreendendo cerca de 40% do peso corporal dos mamíferos. No cavalo da raça Puro Sangue Inglês, a musculatura esquelética constitui 52% do peso corpóreo, comparada com 42% em outras raças (GOLL, 1996).

O músculo esquelético equino é um tecido heterogêneo, composto por diferentes tipos de fibras musculares, capaz de realizar ampla variedade de atividades físicas devido a grande diversidade celular, molecular, especialização funcional e capacidade plástica. Essa característica proporciona ao tecido muscular a capacidade de gerar um amplo tipo de atividades de contração, a qual se traduz em maior eficiência mecânica e termodinâmica do organismo (GOLDSPINK,1998). As variedades de funções desempenhadas pelos músculos requerem diferentes proporções de tipo de fibra, acarretando assim diferenças na composição de fibras entre os músculos, as quais exibem propriedades mecânicas e metabólicas distintas (LUTZ et al., 1998).

Os músculos esqueléticos dos mamíferos são compostos por fascículos de fibras musculares unidos por meio de tecido conectivo. A camada mais externa que envolve o músculo é denominada epimísio. O perimísio é o tecido conectivo que envolve feixes individuais de fibras musculares denominados fascículos. Cada fibra muscular é revestida por tecido conectivo denominado endomísio. A unidade morfofuncional do músculo esquelético é a fibra muscular. Essas fibras representam o resultado coordenado da expressão de distintas proteínas estruturais e enzimas metabólicas (POWERS; HOWLEY, 2000).

O padrão de inervação estabelecido determina as propriedades fisiológicas das fibras musculares, culminando com a formação das unidades motoras, elemento funcional constituído pelo neurônio motor e fibras musculares associadas (GONZALES; SARTORI, 2002).

2.2. Generalidades das fibras musculares

As fibras musculares estão organizadas em numerosas estruturas fusiformes presentes no sarcoplasma, denominadas miofibrilas, caracterizadas por apresentar composição molecular diversa e constituir as estruturas intracelulares que durante a contração muscular convertem a energia química em mecânica. As miofibrilas são compostas por dois filamentos protéicos, os filamentos espessos de miosina e finos de actina (POWERS; HOWLEY, 2000; BLANCO; PÉREZ, 2004).

Nos equinos, assim como na maioria dos mamíferos, as fibras musculares seguem o padrão de distribuição denominado mosaico, devido as fibras tipo I, IIA e IIX pertencentes a diferentes unidades motoras se entremearem umas com as outras (RIVERO; PIERCY, 2004).

2.3. Classificação dos tipos de fibras musculares

Ao longo do tempo, para o estudo das características fibrilares, tanto em músculos de animais como em humanos, vem se aplicando diversas classificações, fundamentadas em técnicas que avaliam parâmetros bioquímicos, estruturais, funcionais e histoquímicos da fibra muscular. A diferenciação clássica dos tipos de fibras se baseava na coloração que conferiam ao músculo, vermelho ou branco, segundo o conteúdo de mioglobina. Dessa forma, os músculos com mais de 40% de fibras vermelhas foram denominados vermelhos. Ao contrário, os que possuíam mais de 40% de fibras pálidas, recebiam o nome de músculos brancos (BEECHER et al., 1965).

Atualmente, o sistema de classificação das fibras musculares mais comumente empregado é o histoquímico, que consiste no tratamento do tecido muscular com técnicas

histoquímicas ou histoenzimáticas que permitem identificar de forma simples e rápida os diferentes tipos de fibras. A análise histoquímica mais utilizada se baseia nas propriedades contráteis das fibras, a partir da determinação do grau de reatividade da atividade da enzima adenosina trifosfatase miofibrilar (mATPase) presente na fibra muscular em meio ácido ou alcalino, proposto por PADYKULA e HERMAN (1955) citado por BOTTINELLI e REGGIANI (2000).

Outra técnica histoquímica amplamente utilizada para a identificação fibrilar se fundamenta na determinação das propriedades metabólicas e proporciona informações sobre o substrato utilizado pela fibra muscular para obter energia. Por meio desta técnica é possível diferenciar as fibras com baixa capacidade oxidativa, as quais contêm elevadas concentrações de enzimas sarcoplasmáticas das fibras com alta capacidade oxidativa, que contêm por sua vez, elevadas concentrações de enzimas mitocondriais dentre as quais a succinato desidrogenase (RIVERO et al., 1993b).

2.4. Adaptações da musculatura esquelética

O músculo pode ser considerado, dentre todos os tecidos, como um dos sistemas de maior capacidade adaptativa. Devido a sua plasticidade o tecido muscular é capaz de modificar suas características morfológicas e funcionais como resposta a diversos estímulos. Dentre os fatores que exercem influência sobre as características do tecido muscular destacam-se a idade, sexo, alimentação, função do músculo, hormônios, inervação, exercício, raça e genética (KARLSSON et al., 1999; BROCKS et al., 2000; LEFAUCHEUR et al., 2003).

A capacidade máxima de interconversão entre os diferentes tipos de fibras é limitada, e depende de um estímulo adequado. Desta forma, o estímulo pode fazer uma fibra muscular, inicialmente adaptada para a contração rápida passar a expressar isoformas de contração lenta, tornando-se de contração lenta, e viceversa (GONDIM, 2005).

2.5. Composição do músculo esquelético em equinos

Os músculos esqueléticos de equinos são compostos por diferentes tipos de fibras. As fibras musculares que realizam atividades em condições aeróbias se mesclam com as fibras de caráter metabólico anaeróbio ou intermediário. Consequentemente, a distribuição e a proporção dessas fibras determinam o grau de especialização do músculo. Devido a este fato, as diferenças entre os músculos esqueléticos e função são determinadas pela presença e distribuição dos diferentes tipos de isoformas de proteínas contráteis e regulatórias das miofibrilas (PERRY, 1985).

As fibras tipo I, de contração lenta, são ativadas em atividades que requerem a manutenção de atividade durante períodos prolongados, como as funções posturais ou exercício de resistência. Em contrapartida, as fibras tipo IIA estão associadas com atividades que requerem o desenvolvimento de forças rápidas e prolongadas. Enquanto que as fibras tipo IIX são ativadas quando se requer o desenvolvimento de forças rápidas e breves, portanto são recrutadas em exercícios de alta intensidade e curta duração (ALECKOVIC et al., 1989).

Os músculos propulsores estão situados proximalmente à coxa e atuam em curtos períodos de tempo, possuem poucas fibras tipo I e maior porcentagem de fibras tipo II com grande velocidade de contração (ESSÉN-GUSTAVSSON et al., 1994; MAYORAL et al., 1999).

2.6. Características do músculo glúteo médio

O músculo glúteo médio, objeto de estudo para avaliação das fibras musculares, está localizado na região da garupa do cavalo. Sua função é estender a articulação coxofemoral e abduzir a coxa (SISSON, 1986).

No cavalo, o músculo glúteo médio possui grande importância na locomoção e tem sido utilizado em estudos da performance atlética para avaliar o grau de adaptação muscular ao treinamento, por ser o mais ativo em todos os andamentos. Sua localização facilita o acesso e o volume de sua massa é representativo (LINDHOLM; PIEHL, 1974; LINDHOLM; SALTIN, 1974; ESSÉN-GUSTAVSSON et al., 1989; BAYLY; HODGSON, 1991; RIVERO et al., 1993b). Apresenta grande atividade propulsora nos andamentos durante o exercício e ausência de grandes artérias, veias e nervos (HENCKEL, 1983; RIVERO et al., 1989).

2.7. Técnica de biópsia percutânea

A técnica de biópsia por agulha percutânea foi introduzida por Bergström em 1962 e desde 1974 tem sido aplicada para o músculo esquelético de cavalos (LINDHOLM; PIEHL, 1974). As informações adquiridas em análises do músculo esquelético têm auxiliado no diagnóstico e prognóstico de afecções musculares, na avaliação do treinamento atlético e na compreensão das adaptações que ocorrem em decorrência do treinamento (WHITE; SNOW, 1987; SNOW; VALBERG, 1994). De acordo com Rivero (1996) a análise de biópsias musculares extraídas antes e após o programa de treinamento pode comprovar a efetividade do mesmo.

A técnica de biópsia muscular utilizando a agulha percutânea é simples e pode ser realizada durante o período de treinamento sem causar complicação ou efeito negativo no rendimento do cavalo, sendo bem aceita pelo proprietário do animal (LINDHOLM; PIEHL, 1974; SNOW; GUY, 1976; SNOW; VALBERG, 1994; RIVERO et al., 1999; D'ANGELIS et al., 2006; MARTINS et al., 2006). Essa técnica constitui excelente ferramenta na avaliação do potencial atlético do cavalo, sendo bastante utilizada na medicina esportiva equina (ESSÉN-GUSTAVSSON et al., 1984; HODGSON; ROSE, 1987; RIVERO et al., 1995a,b; D'ANGELIS et al., 2006; MARTINS et al., 2007; MARTINS, 2007).

Investigações realizadas em diferentes raças têm demonstrado que regiões mais profundas do músculo glúteo médio possuem maior porcentagem de fibras tipo I, enquanto as regiões mais superficiais têm maior percentual de fibras do tipo II (KLINE et al., 1987; RIVERO et al., 1993b, ISLAS et al., 1996). Segundo Serrano e Rivero (2000), as fibras tipo I presentes nas regiões profundas (proximais) do músculo, são recrutadas para postura. Em contrapartida, maiores proporções de fibras tipo IIX, de partes superficiais (distais) do músculo são recrutadas para exercícios de curta duração e alta intensidade.

Para superar o problema da grande variação na percentagem dos tipos de miofibrilas, o ideal é que a coleta do músculo glúteo médio seja feita sempre na mesma profundidade (SNOW; GUY, 1980; RIVERO et al., 1993a,b; RIVERO et al., 1995b).

Para examinar o efeito de coletas repetidas no mesmo local do músculo, Lindner et al. (2002) colheram fragmentos do músculo glúteo médio direito e esquerdo nas profundidades de 20 e 60 mm, utilizando a técnica descrita por LINDHOLM e PIEHL (1974). Cada lado do músculo foi biopsado três vezes em um intervalo de sete semanas. Esses autores comprovaram que, quando se coleta várias amostras nesse intervalo permite-se à constituição completa do músculo. Dessa forma, não há prejuízo para avaliação das variáveis musculares.

Após a ocorrência de injúria, observa-se que o tecido muscular apresenta excelente capacidade de reparação. Esta habilidade de regeneração está relacionada à extensão da necrose, a preservação da inervação e suprimento sanguíneo na área, e o grau de integridade do

sarcolema da fibra muscular. Quando o trauma não danifica a lâmina basal e o plasmalema das miofibrilas, é possível a reparação completa (RIVERO et al., 1999; LINDNER et al., 2002).

2.7.1. Colheita de amostras musculares

Amostras do músculo glúteo médio devem ser colhidas com os animais contidos em tronco de contenção específico para equinos, em posição quadrupedal. A maioria dos pesquisadores adotam a metodologia preconizada por Lindholm e Piehl (1974) e Valette et al. (1999), utilizando a agulha de biópsia percutânea do tipo Bergström no 6.0 (Figura 1).

Figura 1. Agulha de biópsia muscular tipo Bergström 6,0mm (Kruise). (a) agulha guia contendo uma abertura; (b) cilindro cortante; (c) mandril. Fonte: Arquivo pessoal.

O local para inserção da agulha, sugerido por Lindholm e Piehl (1974), se localiza no terço médio cranial de uma linha imaginária que se estende da tuberosidade coxal à base da cauda. Para tanto, deve-se realizar a tricotomia de uma área de aproximadamente 5cm^2, correspondente à região do músculo glúteo médio, seguida de antisepsia da região, utilizando gaze estéril embebida em solução de iodopovidine e posteriormente embebida em solução de álcool iodado. Em seguida, realiza-se o bloqueio anestésico local, mediante a infiltração de 1mL de Cloridrato de lidocaína 2% sem vasoconstrictor por via subcutânea e a incisão na pele, tecido subcutâneo e fáscia glútea.

A agulha deve ser introduzida acoplada ao cilindro cortante com a janela fechada, ambos previamente esterilizados, em um ângulo de 90° até aproximadamente 6,0 cm de profundidade, para atingir o músculo glúteo médio. Em seguida, o cilindro cortante é suspenso, permitindo a abertura da janela de corte e procede-se o deslocamento lateral na agulha contra a massa muscular em um ângulo de 45°, então, introduz-se o cilindro cortante para a realização do corte do fragmento muscular (Figura 2).

Após a colheita da amostra, a agulha é retirada cuidadosamente e realiza-se a hemostasia comprimindo-se manualmente a ferida cirúrgica com gaze estéril. A lesão deve ser tratada com pomada cicatrizante e repelente uma vez ao dia, até a cicatrização (Figura 3).

Figura 2. Procedimentos para colheita da amostra muscular. (a) Local da tricotomia (área de 25cm^2 aproximadamente), (b) infiltração do anestésico local, (c) botão anestésico, (d) incisão de pele, (e) local incisado, (f) inserção da agulha de biópsia muscular na incisão de pele. A agulha possui marcações externas para auxiliar na colheita da amostra na profundidade adequada. Fonte: Arquivo pessoal.

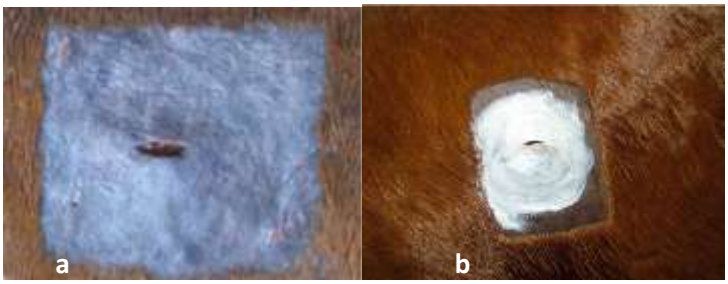

Figura 3. Ilustração da ferida cirúrgica. (a) lesão imediatamente após a colheita das amostras; (b) curativo realizado subsequentemente. Fonte: Arquivo pessoal.

Segundo D'Angelis et al. (2006), Martins et al. (2007) e Martins (2007), a técnica de biópsia preconizada por Bergström permitiu a colheita de amostras musculares de tamanho adequado e em condições apropriadas para as análises histoquímicas. Os autores observaram ainda que a profundidade escolhida (6,0 cm) permitiu a colheita de amostras homogêneas.

Martins et al. (2007) e Martins (2007) observaram que o local determinado para a colheita apresentou fácil acesso. A administração de 1,0 mL de cloridrato de lidocaína suprimiu a sensibilidade cutânea e permitiu a realização da incisão sem qualquer reação por parte dos animais. Os animais não apresentaram sensibilidade muscular e não mostraram reflexo nociceptivos durante a retirada de espécimes do músculo.

D'Angelis et al. (2005, 2006) e Martins et al. (2007) e Martins (2007) comprovaram que não houve necessidade de sutura de pele e nenhum animal apresentou complicação. Martins (2007) relatou que as bordas das feridas cirúrgicas dos animais apresentaram-se coaptadas no dia seguinte da realização da biópsia muscular e a cicatrização evoluiu naturalmente, estando a ferida cicatrizada e apresentando crescimento de pêlos após sete dias (Figura 4).

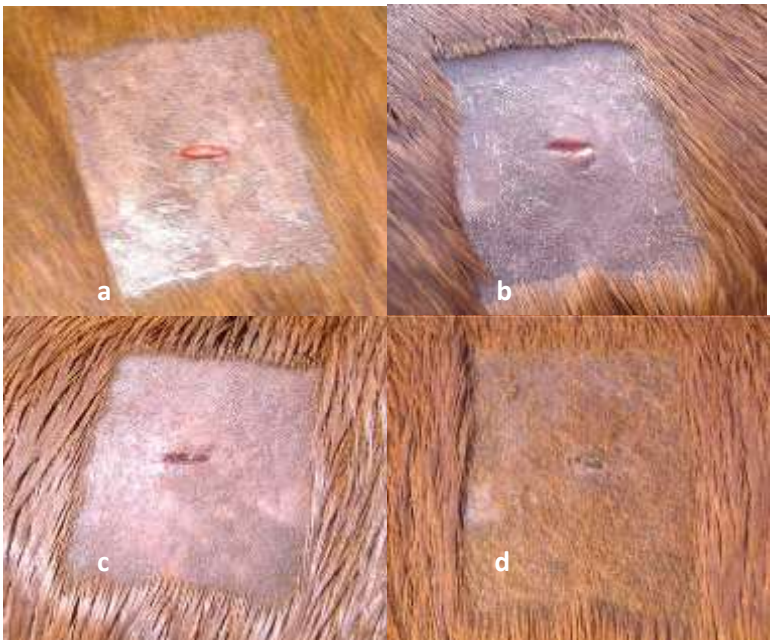

Figura 4. Ilustração da evolução da cicatrização da ferida cirúrgica. (a) 0, (b) 1, (c) 2 e (d) 7 dias após a colheita da amostra. Fonte: Arquivo pessoal.

2.8. Processamento das amostras musculares

As amostras musculares obtidas do músculo glúteo médio (Figura 5) destinadas à análise histoquímica devem ser resfriadas dois minutos após a colheita, mediante a imersão em hexano por 30 segundos, em seguida imersas em nitrogênio líquido a -196°C. Posteriormente, devem ser armazenadas em freezer a -70°C até o momento da análise laboratorial (MARTINS, 2007).

Figura 5. Amostra muscular no interior da agulha. Fonte: Arquivo pessoal.

2.9. Análises Musculares

Conforme descrito por Martins (2007), realiza-se quatro secções transversais seriadas com 12µm de espessura das amostras musculares, em criostato à -20°C. Os cortes são dispostos em lâminas histológicas, as quais permaneceram armazenadas em freezer a temperatura de -20°C até o momento da realização das análises musculares.

2.9.1. Adenosina Trifosfatase Miofibrilar (mATPase)

A atividade enzimática da mATPase é utilizada para identificar e distinguir os tipos de fibras musculares puras por meio da velocidade de contração destas. A técnica utilizada para essa análise foi uma adaptação do método de coloração metacromática da atividade ATPase em miofibras, descrito por D'Angelis et al. (2005) e Martins et al. (2007) com base na metodologia preconizada por Olgivie e Feeback (1990), utilizando alguns passos recomendados por Guth e Samaha (1970) e Ennion et al. (1995).

2.9.2 Nicotinamida adenina dinucleotídeo tetrazólio redutase

A NADH-TR é realizada para determinar o metabolismo oxidativo-glicolítico dos diferentes tipos de fibras musculares de equinos.

Utiliza-se como marcador do padrão oxidativo, a enzima nicotinamida adenina dinucleotideo desidrigenase (NADH). A técnica consiste em incubar a amostra muscular em solução que contêm a enzima NADH e NBT (Nitro blue tetrazolium) para formar o complexo NADH-TR (RYAN, 1992).

As lâminas contendo os cortes musculares são mantidas à temperatura ambiente durante 20 minutos, para secagem e aderência dos mesmos a lâmina histológica. Os cortes são incubados durante 40 minutos em estufa a 37°C em solução contendo 8 mg de NADH-TR, 10 mg NBT e 10 mL de tampão Tris 0,2M pH 7,4 (1,2114g Tris em 50 mL de água destilada). Em seguida, lavados em água destilada três vezes. Posteriormente, fixados em formol 5% tamponado pH 7,0, durante cinco minutos. Seguido de lavagem em água destilada, desidratação em etanol, diafanização em xilol e montagem com entelam (MARTINS, 2007).

2.10. Análises morfométricas

Dois cortes histológicos corados mediante as técnicas histoquímicas devem ser digitalizados em campos idênticos a partir da realização de fotomicrografias de cada secção

utilizando sistema de processamento de imagens computadorizado equipado com microscópio acoplado a câmara de alta resolução (RIVERO et al., 1993a; MARTINS, 2007).

Os mesmos autores obtiveram a frequência e área média de secção transversal de cada tipo de fibra utilizando o programa de análises de imagens.

A frequência média foi considerada como a porcentagem do número total de fibras. A área média de secção transversal das fibras foi medida em μm^2, a partir da mensuração de cada tipo de fibra muscular. Foram mensuradas entre 100 e 200 fibras por amostra (total de dois campos analisados).

A área relativa (%) que cada tipo de fibra ocupa em uma amostra de músculo foi calculada multiplicando por 100, o resultado da divisão entre a porcentagem do tipo de fibra multiplicada pela área média de secção transversal deste tipo de fibra e a somatória resultante ao aplicar a fórmula para todos os tipos de fibras (SULLIVAN; ARMSTRONG, 1978; RIVERO et al., 1993a).

2.11. Identificação dos tipos de fibras musculares

Martins (2007) observaram que o músculo glúteo médio dos animais estudados apresentou três tipos de fibras puras: I, IIA e IIX, segundo o grau de reatividade da enzima mATPase após a pré-incubação ácida (pH 4,5) e incubação alcalina (pH 10,5). Os diferentes tipos de fibras demonstraram o padrão de organização em mosaico. As fibras tipo I foram ácido estáveis e alcalino lábeis, demonstrando coloração azul claro. As fibras tipo IIA foram ácido lábeis a pré-incubação ácida e alcalino resistentes à incubação alcalina, assumindo coloração intermediária entre as fibras tipo I e IIX (azul intermediário). As fibras tipo IIX mostraram-se ácido lábeis e alcalino resistentes, corando-se fortemente quando submetidas à incubação alcalina, assumindo coloração azul escuro (Figura 6a).

O mesmo autor relatou que as fibras musculares foram classificadas em oxidativas e/ou glicolíticas segundo a intensidade da reação utilizando a técnica NADH-TR que determina seu metabolismo energético. As fibras tipo I demonstraram reação fortemente positiva, assumindo coloração roxo intenso, indicando metabolismo energético oxidativo. As fibras tipo IIA reagiram moderadamente, mostrando coloração moderada a intensa, intermediária entre as fibras tipo I e IIX, com intensa reação na periferia da célula. As fibras tipo IIX reagiram fracamente à técnica NADH-TR, assumindo coloração clara, mostrando-se glicolíticas (Figura 6b).

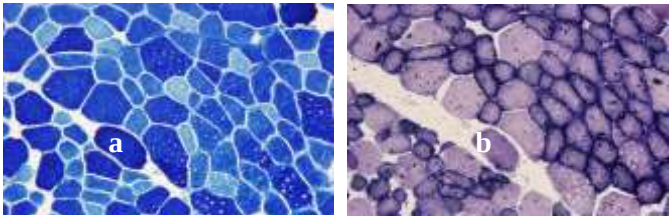

Figura 6. Fotomicrografia de cortes transversais do músculo glúteo médio corados mediante técnicas histoquímicas. (a) mATPase após pré incubação ácida (pH 4,5) e incubação alcalina (pH 10,5). (b) NADH-TR. Observar o padrão de organização em mosaico dos diferentes tipos de fibras. Obj. 20x. Fonte: Arquivo pessoal.

Rivero et al. (1995a), Serrano e Rivero (2000) reportam que amostras colhidas na profundidade de 6,0 cm apresentam maior homogeneidade dos tipos de fibras, corroborando aos achados de Martins (2007). Enquanto, na profundidade de 8,0 cm, verificaram maior proporção de fibras do tipo I, e em regiões superficiais do músculo (4,0 cm) maior predomínio de fibras tipo IIX.

Martins et al. (2007) e Martins (2007) confirmaram a existência de três tipos de fibras puras no músculo glúteo médio de equinos, as fibras tipo I, IIA e IIX. Mediante a utilização da técnica metabólica do NADH-TR observou-se que as fibras tipo I e IIA reagiram intensamente, demonstrando, portanto, serem oxidativas, enquanto as fibras IIX reagiram fracamente por apresentarem metabolismo glicolítico. A associação das técnicas mATPase e NADH-TR, possibilitou ainda, identificar as fibras híbridas IIAX (IIA + IIX). Entretanto, de acordo com Rivero e Piercy, (2004) para a identificação adequada das fibras híbridas é indicada a utilização de técnicas mais precisas como a eletroforese e a imunohistoquímica.

Segundo Rivero et al. (1999) e Serrano e Rivero (2000) as fibras IIX são maiores em tamanho que as fibras tipo I e IIA, especialmente em equinos sem treinamento prévio. MARTINS et al. (2007)e Martins (2007) observaram que as fibras tipo IIX apresentaram área de secção transversal significativamente maior que as fibras tipo IIA. Por sua vez, nestas últimas a área de secção transversal foi maior que a das fibras tipo I nos períodos pré e pós-treinamento, esses achados corroboram os encontrados por Gondim et al. (2005).

Inúmeros estudos utilizando treinamento de resistência em equinos têm demonstrado aumento na frequência das fibras IIA e concomitante diminuição das fibras IIX (ESSÉN-GUSTAVSSON; LINDHOLM, 1985; ESSÉN-GUSTAVSSON et al., 1989; RIVERO et al., 1989; 1991; 1995b; RIVERO, 1996). As pesquisas têm reportado ainda, o aumento de fibras híbridas IIAX e fibras tipo I (RIVERO et al., 1995b; RONÉUS et al., 1987; SERRANO et al., 2000). Em contrapartida, os treinamentos de alta intensidade e curta duração têm ocasionado diminuição das fibras tipo I e aumento das fibras tipo IIX (LOVELL; ROSE, 1991; RIVERO et al., 2002).

Serrano et al. (2000) relataram que dependendo da natureza do estímulo induzido, a resposta adaptativa pode ocasionar hipertrofia nas fibras musculares e/ou alteração das propriedades metabólicas e estruturais. A correlação entre a duração do programa de treinamento e a magnitude das alterações induzidas no âmbito molecular tem demonstrado a ocorrência da transição de fibras IIX para IIA durante a fase precoce do treinamento e conversão de fibras IIA em I mais tardiamente (SERRANO; RIVERO, 2000; SERRANO et al., 2000). Dessa forma a fibra é capaz de alterar completamente suas propriedades contráteis e metabólicas como resposta ao estímulo recebido (RIVERO; PIERCY, 2004).

O efeito do treinamento sobre a área das fibras musculares de equinos é controverso (RIVERO; PIERCY, 2004). As pesquisas vêm apresentando resultados diversificados, tal fato pode ser explicado pelos diferentes tipos de exercício que os cavalos são submetidos, pela diferença na proporção de fibras em cada raça e pelas diferentes respostas que esta diferença pode apresentar após um período de treinamento. Cavalos adultos sob um programa de treinamento aeróbio apresentam normalmente pequeno aumento da área das fibras musculares. Esta resposta está relacionada à conversão de fibras de baixa capacidade oxidativa em fibras de alta capacidade oxidativa, que possuem área menor. A redução na área da fibra quando esta está se tornando mais adaptada ao metabolismo aeróbio é uma alteração favorável, pois permite rápida difusão de oxigênio para o interior da fibra e remoção de produtos do metabolismo, como o CO2. Estudos realizados em cavalos de corrida de idades similares verificaram maior área de fibra para os animais inativos do que nos cavalos em atividade, apesar de uma aparentemente maior massa muscular nos cavalos de alta performance (SNOW; VALBERG, 1994). Segundo Rivero (1996) as respostas musculares adaptivas ao treinamento são mais pronunciadas em cavalos jovens e inativos que em cavalos maduros e treinados regularmente.

Tais respostas geralmente são mantidas por um período de cinco a seis semanas de inatividade (FOREMAN et al., 1990; TYLER et al., 1998).

Rivero et al. (1995b) encontraram hipertrofia das fibras tipo I e IIA em amostras colhidas na profundidade de 6,0 cm do glúteo médio em PSA submetidos a programa de treinamento de resistência por três meses. Notaram ainda, que os animais que possuíam maiores porcentagens e áreas das fibras tipo I e IIA apresentaram melhor resposta ao teste ergométrico. Rivero et al. (1993c) observaram que cavalos competidores em enduro que apresentavam performance atlética excelente possuíam alta porcentagem de fibras de contração lenta e metabolismo oxidativo, com maior área que cavalos considerados de performance moderada. Enquanto Tyler et al. (1998) observaram hipertrofia dos três tipos de fibras em resposta ao treinamento de alta intensidade.

D'Angelis et al. (2005) observaram que o treinamento aeróbio em PSA não alterou significativamente a frequência das fibras tipo I e IIA, entretanto reduziu significativamente a porcentagem das fibras tipo IIX. Verificaram ainda hipertrofia das fibras tipo I, IIA e IIX, e aumento da área relativa das fibras tipo I.

As respostas musculares ao treinamento dependerão das características do estímulo (tipo, intensidade e duração) e do estado do músculo antes do início do treinamento (RIVERO, 1996). Para a manutenção da postura e exercícios de baixa intensidade, geralmente, são ativadas as fibras tipo I. Quando a atividade requer o desenvolvimento de forças rápidas e prolongadas são recrutadas as fibras IIA (ARMSTRONG; PHELPS, 1984; ALECKOVIC et al., 1989) e quando o trabalho muscular gera movimentos rápidos e breves, são ativadas as fibras IIX (RIVERO; CLAYTON, 1996).

De acordo com Serrano et al. (2000), exercícios de resistência ocasionam transição de fibras de contração rápida para contração lenta. O organismo, no seu mecanismo de adaptação ao estresse metabólico, modifica a expressão das isoformas de cadeia pesada de miosina (SERRANO; RIVERO, 2000; BALDWIN; HADDAD, 2001). Isso pode explicar o incremento das fibras musculares com tendência ao metabolismo aeróbio, devido a transformação das fibras tipo IIX em IIA e destas em I (ESSÉN-GUSTAVSSON e LINDHOLM, 1985; RIVERO et al., 1993a; BALDWIN; HADDAD, 2001).

Como ressalta Muñoz et al. (1999), o desempenho atlético do equino está intimamente ligado à relação entre a capacidade oxidativa e glicolítica do indivíduo. D'Angelis et al. (2005) observaram que os animais apresentando maiores frequências e área ocupada pelas fibras tipo I e IIA, após três meses de treinamento aeróbio, também, foram os melhores em desempenho atlético nos testes ergométricos. Contrariamente, os cavalos que mostraram menores frequências e área ocupada pelas fibras tipo I e IIA apresentaram baixo desempenho no exercício teste. Esses dados confirmam que cavalos com excelente desempenho atlético em programas de treinamento aeróbio apresentam maiores freqüências de fibras oxidativas. Em contrapartida, Martins (2007) não observaram diferença significativa na frequência e área ocupada pelas fibras oxidativas entre os animais que obtiveram melhor e pior desempenho nos testes ergométricos.

Numerosos estudos têm demonstrado no cavalo um incremento da densidade mitocondrial associado com diferentes tipos de treinamento e uma correlação positiva entre o número de fibras musculares com elevada capacidade oxidativa e o êxito competitivo em atividades de resistência (RIVERO, 1997).

Serrano et al. (2000) concluíram que a magnitude das alterações ocorridas em função do treinamento, como a conversão de fibras de contração rápida em lenta, depende da duração do mesmo. A maioria das adaptações induzidas com o treinamento é reversível quando o estímulo cessa e que as alterações em resposta ao treinamento não ocorrem de forma homogênea no tecido muscular, sendo mais marcantes em determinadas regiões do músculo.

Considerando que as fibras tipo I e IIA possuem metabolismo oxidativo, os resultados obtidos por Martins (2007) indicaram que o programa de treinamento utilizado promoveu o aumento do potencial aeróbio no músculo glúteo médio em detrimento do potencial glicolítico do mesmo.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A importância da musculatura esquelética no sistema locomotor, sua grande capacidade adaptativa e sua íntima relação com a performance nas diversas atividades eqüestres, devem servir de estímulo para busca de conhecimentos estruturais e metabólicos deste tecido para que possamos manipular o desenvolvimento muscular de forma adequada, obtendo o máximo desempenho e evitando afecções musculares, entre outras. Faz-se também necessário a difusão e a aplicação prática dos conhecimentos adquiridos com as pesquisas visando auxiliar os programas de treinamentos realizados nas diversas modalidades de esportes equestres.

4. REFERÊNCIAS

ALECKOVIC, Z.; ZOBUNDZIJA, M.; BRICK, A.; MIHOLJCIC, B. Histochemical and morphological characteristics of muscles in relation to their functional activity. Acta Veterinaria, Brno, v. 39, n. 5-6, p. 287-298, 1989.

ARMSTRONG R. B.; PHELPS, R. O. Muscle fiber type composition of the rat hindlimb. American Journal of Anatomy, Philadelphia, v. 171, p. 259-272, 1984.

BALDWIN, K. M.; HADDAD, F. Plasticity in skeletal, cardiac, and smooth muscle invited review: Effects of different activity and inactivity paradigms on myosin heavy chain gene expression in striated muscle. Journal Applied Physiology, Bethesda, v. 90, p. 345-357, 2001.

BAYLY, W. M. Training programs. Veterinary Clin North Am Equine Pratice, v. 1, n. 3, p. 567-610, 1985.

BEECHER, G. R; CASSENS, R. G.; HOEKSTRA, W. G.; BRISKEY, E. J. Red and white fiber content and associated post mortem properties of seven porcine muscles. Journal of Food Science, Chicago, v. 30, p. 969-976, 1965.

BLANCO, A. R.; PÉREZ, A. J. Tejido muscular. In: GASQUEZ, A. O.; BLANCO, A.R. Tratado de histología veterinaria. Barcelona: Masson, 2004. p. 145-152.

BOTTINELLI, R.; REGGIANI, C. Human skeletal muscle fibres: molecular and functional diversity. Progress in Biophysics & Molecular Biology, New York, v. 73, p. 195-262, 2000.

BROCKS, L.; KLONT, R. E.; GREEF, K. De; TIEMAN, M.; ENGEL, B. The effects of selection of pigs on growth rate vs. leanness on histochemical characteristics of different muscle. Journal of Animal Science, Champaign, v. 78, p. 1247-1254, 2000.

D'ANGELIS, F. H. F.; MARTINS, C. B.; GONÇALVES, K. N. V.; BOLELI, I. C.; J. C.; LACERDA-NETO, J. C.; QUEIROZ-NETO, A. Importância e consequências da biopsia muscular no cavalo atleta. Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária. v. 12, n.38, p. 32-37, 2006.

D'ANGELIS, F. H. F.; FERRAZ, G. C.; BOLELI, J. C.; LACERDA-NETO, J. C.; QUEIROZ-NETO, A. Aerobic training, but not creatine supplementation, alters the gluteus medius muscle. Journal of Animal Science, Champaing, v. 83, p. 579-585, 2005.

ENNION, S.; SANT'ANA, P. J.; SARGEANT, A. J.; YOUNG, A.; GOLDSPINK, G. Characterization of human skeletal muscle fibres according to the myosin heavy chains they express. Journal of Muscle Research Cell Motility, Dordrecht, v.16, p.35-43, 1995.

ESSÉN-GUSTAVSSON, B.; KARLSTROM, K.; LINDHOLM, A. Fibre types, enzyme activities and substrate utilization in skeletal muscle of horses competing in endurance rides. Equine Veterinary Journal, London, v. 16, p. 197-202, 1984.

ESSEN-GUSTAVSSON, B.; LINDHOLM, A. Muscle fibre characteristics of actives and inactives Standarbred horse. Equine Veterinary Journal, London, v. 17, p. 434-438, 1985.

ESSÉN-GUSTAVSSON, B.; McMIKEN, D.; KARLSTRÖM, K.; LINDHOLM, A.; PERSSON, S.; THORNTON, J. Muscular adaptations to intensive training and detraining. Equine Veterinary Journal, London, v. 21, p. 27-33, 1989.

FOREMAN, J. H.; BAYLY, W. M.; ALLEN, J. R.; MATOBA, H.; GRANT, B. D.; GOLLNICK, P. D. Muscle responses of Throughbreds to conventional race training and detraining . American Journal Veterinary Research, v. 51, p. 909-913, 1990.

GOLDSPINK, G. Selective gene expression during adaptation of muscle in response to different physiological demands. Review. Comparative Biochemistry and Phisiology Part B, New York, v. 120, p. 5-15, 1998.

GOLL, D. E. Músculo esquelético. In: SWENSON, M. J.; RIECE, W.O. DUKES: Fisiologia dos animais domésticos. 11ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996, 856p.

GONDIM, F. Fibras musculares: aptidão atlética diagnosticável por tipagem. Disponível em: <www. endurancebrasil.com.br>. Acesso em: 12 de abril de 2005.

GONZALES, E.; SARTORI, J. R. Crescimento e metabolismo muscular. In: Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002, p. 279-297.

GUTH, L.: SAMAHA, F. J. Procedure for the histochemical demonstration of actomyosin ATPase. Experimental Neurology, San Diego, v. 26, p. 120-125, 1970.

HENCKEL, P. Training an growth induced changes in the middle gluteal muscle of young Standerbred trotters. Equine Veterinary Journal, London, v. 15, n. 2, p. 134-140, 1983.

HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. Effects of a nine-month endurance training programme on muscle composition in the horse. Veterinary Record, London, v. 121, p. 271-274, 1987.

ISLAS, A.; RIVERO, J. L. L.; QUEZADA, M.; MORA, G.; AEDO, V.; BRIONES, V.; MARIN, L. Características histoquímicas de las fibras del músculo gluteus medius en equinos de tiro. Archivos de Medicina Veterinaria, Valdivia, v. 28, n. 1, p. 83-91, 1996.

KARLSSON, A. H.; KLONT, R. E.; FERNANDEZ, X. Skeletal muscle fibres as factors for pork quality. Livestock Production Science, Amsterdam, v. 60, p. 255-269, 1999.

KLINE, K.H.; LAWRENCE, L.M.; NOVAKOFSKY, J.; BECHTEL, P.J. Changes in muscle fiber variation within the middle gluteal of young and mature horses as a function of sampling depth. Equine Exercise Physiology, Davis, v. 2, p. 271-277, 1987.

LEFAUCHER, L.; ECOLAN, P.; BARZIC, Y.M.; MARION, J.; LE DIVIDICH, J. Early postnatal food intake alters myofiber maturation in pig skeletal muscle. The Journal of Nutrition, Philadelphia, v. 133, n. 1, p. 140-147, 2003.

LINDHOLM, A.; PIEHL, K. Fibre composition, enzyme activity and concentrations of metabolites and electrolytes in muscle of Standardbred horses. Acta Veterinary Scandinavica, Copenhagen, v.15, p. 287-309, 1974.

LINDHOLM, A., SALTIN, B. The physiological and biochemical response of Standardbred horses to exercise of varing speed and duration. Acta Veterinary Scandinavica, Copenhagen, v. 15, p. 310-324, 1974.

LINDNER, A.; DAG, S.; MARTI-KORFF, S.; QUIROZ-ROTHE, E.; RIVERO, J.L.L.; DROMMER, W. Effects of repeated biopsying on muscle tissue in horses. Equine Veterinary Journal, London, v. 34, n. 6, p. 619-624, 2002.

LOVELL, D. K.; ROSE, R. J. Changes in skeletal muscle composition on response to interval high intensity training. In: PERSSON, S. G. B.; LINDHOLM, A.; JEFFCOTT, L. B. Equine exercise physiology 3. Davis: ICEEP Publications, 1991, p. 215-222.

LUTZ, G. J.; BREMNER, S.; LAVEVARDI, N. B.; LIEBER, R. L.; ROME, L. C. Quantitative analysis of muscle fibre type and myosin heavy chain distribution in the frog hindlimb: implications for locomotory design. Journal of Muscle Research and Cell Motility, Dordrecht, v.19, p. 717-731, 1998.

MARTINS, C. B. Adaptações do músculo glúteo médio em eqüinos submetidos a treinamento de resistência e suplementados com diferentes concentrações de óleo de soja. 2007. 86f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

MARTINS, C. B.; OROZCO, C. A. G.; GOMIDE, L. M. W.; SILVA, M. A. G.; CHRISTOVÃO, F. G.; QUEIROZ NETO, A.; LACERDA NETO, J. C. Efeito do condicionamiento atletico sobre o musculo glúteo médio de equinos puro sangue arabes. Ars Veterinaria, v.23, p.100-107, 2007.

MAYORAL, A.; DORADO, M.; GUILLÉN, M. T.; ROBINA, A. Development of meta and carcass quality characterisitics in Iberian pigs reared outdoors. Meat Science, Barking, v. 52, 1999.

MUÑOZ, A.; SANTISTEBAN, R.; RUBIO, M. D.; AGÜERA, E. I.; ESCRIBANO, B. M.; CASTEJÓN, F. M. Locomotor, cardiocirculatory and metabolic adaptations to training in Andalusian and Anglo-Arabian horses. Research in Veterinary Science, London, v. 66, n. 1, p.25-31, 1999.

OLGIVIE, R. W.; FEEBACK, D. L. A metachromatic dye-ATPase method for the simultaneous identification of skeletal muscle fiber types I, IIA, IIB, IIC. Stain Technology, Baltimore, v.65, p.231-241, 1990.

PERRY, S. V. Properties of muscle proteins - a comparative approach. Journal Experimental Biology, v. 115, p. 31-42, 1985.

POWERS, S. K.; HOWLEY, E. T. Fisiologia do exercício: teoria e aplicação ao condicionamento e ao desempenho. 3. ed. São Paulo: Manole, 2000. 527 p.

RIVERO, J. L. L.; PIERCY, R. J. Muscle physiology: responses to exercise and training. In: HINCHCLIFF, K. W.; KANEPS, A. J.; GEOR, J. Equine sports medicine and surgery: basic and clinical sciences of the equine athlete. Edinburgh: Saunders Elsevier, 2004, p.45-76.

RIVERO, J. L. L.; SPORLEDER, H. P.; QUIROZ-ROTHE, E.; VERVUERT, I.; COENEN, M.; HARMEYER, J. Oral L-carnitine combined with training promotes changes in skeletal muscle. Equine Veterinary Journal, London, Suppl. 34, p. 269-274, 2002.

RIVERO, J. L. L.; SERRANO, A. L.; BARREY, E.; VALETTE, J. P.; JOUGLIN, M. Analysis of myosin heavy chains at the protein level in horse skeletal muscle. Journal of Muscle Research Cell Motility, Dordrecht, v.20, p. 2121-2122, 1999.

RIVERO, J. L. L. Muscle variables. In: LINDNER, A. Performance diagnosis of horse. Wageningen: Wageningen Pers, 1997, p. 44-71.

RIVERO, J. L. L.; CLAYTON, H. The potential role of the muscle in kinematic characteristics. Pferdeheilkunde, v. 12, p. 635-640, 1996.

RIVERO, J. L. L. Muscle biopsy index for discriminating between endurance horses with different performance records. Research in Veterinary Science, London, v. 61, p. 49-54, 1996.

RIVERO, J. L. L.; SERRANO, A. L.; HENCKEL, P. Activities of selected aerobic and anaerobic enzymes in the gluteus medius of endurance horses with different performance records. Veterinary Research, Les Ulis, v. 137, p. 187-192, 1995a.

RIVERO, J. L. L.; RUZ, M.C.; SERRANO, A. L.; DIZ, A. M. Effects of the 3 month endurance training programme on skeletal muscle histochemistry in andalusian, Arabian and Anglo-Arabian horses. Equine Veterinary Journal, London, v.27, p. 51-59, 1995b.

RIVERO, J. L. L.; SERRANO, A. L.; DIZ, A. M.; MORALES, J. L. Changes in cross-sectional area and capillary supply of the muscle fiber population in equine gluteus medius muscle as a function of sampling depth. American Journal of Veterinary Research, Chicago, v. 54, p. 32-37, 1993a.

RIVERO, J. L. L.; DIZ, A. M.; MONTEVERDE, J. G.; AGÜERA, E. Intramuscular distribuition of fibre types in the gluteus medius of the horse: A histochemical analyses. Anatomy Histology and Embriology, v. 22, p. 223-240, 1993b.

RIVERO, J. L. L.; SERRANO, A. L.; HENCKEL, P. AGÜERA, E. Muscle fiber type composition and fiber size in successfully and unsuccessfully endurance-raced horses. Journal Applied Physiology, Bethesda, v. 162, p. 1758-1766, 1993c.

RIVERO, J. L. L.; LOPEZ, M. J. L.; GALISTEO, A. M.; AGUERA, E. M. Muscle fibre type composition in untrained and endurance-trained Andalusian and Arabian horses. Equine Veterinary Journal, London, v. 23, p. 91-93, 1991.

RIVERO, J. L. L.; AGÜERA, E.; MONTEVERDE, J. G.; BARBUDO, M. R.; MIRO, F. Comparative study of muscle fiber type composition in the middle gluteal muscle of Andalusian, Thoroughbred and Arabian horses. Journal of Equine Veterinary Science, Wildomar, v. 9, p.377-340, 1989.

RYAN, J.M.; COBB, M.A.; HERMANSON, J.W. Elbow extensor muscles of the horse: postural and dynamic implications. Acta Anat., v. 144, p.71-79, 1992.

RONEUS, M.; ESSEN-GUSTAVSSON, B.; LINDHOLM, A.; PERSSON, S. A field study circulatory response and muscle characteristics in young Thoroughbreds. In: GILLESPIE, J. R.; ROBINSON, N. E. Equine exercise physiology 2. Davis: ICEEP Pubications, Davis, 1987, p. 376-383.

ROSE, R. J. Endurance exercise in the horse- a review. Part I. British Veterinary Journal, London, v. 142, n. 6, p. 532-541, 1986.

SERRANO, A. L.; RIVERO, J. L. L. Myosin Heavy Chain profile of equine Gluteus medius following prolonged draught exercise training and detraining. Journal of Muscle Research and Cell Motility, Dordrecht, v. 21, p. 235-245, 2000.

SERRANO, A. L.; QUIROZ-ROTHE, E.; RIVERO, J. L. L. Early long-term changes of equine skeletal muscle in response to endurance training and detraining. European Journal Physiology, v. 441, p. 263-274, 2000.

SISSON, S. Músculos dos eqüinos. In: GETTY, R. Sisson/Grossman anatomia dos animais domésticos. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, v. 1, 1986, p. 402-407.

SNOW, D. H.; VALBERG, S. J. Muscle anatomy, physiology, and adaptations to exercise. In: ROSE, R. J.; HODGSON, D. R. The athletic horse: principles and practice of equine sports medicine. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1994, p. 49-62.

SNOW, D. H.; GUY, P. S. Muscle fibre type composition of a number of limb muscle in different types of horse. Research in Veterinary Science, London, v. 28, p. 173-144, 1980.

SNOW, D. H.; GUY, P.S. Percutaneous needle muscle biopsy in the horse. Equine Veterinary Journal, London, v. 8, p. 150-155, 1976.

SULLIVAN, T.E.; ARMSTRONG, R.B. Rat locomotory muscle fibre activity duringtrotting and galloping. Journal of Applied Physiology, Bethesda, v. 75, p. 358-363, 1978.

TYLER, C. M.; GOLLAND, L. C.; EVANS, D. L.; HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. Skeletal muscle adaptations to prolonged training, overtraining and detraining in horse. European Applied Journal of Physiology, Heidelberg, v. 436, p. 391-397, 1998.

VALETTE, J. P.; BARREY, E.; JOUGLIN, M.; COUROUCE, A.; AUVINET, B.; FLAUX, B. Standardisation of muscular biopsy of gluteus medius in French trotters. Equine Veterinary Journal, London, v. 30, p. 342-344, 1999.

WHITE, M. G.; SNOW, D. H. Quantitative histochimical study of glycogen depletion in the maximally exercised Thoroughbred. Equine Veterinary Journal, London, v. 19, p. 67, 1987.

Capítulo 17- Carrapato de Bovinos *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*, canestrini, 1888 (Acari: ixodidae) e sua sensibilidade a solventes

Silva1, E.E.C.[1]; Amorim, T.C.2; Oliveira[2], B. F. S.; Terra, J.P.[2]; Chieppe, M.A.P.L.[2]; Ayres, M.M.V.[2]; Porfirio, L.C.[2]

INTRODUÇÃO

Todas as espécies de carrapatos requerem obrigatoriamente sangue de vertebrados e possuem grau de especificidade podendo utilizar hospedeiros alternativos, incluindo o homem. Nas extensas áreas de pastagens destinadas à pecuária bovina, predomina a espécie de hábitos alimentares hematófagos, têm grande importância médica e veterinária, porque podem transmitir uma variedade de agentes patogênicos (FURLONG, 2005). Os carrapaticidas têm sido o principal meio de controle do *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, entretanto a capacidade desses parasitas em se tornarem resistentes tem prejudicado muito a aplicação dos produtos acabados. Após a aplicação do carrapaticida pode ocorrer resistência ao princípio ativo, além disso, permanecem resíduos nos animais e em seus produtos. Este fato tem provocado grande preocupação na sociedade e órgãos governamentais (LEAL; FREITAS; VAZ JÚNIOR, 2003).

O uso incorreto do carrapaticida como: a subdose, o preparo inadequado e aplicação realizada de forma incorreta faz com que os carrapatos não morram após contato com o produto. Cada vez que isso ocorre e os parasitas sobrevivem a uma aplicação, transmitem às gerações posteriores informações genéticas de como sobreviver àquele produto (FURLONG; PRATA, 2006). Sendo assim quando a resistência se instala o produtor frequentemente aumenta a dose do pesticida ou a frequência das aplicações (THULLNER, 1997).

A utilização indiscriminada dos defensivos químicos tem afetado o ambiente, os animais e as pessoas, mas com estudos adequando e com a utilização correta dos solventes, este desequilíbrio e a posterior contaminação ambiental podem ser minimizados (HERNÁNDEZ et al., 1987).

São conhecidas as qualidades de vários solventes que fazem parte das formulações carrapaticidas ou que são utilizados em experimentos para dissolução de extratos vegetais. Os solventes têm a principal finalidade de solubilizar o princípio ativo, proporcionando a distribuição homogênea por toda a cutícula do artrópode, ampliando sua área de ação. São poucos os trabalhos comparativos com relação à interferência dos diferentes solventes no resultado final de um experimento, ou ainda nos diferentes estágios de desenvolvimento do parasita que reagem diferentemente na presença de um mesmo solvente (SHAW, 1966).

Melo et al., (2012) calcularam a sensibilidade das ninfas não ingurgitadas de *Amblyomma cajennense* e *Rhipicephalus sanguineus* frente à ação dos solventes etanol, metanol e acetona em pureza analítica e concluiu que, os solventes não foram tóxicos para as ninfas não ingurgitadas. Entretanto, para Chagas et al., (2012) o estágio de desenvolvimento influencia a

[1]Departamento de Farmácia e Nutrição do Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal do Espírito Santo. emanuellecsilva@yahoo.com.br
[2]Departamento de Medicina Veterinária do Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal do Espírito Santo.

susceptibilidade dos carrapatos sendo necessário uma avaliação da ação desses solventes nos outros estágios dentre as espécies. Chagas et al., (2003) com fêmeas não ingurgitadas e ingurgitadas, encontraram maior mortalidade para fêmeas ingurgitadas do que não ingurgitadas, sendo que o etanol e o metanol não interferiram em concentrações inferiores a 76%, o que corroborando o trabalho apresentado.

Melo et al., (2012) testaram a ação dos solventes como o etanol, metanol e acetona nas concentrações de 5, 25, 50, 75 e 100% sobre ninfas de *Rhipicephalus sanguineus* e obteve como resultados que etanol e metanol só se mostraram tóxicos para larvas ingurgitadas a 100%. Já a acetona se mostrou mais tóxica, pois apresentou diferenças significativas ao grupo controle a partir de 50% de concentração.

Espera-se que com o desenvolvimento deste estudo, verificar o uso correto e a concentração ideal dos solventes que possam ser aplicados, de forma efetiva no animal com bom resultado e venha fornecer uma alternativa para os produtores, proteção do meio ambiente e pela redução dos resíduos na carne, leite e derivados.

Esta pesquisa teve como objetivo testar a sensibilidade das teleóginas de carrapato *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* a diferentes solventes comerciais como o Twenn 80 (T80), Álcool Etílico PA (AE), Álcool Metílico PA (AM), Dimetilsulfoxido PA (DMSO) e Propilenoglicol PA (PG) sobre a oviposição das teleóginas submetidas a banho de imersão em diferentes soluções. E, avaliar e ampliar os conhecimentos sobre os solventes comerciais, com ênfase em sua ação carrapaticida pelo teste biocarrapaticidograma.

2. Metodologia

Foram coletadas aleatoriamente 720 teleóginas de *Rhipicefalus* (*Boophilus*) *microplus*, na área experimental do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUFES) localizada na zona urbana de Alegre, ES, situada na região Sudeste do Brasil, latitude e longitude 20°45'49" e 41°31'57"W, respectivamente. O município abrange uma área de 778,6 km^2. De clima quente e chuvoso no verão, seco no inverno, com temperaturas que variam entre 17 e 29º Celsius, segundo dados do IBGE (2010). As teleóginas coletadas mediram entre 5,0 a 7,5mm de diâmetro, e com intervalo mínimo de 30 à 90 dias do último tratamento de acaricida antes da coleta.

As fêmeas ingurgitadas foram mantidas em frascos após serem coletadas e foram transportadas em caixas térmicas contendo gelo, evitando a prematura oviposição o que não interferiu no teste biocarrapaticidograma, *in vitro*, realizado no laboratório de Manipulação de Plantas Medicinais, localizado no Hospital Veterinário da Universidade Federal do Espírito Santo, no Campus de Alegre (HOVET).

Com a obtenção das teleóginas, formaram-se grupos para a realização do tratamento com solução contendo diferentes concentrações, 100%, 75%, 50%, 20%, 10%, 5%, 2%, 1%, 0,5% e 0,1% dos solventes Twenn 80 (T80), Álcool Etílico (AE), álcool Metílico (AM), Dimetilsulfoxido (DM), Propilenoglicol (PG) e água destilada como controle (H_2O).

Os solventes anteriormente citados foram testados na concentração de 100% e estipulou-se para aqueles que provocassem mortalidade dessas teleóginas a concentração superior a 5% seriam testados nas concentrações de 75%; 50%; 25%; 10; 5%; 2%; 1%; 0,5%; e 0,1% conforme pode ser visto na tabela 1.

Os testes foram realizados com duas (2) repetições para cada solvente, T80, AE, AM, TT100, DMSO e PG, conforme pode ser demostrado na Tabela 2, cujos laboratórios foram Cromoline Química Fina; Alphatec Química Fina; Reagente Analítica; Cinética Reagente e Soluções; Dinâmica Química Contemporânea Ltda. e Vertec Química Fina.

Essas substâncias foram selecionadas por serem consideradas como os solventes adequados, para o preparo dos produtos químicos acabados.

Tabela 1. Diluições dos solventes com mortalidade acima de 5% de teleóginas. Sendo que cada solvente teve um grupo controle com água destilada.

	Concentração									
Solventes	100%	75%	50%	20%	10%	5%	2%	1%	0,5%	0,1%
Controle H_2O	X	X	x	x	x	x	x	x	x	x
Álcool Etílico	X	X	x	x	x	x	x	x	x	x
Álcool Metílico	X	X	x	*	*	*	*	*	*	*
DMSO	X	X	x	*	*	*	*	*	*	*
Propilenoglicol	X	X	x	X	x	x	x	x	*	*
Twenn	X	X	x	*	*	*	*	*	*	*

* Grupos com mortalidade igual a 100%.

Tabela 2. Solventes de pureza analítica (PA) testados contra *Boophilus microplus*, com sua fórmula química e peso molecular.

Solventes	Fórmula	Peso molecular
Álcool Etílico	C_2H_5OH	46,07
Álcool Metílico	CH_3OH	32,04
DMSO	C_2H_6SO	48,13
Propilenoglicol	$C_3H_8O_2$	76,09
Twenn	$C_{58}H_{114}O_{26}$	1311,7

*Concentração máxima de 0,05%. Todos os solventes foram testados

2.1. Teste de sensibilidade das fêmeas ingurgitadas em testes de imersão

De acordo com a metodologia descrita por Drummond et al., (1973), Apud Chagas et al., (2003), procedeu-se o banho de imersão em água destilada das fêmeas ingurgitadas, sendo então, um grupo de cindo (5) fêmeas com peso médio de 0,28 ± 0,003, após o procedimento, foram secas em papel toalha conforme o demonstrado nas Fig. 1 e 2.

Figura. 1. Lavagem das teleóginas. Fonte: Arquivo Pessoal.

Figura. 2. Secagem das teleóginas. Fonte: Arquivo Pessoal.

2.2. Preparo das soluções e banho de imersão

Os solventes em teste foram diluídos em água destilada nas respectivas concentrações 100%; 75%; 50%; 20%; 10%; 2%; 1%; 0,5%; 0,1%, e posteriormente foi realizado um segundo banho de água destilada e secagem das teleóginas. Essas fêmeas foram acondicionadas e identificadas em placas de Petri (Fig. 3). As placas foram mantidas em temperatura ambiente por 72 horas a aproximadamente 20°C para verificar a oviposição.

2.3. Bioensaios

As teleóginas foram separadas em 70 grupos, incluindo o controle e em duplicata (140 com 5 carrapatos cada). As teleóginas permaneceram imersas no solvente de escolha por cinco minutos, em um tubo Ependorff (Fig. 3 e 4) após a imersão foram colocadas sobre o papel filtro e secas com papel toalha, posteriormente, foram fixadas em placa de Petri identificadas onde permaneceram até que ocorresse a oviposição, em temperatura ambiente de 20°C e a umidade relativa do ar de 80%, mantidas no próprio laboratório sendo que as teleóginas permaneceram nessas condições por 21 dias para que ocorresse a ovipostura.

Figura 3. Teleógina em destaque. Fonte: Arquivo pessoal

Figura 4. Teleóginas em solvente Fonte: Arquivo pessoal

As placas utilizadas no procedimento foram identificadas com as siglas dos solventes a serem testados e o peso correspondente do grupo. Após o tempo que foi estipulado as fêmeas ingurgitadas foram retiradas dos solventes e com o auxilio de uma pinça, foram secas em papel filtro e fixadas em placa de Petri com ajuda de uma fita adesiva em decúbito dorsal (Fig. 5), com abertura genital exposta facilitando, assim, a oviposição e coleta dos ovos. Todo o procedimento realizado estava dentro das normas de biossegurança e seguindo as técnicas de assepsia.

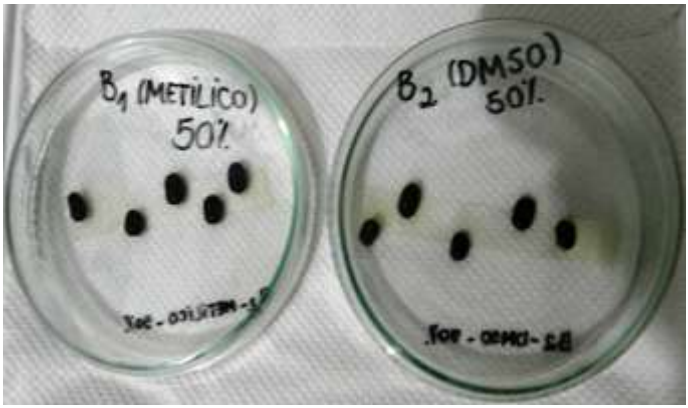

Figura 5: Teleóginas em placas de Petri. Decúbito dorsal
Fonte: Arquivo pessoal.

Depois que ocorreu a oviposição, os ovos foram removidos das placas de Petri, novamente com o auxilio de uma pinça, e colocados sobre papel manteiga, e pesados em balança analítica, sempre respeitando a ordem dos grupos testados e as normas de biossegurança e as técnicas de assepsia.

As fêmeas ingurgitadas que realizaram a oviposição tiveram seus ovos pesados e a eclodibilidade foi visualizada e quantificada por meio de um microscópio estereoscópio (Tabela 4). A taxa de mortalidade das fêmeas foi calculada segundo a fórmula de porcentagem de controle (grupo controle) e eficácia de reprodução do grupo tratado, para de obter a eficácia dos produtos (EP) que foram testados. A eficácia reprodutiva (ER) e a eficácia do produto (EP) foram avaliadas segunda as equações prescritas por Drummond et al., (1973) por meio da fórmula:

$$EP = \frac{\text{ER grupo controle} - \text{ER grupo tratado}}{\text{ER do grupo controle}} \times 100$$

Os resultados obtidos no trabalho foram submetidos ao Procedimento BioEstatic 5.0, que utiliza os princípios de quadrados mínimos para ajustar modelos lineares e contraste entre as médias foi realizado pelo Teste de Tukey. E para validar os dados, os resultados foram submetidos à analise de variância (ANOVA).

Os ovos que foram coletados, pesados e inseridos em tubos de vidro com rolha de algodão, devidamente identificados e, a seguir, os tubos foram mantidos na posição vertical em temperatura ambiente de 20 ± 1°C e umidade relativa do ar de 80 ± 5% por um período de 15 a 22 dias, segundo Campos Júnior e Oliveira (2005).

3. Resultados

O presente experimento foi realizado em duplicata, sendo que os valores da taxa de mortalidade das teleóginas e os resultados obtidos com o banho de imersão das mesmas estão listados na Tabela. 3. Consideraram-se eficientes os solventes que apresentaram mortalidade superior a 5% em sua concentração PA (100%).

Tabela 3. Peso (g) de cada grupo de teleógina por placa e taxa de mortalidade média geral das teleóginas submetidas aos tratamentos com as diferentes soluções na concentração de 100%.

Solventes	Peso das placas		Media da Mortalidade das Teleóginas [%]	
	Placa1	Placa2	Placa 1	Placa 2
Controle (Água)	0.6160	0.6001	0	0
Tween	0.6826	0.6300	20	20
DMSO	0.7350	0.6219	100	100
Propilenoglicol	0.6269	0.6091	20	20
Alcool Etilico	0.6904	0.6069	40	40
Alcool Metilico	0.6951	0.6491	20	20

ANOVA um critério.

Buscou-se avaliar o efeito de cinco solventes em 10 concentrações diferentes contendo água destilada como veículo, sendo que a água destilada também foi o grupo controle, para ter um padrão de comparação sobre o efeito de oviposição das teleóginas. A tabela 4 demonstra a média de oviposição após o tratamento com os solventes T80, AE, AM, DMSO, PG e H_2O nas concentrações testadas.

Tabela 4. Média de oviposição frente aos diferentes solventes testado.

Solvente/diluição	DMSO	AM	T80	AE	PG	H_2O
100%	0*	0.43405	0*	0.1406	0*	0.4764
75%	0*	0.4282	0*	0.1568	0.55575	0.4764
50%	0.06655	0.4453	0*	0.17055	0.5510	0.4764
20%	0.18415	0.4903	0*	0.16475	0.53845	0.4764
10%	0.1811	0.46205	0*	0.1450	0.5737	0.4764
5%	0.39875	0.5312	0*	0.18625	0.56195	0.4764
2%	0.3576	0.5131	0.02275	0.22185	0.5955	0.4764
1%	0.46045	0.52225	0.3385	0.23495	0.6334	0.4764
0,5%	0.43515	0.58165	0.0326	0.2705	0.49235	0.4764
0,1%	0.5161	0.6449	0.0541	0.2632	0.7850	0.4764

*Não ocorreu oviposição, pois o grupo apresentou mortalidade de 100%

Transcorrido vinte e oito dias em que as teleóginas foram fixadas nas placas de Petri (Fig. 5) ocorreu o início da oviposição de todos os grupos. Ao final da oviposição (15 a 18 dias)

as massas foram pesadas em balança analítica e acondicionadas em tubos de vidro para observar o inicio do estado larval, que não ocorreu aos 21^0 dias após oviposição.

Os dados obtidos com o peso médio dos ovos das teleóginas de acordo com cada solvente e as diluições testadas de 100, 75, 50, 20, 10, 5, 2, 1, 0.5 e 0.1% podem ser observados nos Gráficos 1, 2, 3, 4, e 5 respectivamente.

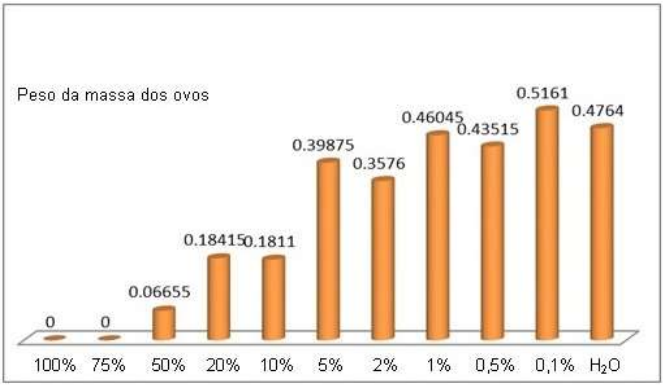

Gráfico 1. Peso médio da oviposição sob ação do DMSO em diferentes concentrações.

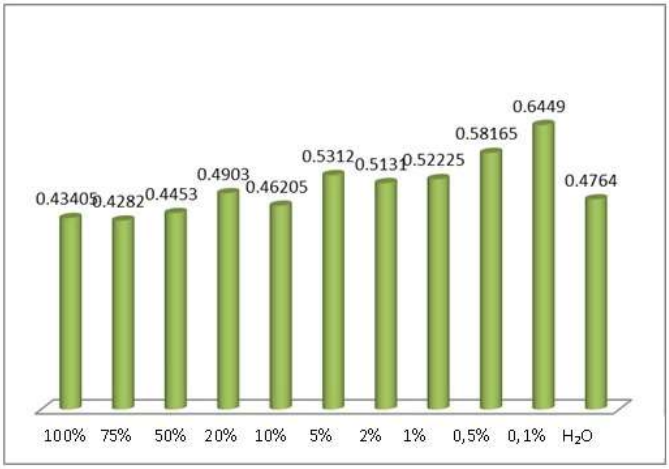

Gráfico 2. Peso médio da oviposição sob ação do álcool metílico em diferentes concentrações.

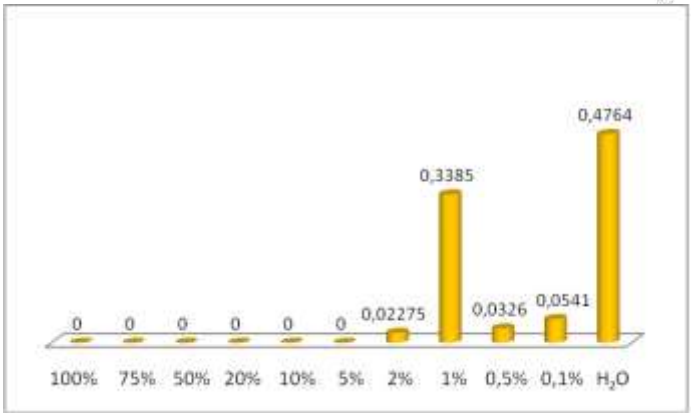

Gráfico 3. Peso médio da oviposição sob ação do Tween 80 em diferentes concentrações.

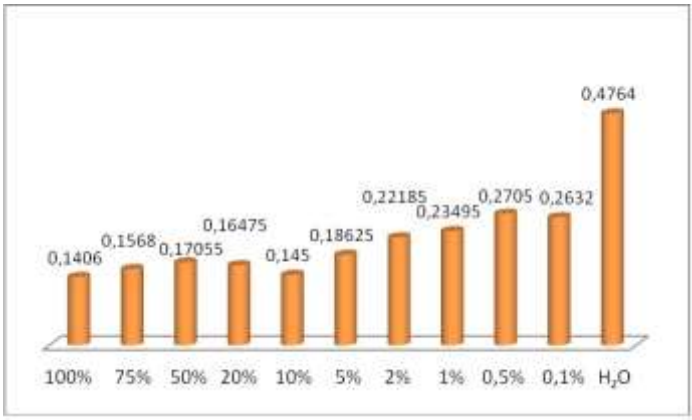

Gráfico 4. Peso médio da oviposição sob ação do álcool etílico em diferentes concentrações.

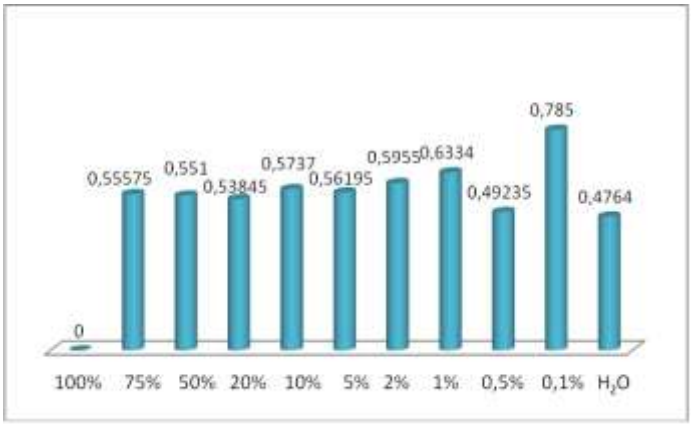

Gráfico 5. Peso médio da oviposição sob ação do propilenoglicol em diferentes concentrações.

4. DISCUSSÃO

Com base nos resultados deste trabalho, onde os grupos experimentais tiveram o controle com água destilada para a comparação com os solventes que estavam sendo testados. Os seguintes solventes: Álcool Etílico (AE), Álcool Metílico (AM), Propilenoglicol (PG), Tween (T80) e o DMSO (DMSO) foram testados nas concentrações descritas para que deste modo se obtivesse a dosagem mínima tóxica. Os reagentes estavam de acordo com as especificações.

Observou-se que ao teste de imersão das fêmeas ingurgitadas, os grupos testados apresentaram mortalidade média relevante causada pelos solventes hidrofílicos. Neste teste *in vitro* por contato direto, as teleóginas demonstram frente ao solvente maior mortalidade quando comparadas ao grupo controle, pois os solventes permitem a entrada do produto pela cutícula do carrapato de uma forma mais eficiente. Analisou-se que ocorreu uma diferença notável ao comparar se os grupos testados com as soluções com o grupo controle provocando uma diferença estatística significativa com relação aos resultados obtidos na ausência dos solventes.

De maneira geral, as fêmeas se mostraram mais sensíveis aos solventes lipossolúveis, mesmo que tenham permanecido em contato por 5 minutos no teste de imersão. Segundo Odhiambo (1982), no início do processo de alimentação a espessura da cutícula aumenta, mas depois ela é esticada e se torna de espessura igual ou parecida à da larva. Durante a alimentação nos ixodídeos, a síntese cuticular aumenta bastante, mas quando a cutícula está esticada ao final deste processo, ela volta praticamente à sua espessura original (GEROLT, 1970). As informações encontradas acerca desse processo e especificamente em *B. microplus* foram insuficientes, mas tudo indica que a espessura da cutícula justificaria a maior sensibilidade das fêmeas aos solventes.

No teste de imersão de fêmeas ingurgitadas, o álcool metílico e o álcool etílico (Graficos 2 e 4) demonstraram pouca toxicidade, não sendo estatisticamente significante. Já os solventes T80, DMSO, PG (Gráficos 1, 3 e 5) apresentaram aumento significativamente relevante frente à mortalidade média causada pelos solventes, pois os valores encontrados são estatisticamente diferentes ($p<0,05$) visto que estes valores diferiram quando comparados com o grupo controle o qual apresentou maior ovipostura e mortalidade zero. O decrescimento das concentrações testadas apresentou maior oviposição e menor mortalidade, ou seja, ocorreu decréscimo linear da mortalidade média (Gráficos 1, 3 e 5). A imersão de fêmeas causou mortalidade média geral de 55,1%, a imersão das larvas não pode ser realizada, pois todas as larvas exceto o controle morram durante o período que é recomendado para o desenvolvimento das mesmas, que é de 14-21 dias.

Os dados com tratamento estatístico ANOVA indicaram que os solventes tiveram um padrão de penetração semelhante, pois o T80, o DMSO e o PG, causaram maior mortalidade de acordo com a concentração testada, possivelmente pela diferença de composição da cutícula entre as fêmeas ingurgitadas é que possa justificar os resultados obtidos. Segundo Balashov (1972), a cutícula dos carrapatos é formada pela camada externa, epicutícula (composta externamente por ceras e internamente por proteínas) e também pela camada interna, procutícula (quitina e proteína). Portanto, nas fêmeas ingurgitadas, os solventes precisam dissolver primeiro a camada de ceras da epicutícula, para só então passar para as camadas mais polares da cutícula, constituídas de proteínas hidrossolúveis. Logo, quanto mais um produto químico for lipossolúvel, maior será a facilidade inicial que encontrará para penetrar a cutícula (ODHIAMBO, 1982).

A maior toxicidade revelada pelo DMSO, T80 e PG, nos testes realizados, indica a importância destes agentes lipossolúveis como carreadores de solventes para as fêmeas ingurgitadas. Quando a camada de ceras é destruída nas fêmeas ingurgitadas, a grande perda de água para o meio é inevitável o que pode ser observado com os solventes DMSO, PG e T80 que

por serem mais viscosos promovem uma desidratação natural da cutícula do artrópode. Hadaway e Barlow (1958) afirmam que o aumento da ação do solvente sobre a cutícula do inseto, está relacionado ao aumento do peso molecular e viscosidade do mesmo. No presente trabalho os solventes mais viscosos nos testes de imersão foram PG, T80 e DMSO. Entretanto, afirmam que o aumento da viscosidade pode não estar relacionado com o aumento linear da concentração letal, o que justifica a baixa letalidade que foi observada no AE e no AM (Gráfico 2 e 4) que apresentaram mortalidade media inferior a 15% ± 2.

Notou-se que a eficácia do produto (EP) das soluções em 100% foram semelhantes a Chagas *et al.*, (2003), porém diferiram-se nas concentrações de 75%, 50% para o AE e o DMSO. No presente trabalho observou-se que o DMSO em diferentes concentrações apresentou mortalidade media de 50% ± 2. Sendo que este solvente é considerado um excelente permeabilizador de membranas, permitindo a penetração do produto a ser testado de maneira rápida na cutícula de *B. microplus*. Os testes com AE nas demais concentrações demonstraram que este exerceu ação pouco relevante sobre as fêmeas ingurgitadas, bem como sobre a taxa de oviposição. Estudos têm utilizado o AE especificamente com *B. microplus*, como Chungsamarnyart e Jansawan (1996), que utilizaram este solvente a 95% na diluição de óleos extraídos de plantas, e obtiveram a detecção de sua ação acaricida e também utilizou para testes de aplicação tópica de extratos vegetais sobre fêmeas de *B. microplus.*

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados encontrados permitem concluir que os mecanismos de resistência do *R. microplus*, a cada classe de acaricida ainda não foram completamente elucidados.

As fêmeas ingurgitadas foram sensíveis nos testes de imersão em solventes de alta viscosidade, pois os solventes de baixo peso molecular e pouca viscosidade não interferiram na mortalidade média em testes biológicos.

Provavelmente o grande número de fêmeas que morrem se deve, provavelmente, a diferença de cutícula entre as fêmeas. Por isso é evidente a necessidade de se estudar novos métodos de tratamento com biocarrapaticidas, bem como maior atenção no preparo deste para que sejam mais eficazes e eficientes como os experimentos realizados *in vitro*.

Sugere-se observação no preparo e concentração de medicamentos em T80, DMSO e PG para o controle do carrapato *Rhipicephalus B. microplus.*

6. REFERÊNCIAS

AMORIM, T.C; LOURENCINI, M.P; NUNES, E.T. Métodos Alternativos para o controle de carrapatos *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*: Uma Revisão. Anais… SECOMV, 2012. Disponível em: http://www.secomv.com.br/trabalhos/2012/trabalhos-para-anais/04.pdf, 2012.

BALASHOV, Y.S. A translation of bloodsucking ticks (Ixodoidea) – Vectors of diseases of man and animals. Miscellaneous Publication Entomology, v.8, n.5, p.159-376, 1972.

CAMPOS JÚNIOR.; OLIVEIRA, P.R. Avaliação in vitro da eficácia de acaricidas sobre *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) de bovinos no município de Ilhéus, Bahia, Brasil Ciência Rural, Santa Maria, v.35, n.6, p.1386-1392, nov-dez, 2005.

CHAGAS, A.C.S, LEITE, R.C.; FURLONG, J.; PRATES, H.T.; PASSO, W.M. Sensibilidade do carrapato *Boophilus microplus* a solventes. Ciência Rural, Santa Maria, v.33, n.1, jan-fev, p.109-114, 2003.

CHAGAS, A.C.S; RABELO, M. D. Método para detecção de substâncias com atividade repelente sobre larvas do carrapato *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*: revisão e recomendações. Embrapa Pecuária Sudeste São Carlos, SP, 2012.

MELO, D.; MONTEIRO, C.M.O.; ZERINGOTA, V.; SENRA, T.O.S.; MATOS, R.S.; CALMON, F.; LIMA, L.; NOVATO, T.P.L.; DAEMON, E. Ação de Solventes Sobre Ninfas Não Ingurgitadas de *Amblyomma cajennense* e *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). Anais... XXXVI Semana de Biologia e XIX Mostra de Produção Científica, 2012.

DRUMMOND, R. O. et al. *Boophilus annulatus* and *B. microplus*: laboratory tests of insecticides. *Journal of Economic Entomology*, v.66, n.1, p.130-133, 1973.

FURLONG, J; PRATA, M. Resistência dos carrapatos aos carrapaticidas. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2 p. (Circular Técnica, 34), 2006.

FAO PLANT PROTECTION BULLETIN. Recommended methods for the detection and measurement of resistance of agricultural pests to pesticides. Tentative methods for larvae of cattle tick *Boophilus* spp. FAO methodology, n. 7, v.19, p.15-18, 1971.

GEROLT, P. The mode of entry of contact insecticides. Pesticide Science, v.1, p.209-212, 1970.

HADAWAY, A.B.; BARLOW, F. Some aspects of the effect of the solvent on the toxicity of solutions of insecticide. Annais... Applied Biology, v.46, n.2, p.133-148, 1958.

HERNÁNDEZ, L.E; PARRA, D.G.; MARIN, A.C. Accion repelente y acaricida del Melinis minutiflora sobre el *Boophilus microplus*. Revista Colombiana de Ciências Químicas Farmacêuticas, v.16, p.17-21, 1987.

LEAL, A.T; FREITAS, D.R.J.; VAZ JÚNIOR, I.S. Perspectivas para o controle do carrapato bovino. Acta Scientiae Veterinariae, Porto Alegre, v. 31, n. 1, p. 1-11, 2003.

LEITE, R. C. *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887): susceptibilidade, uso atual e retrospectivo de carrapaticidas em propriedades das regiões fisiogeográficas da baixada do Grande-Rio e Rio de Janeiro. Uma abordagem epidemiológica. 151f. (Doutorado) Medicina Veterinária Preventiva. Universidade Federal de Minas Gerais, 1988.

ODHIAMBO, T.R. Current themes in tropical science: physiology of ticks. Oxford: Pergamon, 1982. V.1, 508p.

OLIVO, C.J; CARVALHO, N.M; SILVA, J.H.S; VOGEL, F.F; MASSARIOL, P; MEINERZ, G; VAGNOLIN, C; MOREL, A.F; VIAU, L.V. Óleo de citronela no controle do carrapato de bovinos. Ciência Rural, v.38, n.2,p. 406 mar - abr, 2008.

SHAW, R.D. Culture of an organophosphorus-resistant strain of Boophilus microplus (Can.) and an assessment of its resistance spectrum. Bulletin of Entomological Research, v.56, p.389-405, 1966.

THULLNER, F. Impacto of pesticide resistance and network for global pesticide resditance management based on a regional structure. World Animal Review, R. M. Z, v 89, p, 41-47, 1997.

Capítulo 18- Leptospirose humana e canina — uma estreita relação

Figueiredo, D.L.[1]; Santiliano, F.C.[2]; David, J.A.O.[3]

INTRODUÇÃO

A Leptospirose é uma zoonose de abrangência mundial, que tem se tornado um grave problema de saúde pública, apresentando-se como uma doença infecciosa febril de início rápido com prognóstico que pode variar de um processo inaparente até formas graves com alta letalidade (BRASIL, 2009b). Apresenta como agente etiológico as bactérias do gênero *Leptospira*, bacilos móveis e aeróbicos de formato helicoidal, do tipo espiroqueta, de tamanho pequeno. Comportam-se como Gram-negativos (KONEMAN et al, 2001) e sua visualização é melhor em microscopia de fluorescência ou de campo escuro (BRASIL, 1999).

Até 1989 o gênero *Leptospira* era dividido em duas espécies: *Leptospira interrogans*, onde residiam todas as estirpes patogênicas, e a *Lepstospira biflexa*, que eram as estirpes saprófitas do meio ambiente (MORIKAWA, 2009). A partir de 1992, uma reclassificação na taxonomia subdividiu *L. interrogans* em 6 espécies, baseados em critérios moleculares. Atualmente, as espécies de *Leptospira* são classificadas pela homologia de DNA, sendo conhecidas 14 espécies patógenas (BRASIL, 2009b), e cada espécie pode abrigar várias cepas que são chamadas de sorovar (sorotipo). Os sorovares que apresentam antígenos em comum são agrupados em um mesmo sorogrupo.

A espécie de maior virulência é a *Leptospira interrogans* (BRASIL, 2009b), que por sua vez possui múltiplos sorovares importantes – dentre eles destacam-se os sorovares *icterohaemorrhagiae* e *copenhageni* associados a casos mais graves (BRASIL, 2009a). Ao todo, mais de 200 sorovares são conhecidos, e de forma geral, cada sorovar tem associação a alguma espécie animal, como é o caso de *icterohaemorrhagiae* relacionada aos ratos e *canicola* associada ao cão. Porém, é importante ressaltar que diversos sorovares podem ser transportados por um único animal, assim como um mesmo sorovar pode se associar a vários hospedeiros (KONEMAN et al, 2001), e ainda que cada animal pode abrigar diferentes sorovares (MAJOR et al, 2014).

Na Leptospirose o principal reservatório e vetor da doença é o rato, embora outros animais domésticos (como caninos, bovinos) e selvagens (como raposas, gambás) possuam a disponibilidade para a infecção e transmissão da doença, e, neste ponto, são essenciais como reservatórios para que haja a persistência da propagação dos focos de infecção (BRASIL, 2009b). No vetor principal a *Leptospira* não causa infecção, isso se deve à relação eficiente entre a bactéria e o hospedeiro, não deixando evidências clínicas de sua presença. Assim, o rato por não desenvolver a doença, torna-se portador da bactéria que se instala nos túbulos renais, sendo eliminada na urina por toda a vida do animal (BRASIL, 2009b).

Apesar dos ratos abrigarem normalmente os sorovares mais virulentos, como *icterohaemorrhagiae* e *copenhageni*, é importante salientar que a especificidade do hospedeiro não é exclusiva para aquele sorovar. Da mesma forma subclínica os cães estão associados como

[1]Damielle Leite Figueiredo- Farmacêutica bioquímica da Vigilância Epidemiológica do município de Jerônimo Monteiro, ES – Técnica de laboratório do Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo. email: xaxajm@gmail.com
[2]Prof. Msc. Fabiano Costa Santiliano- Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo, Campus Venda Nova do Imigrante.
[3]Prof. Dr. José Augusto de Oliveira David- Departamento de Biologia- Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo

hospedeiros tradicionais da *L. interrogans sv. canicola*, podendo albergar a bactéria, e por estarem estreitamente ligados ao convívio com o ser humano e também com o ambiente externo das residências tem sido considerados vetores secundários da leptospirose (BROD et al, 2005), sendo relatados em todo o mundo a transmissão do cão para o homem (MAJOR et al, 2014; CASTRO et al, 2011). Admitindo-se essa questão da não exclusividade, mas da tradicionalidade do sorovar pela espécie, pode-se entender o cão como um medidor do ambiente em que é exposto (MASCOLLI et al, 2002; HAGIWARA, 2003; MAJOR et al, 2014; RAGHAVAN et al, 2011).

O homem, na cadeia de transmissão da leptospirose, é considerado hospedeiro acidental e "sem saída", visto que o contágio entre seres humanos é muito raro e sem significado epidemiológico (KONEMAN et al, 2001). A infecção humana é resultado da exposição direta ou indireta à urina dos animais infectados, sendo que a penetração da espiroqueta ocorre através da pele com algum tipo de lesão, ou mesmo da pele íntegra quando exposta por longo tempo em água contaminada e através de mucosas (BRASIL, 2009b).

2- Doença clínica

Quando ocorre a transmissão da infecção pela *Leptospira* o período de incubação pode variar de 1 a 30 dias, com média entre 5 e 14 dias. O período de transmissibilidade, fase em que ocorre a liberação da bactéria através da urina (leptospirúria), ocorre nos animais contaminados por anos, ou mesmo por toda a vida, na dependência do sorovar envolvido (BRASIL, 2009a).

A leptospirose clássica consiste em duas fases, uma inicial (ou precoce) septicêmica e em outra secundária (ou tardia) imunológica. A gravidade da doença pode variar de subclínica à doença letal, chamada também de icterícia infecciosa ou síndrome de Weil, em lembrança ao homem que descreveu 1886, pela primeira vez, a febre íctero-hemorrágica produzida pela leptospira; nos casos mais graves, as duas fases podem se fundir sem que haja intervalo assintomático detectável entre elas (KONEMAN et al, 2001). Também pode ser chamada de febre dos pântanos, febre dos arrozais, febre outonal, doença dos porqueiros, tifo canino, dentre outros nomes, que na atualidade tem-se evitado utilizar devido à confusão gerada por tantas sinonímias (BRASIL, 2009a).

Tanto em humanos quanto em cães, os sinais e sintomas da leptospirose podem ser muito variáveis na dependência dos sorovares infectantes, passando desde sinais inaparentes com ausência de icterícia inclusive, que é o que ocorre na maioria dos casos, até hemorragias severas e icterícias de grau elevado (LANGONI et al, 2013).

Normalmente, o ser humano apresenta febre abrupta, mal estar, dores musculares, cefaleia, náuseas e/ou vômitos, enterite, e quando ocorrem complicações há envolvimento hepático, renal e vascular (MORIKAWA, 2009). Na fase precoce, que ocorre na maioria dos casos e com menor incidência de notificação devido à inespecificidade dos sintomas (BRASIL, 2009b), aparece febre repentina, acompanhada de diarreia, dor de cabeça e nas articulações, sendo facilmente confundida com outras doenças febris agudas, ocorrendo em 85 a 90% dos pacientes. Sintomas menos comuns incluem tosse seca, fotofobia com dor ocular e hemorragia na conjuntiva, ainda pode ocorrer exantema, eritema macular e papular. A fase precoce geralmente dura de 3 a 7 dias e muitas vezes confundida com síndrome gripal, viroses, dengue ou influenza (BRASIL, 2009a).

A fase imunológica ou tardia desenvolve-se após um período assintomático, com um intervalo médio de 1 a 3 dias, em que as bactérias são rapidamente liberadas do sangue e do líquido cefalorraquidiano (LCR), com início de processo inflamatório. Pode haver sintomas de meningite asséptica em 50% dos pacientes (KONEMAN et al, 2001). Cerca de 15% dos pacientes evoluem para esta forma clínica mais grave, conhecida como síndrome de Weil, que é

uma evolução ictérica grave e é definida pela tríade característica de sinais: icterícia rubínica, em que se adquire uma tonalidade alaranjada (sinal mais proeminente), insuficiência renal aguda (IRA) e hemorragias, principalmente pulmonares (BRASIL, 2010). Destacam-se também as mialgias, principalmente nas panturrilhas (BRASIL, 1999). As fases precoce e tardia podem se fundir através de formas fulminantes e o paciente vir a óbito antes que reações sorológicas se tornem positivas para a confirmação de casos. A icterícia é sempre um mau prognóstico no caso da leptospirose, em que a letalidade de forma geral é de 10% no Brasil e quando evolui para a fase tardia com comprometimento e hemorragia pulmonar a letalidade salta para mais de 50% (BRASIL, 2009a).

A síndrome da hemorragia pulmonar, também característica da fase tardia, envolve tosse seca, dispneia, expectoração com presença de sangue e por vezes dor torácica com cianose, podendo ocorrer síndrome da angústia respiratória aguda (SARA), com evolução para óbito. Outra importante complicação na leptospirose presente na tríade é a insuficiência renal aguda, que pode acometer de 16 a 40% dos pacientes, com característica incomum por não ser oligúrica e hipocalêmica. Nesta fase o débito urinário é normal ou mesmo elevado, apresentando altas taxas sanguíneas de creatinina e uréia e, a partir de então, podendo o paciente desenvolver diminuição de potássio. Além disso, podem ocorrer outras manifestações importantes como miocardite, arritmias, pancreatites, anemias, distúrbios neurológicos e meningite asséptica, além de diversas outras manifestações (BRASIL, 2009a).

Segundo Corrêa e Corrêa (1992) nos cães o percentual de letalidade entre acometidos pela doença pode ser superior a 75% e vários fatores podem ser determinantes de virulência, como os sinais clínicos que podem variar de acordo com a idade do animal, seu estado imune, fatores ambientais e principalmente do sorovar envolvido (GALVÃO, 2009).

A doença nos cães pode se apresentar de três formas: aguda, subaguda ou crônica. Na primeira forma podem ocorrer distúrbios vasculares, com possível quadro de coagulação intravascular disseminada (CID), levando ao consumo inicial intenso de plaquetas derivando um quadro seguinte de hemorragias, sendo que a leptospira no ambiente vascular pode resultar em choque hipovolêmico e óbito. Geralmente esse quadro mais grave é provocado pelo sorovar *icterohaemorrhageae* que pode evoluir para óbito do animal em 48h (CORRÊA; CORRÊA, 1992). Ocorre também acometimento renal e hepático, notando-se hepatomegalia, com coloração amarelo acastanhado e pontos de necrose, com presença de icterícia nos casos mais graves. A infecção aguda provocada pelo sorovar *canicola* é denominada Moléstia de Stuttgard, por ter sido descrita primeiramente naquele local (HAGIWARA, 2003), há comprometimento prioritariamente renal de nível avançado com presença de necrose focal nos túbulos, sem haver sinais de comprometimento hepático e devido a isso, não é observada icterícia, além de outros sinais clínicos (MORIKAWA, 2009).

Na forma subaguda podem ocorrer náuseas, vômitos, anorexia, poliúria e mialgia; com o avanço da doença e a diminuição da função renal o animal tende a desenvolver oligúria ou mesmo anúria (se houver acometimento renal), com alguns cães podendo desenvolver icterícia (ETTINGER; FELDMAN, 2004). Também pode haver febre, depressão, alterações clínicas compatíveis com distúrbios hemorrágicos, sempre clinicamente dependente dos sorovares infectantes (NELSON; COUTO, 2010).

Os cães que sobrevivem à infecção aguda ou subaguda tendem a desenvolver a doença crônica, que é associada a sinais vagos de pirexia (RAMSEY, TENNANT, 2010), nefrite intersticial crônica ou hepatite crônica ativa (NELSON; COUTO, 2010).

Como em humanos, a maioria das infecções por leptospirose é subclínica e pode ocorrer de forma assintomática, porém, nos cães, o grande diferencial na infecção assintomática ou crônica é que ele passa a se comportar como um portador, podendo liberar a bactéria para o ambiente através da urina por meses, anos ou mesmo por toda a vida, de acordo com o sorovar envolvido (BRASIL, 2009a).

As duas formas clínicas da leptospirose conhecidas no cão há mais de um século são:

- Leptospirose causada pelo sorovar *icterohaemorrhageae*: é a mais grave, de evolução mais rápida. Acomete principalmente cães mais jovens e o comprometimento hepático e renal é grave, com possível evolução para óbito em poucos dias. O sintoma mais notável é a icterícia pronunciada, além da febre, prostração, rigidez, mialgia, inicialmente poliúria, seguida de oligúria podendo evoluir para anúria, dependendo do nível de comprometimento renal. Apesar deste sorovar ser o mais representativo de doença, outros sorovares do mesmo sorogrupo, como *copenhageni* e *pyrogenes*, também causam evolução similar tanto em cães quanto em humanos, com grande risco de letalidade (HAGIWARA, 2003; GREENE et al, 2006).

- Leptospirose causada pelo sorovar *canicola*: denominada também de Moléstia de Stuttgard, tem evolução mais lenta e não há icterícia, pois o acometimento é renal e o cão pode apresentar sinais respectivos com insuficiência renal: perda de peso, desidratação, poliúria, vômitos, diarreia, necrose de língua e ulcerações na mucosa oral nos casos de pior prognóstico; com o tempo as leptospiras alcançam o interstício renal, se alojando nos túbulos contorcidos renais por período indeterminado, sendo liberadas para o meio ambiente e o cão pode vir a ter falência renal meses ou anos mais tarde (GREENE et al, 2006).

3- Achados laboratoriais

Os exames de triagem inespecíficos que podem dar subsídios para suspeição de leptospirose tanto em seres humanos como em cães incluem:

- Hematológicos: hemograma apresentando leucocitose e neutrofilia com desvio para a esquerda, além de plaquetopenia e velocidade de hemossedimentação (VHS) aumentado.

- Exames Bioquímicos: elevação de bilirrubinas (principalmente a direta), elevação de fosfatase alcalina, potássio sérico normal ou abaixo do normal, ureia e creatinina aumentadas, TGO e TGP podem estar elevados na dependência do nível de lesão hepática.

- Tempo de atividade protrombínica (TAP) aumentado e gasometria arterial mostrando acidose metabólica e hipoxemia.

- Urinálise apresentando hematúria, proteinúria e leucocitúria.

Com relação aos exames específicos para detecção da *Leptospira*, estes se baseiam em dois pilares: na detecção de anticorpos séricos e na avaliação da presença do microrganismo em amostras de urina, sangue e líquor (VAN DE MAELE et al, 2008).

O teste de aglutinação microscópica (MAT) figura como o método de diagnóstico definitivo, sendo que os antígenos utilizados devem incluir os sorovares ocorrentes naquela determinada região. Não permite diferenciar entre os estágios de infecção se atual, recente ou passada. Apresenta alta especificidade, no entanto, alguns pacientes podem apresentar anticorpos reagentes a diferentes sorovares, causando um tipo de reação cruzada muito comum, especialmente na fase inicial da infecção (WHO, 2003). Na fase crônica muitos animais podem apresentar sorologia negativa devido à baixa nos níveis de anticorpos que é comum nesta fase. Após a infecção as bactérias localizam-se nos rins de forma que os animais podem eliminá-las de forma ativa e intermitente através da urina (LEVETT, 2001).

O exame direto é realizado por meio de microscopia de campo escuro utilizando amostras de urina ou soro. Como necessita de certa quantidade de bactérias para permitir a detecção, e devido à semelhança destas com algumas variedades de bactérias, o mesmo não é recomendado como método isolado (GREENE et al, 2006). A técnica de cultura do sangue não é muito recomendada na rotina diagnóstica pelo fato de ser cara, complicada, despender tempo e aparato técnico e ter baixa sensibilidade (AHMAD et al, 2005).

Com o advento das metodologias moleculares com fins de diagnóstico, a técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR), passou a ser utilizada na detecção da leptospirose

apresentando maior sensibilidade para o diagnóstico precoce e crônico quando comparado ao MAT. Uma limitação da técnica é a capacidade de não identificar os diferentes sorovares infectantes (LEVETT, 2001; AHMAD et al, 2005). No entanto, outras técnicas moleculares vêm sendo descritas com o intuito de realizar esta identificação (MAJED et al, 2005; SALAUM et al, 2006).

4- A leptospirose no Brasil e no Espírito Santo

Na saúde pública, observa-se a leptospirose como uma doença negligenciada e de forte impacto populacional, econômico e social, visto o alto custo de tratamento dos seres humanos com este agravo, além da alta letalidade. Relativo à saúde animal, as consequências de teor econômico são significativas se forem avaliados acometimento de bovinos, suínos, caprinos, enfim, animais com valor comercial (BRASIL, 1999).

O cão tem papel importante na transmissão da doença ao homem, por manter a leptospira por longo período nos rins, podendo eliminá-la na urina sem apresentar sinais clínicos ou após obter melhora clínica. Esse fato se torna mais agravante devido aos hábitos domésticos desses animais e sua estreita relação com os humanos (BROWN; PRESCOTT, 2008; BATISTA et al, 2005). Consistem em boas sentinelas para a detecção de leptospirose no ambiente (GHNEIM et al, 2007) e são considerados peças fundamentais para o entendimento das questões epidemiológicas relacionadas à doença, sendo importante o diagnóstico e tratamento dos animais doentes a fim de que se quebre a cadeia de infecção humana (OLIVEIRA, 2010).

São considerados como fatores de risco à leptospirose a habitação em áreas periurbanas (WARD et al, 2004), a presença de roedores no domicílio, o hábito de deixar os animais soltos, o consumo de carne crua (MEEYAM et al, 2006) e o contato de cães com áreas alagadiças (JOUGLARD; BROD, 2000). Querino et al (2003) mostraram que os animais que tinham contato com áreas alagadas apresentaram um risco 2,86 vezes maior de se infectarem do que os procedentes de locais não alagadiços, o que pode ser explicado pela estreita associação da bactéria com fatores ambientais. A água é considerada o fator ambiental de extrema importância na manutenção deste microrganismo e, uma vez contaminada, constitui um elemento significativo na transmissão da leptospirose.

O contato entre humanos, cães, ratos e outros animais de produção facilita a transmissibilidade da leptospirose, e apesar da abrangência mundial e irrestrita a todas as pessoas, profissionais com maior risco de exposição são veterinários, auxiliares de pet shops, trabalhadores rurais, trabalhadores envolvidos com saneamento, esgoto e limpeza urbana.

No Brasil, a leptospirose está distribuída amplamente em todo o território, sendo considerada endêmica ao longo do ano e epidêmica em períodos chuvosos (SOUZA et al, 2011), chegando a ser notificados até 10.000 novos casos suspeitos anualmente nos períodos de altos índices pluviométricos, com taxa de mortalidade variando de 10 a 15% (MORIKAWA, 2009).

Segundo o Datasus (2014), base de dados sistema único de saúde do Brasil, em 2012 e 2013 foram confirmados, respectivamente, 3153 e 3818 casos de leptospirose em seres humanos, e até o início de setembro de 2014 o número de casos confirmados era igual a 3016. A distribuição de casos confirmados nos diferentes estados do país nos anos de 2012 e 2013 pode ser observada na Figura 1. Nela observa-se que em ambos os anos, com exceção do estado do Acre, a maioria dos casos confirmados está distribuída em estados do Sul e Sudeste.

Em ambientes urbanos acredita-se que os casos estão relacionados ao subgrupo *icterohaemorrhagiae*, reforçando a ideia de que o rato exerce forte influência, já que ele é o hospedeiro natural deste sorovar, e ainda de que o acesso a saneamento básico e grupos de baixa renda também estão mais expostos (MORIKAWA, 2009). Também o contato com chuvas

torrenciais tem sido relatado com frequência em associação a surtos epidêmicos, sendo considerado um facilitador de dispersão da leptospirose (PEREIRA, 2014).

Apesar desta possível relação com os grandes centros urbanos do país observada na Figura 1, deve-se levar em conta que ainda que a leptospirose seja uma doença de notificação compulsória desde 1993, com casos suspeitos notificados no SINAN (Sistema de Informação de Agravos de Notificação) a partir de 1997 (SOUZA et al, 2010), suspeita-se que há subnotificação, devido à sintomatologia inespecífica ou subclínica levando a diferentes diagnósticos diferenciais, dificuldade na confirmação de casos suspeitos, e da investigação falha das formas leves da doença, direcionando-se o diagnóstico para outros tipos de doenças febris (PEREIRA, 2014; SOUZA et al, 2010).

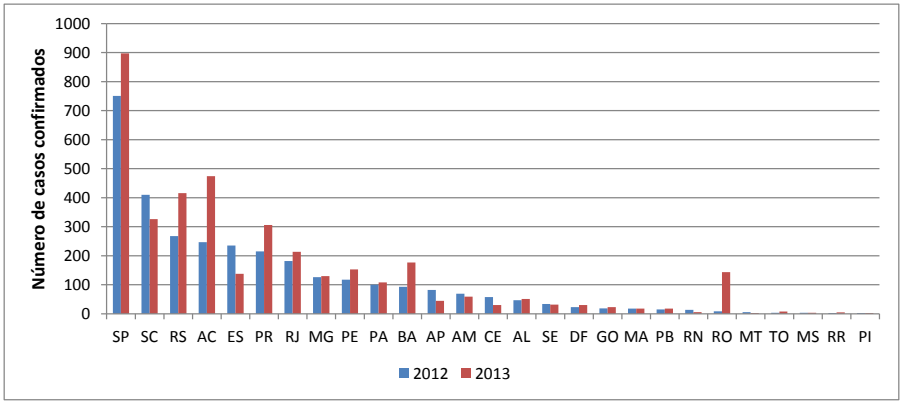

Figura 1. Gráfico com o número absoluto de casos de leptospirose confirmados nos anos de 2012 e 2013 nos diferentes estados brasileiros (dados obtidos no Datasus, 2014).

Outra análise que pode ser feita com os dados do Datasus (2014) é a relação do número de casos com o número de habitantes de cada unidade da federação (Figura 2). Quando estes dados são reunidos, pode-se observar que o estado com o maior número de casos confirmados por habitante é o Acre, com uma distribuição muito acima do normal para os outros estados do país, sendo seguido pelo Amapá e Rondônia, se levarmos em conta as confirmações de 2013. Nestas regiões, a incidência da doença pode estar relacionada aos altos índices pluviométricos e baixas condições de saneamento. Por outro lado, os estados do Sul e Sudeste, como o Espírito Santo, continuam figurando entre os casos com maior incidência de leptospirose.

No estado do Espírito Santo, nos anos de 2012 e 2013 foram confirmados em humanos 235 e 138 casos de leptospirose respectivamente, e em 2014, até o início de setembro, já foram confirmados 180 casos. Entre os estados da região Sudeste, quando observada a porcentagem de casos por habitante, o Espírito Santo apresenta historicamente a primeira posição em número de casos confirmados (Figura 3).

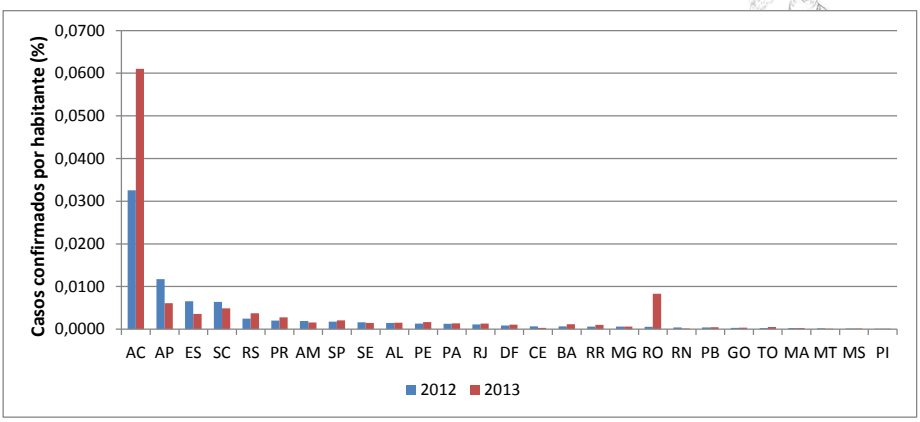

Figura 2. Gráfico com a porcentagem de casos de leptospirose confirmados nos anos de 2012 e 2013 por número de habitantes residentes nos diferentes estados brasileiros (dados obtidos no Datasus, 2014).

Apesar da diferença significativa de casos entre os estados da região, as condições climáticas e de saneamento entre eles não pode ser utilizada para explicar esta distribuição. A relação com grandes centros urbanos, também pode ser descartada, uma vez que a densidade demográfica do Espírito Santo não é maior do que a observada nos estados do Rio de Janeiro e São Paulo. Desta forma, volta-se a questionar casos de subnotificação e pode-se sugerir que os casos confirmados de leptospirose no Espírito Santo podem estar relacionados à grande quantidade de propriedades rurais e ao íntimo relacionamento dos seres humanos com animais de estimação e criação, apesar desta relação também ser observada em estados como Minas Gerais e estados da região Centro-Oeste e Nordeste do país.

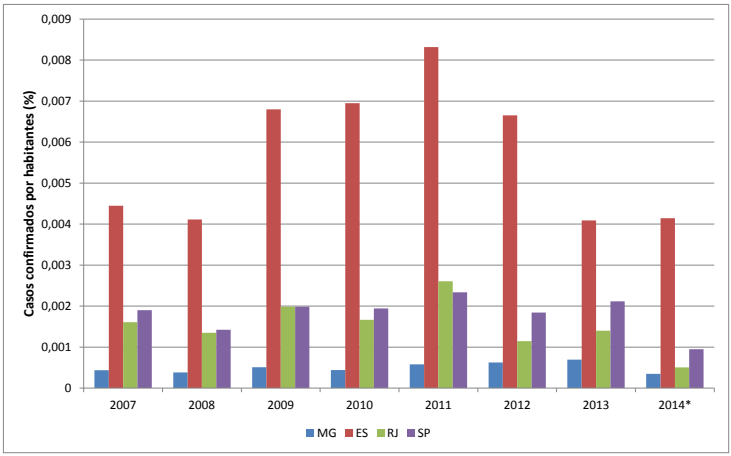

Figura 3. Gráfico com a porcentagem de casos de leptospirose confirmados entre 2007 e 2014 por número de habitantes residentes nos estados da região Sudeste do Brasil (dados obtidos no Datasus, 2014). * dados de 2014 referentes até o início do mês de setembro.

5- CONSIDERAÇÕES FINAIS

A leptospirose é uma doença infecto-contagiosa que acomete animais domésticos, silvestres e o homem, sendo por isso classificada como uma zoonose com importantes implicações na Saúde Pública.

As metodologias e critérios de diagnóstico ainda não são eficazes para a identificação precoce dos casos da doença, o que também é agravado pela semelhança em sua sintomatologia com as de outras doenças febris, o que impacta diretamente na subnotificação dos casos de leptospirose no Brasil.

As vacinas contra leptospirose para cães existentes atualmente são compostas de suspensão de leptospiras mortas de um ou mais sorovares prevalentes naquela determinada região, no entanto elas consistem numa forma de proteção incompleta, por não proteger contra os sorovares não presentes na formulação. Além disso, tem efeito de curta duração, necessitando de episódios frequentes de revacinação e apresentam diversos efeitos colaterais associados. Ainda não há no Brasil imunização para humanos, o que ainda torna pessoas e profissionais envolvidos diretamente com zonas e animais de risco altamente suscetíveis.

Na abordagem da doença devem-se considerar os aspectos clínicos, baseados em sinais e sintomas característicos, bem como fatores ambientais, sociais, políticos e econômicos que podem atuar de forma conjunta influenciando no estabelecimento do quadro infeccioso, episódios de recorrência e na distribuição do agravo pelas diversas áreas do país.

O reconhecimento da leptospirose como doença negligenciada poderia se tornar um avanço no que concerne ao acesso às políticas públicas e incentivo ao desenvolvimento de pesquisas e aprimoramento de medidas terapêuticas. Além disso, as pesquisas poderiam ser orientadas no tocante ao estabelecimento de medidas preventivas capazes de prevenir as infecções, reduzir os custos com tratamento, além de levarem a ações de gestão e vigilância pública.

6- REFERÊNCIAS

AHMAD, S. N.; SHAH, S.; AHMAD, F.M.H. Laboratory diagnosis of leptospirosis. Journal of Postgraduate Medicine, v. 51, n. 3, 195-200, 2005.

BATISTA, C. S. A; ALVES, C. J.; AZEVEDO, S. S.; VASCONCELLOS, A. S.; MORAIS, Z. M.; CLEMEMTINO, I. J.; ALVES, F. A. L.; LIMA, F. S.; ARAÚJO NETO, J. O. Soroprevalência e fatores de risco para a leptospirose em cães de Campina Grande, Paraíba. Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.57, p.179-185, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Coordenação de Controle de Zoonoses e Animais Peçonhentos. Manual de leptospirose. 4. ed. Brasília, DF, 1999. 98p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Guia de Vigilância Epidemiológica. 7. ed. Brasília, DF, p.492-510, 2009a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia Leptospirose: Diagnóstico e manejo clínico. Brasília, DF, 2009b. 34p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso. 8. ed. Brasília, DF, p.274-282, 2010.

BROD, C. S.; ALEIXO, J. A. G.; JOUGLARD, S. D. D.; FERNANDES, C. P. H.; TEIXEIRA, J. L. R.; DELLAGOSTIN, O. A. Evidência do cão como reservatório da leptospirose humana: isolamento de um sorovar, caracterização molecular e utilização em inquérito sorológico. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v.38, n.4, p.294-300, 2005.

BROWN, K.; PRESCOTT, J. Leptospirosis in the family dogs: a public health perspective. Canadian Medical Association Journal, v.178, p.399-401, 2008.

CASTRO, J. R.; SALABERRY, S. R. S.; SOUZA, M. A.; LIMA-RIBEIRO, A. M. Sorovares de *Leptospira spp.* predominantes em exames sorológicos de caninos e humanos no município de Uberlândia, Estado de Minas Gerais. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v.44, n.2, p.217-222, 2011.

CORRÊA, W. M.; CORRÊA, C. N. M. Enfermidades Infecciosas dos Mamíferos Domésticos. 2. ed. Rio de Janeiro: Medsi, 1992. 843p.

DATASUS. Base de dados do Sistema Único de Saúde do Brasil. Informações de Saúde (TABNET). Disponível em: <http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=02>. Acesso em: 08 set. 2014.

ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. Doenças Bacterianas In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. Tratado de medicina Interna Veterinária: Doenças do cão e do gato. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p.418-419.

GALVÃO, S. R. Aspectos Epidemiológicos da infecção por *Leptospira* spp em caninos urbanos em Araguaína, Tocantins, Brasil. 2009, 118f. Tese (Doutorado em Ciência Animal)– Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2009.

GHNEIM, G. S.; VIERS, J. H.; CHOMEL, B. B.; KASS, P. H.; DESCOLLONGES, D. A.; JOHNSON, M. L. Use of a case-control study and geographic information systems to determine environmental and demographic risk factors for canine leptospirosis. Veterinary Research, v.38, p.37-50, 2007.

GREENE, C. E.; MILLER, M. A.; BROWN, C. A. Leptospirosis. In: Greene, C. E. (Ed.). Infectious diseases of the dog and cat. 3. ed. Philadelphia: W.B. Saunders Co., 2006. p.402-415.

HAGIWARA, M. K. Leptospirose Canina. São Paulo: Pfizer Saúde Animal (Boletim Técnico). 2003. 6p.

JOUGLARD, S. D. D.; BROD, C. S. Leptospirose em cães: prevalência e fatores de risco no meio rural do município de Pelotas, RS. Arquivos do Instituto Biológico, v.67, p.181-185, 2000.

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WASHINGTON, C. W. J. Diagnóstico Microbiológico – Texto e atlas colorido. 5. ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2001. 1760p.

LANGONI , H.; SILVA, A. V., SEGISMUNDO, R.; LUCHEIS, S. B.; PAES, A. C. Variáveis epidemiológicas e alterações clínicas, hematológicas e urinárias em cães sororreagentes para *Leptospira spp*. Semina: Ciências Agrárias, v.34, n.2, p.765-776, 2013.

LEVETT, P. N. Leptospirosis. Clinical Microbiology Reviews, v.14, p.296-326, 2001.

MAJED, Z.; BELLENGER, E.; POSTIC, D.; POURCEL. C.; BARANTON, G.; PICARDEAU, M. Identification of variable-number tandem repeat loci in *Leptospira interrogans* sensu stricto. Journal of Clinical Microbiology, v. 43, n.2, p.539-545, 2005.

MAJOR, A.; SCHWEIGHAUSER, A.; FRANCEY, T. Increasing Incidence of Canine Leptospirosis in Switzerland. International Journal of Environmental Research of Public Health, v.11, p.7242-7260, 2014.

MASCOLLI, R.; PINHEIRO, S. R.; VASCONCELLOS, S. A.; FERREIRA, F.; MORAIS, Z. M.; PINTO, C. O.; SUCUPIRA, M. C. A.; DIAS, R. A.; MIRAGLIA, F.; CORTEZ, A.; SILVEIRA da COSTA, S.; TABATA, R.; MARCONDES, A. G. Inquérito sorológico para leptospirose em cães do Município de Santana de Parnaíba, São Paulo, utilizando a campanha de vacinação anti-rábica do ano de 1999. Arquivos do Instituto Biológico, v.69, p.25-32, 2002.

MEEYAM, T.; TABLERK, P.; PETCHANOK, B.; PICHPOL, D.; PADUNGTOD, P. Seroprevalence and risk factors associated with leptospirosis in dogs. The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health, v.37, p.148-153, 2006.

MORIKAWA, V.M. Leptospirose. In: NAPOLI, L.; SARTOR, D. R.; MARTINS, J. P. Manual de Zoonoses Região Sul. 1. ed. v. 1, 2009. p.91-99.

NELSON, R. W.; COUTO, C. G. Medicina Interna de Pequenos Animais. 4. ed., Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. p.1315-1317.

OLIVEIRA, S. T. Leptospirose canina: dados clínicos, laboratoriais e terapêuticos em cães naturalmente infectados. 2010. 89f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias)– Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

PEREIRA, C. A. R. Custo Social da Leptospirose no Brasil e o efeito de chuvas extremas em Nova Friburgo para o incremento de casos da doença. 2014, 109f. Dissertação (Mestrado em Ciências)– Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Fundação Osvaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2014.

QUERINO, A. M. V.; DELBEM, A. C. B.; OLIVEIRA, R. C.; SILVA, F. G.; MÜLLER, E. E.; FREIRE, R. L.; FREITAS, J. C. Fatores de risco associados à leptospirose em cães do município de Londrina-PR. Semina: Ciências Agrárias, v.24, n.1, p.27-34, 2003.

RAGHAVAN, R., BRENNER, K., HIGGINS, J., VAN DER MERWE, D., HARKIN, K. R. Evaluations of land cover risk factors for canine leptospirosis: 94 cases (2002-2009). Preventive Veterinary Medicine, v.101, p.241-249, 2011.

RAMSEY, I. K.; TENNANT, B. J. Manual de Doenças Infecciosas em Cães e Gatos. São Paulo: Roca, 2010. 320p.

SALAÜN, L.; MÉRIEN, F.; GURIANOVA, S.; BARANTON, G.; PICARDEAU, M. Application of multilocus variable-number tandem-repeat analysis for molecular typing of the agent of leptospirosis. Journal of Clinic Microbiology, v.44, n.1, p.3954-3962, 2006.

SOUZA, V. M. M.; BRANT, J. L.; ARSKY, M. L. S.; ARAÚJO, N. Avaliação do Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica da Leptospirose – BRASIL, 2009. Caderno de Saúde Coletiva, v.18, n.1, p.95-105, 2010.

VAN DE MAELE, I.; CLAUS, A.; HAESEBROUCK, F.; DAMINET, S. Leptospirosis in dogs: a review with emphasis on clinical aspects. The Veterinary Record, v.163, p.409-413, 2008.

WARD, M. P.; GUPTILL, L. F.; WU, C. C. Serovar-specific prevalence and risk factors for leptospirosis among dogs: 90 cases (1997–2002). Journal of the American Veterinary Medical Association, v.224, n.12, p.1958-1963, 2004.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). Human leptospirosis: guidance for diagnosis surveillance and control. 2003, 109p.

Capítulo 19- Princípios da nutrigenômica e seu emprego na nutrição animal do futuro

Bonaparte, T.B.[1]; Vargas Junior, J.G.[1]; Bizarria, D.G.[1]; Barata, A.L.[1]; Nascimento, H.S.[1]; Silva, B.M.F. [1]; Carvalho, R.B.[1]; Mesquita, C.B.[1]; Oliveira, L.R.S.[1;] Soares, R.T.R.N.[2]

INTRODUÇÃO

A Nutrigenômica é o estudo da relação entre os nutrientes e os genes, ou seja, como interações entre a dieta e a genética podem alterar o metabolismo ocasionando desequilíbrio até levar à saúde e doença. A herança genética pode interferir de formas diferentes no uso dos nutrientes em cada animal (Hannas, 2009).

A genômica é o estudo de estrutura genética ao nível molecular e sua relação com processos biológicos. A estrutura genética, o DNA, pode ser transcrita para RNA e esta traduzida em proteina no nível ribossômico. A regulação ou controle do fluxo desta via determina todos os processos biológicos e os traduz em índices zootécnicos e podem ser influenciadas por nutrição, doença, toxinas, etc (Rutz et al, 2009). Através da transcrição é feito o processo regulatório do fluxo de informações desde a base genética até a síntese proteica, defininindo os processos metabólicos e a estrutura celular.

Alterações nos níveis de RNAm, bem como de proteínas, incluindo transportadores, enzimas e receptores, sã,o essenciais na determinação do fluxo de nutrientes ou metabólitos pela via bioquímica (Rist et al., 2006). Nutrientes e compostos bioativos dos alimentos (CBAs), por exemplo, podem atuar em diferentes alvos moleculares (Moreno et al., 1995). Ong et al. (2006) modificando etapas da expressão gênica (Rist et al., 2006). Assim como as vitaminas A e D, e os ácidos graxos, que apresentam ações diretas ao ativarem receptores nucleares e induzirem a transcrição gênica (Kaput & Rodriguez, 2004).

Com o sequenciamento do genoma é possível elucidar as funções de todos os genes e suas interações com fatores ambientais (Lieble, 2002; Simpson, 2003) tornando a nutrigenômica área-chave para a nutrição nesta década (Fairweather- 2003) ao possibilitar a determinação do estado nutricional de um animal, considerando um determinado nutriente presente no organismo e sua ação sobre a funções biológicas consideradas fundamentais no metabolismo (Hannas, 2009).

Apesar dos grandes avanços proporcionados pela genética, sabe-se que a nutrição pode alterar o fenótipo ao regular a expressão gênica. Isto é extremamente significativo, uma vez que sugere uma função extra dos nutrientes. Harvenstein et al. (2003), ao avaliar a contribuição da genética e da nutrição, demonstraram que 80% do desempenho dos frangos atualmente se deve a genética, enquanto que a nutrição correta de leitões apresenta consequências adversas a médio e longo prazo no desempenho zootécnico.

Ao considerar que a nutrição influencia a síntese de muitos hormônios envolvido com o metabolismo e o desempenho, Dauncey et al. (2001) propuseram que a nutrição poderia influenciar a expressão genética através de ação hormonal sobre os seus receptores através de nutrientes específicos, o estado nutricional energético e alterações no consumo alimentar.

[1]Universidade Federal do Espírito Santo/CCAUFES
[2]Universidade Estadual do Norte Fluminense/UENF

A nutrição pode modificar a ação hormonal ao regular os receptores do hormônio, alterando a interação hormônio-receptor. O hormônio do crescimento e a insulina, ao interagir com o receptor molecular influenciam a atividade de vários genes que atuam sobre o metabolismo e desenvolvimento do animal (Dauncey et al., 2001).

A interação gene-nutriente pode ocorrer quando nutrientes e compostos bioativos dos alimentos (CBAs) influenciam o funcionamento do genoma, e, através das variações no genoma que influenciam a forma pela qual o indivíduo responde à dieta (Kapu & Rodriguez, 2004; Kussmann et al 2006) o que leva a necessidade de dietas personalizadas, com base no genótipo, para a promoção da saúde e a redução do risco de doenças (DeBusk et al., 2005; Zhang et al., 2008).

Componentes nutricionais como ácidos graxos influenciam o metabolismo lipídico no fígado e no estado imunológico (Roche et al., 2001). As vitaminas e minerais terão efeito direto na transcrição genética, influenciando o metabolismo e alterando, consequentemente, a saúde e o desempenho dos animais (Rutz et al., 2009).

Para maior entendimento de como a carência de um nutriente altera a expressão gênica é preciso unir o conhecimento fisiológico e bioquímico existentes e conhecimentos mais profundos da ação dos nutrientes a nível molecular. Através da homeostasia no nível celular, tecidual, e entre os órgãos com as interações dos nutrientes no nível do gene, é possível prevenir doenças redefinindo a saúde animal e a nutrição no futuro (Rutz et al., 2009).

Dentre as ferramentas de genômica funcional na área de nutrição destacam-se as que possibilitam a análise do transcritoma (transcritômica), proteoma (proteômica) e metaboloma (metabolômica). O transcritoma, o proteoma e o metaboloma sofrem alterações em função de diferentes fatores ambientais e alimentação (Rist et al., 2006).

1. Proteômica

Através da Proteômica é possível identificar e quantificar as proteínas, além de determinar sua localização, modificações, interações, atividades e funções no organismo (Fields, 2001). As Proteínas respondem diferentemente dependendo da localização celular, sofrem proteólise, se desestruturam e rearranjam de acordo com o ligante, como ácidos nucléicos, proteínas, lipídeos, e moléculas de baixo peso molecular (Gygi et al., 1999).

As proteínas podem estar envolvidas em diferentes processos e exercer diferentes funções (Fields, 2001). O proteoma apresenta maior complexidade comparado ao genoma e, de maneira geral, um genoma pode apresentar muitos proteomas (Fialho et al., 2008).

2. Metabolômica

Diante das alterações na expressão gênica pode-se apenas indicar possíveis alterações fisiológicas. Por isso, é importante entender as consequências metabólicas de alterações na síntese de RNAm e proteínas (Astle et al., 2007).

Na Metabolômica é realizada a análise qualitativa e quantitativa dos metabólitos do sistema biológico em momento específico (Astle et al., 2007; Trujillo et al., 2006). Os metabólitos incluem carboidratos, vitaminas, ácidos nucléicos, peptídeos, aminoácidos, ácidos orgânicos, vitaminas, minerais, polifenóis, alcalóides, bem como qualquer outra substância ingerida ou sintetizada pelas células ou organismo (Wishart, 2008).

O metaboloma pode variar em função de sua localização biológica, do tempo, atividade física, estresse, sexo, hormônios, alimentação e genótipo, o que pode levar à células e órgãos apresentarem metabolomas distintos (Rist et al., 2006).

3. Transcritômica

A transcritômica é uma ciência que permite avaliação inicial a respeito da expressão genética, através da elucidação de processos de regulação metabólica ou de resposta imunológica (Rutz et al., 2009). A tecnologia de DNA microarrays (microarranjos de DNA) é a principal ferramenta para análise transcritômica, que possibilita avaliar simultaneamente até 50 mil transcritos (Zhang et al., 2008).

As moléculas de DNA em fita simples se hibridizam com sequências complementares de DNA, o que possibilita o conhecimento das sequências de DNA permitindo a quantificação da abundância de transcritos específicos em determinada amostra biológica (Spieubauer & Stahl, 2005).

A técnica de microarranjo de DNA consiste na produção do microarranjo, na extração de RNA da amostra biológica, na hibridização dos ácidos nucléicos marcados com o microarranjo, na detecção do sinal e visualização dos dados e no processamento e análise dos dados obtidos (Pozhitkov et al., 2007).

O valor de RNAm do tecido ou células reflete diretamente o nível de regulação genética, permitindo a determinação do gene ativado ou desativado devido manipulação biológica ou durante o desenvolvimento dos tecidos. (Rutz et al., 2009).

Com o desenvolvimento da técnica de microarranjo, após o entendimento da sequência de nucleotídeos e avanços no projeto genoma, foi possível examinar especificamente a expressão genética em tecidos de suínos e de aves. Os microarranjos específicos (gen chip) podem ser usados para avaliar 23.256 transcrições correspondentes a 20.201 genes do genoma de suínos (Affymetrix Inc., Santa Clara, CA, USA). Arranjos menores e bem definidos são usados na regulação de resposta em tecido específico. (Rutz et al., 2009).

A capacidade de entender e relacionar as funções metabólicas básicas nos suínos e em outras espécies será maior através do desenvolvimento de microarranjos menores e mais definidos, para examinar a regulação de respostas especificas em tecidos (Rutz et al., 2009).

Vários estudos tem usado esta tecnologia do microarranjo para descrever processos metabólicos específicos como a diferenciação na transcrição genética do músculo esquelético em duas linhagens de suínos (Lin & Hsu, 2005), definição de genes envolvidos na susceptibilidade de suínos a infecções comuns (Moser et al., 2004) e determinação de efeitos de proteína da dieta sobre a expressão de proteína hepática (Junghans et al., 2004).

Apesar das vantagens e na exatidão dos dados pela técnica de microarranjos de DNA, existem ainda algumas desvantagens, uma delas se refere à quantidade significativa de tecido para o isolamento do RNAm. A necessidade de repetições para confiabilidade dos dados e o alto custo da técnica (Fialho et al., 2008).

4. Nutrigenômica aplicada à nutrição animal

Com o esclarecimento da interação entre genes e nutrição é possível utilizar uma das técnicas mais poderosas para manipular os sistemas de produção animal. A nutrigenômica fornece o entendimento de os nutrientes afetam todo desempenho e saúde por meio da alteração da expressão genética ou a manifestação fenotípica do indivíduo (Rutz et al., 2009).

O maior desempenho e melhoria na saúde dos animais são através do uso de estratégias nutricionais e de manejo para o controle de processos associados com a expressão genética. Como exemplo de estratégia nutricional está a prescrição de nutrientes, nos quais o animal é deficiente, para alertar possíveis enfermidades genéticas e para prevenir ou amenizar o aparecimento de alterações metabólicas relacionadas à doenças ou a idade, melhorando a saúde e a produtividade animal (Rutz et al., 2009).

As pesquisas com o uso da nutrição interferindo na expressão gênica ainda são escassos em suínos e aves, mas tornar-se-ão importantes à medida que houver maior entendimento entre a nutrição, a genética e o desempenho produtivo e reprodutivo dos animais (Rutz et al., 2009).

Pesquisas com diferentes fontes proteicas na alimentação relacionadas à expressão de genes estabeleceram uma relação entre nutrição e expressão genética no fígado (Junghans et al., 2004). Entretanto, estes estudos estão ainda confirmando conceitos básicos e não são completamente confiáveis para recomendações práticas para melhoria da dieta.

A interação entre nutrição e processos fisiológicos é complexa e será gradativamente vencida, na medida em que novas informações sobre sequencias genéticas possam ser obtidas a partir do genoma animal (Rutz et al., 2009).

O uso da transcriptômicas através dos microarranjos tem permitido desenvolver um entendimento básico de fertilidade em suínos. E, como foco do estudo está o entendimento de alterações fisiológicas em suínos selecionados para melhora do desempenho reprodutivo (Caetano et al., 2004, Gladney et al., 2004). Estes trabalhos revelaram novos potenciais para o conhecimento da fisiologia ovariana e controle genético da reprodução.

Para seleção de longo prazo de características como tamanho da leitegada, os genes podem estar envolvidos com a síntese de esteróides, modelação de tecidos e apoptose (Caetano et al., 2004).

Alguns alimentos poderão ser utilizados na dieta por possuírem componentes bioativos, que podem alterar a expressão gênica, para proteção do organismo contra enfermidades que possam acometer os rebanhos (Afman & Muller, 2006; Ferguson, 2006), sendo que alguns elementos como, selênio, vitamina E, ácido ascórbico e carotenos, já foram identificados como agentes protetores.

Os mananoligossacarídios são utilizados com propósito de melhorar a saúde animal, Iji et al. (2003) avaliaram a resposta da célula intestinal ao uso de mananoligossacarídio na dieta de aves a base de sorgo, que resultou em maior desenvolvimento da vilosidade do jejuno e maior conteúdo de RNA da mucosa ileal. Entretanto, isto não foi traduzido em crescimento da mucosa ou em diferenças na atividade enzimática da mucosa do íleo.

Uni e Smirov (2006) investigando a influência do mananoligossacarideos sobre a biossíntese de mucina e secreção no intestino delgado, observaram que os mananoligossacarideos apresentam efeito estimulador da mucina, propiciam aumento no desenvolvimento das células caliciformes, que produzem mucina, resultando em maior camada de muco, aumentou a expressão do mRNA do gene MUC 2. Os autores concluíram que os mananoligossacarídeos interagem com as lectinas presentes na membrana celular, o que regula o crescimento celular e a sobrevivência ao interagir com proteínas nucleares e do citoplasma, afetando o sistema de comunicação intracelular.

5. O projeto genoma de aves

No mapeamento genético das aves domésticas já foram descritas várias diferenças no pareamento de bases (2,8 milhões) entre linhagens (International Chicken Polymorphism Map Consortium, 2004), colocando em evidência a ampla diversidade genética de uma mesma espécie e de um mesmo gênero.

O melhoramento genético dos frangos de corte e de aves de postura avançou muito (Burt, 2002), entretanto, algumas características indesejáveis apareceram como “efeito colateral” devido ao selecionamento dos animais. Em frangos de corte há aumento na incidência de enfermidades metabólicas, tal como ascite, redução de fertilidade e redução da resistência a doenças infecciosas enquanto em poedeiras ocorre aumento na incidência de osteopenias associado a um aumento na produção de ovos (Rutz et al., 2009).

A prioridade na indústria avícola é a redução de custos e desenvolvimento de novos produtos, resultando em produtos de alta qualidade, e, isso requer maior uniformidade e estimativa na produção. A redução do uso de substâncias químicas e antibióticos e o aumento na resistência genética a patógenos são o caminho para a segurança alimentar e podem ser alcançados mais rapidamente e de forma menos onerosa através do desenvolvimento em genômica das aves (Rutz et al., 2009).

A primeira versão do genoma de aves foi publicada em 2004, proporcionando aos pesquisadores uma ferramenta a mais para desvendar razões ligadas a problemas de saúde e produção avícola (International Chicken Genome Sequancing Consortium, 2004; Wallis et al., 2004).

O mapa publicado pela International Chicken Polymorphism Map Consortium (2004) permite aos pesquisadores identificar os genes e as combinações nas variações dos genes, que produzem características desejáveis na população de aves (Rutz et al., 2009) e permitiram o desenvolvimento de microarranjos baseados no genoma completo de aves. O entendimento do grande volume de microarranjos relacionados ao desenvolvimento de modelos para reconstruir a rede complexa de genes funcionais e setores marca-passo é o grande desafio dos pesquisadores (Rutz et al., 2009).

6. Efeito do selênio na expressão genética

Estudos conduzidos por Rao et al. (2001) avaliando os efeitos do selênio da dieta sobre a expressão genética em camundongos, utilizaram um microarranjo de 12.000 genes e demonstraram que camundongos deficientes em selênio apresentam alteração no padrão de síntese proteica.

As alterações na expressão gênica em função da ausência de selênio na dieta ocorreram ao nível de transcrição genética. Os genes observados pelos autores que foram ativados por deficiência de selênio incluem aqueles associados com resposta a estresse e "turnover" ou renovação celular e crescimento. Os genes que foram desativados incluíram aqueles relacionados a mecanismos de desintoxicação, produção de selenoproteinas, proteção a estresse oxidativo e carreadores de lipídios (Rao et al., 2001).

Os camundongos submetidos ao estresse e deficientes em selênio apresentaram alterações ao nível de transcrição com aumento no estresse oxidativo e na lesão do DNA devido a redução na produção de selenoproteínas e na desintoxicação enzimática (Rao et al., 2001).

A pesquisa com camundongos demonstrou claramente como um único nutriente (selênio) ou uma classe inteira de nutrientes podem apresentar efeitos tão amplos na expressão genética. Através deste estudo informações sobre marcadores específicos ou metabolismos bioquímicos que podem ser usados para monitorar efeitos nutricionais nos componentes da dieta e relacionar com o papel de nutrientes na regulação da saúde animal e no seu desenvolvimento foram revelados (Rao et al., 2001).

Dawson (2006) indicou que o selênio orgânico pode influenciar aspectos metabólicos envolvidos com a fertilidade. É possível que alterações similares na expressão genética sejam observadas em suínos e aves e possam ser usadas para definir o efeito da nutrição sobre a fertilidade (Rutz et al., 2009).

O selênio está relacionado com o hormônio da tireoide, triiodotironina (T3) que apresenta muitas funções que podem estar relacionadas com o desempenho reprodutivo. Estimula a transcrição, fase importante no desenvolvimento embrionário, sendo essencial para a sobrevivência embrionária e para o crescimento de animais jovens (Edens & Gowdy, 2004).

A forma ativa deste hormônio ocorre pela ação da enzima deiodinase, dependente de selênio. O atraso na conversão do hormônio T4 para T3 por deficiência em selênio está associado com aumento da mortalidade embrionária de embriões de aves (Christensen, 1985).

A eficiência reprodutiva depende das proteínas associadas ao sistema antioxidante que são influenciadas pelo selênio. O estresse oxidativo sobre o tecido reprodutivo e durante o desenvolvimento embrionário é o principal determinante do sucesso na reprodução (Edens & Gowdy, 2004).

Com o uso de microarranjos em camundongos foi possível identificar que a atividade das glutationas peroxidase I e II foram estimuladas quando os camundongos receberam selênio orgânico ou inorgânico (Rao et al., 2001).

Power trabalhando com poedeiras alimentadas com diferentes níveis de selênio observou maior ativação dos genes que codificavam para componentes do sistema antioxidante e menor expressão no gene que codifica para lesão do DNA no oviduto de poedeiras que receberam selênio orgânico.

Ao et al., (2006) examinaram o efeito materno de aves ao suplementar selênio orgânico e inorgânico na dieta sobre a transferência de selênio aos pintos. Os dados evidenciaram que pintos oriundos de matrizes recebendo selênio orgânico apresentaram maior atividade de glutationa peroxidase no plasma, cérebro, fígado e coração ao nascimento e aos 14 dias de idade.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A nutrigenômica é uma nova ciência que explica como os nutrientes de uma dieta influenciam a expressão genética, elucidando a importância de determinados nutrientes na dieta e a partir daí, estabelecer estratégias nutricionais que venham a trazer significativa melhora na saúde e produtividade animal. Em um futuro próximo, serão acumulados dados suficientes e novas ferramentas serão necessárias para facilitar as análises das disciplinas ômicas e interpretar os resultados levando a novas descobertas e aplicabilidades na ciência da nutrição.

8. REFERÊNCIAS

AFMAN L & MULLER M. Nutrigenomics from molecular nutrition to prevention of disease. Journal of the American Diet Association, 106, 569-576. 2006.

AO, T., CANTOR, A.H., POWER, R.A., PIERCE, J.L., PESCATORE, A.J. AND FORD, M.J. Maternal dietary Sel-Plex® (Selenium Yeast) supplementation increases tissue and glutathione peroxidase activity of broiler chicks. Poultry Science Poscal (Supplement 1), 112, 2006.

ASTLE J, FERGUSON JT, GERMAN JB, HARRIGAN GG, KELLEHER NL, KODADEK T, et al. Characterization of proteomic and metabolomic responses to dietary factors and supplements. J Nutr. 137(12): 2787-93, 2007.

BURT, D.W. Applications of biotechnology in the poultry industry. Worlds Poultry Science Journal 58: 5-13.

CAETANO, A. R., JOHNSON, R. K., FORD, J. J. E POMP, D. (2004). Microarray profiling for differential gene expression in ovaries and ovarian follicles of pigs selected for increased ovulation rate. Genetics 168:1529-1537, 2002.

CHRISTENSEN, V. L. Supplemental thyroid hormones and hatchability of turkey eggs. Poultry Science 64: 2202-2210, 1985.

DAWSON, K.A. Nutrigenomics in pig and poultry production: Feeding the genes for fertility. In: Nutritional approaches to arresting the decline in fertility of pigs and poultry. 1 ed. J. A. Taylor-Pickard and L. Nollet. Wageningen Academic Publishers. Holanda. Pp 13-24, 2006.

DEBUSK RM, FOGARTY CP, ORDOVAS JM, KORNMAN KS. Nutritional genomics in practice: where do we begin? JADA. 105(4):589-98, 2005.

DUANCEY, M. J., WHITE, P., BURTON, K. A. E KATSUMATA, M. Nutrition-hormone receptor-gene interactions: implications for development and disease. Proceedings of the Nutrition Society, 60, 63-72, 2001.

EDENS, F. W., GOWDY, K. M. Selenium sources and selenoproteins in practical poultry production. In: Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries. Proceedings of Alltech´s Twentieth Annual Symposium (eds. T. P. Lyons e K. A. Jacques), Nottingham, UK. Pp 35-55, 2004.

FAIRWEATHER-TAIT SJ. Human nutrition and food research: opportunities and challenges in the post-genomic era. Phil Trans S Royal Lond B. 358(1438):1709-27, 2003.

FERGUSON LR. Nutrigenomics – Interating genomics approaches into nutrition research. Molecular Diagnosis Theraphy, 10, 101-108. 2006.

FIALHO, E., MORENO, F. S., ONG, T. P. Nutrição no pós-genoma: fundamentos e aplicações de ferramentas ômicas. Rev. Nutr., Campinas, 21(6):757-766, nov./dez., 2008.

FIELDS, S. Proteomics: proteomics in genomeland. Science. 2001; 291(5507):1221-4.

GLADNEY, C. D., BERTANY, G. R., JOHNSON, R. K., POMP, D. Evaluation of gene expression in pigs selected for enhanced reproduction using differential display PCR and human microarrays: I. Ovarian follicles. Journal of Animal Science. 82:17-31, 2004.

GYGI SP, ROCHON Y, FRANZA BR, AEBERSOLD R. Correlation between protein and mRNA abundance in yeast. Mol Cell Biol. 19(3): 1720-30, 1999.

HANNAS, M. Anais do 19º Congresso Brasileiro de Zootecnia, Disponível em: http://www.abz.org.br/files.php?file=documentos/Melissa___Alltech_677040820.pdf. Acessado em 15 de setembro de 2014.

HARVENSTEIN, G. B. Growth, livability and feed conversion of 1957 versus 2001 broilers when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. Poult. Sci. 82: 1500-1508, 2003.

IJI, P.A., KHUMALO, K., SLIPPERS, S., AND GOUS, R.M. Intestinal function and body growth of broiler chickens on diets based on maize dried at different temperatures and supplemented with a microbial enzyme. Reproduction Nutrition Development 43(1): p. 77-90, 2003.

INTERNATIONAL CHICKEN GENOME SEQUENCING CONSORTIUM. Sequence and comparative analysis of the chicken genome provide unique perspectives on vertebrate evolution. Nature 432, 695–716, 2004.

INTERNATIONAL CHICKEN POLYMORPHISM MAP CONSORTIUM. A genetic variation map for chicken with 2.8 million single-nucleotide polymorphisms Nature 432, 717–722, 2004.

JUNGHANS, P., KAEHNE, T., BEYER, M., METGES, C. C., SCHWERIN, M. Dietary protein-related changes in hepatic transcription correspond to modifications in hepatic protein expression in growing pigs. Journal of Nutrition 134:43-47, 2004.

KAPUT J, RODRIGUEZ RL. Nutritional genomics: the next frontier in the postgenomic era. Physiol Genomics. 16(2):166-77, 2004.

KUSSMANN M, RAYMOND F, AFFOLTER M. OMICS driven biomarker discovery in nutrition and health. J Biotechnol. 2006; 124(4):758-87.

LIEBLE DC. Introduction to proteomics. Tools for the new biology. Totowa: Humana Press; 2002.

LIN, C. S., HSU, C. W. Differentially transcribed genes in skeletal muscle of Duroc and Toyuan pigs. Journal of Animal Science 83: 2075-2086. Lipke, P.N. and Ovalle, R. (1998). Cell wall architecture in yeast: New structure and new challenges. Journal of Bacteriology 180(15): p. 3735-3740, 2005.

MORENO FS, ROSSIELLO MR, MANJESHWAR S, NATH R, RAO PM, RAJALAKSHMI S, et al. Effect of betacarotene on the expression of 3-hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase in rat liver. Cancer Lett.96(2):201-8, 1995.

MOSER, R. J., REVERTER, A., KERR, C. A., BETH, K. J., LEHNERT, S. A. A mixed-model approach for the analysis of cDNA microarray gene expression data from extreme-performing pigs after infection with Actinobacillus pleupneumoniae. Journal of animal Science 82: 1261-1271, 2004.

ONG TP, HEIDOR R, CONTI A, DAGLI ML, MORENO FS. Farnesol and geraniol chemopreventive activities during the initial phases of hepatocarcinogenesis involve similar actions on cell proliferation and DNA damage, but distinct actions on apoptosis, plasma cholesterol and HMGCoA reductase. Carcinogenesis.27(6):1194-203, 2006.

POZHITKOV AE, TAUTZ D, NOBLE PA. Oligonucleotide microarrays: widely applied-poorly understood. Brief Funct Genomic Proteomic. 6(2):141-8, 2007.

RAO, L., PUSCHNER, B., PROLLA, T. A. Gene expression profiling of low selenium status in the mouse intestine: Transcriptional activation genes linked to DNA damage, cell cycle control and oxidative stress. Journal of Nutrition 131:3175-3181, 2001.

RIST MJ, WENZEL U, DANIEL H. Nutrition and food science go genomic.Trends Biotechnol. 24(4):172-8, 2006.

ROCHE, H. M., NOONE, E., NUNGENT, A. E GIBNEY, M. J. Conjugated linoleic acid: a novel therapeutic nutrient? Nutrition Research Reviews, 14, 173-187, 2001.

RUTZ, F.; GONÇALVES, F. M.; ANCIUTI, M. A.; XAVIER, E. G.; GENTILINI, F. P.; ROLL, V. F. B. Nutrigenômica na produção de aves e suínos. I Congresso Internacional sobre Uso da Levedura na Alimentação Animal CBNA - Campinas, SP, Universidade Federal de Pelotas, 2009.

SIMPSON RJ. Proteins and proteomics. A laboratory manual. New York: Cold Spring Harbor Laboratories Press; 2003.

SPIELBAUER B, STAHL F. Impact of microarray technology in nutrition and food research. Mol Nutr Food Res. 49(10):908-17, 2005.

TRUJILLO E, DAVIS C, MILNER J. Nutrigenomics, proteomics, metabolomics, and the practice of dietetics. JADA. 106(3):403-13, 2006.

UNI, Z. AND SMIRNOV, A. Modulating mucin dynamics using functional carbohydrates. Gut microbiology: research to improve health, immune response and nutrition. Fifth RRI-INRA Joint Symposium 21-23 June, Aberdeen, UK. I Congresso Internacional sobre Uso da Levedura na Alimentação Animal CBNA - 17 e 18 de setembro de 2009 – Campinas, SP, 2006.

WALLIS, J.W., AERTS, J., GROENEN, M.A., CROOIJMANS, R.P., LAYMAN, D., GRAVES, T.A., SCHEER, D.E., KREMITZKI, C., FEDELE, M.J., MUDD, N.K., et al. A physical map of the chicken genome Nature 432, 761–764, 2004.

WISHART DS. Metabolomics: applications to food science and nutrition research. Trends in Food Sci Technol. 2008.

ZHANG X, YAP Y, WEI D, CHEN G, CHEN F. Novel omics technologies in nutrition research. Biotechnol Adv. 26(2):169-76, 2008.

Capítulo 20- Imunonutrientes na alimentação animal

Bonaparte, T.B.[1] ; Vargas Junior, J.G.[1]; Soares, R.T.R.N.[2]; Barata, A.L.[1]; Mesquita, C.B.[1]; Bizarria, D.G.1; Silva, B.M.F.[1]; Carvalho, R.B.[1]; Nascimento, H.S.[1]; Oliveira, L.R.S.[1]

INTRODUÇÃO

A evolução animal tem como principal objetivo a sobrevivência, principalmente quando submetidos a inúmeras pressões seletivas. Os animais mais adaptados tiveram que encontrar estratégias efetivas "reatividade ao stress" para controlar as funções dos sistemas de seu corpo, para lidar com as ameaças e desafios que haviam encontrado.

Com o equilíbrio do organismo as chances de sobrevivência aumentam, sendo o sistema imunológico um dos mais importantes, que compreende várias redes de células, citocinas e proteínas que funcionam de maneira equilibrada para manter a integridade do organismo diante de desafios externos e internos usando vários mecanismos de defesa elaborados.

A produção animal em sistemas altamente intensivos, como a suinocultura e a avicultura, proporcionam aos animais o contato com uma grande quantidade de patógenos. Mas o acometimento por doenças infecciosas ou patologias é mínimo devido estes animais possuírem sistema imunológico altamente desenvolvido, no entanto submetidos ao estresse os animais podem tornar-se mais susceptíveis a infecções causadas por microorganismos patogênicos (Johnson et al., 2001).

A alimentação tem papel fundamental no estado sanitário e imunológico dos animais, uma vez que estudos mostrando que animais criados em ambientes com desafio sanitário crescem mais lentamente e consomem menos alimento do que animais criados em ambientes mais limpos Williams et al., (1997).

Os nutrientes destinados para o crescimento do animal podem ser redirecionados para auxiliar a resposta do sistema imune do hospedeiro contra o agente patogênico (Johnson et al., 2001). Como consequência, o desempenho zootécnico é geralmente deprimido (Johnson, 1997), justificando estudos sobre a influência da nutrição no sistema imune e na resistência dos animais a doenças infecciosas.

2. O sistema imunológico

Com a detecção de corpos estranhos, estruturas moleculares exógenas, o sistema imunitário mantém a integridade do hospedeiro através da identificação pelos receptores de reconhecimento de patógenos (PRRs), células inatas do hospedeiro, ou danos de tecido anormal dando início a resposta de ativação do mecanismo de defesa para remover a ameaça.

A ativação dos mecanismos de defesa e células fagocíticas (macrófagos, neutrófilos) é a primeira resposta do sistema imune produzindo moléculas de peptídeos antibacterianos, proteínas de fase aguda e citocinas pró-inflamatórias por várias células no tecido infectado.

Rapidamente uma sequência de eventos tem início, como o início da atividade de citoquinas pró-inflamatórias, saída de células maduras contendo antígenos (APCs) com sinais de ativação de linfócitos específicos de antígenos, para os tecidos linfoides de drenagem.

[1]Universidade Federal do Espírito Santo/CCAUFES
[2]Universidade Estadual do Norte Fluminense/UENF

As células maduras contendo antígeno APCs fornecem tanto o antigénio e sinais co-estimuladores para o linfócito específico desenvolvendo imunidade protetora específica. Posteriormente ocorre geração de anticorpos e receptores de linfócitos T (TCRs) dentro do hospedeiro, ativando linfócitos específicos em tecidos linfóides secundários, dependente de antigénio, isto é, a imunidade adquirida ou adaptativa.

Dá-se início a imunidade humoral, nos tecidos linfoides, com a expansão e diferenciação dos linfócitos específicos de antígenos, que é mediada por células durante a ativação, com populações de memória facilitando o recrutamento mais rápido dos mecanismos de defesa mediante subsequente exposição a antigénio específico.

Alcançada a resposta humoral e a eliminação dos patógenos, as células efetoras são suprimidas ou reprimidas através da indução de apoptose e a produção de citocinas imunossupressoras.

Ocorre a redução da resposta imunológica com o retorno do corpo à homeostase mantendo a resistência à doença e impedindo a desordem imuno-mediada dentro do hospedeiro.

3. Imunonutrição

Durante a resposta imune do organismo, alguns nutrientes têm papel importante por servirem de substrato e cofatores enzimáticos para multiplicação celular, como os macrófagos e linfócitos, e para a síntese de moléculas efetoras (anticorpos, óxido nítrico, lisozimas) ou moléculas de comunicação, informantes do sistema imune (citocinas, mediadores inflamatórios) (Klasing et al., 1980).

A participação dos nutrientes na formação das céulas pode ter efeito indireto na resposta imune ao modificarem as vias de comunicação intra e extracelulares, as citocinas, ou limitar efeitos indesejáveis de moléculas efetoras. A regulação do sistema imune é feita por muitos hormônios, dos quais respondem a nutrientes como glicose, relação proteína/energia e outros.

Quando há desbalanceamento e desequilíbrio na disponibilidade dos nutrientes com desvio dos mesmos do metabolismo animal para estímulos ao sistema imunológico é preciso elucidar e quantificar os custos metabólicos da ativação crônica do sistema imune.

Diante desse problema têm crescido o número de ingredientes para dietas de animais com a finalidade de reduzir os impactos dos antígenos aos sistemas imunológico e dar suporte nutricional para melhor funcionamento dos mecanismos da resposta imune.

4. Necessidades nutricionais do sistema imune

Segundo o NRC (1998) as exigências nutricionais podem ser definidas como a quantidade necessária para a manutenção do estado sanitário e da produtividade animal. A nutrição desbalanceada pode afetar a imunocompetência dos animais e, assim, a sua resistência a uma doença infecciosa e a produtividade animal serão inferiores, pois quando as respostas imunológicas aos microorganismos patogênicos são necessárias as exigências nutricionais são diretamente afetadas, reduzindo o crescimento e alterando o metabolismo (Xavier et al., 2004).

De uma maneira geral, o metabolismo e itens associados com a imunidade e a resistência a doenças podem ser alterados pelos nutrientes presentes na alimentação, incluindo a função da barreira epitelial, a fagocitose, a produção de citocinas, os tecidos linfóides, a proliferação de linfócitos e a síntese de anticorpos, dentre outros (Xavier et al., 2004).

Avaliando os efeitos da deficiência proteica e energética sobre a imunocompetência em humanos, Chandra (1992) observou redução de linfócitos, diminuição da resposta imune humoral e redução da atividade bactericida neutrófila. A autora associou as modificações nas

respostas imunológicas às deficiências moderadas a severas de proteínas ou aminoácidos específicos.

A imunidade reduzida é caracterizada pela diminuição do número de anticorpos para antígenos específicos, redução nas populações de linfócitos, redução da produção de proteína da fase aguda, e aumento da suscetibilidade a infecções (Grimble, 1990; Diertert et al., 1994). Além dos níveis de proteína e energia, várias vitaminas e minerais são também responsáveis por afetar a imunidade.

5. Aditivos e nutrientes funcionais das dietas

Alguns ingredientes possuem benefícios extras nutricionais que podem ser explorados, a essa característica é dada o nome de valor biológico, como a aglutinação de microrganismos que o plasma sanguíneo mantem, mesmo depois de processado por *spry dryer* (Pereira, 2012).

A atuação pode ser de forma conjunta com a função imunológica do organismo, reforçando a resposta imune inata, outros muitas vezes, impedindo ativação do mecanismo de resposta imune mediado por células de defesa ou fornecendo nutrientes indispensáveis ao funcionamento da resposta imune (Pereira, 2012).

Os aditivos mais utilizados, sem a necessidade de antibióticos, para estimular as próprias defesas do organismo e auxiliar a manter a saúde do animal são as imunoglobulinas; mananoligossacarídios; prebióticos; probióticos; ácidos graxos; vitaminas; microelementos; silicatos; acidificantes; antioxidantes; enzimas e nucleotídeos.

5.1. Nucleotídeos

Os nucleotídeos são bases nitrogenadas purina e pirimidina ligada a uma pentose com pelo menos um grupo fosfato. O grupo de nucleotídeos reunidos forma um ácido nucleico e este pode ser um RNA se a pentose for uma ribose, ou o ácido desoxirribonucleico, DNA, se a pentose for a 2-deoxiribose, base bioquímica do código genético (Pereira, 2012).

A síntese pode ser pela via de novo, utilizando aminoácidos como precursores, ou pela via de salvamento, a partir da degradação de aminoácidos e nucleotídeos da dieta (Lerner & Shamir, 2000), sendo a via de salvamento a de menor gasto energético para o organismo.

Os nucleotídeos são considerados os mais completos, pois participam da divisão celular, do crescimento da célula, da modulação do sistema imunológico e de processos bioquímicos essenciais ao funcionamento do organismo (Lehninger, 1995), atuando como precursores dos ácidos nucléicos (DNA e RNA), fonte de energia (ATP, ADP, AMP, GTP), cofatores (FAD, NAD, NADP) e como reguladores fisiológicos (AMPc, GMPc) (Lerner e Shamir, 2000).

Órgãos de alta renovação celular necessitam de mais nucleotídeos da via de salvamento, como o epitélio intestinal, pela *via de síntese de novo* estes órgãos não teriam suprimento em velocidade adequada à demanda. Segundo Grimble e Westwood (2000), os nucleotídeos são essenciais, por beneficiar a rápida divisão celular, especialmente em situações de desafio imunológico.

Os tecidos relacionados ao sistema imunológico das células hematopoiéticas e cerebrais apresentam capacidade limitada de síntese de novo de nucleotídeos, dependendo fundamentalmente da via de salvamento (Yamamoto,1997).

Para a síntese de nucleotídeos é necessária energia e glutamina, nutrientes altamente demandados pelos leitões recém-desmamados, para suprir a demanda de renovação do epitélio de revestimento intestinal, no período pós desmame.

Os nucleotídeos, quando adicionados à dieta, melhoram a saúde intestinal, reduzindo a incidência de doenças entéricas que ocorrem principalmente em animais que se encontram estressados ou debilitados, ou mesmo submetidos à troca de ambiente e de alimentação, como no momento do desmame.

A importância dos nucleotídeos no sistema imune se dá devido a velocidade da eliminação de antígenos. As células do sistema imune proliferam de maneira bastante rápida para a produção de clones idênticos. Em linfócitos normais, ocorre uma influência muito grande de nucleotídeos para atender a rápida divisão nucléica que ocorre em resposta à estimulação de antígenos.

Segundo Schobitz et al. (1991), a ativação dos linfócitos é acompanhada pelo aumento da síntese de ácidos nucléicos. Com a capacidade de síntese de nucleotídeos limitada por via de novo pelos linfócitos a suplementação torna-se necessária na dieta para a manutenção normal do sistema imunológico (Kulkarni et al., 1989).

Com deficiência de nucleotídeos para a ativação dos linfócitos haverá imunossupressão. De acordo com Navarro et al. (1996) e Yamauchi et al. (1996), a adição de mononucleotídeos em dietas contendo baixo nível de nucleotídeos aumenta a produção de linfócito T.

Ao fornecer níveis crescentes de nucleotídeos (0, 2,5, 5,0 e 10%) na dieta nucleotídeos para pintos, Qureshi (2002) verificou incremento linear na produção de leucócitos e na atividade de macrófago, até o nível de 5%.

5.2. Energia

Como produto da oxidação dos nutrientes orgânicos, a energia é necessária para construção dos tecidos e síntese de produtos como o leite, para o trabalho, e para a síntese proteica que permite o animal crescer.

Por diversos motivos, como por exemplo, o estresse, o animal pode reduzir o consumo de ração, reduzindo o fornecimento de energia ao organismo, torna-se prudente manipular a densidade energética da ração (Klasing, 1992), e a fonte calórica a ser utilizada para ajustar a densidade energética da dieta é muito importante.

Avaliando dietas com alta ou baixa energia para suínos, Ribeiro et al., (2008) não observou alteração no desempenho dos leitões testados com lipopolissacarídeo de Escherichia coli. A adição de gordura também não alterou a depressão no desempenho causada pelo LPS, mas deprimiu a resposta humoral.

5.3. Probióticos

Os probióticos são microrganismos vivos oferecidos na alimentação com a finalidade de beneficiar ao hospedeiro. O recém-nascido não possui microrganismo no intestino, e logo ao parto, ele será colonizado por microrganismos da microbiota vaginal e da microbiota natural do ambiente. Isto leva a uma inoculação de bactérias diversas como bifidobactérias, enterobactérias, bacterióides, clostrideos e cocos Gram-positivos (Harmsen et al.,2000).

No intestino pode conter pelo menos 400 espécies, e essa diversificada população constituinte da microbiota é responsável pelo desenvolvimento do sistema imunológico do recém-nascido, levando a maturação das células responsáveis pela ativação do sistema imunológico.

Os microrganismos do intestino participam na degradação enzimática dos alimentos e na síntese de vitaminas úteis ao organismo. Como exemplo de probióticos que degradam substâncias não absorvíveis pelo organismo animal podemos citar as bifidobactérias e os lactobacilos, agregando dessa forma, benefícios para o hospedeiro.

As bactérias benéficas também produzem substâncias denominadas bacteriocinas, que são proteínas metabolicamente ativas, que contribuem com a destruição de microrganismos indesejáveis. A bacteriocina reuterina, produzida pelo Lactobacillus reutei pode reduzir o crescimento de patógenos como *Escherichiria coli, Salmonella entérica, Shigella sonnei* (Morais; Jacob, 2006; Gratz; Mykkanen; El_Nezami, 2010).

Os microrganismos benéficos podem utilizar certos carboidratos complexos como nutrientes, tendo seu crescimento favorecido pela presença de frutoligossacrídeos (FOS) produzidos a partir da sacarose e não digeridos pelas enzimas intestinais, entretanto microrganismos patógenos, gram negativos como a *Salmonella e Escherichia coli* são incapazes de fermentar os frutoligossacarideos e mananoligossacarideos, e por isso sofrem redução no crescimento quando em presença destes produtos (Pereira, 2012).

5.4. Leveduras

Na sua composição as leveduras podem conter proteína, peptídeos e aminoácidos e, devido a isso podem ser possíveis alternativas às fontes proteicas de origem animal das formulações de ração. Os valores médios podem alcançar de 27 a 43% de proteína bruta, e os nucleotídeos são os mais representativos, chegando a representar de 7 a 20% do nitrogênio total (Hansen, 1981). Apesar dos valores satisfatórios nutricionalmente, a disponibilização dos nutrientes no intestino para a digestão e absorção é dependente do rompimento da parede celular.

O extrato de leveduras é fonte de inositol, substância necessária para o bom funcionamento dos nervos, do cérebro e dos músculos (D'Solza & Frio, 2007). Ao ser adicionada na alimentação, as leveduras impedem que microrganismos patogênicos se estabeleçam no epitélio do intestino. A superfície das leveduras contem moléculas de carboidratos complexos, monossacarídeos, que mimetizam os receptores expressos na superfície do epitélio de revestimento do intestino, e reduzem a habilidade das bactérias em se aderir à parede do intestino (Pereira, 2012).

5.5. Proteína

A proteína é o componente mais fundamental do tecido animal, está presente em todas as células e seu fornecimento através da dieta deve ser contínuo ao longo da vida. É indispensável na reparação de tecidos já formados, para formação de novos e dos produtos animais como leite e ovos.

As proteínas compõem os mediadores da inflamação e da resposta imune, os peptídeos (citoquinas, imunoglobulinas, proteínas de complemento, síntese de DNA). Isto leva a uma exigência específica de aminoácidos para a resposta imune (Le Floc'h, 2000) , ressaltando a importância da quantidade e qualidade de proteínas da dieta.

Em pesquisa com leitões criados em ambiente limpo, com pouca ativação do sistema imune, foi possível observar que a exigência de lisina por dia foi maior do que aqueles com alta ativação do sistema imunológico (Williams et al., 1997), provavelmente porque em ambientes limpos sem desafio sanitário o crescimento é mais rápido, aumentando a exigência de proteína.

5.6. Aminoácidos

5.6.1. Ácido glutâmico ou glutamato

O ácido glutâmico é abundante no fígado, rins, intestinos, músculo esquelético e cérebro com diferentes funções, servindo de substrato para a síntese de proteínas nos músculos

e cérebro, neurotransmissor, intermediário do ciclo de Krebs e fonte de energia para tecidos (Garattini,2000).

O glutamato serve de substrato oxidativo para a mucosa intestinal, para os enterócitos, linfócitos e macrófagos, melhorando a resposta imunológica e a barreira intestinal. Reduz a atrofia de vilosidades durante o desmame, melhorando a digestão e a utilização de nutrientes da dieta. O glutamato e a glutamina são importantes em condições de estresse, na regulação do equilíbrio acidobásico dos animais, para a proliferação e sobrevivência das células, incluindo os linfócitos intraepiteliais (Curi et al.,2005).

A glutamina participa da síntese do muco e do complexo de junções que protegem o epitélio intestinal, estimula a secreção de hormônios anabólicos, como insulina e o hormônio do crescimento, e inibe a produção de hormônio catabólicos, como os glicocorticoides, favorecendo a deposição de proteínas e o crescimento celular dos animais.

A glutamina (GLN) é um aminoácido importante para a produção de macrófagos, linfócitos, neutrófilos e para o enterócito. É considerada um imunomodulador atuando na defesa do trato respiratório e trato gastrintestinal (Dewitt et al., 1999). Trabalhos mostram que a adição de glutamina (1,0 a 2%) em suínos, aumentou a altura das vilosidades intestinais (Wu & Sabina, 1996) e também aliviou os efeitos detrimentais de um desafio por E. coli K88+ (Yi et al., 2005).

O potencial da glutamina na resposta imune foi investigado por YI et al. (2005), que constataram que leitões desafiados por Escherichia coli K88+ e suplementação da ração com glutamina possibilitou a recuperação dos indicadores de desempenho dos animais.

5.6.2. Arginina

O ácido pentanóico, ou L-arginina, é um aminoácido que em situações de estresse, enfermidades ou estresse metabólico, tem a exigência aumentada e a produção endógena se torna insuficiente para atingir as demandas corporais. Nessas condições, a suplementação exógena é requerida para o ótimo funcionamento do sistema imune (Pereira, 2012).

A arginina atua como substância imunomoduladora devido sua ação promotora da cicatrização e reparação do tecido por participar na síntese e na deposição de colágeno Bower et al., (1995) sugeriram que a a arginina poderia contribuir na maturação e na diferenciação de células T.

5.6.3. Treonina

A treonina participa na síntese de proteína muscular, no sistema gastrintestinal, na síntese de mucinas, e no sistema imune, para a síntese de imunoglobulinas (Ajinomoto Biolatina, 2003).

A treonina tem a exigência aumentada com a estimulação do sistema imune por ser abundante nas imunoglobulinas e, além disso, a treonina é fundamental para produção de mucina e manutenção das funções intestinais, demonstrando que esta envolvida na manutenção da integridade de defesas inespecíficas da parede intestinal (Lê Floch et al, 2004).

5.6.4. Aminoácidos Sulfurados

Os aminoácidos sulfurados constituem a maioria das proteínas associadas às funções de manutenção (Obled, 2004), e particularmente a cisteína, durante as enfermidades tem exigência aumentada. A cisteína é utilizada para a síntese de glutationa, o antioxidante intracelular mais abundante na proteção contra o desenvolvimento do estresse oxidativo que acompanha os estados inflamatórios. (Lê Floch et al, 2004; Obled, 2004).

Os animais em condições de alta ativação crônica tem alteração na demanda dos aminoácidos sulfurados. Evidenciando a partição metabólica que direciona nutrientes para a produção de componentes da resposta imunológica, que são mais ricos em aminoácidos sulfurados que a musculatura (Pereira, 2012).

5.7. Lipídios

Os lipídeos têm grande influência sobre a imunidade do organismo devido sua relação com as doenças cardiovasculares e diabete. Os níveis de gordura e o tipo de gordura alimentar podem modular as funções imunes e podem em excesso ou deficiência ser perigosos para o sistema imune.

Os níveis de ácidos graxos n-6 e n-3 são muito importantes na imunomodulação. O efeito sobre a imunidade foram observados em relação ao estímulo na síntese de imunoglobulinas IgA, IgG, IgM e diminuição significativa dos níveis de IgE (Ribeiro et al., 2008).

O ácido linoleico conjugado (CLA) tem ação sobre a produção de citocinas pro-inflamatórias o que sugere que seu efeito imune é devido a um perfil anti-inflamatório. O'shea, et al. (2004) em estudo com leitões alimentados com dietas contendo 0; 0,67; 1,33 ou 2% de CLA, verificou-se aumento linear na percentagem de linfócitos, o que faz pensar no CLA como um imunonutriente estimulador da resposta imune celular (Bassaganya-Riera et al., 2001).

5.7.1. Ácido graxo da família ômega

Ácidos graxos são os maiores componentes da membrana celular. Suas funções estão envolvidas na dilatação e na contração da membrana, na função dos receptores de membrana e na divisão e no crescimento celular. Este nutriente, nas formas denominadas eicosapentaenóica (EPA) e docosahexaenóica (DHA), estimulariam a função imune dos indivíduos pela competição com o ácido aracdônico pelo metabolismo ciclo-oxigenase que ocorre na membrana celular (Pereira, 2012).

O ácido araquidônico, um produto final da rota do n-6 (ômega 6), leva à produção de eicosanóides (prostaglandinas e leucotrienos) que promovem, quando em quantidades elevadas, a imunossupressão e a inflamação. O metabolismo do n-3 (ômega 3) contrabalança estes efeitos negativos formando leucotrienos menos ativos biologicamente (LT5), substâncias menos inflamatórias que não deprimem a função imune (Pereira, 2012).

A imunonutrição, e o equilíbrio entre ômega-3 e ômega-6 tem papéis fundamentais no equilíbrio da imunidade. Bower et al (1995) acreditam que os ácidos graxos n-3 também poderiam ser responsáveis por funções celulares como a fagocitose dos macrófagos, produção de IL-1 e produção de superóxidos.

Quando fornecidos em maior quantidade na dieta, os ácidos graxos ômega-3 atuam sobre a supressão da secreção IL-1 por células mononucleares, células de Kupffer e macrófagos (DALY et al, 1995). Furukawa et al (1999) avaliando o ácido eicosapentaenoico na dieta observaram a redução da resposta ao estresse, melhora no metabolismo proteico e prevenção contra a imunossupressão.

5.8. Plasma sanguíneo

O plasma sanguíneo se destaca por ser um alimento proteico de alta digestibilidade e palatabilidade, processado por spray dryer que mantem a integridade de imunoglobulinas, peptídeos e fatores de crescimento e a capacidade de favorecer o complexo imunológico intestinal, através da aglutinação inespecífica de patógenos (Pereira, 2012).

Em estudo avaliando o uso de plasma sanguíneos na dieta de leitões Campbell et al. (2008) observaram aumento na secreção de enzimas digestivas, melhoria da integridade do epitélio intestinal e da digestão, absorção e utilização dos nutrientes, especialmente na primeira semana após o desmame.

5.9. Proteínas do soro de leite

As proteínas do soro de leite são prontamente absorvidas pelo organismo devido a alta digestibilidade, estimulando a produção de proteínas sanguíneas e teciduais e por isso são consideradas proteínas de metabolização rápida, muito adequadas para situações de estresses metabólicos onde a renovação de proteínas no organismo se torna urgente (Pereira, 2012).

Sgarbieri et al.,2000 & Moreno at al., 2002 em estudos com preparados de proteína de soro bovino na alimentação de camundongos e humanos, comprovaram o poder imunoestimulante e estimulador da síntese de glutationa. Quando usado na alimentação, o concentrado proteico de soro de leite estimulou o aumento na síntese de imunoglobulina M no baço e de glutationa no fígado em camundongo evidenciando ação sobre a imunidade.

As proteínas isoldas do soro (imunoglobulinas, lactoferrina, lactoperoxidase, glicomacropeptídio) possuem ação imunoestimulatória, podendo estimular o crescimento de vários tipos de células do sistema imune como linfócitos, macrófagos/monócitos, além de estimular a resposta imune humoral na produção de anticorpos (Walzem et al., 2002).

5.10. Vitamina A

A deficiência de vitamina A afeta a integridade das células epiteliais da mucosa nos tratos respiratório, gastrointestinal, e uterino. O epitélio colunar ciliado, no trato respiratório, contem muco e as células de Globet que capturam e removem microorganismos que são inalados, porém com a deficiência da vitamina A, as células epiteliais ciliadas são renovadas pelo epitélio extratificado e queratinizado, gerando redução na quantidade de mucina, levando ao maior risco de apresentar alguma doença respiratória (Xavier et al., 2004).

No intestino delgado, a deficiência de vitamina A resulta em uma perda de microvilosidades, células de Globet, e mucina (Rojanapo et al., 1980). Outros resultados do desequilíbrio dos níveis ideais de vitamina A no organismo sobre a imunidade inata incluem modificações nas queratinas epidérmicas, menor proteção da pele, defeitos na fagocitose, diminuição do número de células *natural killer*, citotoxicidade, e diminuição na secreção de citocinas inflamatórias pelos macrófagos e monocinas (Zhao e Ross, 1995; Semba, 1998).

A vitamina A é também necessária para manter a imunidade adquirida, o crescimento e a ativação de células B que requerem retinol. Suínos deficientes em vitamina A sintetizaram menos anticorpos e em aves infectadas com o vírus da doença de Newcastle, a deficiência de vitamina A diminuiu a citotoxicidade do linfócito T conforme observado por Sijtsma et al. (1990).

5.11. Selênio e Vitamina E

A vitamina E é considerada um antioxidante por proteger as membranas celulares do dano peroxidativo, enquanto que o Se é um componente da enzima glutationa peroxidase. Tanto a vitamina E quanto o Se desempenham papel na resposta do hospedeiro a uma infecção (Meydani e Beharka, 1998).

A vitamina E é lipossolúvel e está localizada em nível de membrana lipoprotéica, reside entre os ácidos graxos componentes de fosfolipídeos, exercendo sua função de

antioxidante natural. Atua sobre os carotenoides juntamente com a vitamina C e a glutationa peroxidase dependente de selênio (Pereira, 2012).

Quando o selênio está presente na dieta, há conservação da vitamina E, de forma que, Thompson e Scott (1970) verificaram que galináceos apresentaram concentrações mais elevadas de vitamina E no plasma ao receberem dietas suplementadas com selênio.

A vitamina E também atua sobre o selênio no organismo, o mantendo na forma ativa, impedindo a sua perda. E, ao impedir a destruição dos lipídeos de membrana, inibe a produção de hidroperóxidos, e reduz a quantidade de glutationa peroxidase necessária para destruir peróxidos dentro do citosol das células (Pereira, 2012).

Em níveis elevados a vitamina E estimula a fagocitose e a resposta imune humoral e celular. Participa na formação dos glóbulos vermelhos, atua na prevenção de danos de radicais livres e produtos de peroxidação lipídica, mantém a integridade estrutural das células, incluindo células imunes. A vitamina E aumenta as resposta imune celular uma vez que reduz a síntese de prostaglandinas, estimula a atividade de células T e aumenta a função dos macrófagos (Pereira, 2012).

Na deficiência de vitamina E em animais há a supressão da função de células B, da produção de imunoglobulinas, da resposta de linfócitos T, e da produção de citocinas e linfocinas.

O selênio por sua vez, aumenta a resposta imunológica, pois aumenta o poder bactericida de leucócitos e linfócitos, a produção de imunoglobulinas, a resposta imune mediada por células, e a produção e funcionamento de citocinas (Pereira, 2012).

Com consumo reduzido de selênio há redução à resistência a infecções virais e microbianas, inibição da função de neutrófilos, decréscimo da produção de anticorpos, redução da proliferação de linfócitos T e B, inibição da citotoxicidade de células T e natural killer.

O selênio possui efeitos antioxidantes mediados pela glutationa peroxidase que remove os lipídeos hidroperoxidados tóxicos e os peróxidos de hidrogênio. O selênio atua como antioxidante no espaço extracelular, citosol da célula juntamente com a membrana celular (Arthur et al. 2003).

Os linfócitos deficientes em selênio diminuem a proliferação frente à mitógenos e os macrófagos reduzem a síntese de leucotrienos, essenciais para a quimiotaxia dos neutrófilos. O sistema humoral também é afetado pela deficiência de selênio, e como consequência, os níveis de IgM ,IgG e IGA decresce.

Conforme observado por Peplowski et al. (1981), a suplementação com vitamina E e Se acima das exigências mínimas aumenta a produção de anticorpos e a proliferação de linfócitos em suínos e melhora o desenvolvimento do sistema imunológico do suíno jovem (Kelley e Easter, 1991).

5.12. Zinco

O mineral zinco é componente de pelo menos 100 enzimas, e sua deficiência na alimentação deixa animais imunodeficientes e altamente suscetíveis a vírus, bactérias e microrganismos parasíticos (Shankar e Prasad, 1998), além de afetar os órgãos linfoides.

As imunidades inata e adquirida são afetada quando há deficiência de zinco, assim como os níveis de timulina, hormônio secretado pelas células epiteliais do timo responsáveis por promover a maturação das células T. Portanto, em animais deficientes de Zn, a timulina encontra-se inativa e a utilidade das células T é bastante diminuída.

Fernandes et al. (1979) verificaram que ocorre extensivo dano aos linfócitos T, com atrofia do timo, alteração da síntese de linfócitos, resultando em marcada imunossupressão. Implica também em alterações epidérmicas associadas à maior penetração de agentes patógenos (Surai, 2005).

A suplementação diária de Zn reduz a incidência e a duração de diarréia, reduzindo também a incidência de infecções agudas e infecções respiratórias (Sazawal et al., 1996; 1998).

5.13. Cromo

O cromo atua sobre o desempenho zootécnico dos animais atuando no metabolismo da insulina e glicose, aumentando sua taxa de captação pelos tecidos. Tem relação com o sistema imune, pois quando suplementado na dieta exerce efeito na proliferação de linfócitos e aumento na produção de anticorpos (Van Heugten & Spears, 1997).

5.14. Cobre

Quando utilizado em doses farmacológicas elevadas de 250 ppm exerce efeito promotor de crescimento em função de sua ação antimicrobiana. Níveis elevados de cobre no organismo ocasionado pela presença de patógenos pode ocorrer para aumentar as repostas dos linfócitos.

A adição de Cu à dieta (0, 200 e 400 ppm) tendeu a deprimir a produção de anticorpos contra lisozimas, porém não afetou a produção de anticorpos contra células vermelhas de ovinos conforme observado por Kornegay et al., (1989).

5.15. Ferro

O desbalanceamento nos níveis de ferro para mais ou para menos, diminui a imunidade. Um exemplo é a resposta aguda induzida pelo estímulo inflamatório causada pela hipoferremia. As citocinas inflamatórias liberadas pelos macrófagos ativados iniciam eventos que fazem com que o ferro seja sequestrado. Proteínas que se ligam ao ferro quelatam a maioria do mineral, entretanto, a sua suplementação excessiva pode saturar as proteínas, disponibilizando ferro para multiplicação dos patógenos.

Sendo o ferro um nutriente limitante para o crescimento de vários microorganismos patogênicos, sua remoção do sangue e armazenamento temporário em locais inacessíveis aos patógenos, é considerada um mecanismo de defesa do hospedeiro.

Knight et al. (1983) injetaram 100 ou 200 mg de ferro em leitões recém-nascidos e verificaram aumento no crescimento de *Escherichia coli* no soro. Portanto, ainda que a suplementação de Fe seja necessária para prevenir anemia, seu excesso pode aumentar o crescimento de microrganismos patogênicos.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os ingredientes e nutrientes podem fortalecer a barreira inata, como também, é possível modular a resposta imune dos animais depois da ativação, através do suporte nutricional específico para a condição de estresse. O sistema imunológico influencia as exigências nutricionais, sendo que nutrientes específicos podem incentivar ou inibir a resposta imunológica, dessa forma, é importante que haja um melhor entendimento dessa interação nutriente-imunologia.

A formulação de dietas específica a necessidade imunológica do animal podem maximizar o desempenho produtivo, e para isso é fundamental conhecer as exigências nutricionais do sistema imunológico e do crescimento do animal, assim como a função de cada nutriente sobre o sistema imunológico.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AJINOMOTO, 2003. http:www.lisina.com.br/upload/bibliografia/IT _10_ port.pdf. Acessado dia 15 de fevereiro de 2014.

ARTHUR, J. R. MCKENZIE, R. C. & BECKETT, G.J., Selenium in the imune system. The Journal of Nutrition. N. 133: p. 1457-1459, 2003.

BASSAGANYA-RIERA J., HONTECILLAS-MAGARZO, R., BREGENDAHL K., WANNEMUEHLER M.J. & ZIMMERMAN D.R. Effects of dietary conjugated linoleic acid in nursery pigs of dirty and clean environments on growth, empty body composition, and immune competence. Journal of Animal Science. 79: 714-721, 2001.

BOWER, R. H., F. B. CERRA, et al. Early enteral administration of a formula (Impact) supplemented with arginine, nucleotides, and fish oil in intensive care unit patients: results of a multicenter, prospective, randomized, clinical trial. Crit Care Med, v.23, n.3, Mar, p.436-49. 1995.

CAMPBELL, J. et al. Uso do plasma para modular a resposta inflamatória e o seu impacto. Acta Scientiae Veterinariae. 36(Supl 1): s53-s59, 2008.

CHANDRA, R.K. Protein-energy malnutrition and immunological responses. J. Nutr. 122:597, 1992.

CURI R. et al, Molecular mechanisms of glutamine action. Journal of Cellular Physiology. V 204, p. 392-401, 2005.

D'SOUZA, D. e FRIO, A. Bridging the post – Weaning piglets growth gap: The NuPro experience in the Asia Pacific region. In: Alltech's Annual Symposium, 23, 2007. Nottingham Proceedings… Nottingham University Press, p. 41-48, 2007.

DEWITT R.C., WU Y. & RENEGAR K. Glutamine-enriched total parental nutrition preserves respiratory immunity and improves survival to a Pseudomonas Pneumonia. Journal of Surgical Research. 84: 13-18, 1999.

DIETERT, R.R.; GOLEMBOSKI, K.A.; AUSTIC, R.E. Environment-immune interactions. Poult. Sci. 73:1062, 1994.

FERNANDES, G.; NAIR, M.; ONOE, K.; TANAKA, T.; FLOYD, R.; GOOD, R.A. Impairment of cell-mediated immunity functions by dietary zinc deficiency in mice. Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 76:457, 1979.

FURUKAMA, S., SAITO, H., INOUE T. et al. Supplemental glutamine augments phagocytosis and reactive oxygen intermediate production by neutrophils and monocytes from postoperative patients in vitro. Nutrition v.16, p.323-329, 1999.

GARATTINI, S. Glutamic Ácid, twnty years later. Journal of Nutrition, v.130, p.901-909, 2000.

GRATZ, Silvia Wilson; MYKKANEN, Hannu; El NEZAMI, Hani S. Probiotics and Gut Health: A special focus on liver diseases. World Journal of Gastroenterology. Beijing, v. 16, n. 4, p. 403-410, jan 2010.

GRIMBLE, G.K.; WESTWOOD, M. R. Nucleotides. In: Nutrition and Immunology. Principles and practice. Humana Press.Totowa, N J, USA, p.135-144, 2000.

GRIMBLE, R.F. Nutrition and cytokine action. Nutr. Res. Rev. 3:193, 1990.

HANSSEN, J. T. Bioprotein in the feeding of growing – finishing pigs in Norway. I. Chemical composition, nutriente digestibility and protein quality of "Pruteen", "Toprina", "Pequilo" and a metanol- based yeast product (Pidria aganobir). Z. Tierplaysiol, Tierernahrg. V. Futtermittelkde, v. 47, p. 35 -42, 1981.

HARMSEN Hermie J.M. et al. Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. Journal of pediatric Gastroenterology & Nutrition. Philadelphia, v. 30, n.1, p. 61-67, jan 2000.

JOHNSON R.W. Inhibition of growth by pro-inflammatory cytokines: an integrated view. Journal of Animal Science. 75: 1244–1255, 1997.

JOHNSON R.W., ESCOBAR J. & WEBEL D.M. Nutrition and Immunology of Swine. In: Lewis A.J. & Southern L.L. (Eds) Swine Nutrition. 2.ed. Nebraska: CRC Press, pp.545-562, 2001.

KELLEY, K.W.; EASTER, R.A. Nutritional and environmental influences on immunocompetence. In: Swine Nutrition, MILLER, E.R.; ULLREY, D.E.; LEWIS, A.J. Eds. Butterworth-Heinemann, Stoneham, MA, USA, 401p., 1991.

KLASING K., KNIGHT C.D. & FORSYTH D.M. Effects of iron on the anti-coli capacity of sow´s milk in vitro and in ligated intestinal segmentes. The journal of nutrition. 110: 1914-1921, 1980.

KLASING K.C. Researchers detail link between nutrition and disease status. Feedstuffs. Ano 3, N°32. p.37-38. Edição de 20/01/ 1992.

KNIGHT, C.D.; KLASING, K.C.; FORSYTH, D.M. *E. coli* growth in serum of iron dextran-supplemented pigs. J. Anim. Sci. 57:387, 1983.

KORNEGAY E.T., VAN HEUGTEN P.H.G., LINDEMANN M.D. & BLODGETT D.J. Effects of biotin and high copper levels on performance and immune response of weanling pigs. Journal of Animal Science. 67: 1471-1477, 1989.

KULKARNI, A. D.; FANSLOW, W. C.; RUDOLPH, F. B.; VAN BUREN, C. T. Effect of dietary nucleotides on response to bacterial infections. J. Parenter. Enteral Nutr. 10:169-171, 1989.

Le FLOC CH, N.; MELCHIOR, D.; Et OBLED, C. Modifications of protein and amino acid metabolism during inflammation and immune system activation. Livestock Production Science, v.87, p. 37-45, 2004.

LE FLOC'H N. Conséquences d'un état inflammatoire ou infectieux sur le métabolisme et le besoin en acides aminés chez le porc. INRA-Productions Animales. 13: 3-10, 2000.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. Nucleotídeos e ácidos nucléicos. In: Princípios de bioquímica. 2 ed. São Paulo: Sarvier, p. 242-268, 1995.

LERNER, A. and R. SHAMIR. Nucleotides in infant nutrition: a must or an option. IMAJ 2:772-774, 2000.

MEYDANI, S.N.; BEHARKA, A.A. Recent developments in vitamin E and immune response. Nutr. Rev. 56:S49, 1998.

MORAIS, Mauro Baptista de; JACOB, Cristina Miuke Abe. The role of Probiotics and prebiotics in pediatric practice. Jornal de Pediatria. Rio de Janeiro, v. 82, n. 5, p. 189-197, 2008.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient Requirements of Swine. 10th Revised Edition. Washington, D.C.: National Academy Press. 189p. 1998.

NAVARRO, J.; BARVO, A. R.; VALERA, M. J.; GIL, A. Modulation of antibody-forming cell and mitogendriven lymphoproliferative responses by dietary nucleotides in mice. Immunology Letters. 53:141-145, 1996.

O'SHEA M., BASSAGANYA-RIERA J. & MOHEDE I.C.M. Immunomodulatory properties of conjugated linoleic acid. American Journal of Clinical Nutrition. 79: 1199-1206, 2004.

OBLED, C. Necesidades de aminoácidos en estados inflamatorios. Avances en Tecnologia Porcina. v.1, p. 4-20, 2004.

PEPLOWSKI, M.A.; MAHAN, D.C.; MURRAY, F.A.; MOXON, A.L.; CANTOR, A.H.; EKSTROM, K.E. Effect of dietary and injectable vitamin E and selenium in weanling swine antigenically challenged with sheep red blood cells. J. Anim. Sci. 51:344, 1981.

PEREIRA, F. A. Melhorias no desempenho de leitões através da aplicação dos conceitos da imunonutrição. Agroceres/Multimix. IV Simpósio Mineiro de Suinocultura. 23 a 25 de abril de 2012, Lavras – MG, 2012.

QURESHI, M.A. Differential expression of inducible nitric oxide synthase is associated with differential Tolllike receptor-4 expression in chicken macrophages from different genetic backgrounds. Vet. Immun. Immunopath. 84(3-4):191-207, 2002.

RIBEIRO, A. M. L.; PINHEIRO, C. C.; GIANFELICE, M. Nutrientes que afetam a imunidade dos leitões. Acta Scientiae Veterinariae. 36: 119-124, 2008.

RIBEIRO, Andréa M. L; PINHEIRO, Cátia C. & GIANFELICE, Mario, Nutrientes que afetam a imunidade dos leitões, Acta Scientiae Veterinariae. 36 (Supl 1): s 119-s 124, 2008.

ROJANAPO, W.; LAMB, A.J.; OLSON, J.A. The prevalence, metabolism and migration of globlet cells in rat intestine following the induction of rapid, synchronous vitamin A deficiency. J. Nutr. 110:178, 1980.

SAZAWAL, S.; BLACK, R.E.; BHAN, M.K.; JALLA, S.; BHANDARI, N.; SINHA, A.; MAJUMDAR, S. Zinc supplementation reduces the incidence of persistent diarrhea and dysentery among low socio-economic children in India. J. Nutr. 126:443, 1996.

SCHOBITZ, B.; WOLF, S.; CHRISTOPHERSON, R.I.; BRAND, K. Nucleotide and nucleic acid metabolismo in rat thymocytes during cell cycle progression. Biochem. Biophys. Acta. 1095:95-102, 1991.

SEMBA, R.D. The role of vitamin A and related retinoids in immune function. Nutr. Rev. 56:S38, 1998.

SHANKAR, A.H.; PRASAD, A.S. Zinc and immune function: the biological basis of altered resistance to infection. Am. J. Clin. Nutr. 68:447S, 1998.

SIJTSMA, S.R.; ROMBOUT, J.H.; WEST, C.E.; VAN DER ZIJPP, A.J. Vitamin A deficiency impairs cytotoxic T lymphocyte activity in Newcastle disease virus-infected chickens. Vet. Immunol. Immunopathol. 26:191, 1990.

SURAI, P. F. Minerals and anti-oxidants. Re-defining mineral nutrition. Nottingham University Press. P-147-178, 295p., 2005.

VAN HEUGTEN E. & SPEARS J.W. Immune response and growth of stress weanling pigs fed diets supplemented with organic or inorganic forms of chromium. Journal of Animal Science. 75: 409-416, 1997.

WILLIAMS N.H., STALY T.S. & ZIMMERMAN D.R. Effect of chronic immune system activation on the rate, efficiency composition of growth, and lisine needs of pig feed from 6 to 27 kg. Journal of Animal Science. 75: 2463, 1997.

WU G. & SABINA M. Dietary glutamin suplementation prevents jejunal atrophy in weaned pig. Journal Nutrition. 126: 2578, 1996.

XAVIER, E. G.; RUTZ, F.; ROLL, V. F. B. Imunonutrientes na produção de suínos. I Simpósio UFRGS sobre Produção, Reprodução e Sanidade Suína. In: Anais... I Simpósio UFRGS sobre Produção, Reprodução e Sanidade Suína. 2004.

YI G.F., CARROLL J.A., ALLEE G.L., GAINES A.M., KENDALL D.C., USRY J.L., TORIDE J.L. & IZURU S. Effect of glutamine and spray-dried plasma on growth performance, small intestinal morphology, and immune responses of Escherichia coli K88+-challenged weaned pigs. Journal of Animal Science. 83: 634-643, 2005.

YI, G. F, et al, Efecto of Glutamine and spry-dried plasma on growth performance, small intestinal morphology, and immune responses of Escherichia coli K88+ - Challenged weaned pigs, Journal of Animal Science, 83: 634-643 , 2005.

Capítulo 21- Aplicações da citogenética em ciência animal

David, J.A.O.[1]; Aguiar, L.L.[2]; Mainardi, V.F.[3]

INTRODUÇÃO

O DNA dos organismos eucariotos está distribuído em moléculas lineares longas chamadas de cromossomos. No núcleo interfásico, o DNA está associado a proteínas formando uma estrutura chamada de cromatina. No momento da divisão celular a cromatina se condensa para formar a estrutura dos cromossomos metafásicos, visualizado e estudado com maior detalhe com o auxílio de técnicas diferenciais de bandeamento cromossômico. A citogenética é a ciência que estuda os cromossomos distendidos ou compactados, isolados ou agrupados, submetidos a diferentes técnicas de coloração.

A grande maioria das diferentes espécies de animais e vegetais apresenta um número par de cromossomos, sendo um lote de origem materna e outro de origem paterna. Os pares de cromossomos materno e paterno são chamados de cromossomos homólogos e, normalmente, apresentam morfologia semelhante.

A morfologia de um cromossomo é determinada por uma estrutura presente em quase todos os cromossomos chamada de centrômero ou constrição primária. O centrômero é uma região pouco corada do cromossomo, quando este é submetido a uma coloração convencional. Esta diferença de coloração ocorre, pois o DNA da região centromérica apresenta-se mais descondensado.

O centrômero divide o cromossomo em dois braços e a proporção de tamanho entre os braços permite que os mesmos sejam classificados em metacêntricos, quando os braços tem tamanho aproximadamente igual; telocêntrico, quando o centrômero está localizado na extremidade do cromossomo, fazendo com que este apresente apenas um único braço; e submetacêntrico ou acrocêntrico, quando o centrômero divide o cromossomo em dois braços de tamanhos visivelmente diferentes (quando o centrômero está mais próximo ao centro do cromossomo, este é chamado de submetacêntrico, e quando está mais próximo à extremidade do cromossomo ele é chamado de acrocêntrico) (GUERRA, 1989).

Outro elemento do cromossomo que pode ser observado no microscópio de luz é a constrição secundária. Esta região se encontra fracamente corada com coloração convencional, mas fica fortemente corada por técnicas de impregnação por prata. Isto se deve ao fato da constrição secundária apresentar os genes que produzem alguns tipos de RNA ribossômico, formando os nucléolos no núcleo interfásico, sendo uma região rica em proteínas com afinidade pela prata. O número de cromossomos com constrição secundária e a posição das mesmas nos cromossomos pode ser muito importante em estudos de citogenética.

Na maioria dos animais superiores que possuem sexos distintos, apresentando indivíduos do sexo masculino e feminino, existe pelo menos um gene responsável pela diferenciação sexual durante o desenvolvimento embrionário. O cromossomo que carrega esse gene é chamado de cromossomo sexual, enquanto os cromossomos restantes são denominados de autossomos (KASAHARA, 2009).

[1]Prof. Dr. José Augusto de Oliveira David- Departamento de Biologia- Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo. email: joseaugustodavid@hotmail.com
[2]Luara Louzada Aguiar- Pós-graduanda em Ciências Veterinárias- Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo.
[3]Vivian França Mainardi- Pós-graduanda em Ciências Veterinárias- Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo.

Os cromossomos autossomos geralmente apresentam-se em pares de morfologia muito semelhante, por outro lado, os cromossomos sexuais podem apresentar morfologia bastante distinta, sendo chamados de heteromórficos. Nos seres humanos, por exemplo, o par de cromossomos sexuais é composto por um grande cromossomo submetacêntrico e um pequeno cromossomo acrocêntrico. Em animais nos quais o sexo feminino apresenta dois cromossomos idênticos e o sexo masculino apresenta o par heteromórfico, como observado na maioria dos mamíferos, os elementos do par sexual são chamados de X e Y. Em animais nos quais o par heteromórfico é observado nas fêmeas, os cromossomos sexuais são chamados de Z e W, como observado na maioria das aves (NICHOLAS, 2010).

Nunes e Fagundes (2008) estudaram o cariótipo de oito espécies de anfíbios da subfamília Hylinae e Phyllomedusinae do Espírito Santo, Brasil. Dentre as espécies estudadas encontra-se a espécie *Phasmahyla exilis*, que teve os cromossomos descritos pela primeira vez. Nesta espécie, os autores observaram 26 cromosomos, sendo que um dos pares apresentou-se heteromórfico, com um cromossomo submetacêntrico de tamanho médio e outro subtelocêntrico pequeno. Apesar de terem sido estudados apenas indivíduos do sexo masculino, os autores sugerem que este seja um par de cromossomos sexuais bem diferenciados.

A citogenética pode ser utilizada como uma ferramenta eficiente em estudos de reprodução de animais de companhia ou de produção, bem como de espécies selvagens. A sua aplicabilidade na reprodução está relacionada à sexagem, conservação de raças e na determinação de anormalidades cromossômicas que podem prejudicar a reprodução.

Os dados relativos ao número, morfologia, posição de estruturas como a constrição secundária, presença de cromossomos sexuais e tamanho dos cromossomos de uma determinada espécie são utilizados para descrever o cariótipo da mesma. Uma caracterização adequada do cariótipo de uma espécie é de fundamental importância para se comparar espécies diferentes, ou ainda, quando se pretende examinar possíveis variações entre indivíduos da mesma espécie, sendo que estes estudos podem ser utilizados para identificar patologias com alterações do cariótipo normal.

2- Citogenética e a conservação

A citogenética é um instrumento frequentemente utilizado para caracterização de grupos naturais, na classificação de espécies, que fornece dados para a taxonomia e filogenia (DIAS; GIULIANO- CAETANO, 2002). Na taxonomia a citogenética apresenta grande importância, já que metodologias baseadas em padrões morfológicos podem sofrer alteração com a variação geográfica e ambiental (BERTOLLO et al., 1978).

Alguns estudos verificam a eficiência dessa técnica para classificação de espécie como Correia et al. (2009), que estudaram o cariótipo de oito espécies de aves da família Emberizidae e demonstraram alta similaridade cariotípica entre esses indivíduos demonstrando parentesco entre eles.

Miranda e Lui (2003) também utilizaram a cariotipagem para identificação de javali em criatórios comerciais nas regiões sul e sudeste do Brasil. Em seu estudo, os autores analisaram 1308 animais chamados de javalis, e observaram três tipos de cariótipo, javalis puros (2n=36), javaporcos (2n=38) e híbridos (2n=37). Os autores identificaram também um cromossomo submetacêntrico de tamanho médio em indivíduos com 37 cromossomos que pode ter sido originado por rearranjo cromossômico. Desta forma, foi concluído que exames citogenéticos podem ser conduzidos para planejamento dos cruzamentos para a preservação das espécies evitando a formação indesejada de híbridos que podem apresentar fertilidade reduzida.

Na fauna de peixes brasileira, a maior concentração de informações cromossômicas encontra-se nas ordens Characiformes e Siluriformes. Dentre a diversidade de peixes observada nos rios do país, encontramos espécies aptas à piscicultura, tanto para a produção de peixe como

alimento como para fins ornamentais. Na atividade da piscicultura o vigor produtivo tem uma grande importância econômica, para isso o melhoramento genético e a hibridação de espécies com características de interesse é amplamente utilizada.

Os riscos genéticos potenciais dos híbridos variam de intensidade, dependendo basicamente de três fatores: o grau de fertilidade que apresentam; a capacidade de caracterização dos híbridos por sua morfologia, levando os piscicultores ao risco de usarem inadvertidamente os híbridos no lugar dos parentais como reprodutores; a ocorrência ou produção de híbridos na natureza, devido à introdução de espécies biologicamente relacionadas às nativas; ou ainda, a introdução dos híbridos em rios, açudes ou reservatórios de hidrelétricas pela ocorrência de escapes colocando em risco as populações naturais (TOLEDO-FILHO et al., 1998).

Em estoques cultivados, a semelhança morfológica dos híbridos com os seus parentais pode vir a causar uma mistura ocasional destes e resultar na formação de plantéis de reprodutores contendo indivíduos com esterilidade zigótica ou gamética. Mesmo em face de um forte gradiente de adaptação favorecendo as taxa parentais, pode ocorrer o surgimento de populações compostas quase inteiramente por linhagens híbridas, ocasionando a perda da identidade genética e até a extinção das espécies puras (EPIFANIO e PHILIPP, 2001; ALLENDORF et al., 2001).

Com isso estudos cromossômicos no grupo de peixes e a determinação do cariótipo permitem o fornecimento de subsídios de grande importância não somente para o melhoramento genético como também para o manejo das espécies e consequentemente conservação das espécies nativas. Os dados citogenéticos tem fornecido conhecimento sobre a biologia, sistemática e evolução desse importante grupo de vertebrados.

Os estudos sobre conservação de raças são viáveis economicamente e essenciais para melhoramento genético, manutenção de características essenciais para adaptabilidade dessas no território nacional, além de verificar a integridade do material genético de determinada espécie quanto a sua origem.

Os bovinos são interessantes para estudos relacionados à conservação de raças. Isto se deve ao fato do cromossomo Y apresentar morfologia diferente nas subespécies de taurinos e zebuínos. Nos taurinos (*Bos taurus taurus*) o cromossomo Y pode ser metacêntrico ou submetacêntrico, enquanto em zebuínos (*Bos taurus indicus*) ele apresenta uma morfologia acrocêntrica (ISSA et al., 2006). Desta forma, a identificação da origem e/ou pureza de algumas raças pode ser estabelecida pelo estudo da morfologia do cromossomo Y dos machos do rebanho.

Rocha et al. (2000) analisaram 95 touros em cinco estados brasileiros para investigar a incidência de cromossomos Y acrocêntrico, com o objetivo de verificar a contribuição dos zebuínos para a formação da raça Chianina. Os autores verificaram que todos os indivíduos apresentaram o cromossomo Y de *Bos taurus indicus*, demonstrando que a raça Chianina teve contribuição dos zebuínos para sua formação.

Também baseado nesse princípio, Issa et al. (2006) estudaram a raça brasileira de bovino Pantaneiro, ameaçada de extinção, devido a inserção do gado Zebu na região central do Brasil. A raça foi formada a partir de matrizes espanholas trazidas para o país na época da colonização. Entre os Pantaneiros estudados, três apresentaram cromossomo Y taurino, do tipo submetacêntrico, e nove indivíduos com cromossomo Y de zebuíno, do tipo acrocêntrico. No mesmo trabalho foi evidenciado que o DNA mitocondrial de todos os indivíduos estudados era do tipo taurino, o que confirma que a presença de cromossomo Y acrocêntrico é uma contaminação da raça Pantaneira por cruzamentos com o gado Zebu.

3- Citogenética e a reprodução animal

A citogenética também é utilizada para identificação do sexo em animais. O uso da sexagem é importante na identificação de sexo de animais de interesse zootécnico, como no caso de produção bovina destinada a gado de corte ou leite, e também em animais de interesse ecológico, como na identificação de algumas espécies de aves monomórficas, algumas delas em risco de extinção (HOSSEPIAN DE LIMA; 2007).

A citogenética aplicada com interesse zootécnico é viável, pois maximiza a rentabilidade da produção, além de colaborar para o melhoramento genético das raças. O uso da sexagem de espermatozóides é um exemplo, que segundo Hossepian de Lima (2007), é uma técnica que permite o aumento na produção com menor custo com doses de sêmen sexados viáveis úteis para a inseminação artificial.

A sexagem de espécies ameaçadas de extinção tem grande interesse em aumentar a população de fêmeas com a finalidade de aumentar a população da espécie e consequentemente diminuir a pressão sobre a população.

A cariotipagem dos cromossomos sexuais também é importante na determinação de sexo em animais que não apresentam dimorfismo sexual. Duarte e Giannoni (1990) realizaram um trabalho com a espécie *Cyanopsitta spixii*, popularmente conhecida como ararinha azul, mantidas em cativeiro. Esta espécie não apresenta dimorfismo sexual e a caracterização cromossômica pode ser de grande ajuda na formação de casais em cativeiro com a finalidade de aumentar o número de indivíduos para soltura. Em seu estudo, os autores verificaram a presença de um par de cromossomos heteromórficos nas fêmeas, sendo estabelecidos como par de cromossomos sexuais do tipo ZZ/ZW.

A citogenética pode ser aplicada na observação de aberrações cromossômicas originadas a partir de erros na mitose, meiose ou na fertilização. Estas aberrações ou anormalidades têm efeito direto sobre a fertilidade do indivíduo portador, como também podem ocasionar anomalias congênitas e até mesmo perda embrionária. Essas alterações são mais frequentes quando há consanguinidade entre os indivíduos (BASRUR; BASRUR, 2004) ou até por interferência ambiental no material genético (FERNÁNDEZ et al., 2007). Essas causam prejuízo econômico para produção de animais, e podem ser erradicadas por meio de um diagnóstico precoce e da seleção de cruzamentos dentro do plantel disponível.

Em termos econômicos, a citogenética ainda é pouco aplicada à veterinária devido a falta de profissionais especializados na área. No entanto é eficiente para entender os impactos causadas por essas anormalidades durante o desenvolvimento embrionário (COPPOLA et al., 2007) para assim servir de base para estudos envolvidos com a reprodução animal.

As alterações cromossômicas podem ser numéricas, quando ocorrem alterações no número cromossômico, ou estruturais, quando ocorrem alterações pontuais nos cromossomos. As alterações numéricas são mais fáceis de serem observadas, mesmo em animais com cromossomos de tamanho reduzido, e podem ser divididas em aneuploidias e euploidias (GUERRA, 1989).

As aneuploidias surgem por meio da não disjunção dos cromossomos no momento da divisão celular e podem ocorrer em cromossomos sexuais ou autossômicos (NICHOLAS, 2010). As aneuploidias podem apresentar um cromossomo a mais, sendo chamadas de trissomias, ou um cromossomo a menos, como nas monossomias (KASAHARA, 2009).

A monossomia do cromossomo X é um tipo de aneuploidia que nos seres humanos é chamada de síndrome de Turner. Em éguas foi estudada por Amarantel et al. (2000), que citaram a alteração cromossômica, como uma aneuplodia que pode causar problemas de infertilidade, como útero e colo do útero subdesenvolvido, gônadas pequenas e estro irregular após a idade reprodutiva.

Segundo Lear e Bailey (2008) a trissomia em cromossomos autossômicos pode ser observada em equinos, apesar de baixa incidência, e também tem efeito deletério na reprodução, uma vez que tem tendência em formar gametas desbalanceados, reduzindo a fertilidade, além de implicar em uma série de malformações congênitas. A primeira descrição de trissomia em equinos foi feita por Power (1987). Este autor observou trissomia do cromossomo 28 em um equino macho que apresentou pequeno desenvolvimento corporal, criptorquidia e azoospermia.

Em outro estudo, Klunder et al. (1989), ao observarem um potro com problemas de desenvolvimento, assimetria facial e falta de coordenação leve verificou que esse era portador de trissomia do cromossomo 23. Mapeamentos genéticos demonstraram que o cromossomos 23 de equinos possui homologia com o cromossomo 9 de seres humanos. A trissomia do cromossomo 9 de seres humanos resulta em alterações congênitas que afetam o crescimento, performance mental e desenvolvimento esquelético, apresentando correspondência com as alterações congênitas observadas em equinos (LEAR; BAILEY, 2008).

Nas euploidias todo o conjunto cromossômico está envolvido. Quando ele está presente uma única vez no organismo, este é chamado de haploide, e quando o conjunto cromossômico está presente três ou mais vezes, o organismo é chamado de poliploide. Vertebrados haploides não são observados em populações naturais, e indivíduos poliploides estão presentes somente em espécies que não apresentam cromossomos sexuais diferenciados, sendo mais comuns em peixes e anfíbios (KASAHARA, 2009).

Em espécies de peixes de interesse comercial como o jundiá (*Rhamdia quelen*) a manipulação cromossômica pode ser buscada para a formação de indivíduos triploides visando aumentar a produção. Segundo Weiss e Zaniboni-Filho (2009) indivíduos triploides de peixes Siluriformes, como o jundiá, são estéreis e apresentam melhor conversão alimentar, o que leva a um maior ganho de peso, sendo extremamente interessantes em sistemas produtivos.

Outra espécie de peixe muito utilizada na piscicultura é a tilápia (*Oreochromis niloticus*). Segundo Turra et al. (2010), a tilápia alcança a maturidade sexual com cerca de 40g, peso este muito abaixo do peso de comercialização que é de 50g, sendo que esta maturação precoce pode provocar superpopulação dos tanques de criação, aumentar o tempo de engorda e a variação de peso do lote, o que leva a um maior custo e perda de qualidade no produto final. Desta forma, existem várias técnicas de produzir esterilidade por manipulação sexual em tilápias com a finalidade de minimizar estes problemas de produção. Dentre estas técnicas está a produção de indivíduos triploides pelo método de choque térmico ou pela produção indivíduos triploides interploides.

Diferente das alterações cromossômicas numéricas, as alterações cromossômicas estruturais são resultantes de quebras no DNA de um ou mais cromossomos, cujas extremidades livres favorecem a união com outros cromossomos que também foram quebrados. As quebras não ocorrem de forma aleatória, existem regiões do cromossomo que são chamadas de sítios frágeis, nos quais o cromossomo está mais propenso a sofrer uma quebra (KASAHARA, 2009). Entre as alterações estruturais podem ser enumeradas as inversões pericêntricas e paracêntricas, a fusão e fissão cêntricas, as duplicações, deleções e a translocação.

Nas translocações ocorre a transferência de um segmento de um cromossomo para outro não homólogo ao primeiro. As translocações podem ser recíprocas, quando fragmentos de dois cromossomos são trocados entre si, ou simples, quando apenas um cromossomo recebe segmentos do outro cromossomo (GUERRA, 1989). Translocações recíprocas são mais comuns que as translocações simples e seus portadores, geralmente, apresentam fenótipo normal, no entanto desenvolvem anormalidades na fertilidade, devido à formação de gametas desbalanceados (NICHOLAS, 2010).

A translocação robertsoniana, também conhecido como fusão cêntrica, é resultado da fusão de cromossomos acrocêntricos ou telocêntricos, originando um cromossomo submetacêntrico ou metacêntrico (GUERRA, 1989). A translocação robertsoniana foi descrita

pela primeira vez em bovinos por Gustavsson e Rockborn (1964) que observaram a fusão entre os cromossomos 1 e 29, ambos acrocêntricos, resultando em um grande cromossomo submetacêntrico. Essa anormalidade não altera o fenótipo do animal, no entanto reduz a fertilidade do mesmo entre 3% a 5% (LUNA, 2012) devido a formação de gametas aneuploides.

Essa anormalidade pode ocorrer em outras espécies animais de interesse zooténico, como em ovinos e caprinos estudados por Munoz e Medina (1993) que demonstraram a presença de translocação robertsoniana responsável pelas disfunções relacionadas a reprodução.

4- Citogenética e o diagnóstico de doenças

Na medicina veterinária, a citogenética ainda é pouco utilizada devido à falta de profissionais especializados, porém é uma metodologia que visa o diagnóstico precoce de alterações cromossômicas que podem provocar doenças e infertilidade. Por intermédio da citogenética convencional, é possível identificar mutações e alterações no número dos cromossomos que possam interferir no desempenho do animal ou do rebanho.

Um exemplo de diagnóstico de doenças utilizando a citogenética é observado no cão doméstico (*Canis familiaris*). Cães normais apresentam 78 cromossomos, sendo os 76 cromossomos autossomos de morfologia acrocêntrica, um grande cromossomo X submetacêntrico e um pequeno cromossomo Y metacêntrico. O Tumor Venéreo Transmissível (TVT) é uma neoplasia de ocorrência natural nos cães. Acomete a mucosa da genitália externa de ambos os sexos, sendo transmitido no momento do coito (VARASCHIN et al., 2001).

Estudos citogenéticos realizados em células retiradas de TVT mostraram grande desvio no número cromossômico encontrado no cariótipo normal. Estas células chegaram a apresentar entre 57 a 59 cromossomos sendo vários de morfologia submetacêntrica sugerindo assim a ocorrência de rearranjos cromossômicos (MacEWEN, 2001). Tais rearranjos devem ser do tipo balanceado, ou seja, não há nem perda nem ganho de material genético e estes incluiriam translocações recíprocas e fusões cêntricas (HAHN, 1998).

A importância para estudar os cromossomos das neoplasias, é determinar o significado das aberrações numéricas e/ou estruturais no desenvolvimento neoplásico e utilizar esses conhecimentos para decisões próprias no cuidado do paciente (isto é, diagnóstico e/ou prognóstico). Estudos citogenéticos têm ajudado a demonstrar a natureza clonal da maioria das neoplasias e identificar as mudanças genéticas sequenciais somáticas que ocorrem no clone neoplásico (HAHN, 1998).

A hematúria enzooótica bovina é uma doença causada pelo consumo prolongado da samambaia *Pteridium aquilinum*. A doença é caracterizada pela presença de sangue na urina e está associada à presença de tumores na bexiga e a infecção por papilomavirus. A análise citogenética de linfócitos de gado com hematúria enzoótica demonstrou aumento no número de cromossomos com alterações estruturais (LIOI *et al*., 2004).

Eficácia e agilidade no diagnóstico são preocupações dos médicos veterinários a fim de controlar doenças em diversas espécies animais. Para que se tenha um direcionamento das ações na prevenção e tratamento é necessária a identificação do agente, o conhecimento da patogenia e a resposta imunológica do hospedeiro. Nesse sentido a citogenética tem se mostrado uma ferramenta adicional aplicada ao diagnóstico e a técnica citogenética de Hibridização Fluorescente *in situ* (FISH) tem mostrado grande valia nesta área (GUERRA, 2004).

FISH é um método histoquímico com uma grande variedade de aplicações dentro de diferentes campos de investigação, incluindo análise de danos cromossomais, mapeamento genético, toxicologia molecular, genômica comparativa e diagnóstico de doenças (GUERRA, 2004). Além disso, pode ser aplicada em detecção de microorganismos em ambientes complexos como microbiota intestinal, cavidade oral, infecções do trato respiratório e hemoculturas (MOTER; GOBEL, 2000). O que a torna uma técnica promissora no diagnóstico,

é a combinação da precisão da genética molecular com a informação visual do microscópio de luz (MOTER; GOBEL, 2000; AMANN; FUCHS, 2008).

A técnica de Hibridização *in situ* baseia-se no prinicípio de complementariedade das fitas de DNA, ou seja, a partir de um anelamento da sonda com a sequência alvo, essas sequências são específicas e marcadas com substâncias fluorescentes as quais se anelarão ao alvo para visualização no microscópio de fluorescência. Entende-se por sonda, sequências de DNA isoladas que se encontram no cromossomo uma única vez ou que apresentam milhares de cópias em cada cromossomo. O híbrido sonda/alvo pode ser DNA/DNA, RNA/RNA ou DNA/RNA. Por ser uma metodologia altamente específica, a hibridização *in situ* tem mostrado ser uma das técnicas mais informativas da citologia, sendo aplicada em áreas diversas como a biologia do desenvolvimento, a citotaxonomia, a citogenética clínica e o melhoramento genético.

Um exemplo de aplicação da técnica de FISH em diagnóstico e melhoramento dos conhecimentos de doenças que afetam os animais de companhia foi realizado por Fujino *et al*. (2003). Os autores utilizaram sondas específicas do vírus da leucemia felina para mapear os pontos de inserção deste vírus no genoma de células de linfomas em cultura. No estudo, foram identificados 6 cromossomos com marcações positivas para a inserção do vírus.

5-CONSIDERAÇÕES FINAIS

A citogenética é uma ciência antiga que pode ser aplicada em estudos de base com metodologias relativamente simples e de baixo custo, até estudos de ponta com técnicas mais dispendiosas que envolvem a engenharia genética e o diagnóstico de doenças. Apesar da sua ampla aplicação em estudos com populações naturais e diagnóstico voltado para os seres humanos, as ciências veterinárias não têm utilizado muito os recursos da citogenética. Grande parte disso se deve a falta de formação de recursos humanos com interesse em se especializar nesta área. Assim, a divulgação de estudos em citogenética voltados para as ciências animais é de grande importância para despertar o interesse de profissionais da área e incentivar a especialização de recursos humanos.

6- REFERÊNCIAS

ALLENDORF, F. W.; LEARY, R. F.; SPRUELL, P.; WENBURG, J. K. The problems with hybrids: setting conservation guidelines. Trends in Ecology & Evolution, 16. v.11, p.613-622, 2001.

AMANN, R.; FUCHS, B. M. Single-cell identification by improved FISH. Nature reviews Microbiology, v.6, p.339-348, 2008.

AMARANTEL, M. R. Y.; TSURIBE, P. M.; JORG E. W.; ROCH A. G. P. Chromosome analysis in cattle and horses. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science., São Paulo, v. 37, n. 4, p. 296-298, 2000.

BASRUR P. K., BASRUR V. R. Genes in genital malformations and male reproductive health. Animal Reproduction Science, v.1, p.64-85, 2004.

BERTOLLO, L. A. C.; TAKAHASHI, C. S.; MOREIRA-FILHO, O. Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erythrinidae). Brazilian Journal Genetics, v. 2, p. 17-37, 1978.

COPPOLA, G.; ALEXANDER, B.; DI BERNARDINO, D. S. T.; JOHN, E.; BASRUR, P. K.; KING, W. A. Use of cross-species in-situ hybridization (ZOO-FISH) to asses chromosome abnormalities in day 6 in-vivo- or in-vitro-produced sheep embryos. Chromosome Research, v.15, p.399-408, 2007.

CORREIA, V. C. S.; GARNERO, A.V., SANTOS, L. P.; SILVA, R. R.; BARBOSA, M. O.; BONIFÁCIO, H. L.; GUNSKI, R. J.. Alta similaridade cariotípica na família Emberezidae (Aves: Passeriformes). Bioscience Journal, v. 25, n. 2, p. 99-111, 2009.

DIAS, A. L.; GIULIANO-CAETANO, L. Citogenética de alguns grupos de peixes da bacia do rio Tibagi. In: medri, m. E., bianchini, e., shibata, o. A., pimenta, j.a. (ed). Bacia do Rio Tibagi. Londrina, Paraná: Fundação Araucária,. p. 473 -531,2002.

DUARTE, J. M. B.; GIANNONI, M. L. Karyotype of the little blue macaw *Cyanopsitta spixii* (Psittaciformes, aves). Revista Brasileira de Genética, v.13, n. 1, p. 137-140, 1990.

EPIFANIO, J.; PHILIPP, D. Simulating the extinction of parental lineages from introgressive hybridization: the effects of fitness, initial proportions of parental taxa, and mate choice. Reviews in Fish Biology and Fisheries, v.10. p.339-354,2001.

FERNÁNDEZ; M. F.; OLMOS, B.; OLEA, N. Exposición a disruptores endocrinos y alteraciones del tracto urogenital masculino (criptorquidia e hispopadias). Gaceta Sanitária, v.21, p.500-514, 2007.

FUJINO, Y.; SATOH, H.; HISASUE, M.; MASUDA, K.; OHNO, K.; TSUJIMOTO, H. Detection of the Integrated Feline Leukemia Viruses in a Cat Lymphoid Tumor Cell Line by Fluorescence In Situ Hybridization. Journal of Heredity, v.94, n.3, p.251–255, 2003.

GUERRA,M. Introdução a Citogenética Geral. Guanabara Koogan,142p. 1989.

GUERRA,M., FISH - conceitos e aplicações na citogenética. Ribeirão Preto SP : Sociedade Brasileira de Genética, 2004

GUSTAVSSON I.; ROCKBORN G. Chromosome abnormality in three cases lymphatic leukemia in catlle. Nature, v.203, p.990, 1964.

HAHN, K.A. Chromosomal changes associated with cancer. In: morrison, w.b. (Ed). Cancer in dogs and cats: medical and surgical management. Baltimore: Williams & Wilkins,. p.53-59,1998.

HOSSEPIAN DE LIMA, V. F. M.. Avanços metodológicos na seleção do sexo de espermatozóides bovinos para utilização no melhoramento genético e na produção animal. Revista Brasileira de Zootecnia, v.36, suplemento especial, p.219-228, 2007.

ISSA, É. C.; JORGE, W.; SERENO, J. R. B.. Cytogenetic and molecular analysis of the Pantaneiro cattle breed. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.41, n.11, p.1609-1615, 2006.

KLUNDER, L. R.; MCFEELY, R. A.; BEECH; J.; MCCLUNE, W.; BI-LINSKI, W. F. Autosomal trisomy in a Standard-bred colt. Equine Veterinary Journal, v. 21, p. 69–70, 1989.

KSAHARA, S. Introdução à pesquisa em citogenética de vertebrados. Sociedade Brasileira de Genética, 160p,2009.

LEAR T. L.; BAILEY, E. Equine clinical cytogenetics: the past and future. Cytogenet and Genome Research, v.120, p. 42–49, 2008.

LIOI, M. B.; BARBIERI, R.; BORZACCHIELLO, G.; DEZZI, S.; ROPERTO, S.; SANTORO, A.; RUSSO, V.; ROPERTO, F. Chromosome Aberrations in Cattle with Chronic Enzootic Haematuria. Journal of Comparative Pathology, v.131, p.233–236, 2004.

LUNA. Citogenética clássica aplicada ao monitoramento de germoplasma bovino. Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte, v.36, n.2, p.84-93, abr./jun.2012.

MacEWEN, E. G. Transmissible venereal tumor. In: WITHROW, S. J., MacEWEN, E. G. (Eds). Small animal clinical oncology. 3.ed. Philadelphia: W.B. Saunders, p.651-656, 2001.

MIRANDA, L. L.; LUI, J. F. Citogenética do javali em criatórios comerciais das regiões Sul e Sudeste do Brasil. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 38, n. 11, p. 1289-1295, 2003.

MOTER, A.; GOBEL, U. B. Fluorescence in situ hybridization (FISH) for direct visualization of microorganisms. Journal of Microbiological Methods., v. 41, p. 85–112, 2000.

MUNOZ, MG; MEDINA,R. Citogenetica aplicada a la produccion de ovinos y caprinos. Revista Científica, v.3, n.3, p.283-291, 1993.

NICHOLAS, F. W. Introdução à genética veterinária. 3ª Ed. 2010.

NUNES, R. R. A.; FAGUNDES, V. Cariótipos de oito espécies de anfíbios das subfamílias Hylinae e Phyllomedusinae (Anura, Hylidae) do Espírito Santo, Brasil. Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão, v. 23, p. 21-36, Jun. 2008.

POWER; M. M. Chromosomes of the horse, in McFeely RA (ed): Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine. Domestic Animal Cytogenetics, v. 34, p. 131–167 Academic Press Inc, San Diego, 1990.

ROCHA, G. P. I; JORGE, W.; POLASTRE, R.. O cromossomo Y na raça Chianina no Brasil. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci., V. 37, n. 3, p.249-252, 2000.

TOLEDO-FILHO, S. A.; ALMEIDA-TOLEDO, L. F.; FORESTI, F.; CALCAGNOTTO, D.; SANTOS, S. B. A. F.; e BERNARDINO G. Programas genéticos de seleção, hibridação e endocruzamento aplicados à piscicultura: Cadernos de Ictiogenética, v. 4, São Paulo, CCS/USP, 1998.

TURRA, E. M. Oliveira, D. A. A. TEIXEIRA, E. A. Luz, R. K. PRADO, S. A. MELO, D. C. FARIA, P. M. C. SOUSA, A. B. Controle reprodutivo em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) por meio de

manipulações sexuais e cromossômicas. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v.34, n.1, p.21-28, 2010.

VARASCHIN, M. S. et al. Tumor venéreo transmissível canino na região de Alfenas, Minas Gerais; formas de apresentação clínico-patológicas. Clin. Vet., São Paulo, v.6, n.32, p.332-338, 2001.

WEISS, L. A.; ZANIBONI-FILHO, E. Survival of diploid and triploid *Rhamdia quelen* juveniles in different ammonia concentrations. Aquaculture, v.298, p.153–156, 2009.

Capítulo 22- Desafios farmacêuticos no desenvolvimento de produtos veterinários

Villanova, J.C.O.[1]; Guedes, R.A.[2]; Severi, J.A.[1]

INTRODUÇÃO

O segmento fabricante de produtos veterinários no Brasil passa por um momento de profundas mudanças dado a necessidade de desenvolvimento de medicamentos que agreguem melhor eficácia terapêutica, custo adequado, facilidade de administração e, ao mesmo tempo, requisitos que atendam às exigências para fins de registro junto ao Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Um fator que estimula o crescimento de pesquisas e investimentos no setor é a preocupação com a segurança dos alimentos e, consequentemente, com o nível de resíduos de fármacos permitidos em produtos alimentícios de origem animal, nomeadamente, na carne, leite, ovos, pescado e mel. Além de assegurar a sanidade animal, fornecer segurança aos consumidores são fatores que justificam o desenvolvimento de estratégias inovadoras para a terapêutica veterinária (PRIETSCH et al., 2014).

De acordo com o MAPA, são definidos como produtos de uso veterinário tanto os fármacos de origem química, biológica ou biotecnológica, como os medicamentos, cuja administração individual ou coletiva, objetiva proteger, restaurar ou modificar as funções orgânicas e fisiológicas dos animais. A administração pode ocorrer de forma direta ou indireta e os produtos são destinados a prevenir, diagnosticar, curar ou tratar as doenças dos animais. Ainda, compreendem-se nesta definição, produtos destinados à aplicação no *habitat* ou em equipamentos, produtos destinados ao embelezamento e higiene dos animais e, aditivos melhoradores da produção animal. Portanto, de maneira genérica, são ditos produtos de uso veterinário, os fármacos (princípios ativos ou substâncias que exercem o efeito terapêutico), os medicamentos propriamente ditos (preparados a partir dos fármacos e demais componentes das fórmulas), os cosméticos (produtos para higiene e embelezamento), os produtos de uso no ambiente (saneantes) e, os dispositivos de uso veterinário (como as coleiras antipulga).

Uma vez que o tema é amplo, serão abordadas no presente capítulo informações a respeito do desenvolvimento de medicamentos de uso veterinário. Neste contexto, alguns termos empregados para designá-los devem ser previamente definidos. São eles: medicamento tradicional, sistema de liberação de fármacos e sistema de liberação de fármacos de desempenho terapêutico avançado. Medicamentos tradicionais são caracterizados por apresentarem liberação imediata do fármaco, que exercerá sua ação local ou sistemicamente, em um curto espaço de tempo após a administração. Neste caso, a concentração plasmática permanecerá dentro da janela terapêutica por um período curto, requerendo a administração de nova dose (ALLEN, POPOVICH, ANSEL, 2013). Os medicamentos inovadores são os sistemas de liberação de fármacos (SLFs), desenvolvidos para prolongar o tempo de liberação do fármaco, sustentar sua concentração plasmática e controlar a sua localização temporal e espacial *in vivo*. Já os SLFs de desempenho terapêutico avançado serão considerados os sistemas micro e nanoparticulados. O termo forma farmacêutica também será amplamente utilizado, pois, refere-

[1]Professora Adjunto A do Departamento de Farmácia e Nutrição - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias. e-mail: pharmacotecnica@yahoo.com.br
[2]Aluna especial do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias.

se às diferentes formas físicas nas quais os medicamentos podem ser apresentados, possibilitando sua administração (ALLEN, POPOVICH, ANSEL, 2013).

2. Considerações sobre a farmacocinética e a biodisponibilidade dos fármacos

Assim como os medicamentos para uso em humanos, os medicamentos para uso veterinário são subdivididos em categorias, de acordo com o efeito terapêutico esperado para os fármacos neles incluídos: biológicos, antimicrobianos, dermatológicos, parasiticidas (ectoparasiticidas, endoparasiticidas e endectocidas), desinfetantes, terapêuticos e outros farmacêuticos. Uma classificação comum para os medicamentos é a que os distribui consoante os grupos animais a que se destinam: bovinos, suínos, equinos, aves, pequenos animais e outros animais (TIWARI, MITKARE, BHANGALE, 2014). Apesar das classificações aparentemente mais simples, produtos de uso veterinário são tão complexos quanto os destinados aos humanos.

Para que um fármaco exerça sua ação, três fases devem ser cumpridas após administração da dose: 1ª. fase farmacêutica; 2ª. fase farmacocinética; e, 3ª. fase farmacodinâmica (Figura 1).

Na fase farmacêutica, quando o medicamento é administrado por qualquer via diferente da intravenosa, deve ocorrer a desintegração ou diluição da forma farmacêutica administrada para que ocorra a dissolução e/ou a disponibilização do fármaco no organismo. Na forma dissolvida, o fármaco estará disponível para ser absorvido, distribuído, biotransformado e eliminado (fase farmacocinética). Em seguida, para as moléculas de ação estruturalmente específica, ocorrerá a interação fármaco-receptor, com consequente produção do efeito terapêutico (fase farmacodinâmica). Portanto, para que ocorra o sucesso da farmacoterapia, faz-se necessário que o fármaco seja disponibilizado a partir da unidade posológica administrada, de maneira adequada. A garantia de que isto acontecerá, deve-se ao delineamento de formulações apropriadas, o que demanda conhecimento nas áreas de farmacologia, biofarmácia e farmacotécnica (HANG et al., 2011).

O estudo da farmacocinética permite correlacionar a concentração orgânica do fármaco com o tempo e, deste modo, permite estimar a dose segura a ser administrada para cada espécie animal. A partir da compreensão dos eventos farmacocinéticos é possível estabelecer a relação dose *versus* resposta e a frequência de administração, ou seja, a posologia do tratamento. Na extrapolação alométrica, a dose e a frequência de administração são definidas a partir do peso do animal e de dados conhecidos de outras espécies. Contudo, a ocorrência das particularidades inter e intra-espécies, explicada por razões como diferenças anatômicas, fisiológicas, comportamentais e genéticas, dificulta a possibilidade de extrapolação não somente de doses mas, também, dos próprios fármacos (RATHBONE, GURNY, 2000).

Existem na literatura inúmeros relatos sobre insucessos no tratamento em decorrência das diferenças entre as espécies, em função de variáveis metabólicas ou anatômicas. Gatos possuem predisposição para o desenvolvimento de sarcomas induzidos por vacinas devido à propensão da espécie à formação de reações fibrogranulomatosas locais. Em aves, a administração de medicamentos deve ser realizada, preferencialmente, pela via intramuscular, na parte anterior ou superior do corpo, já que a presença do sistema porta-renal faz com que o sangue da região caudal ou inferior do organismo seja drenado para os rins, o que pode diminuir a biodisponibilidade dos fármacos.

A maioria dos quadros de intoxicação por salicilatos em felinos resulta da administração de doses indicadas para cães, que é de 25 mg/Kg. A meia-vida plasmática do ácido acetil salicílico, após administração de uma única dose, é 44,6 horas em gatos e de 7,5 horas em cães. Como demoram para ser biotransformadas e eliminadas do organismo, as doses subsequentes acumulam-se e causam toxicidade. Neste caso, a dose segura é de 10,5 mk/Kg, a cada 48 horas (TILLEY e SMITH, 2003). Casos de óbito em cavalos expostos à monensina, um

coccidiostático ionóforo administrado em com sucesso em aves, são relatados e estão associados à incapacidade dos equinos em desmetilar compostos que não são substratos do citocromo CYP2D. A biodisponibilidade relatada para a selamectina, um ectoparasiticida de uso tópico, é de 5% em cães e de 75% em gatos. A grande diferença entre as espécies pode ser atribuída também ao hábito dos gatos de se lamberem e ingerirem parte da dose administrada topicamente (NEBBIA et al., 2001).

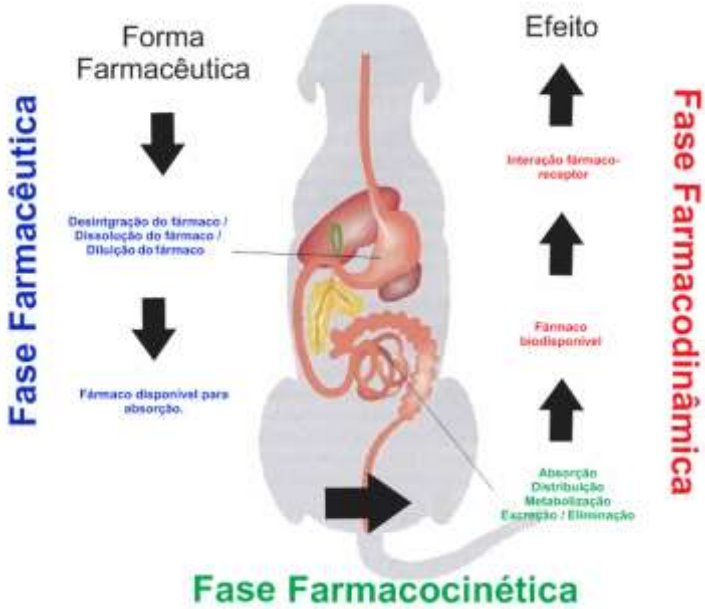

Figura 1. Representação esquemática das principais etapas de ação dos fármacos

A Biofarmácia é a ciência que estuda a biodisponibilidade dos fármacos. É uma das áreas que mais possui pesquisas na atualidade, pois, define as informações necessárias para o desenvolvimento de novos fármacos e de novas formas farmacêuticas. A biofarmácia correlaciona as propriedades físicas e químicas da molécula do fármaco, a forma farmacêutica na qual está incluída e os efeitos farmacocinéticos e farmacodinâmicos no organismo. Por biodisponibilidade entende-se a velocidade e a extensão na qual um fármaco é absorvido e encontra-se disponível no sítio de ação. Os mesmos fatores interferem na biodisponibilidade tanto em humanos como em animais, cabendo citar as variações das espécies, a via de administração, a dose, a presença de patologias associadas e os fatores intrínsecos da forma farmacêutica. Dentre estes últimos, o tipo e a quantidade de excipientes presentes nas formulações e, as proriedades físicas do fármaco, são os principais. É fundamental conhecer a solubilidade em água e em outros solventes farmacêuticas, a granulometria, a morfologia das partículas e a existência de polimorfismo dos fármacos propostos (BAGGOT, 1992; SHARGE, YU, 1999).

3. Medicamentos industrializados e manipulados

Os medicamentos de uso veterinário podem ser industrializados ou manipulados. Os medicamentos industrializados são produzidos em parques fabris em grandes quantidades e utilizando equipamentos que têm capacidade para fabricar lotes de até milhares de unidades. Todas as unidades de um mesmo lote possuem a mesma dose, ou seja, a mesma quantidade de fármaco, de modo a serem utilizados por um grande número de animais. Estes medicamentos possuem embalagens padronizadas, com rotulagem contendo dizeres obrigatórios sobre o fabricante, lote, data de fabricação e validade, entre outras informações. Os dados sobre indicação, uso, efeitos colaterais, contra-indicações e cuidados de conservação estão contidos nas bulas. Os medicamentos industrializados possuem um prazo de validade extenso uma vez que é fundamentado em estudos de estabilidade (KAYNE, JEPSON, 2004).

A principal diferença entre estes produtos e os manipulados recai sobre a personalização destes últimos. Estes são preparados em Farmácias Magistrais licenciadas pelo MAPA e são manipulados para atender a uma prescrição, em quantidade suficiente para suprir as necessidades específicas de cada tratamento. A concentração do fármaco, bem como o tipo e a quantidade dos demais componentes das fórmulas são definidos respeitando a posologia, porte, peso e demais variáveis fisiológicas inerentes a cada espécie. Como é preparado para atender às necessidades específicas de determinada prescrição, o prazo de validade do medicamento manipulado está vinculado ao período de tratamento. Todas as informações pertinetes ao produto manipulado devem estar contidas nos rótulos, a saber: responsável técnico pela farmácia, composição qualitativa da fórmula, uso, posologia, data de manipulação e validade (QUEIROZ, BATISTA, 2004).

A manipulação de medicamentos veterinários se torna de grande importância, principalmente, quando não existem produtos comercialmente disponíveis, requerendo o uso de produtos para humanos ou fracionamento de doses, dificultando ou impossibilitando a administração pelo dono. Cabe ressaltar que o MAPA proíbe a manipulação e dispensação de preparações magistrais para uso em quaisquer espécies utilizadas na alimentação humana, bem como de produtos veterinários de natureza biológica, conforme determinado na Instrução Normativa número 11 de 2005 (BRASIL-MMA, 2005). Porém, além de manter a saúde e a produtividade de rebanhos e, a sanidade dos alimentos, a medicina veterinária é responsável pela manutenção da saúde e bem-estar também dos animais domésticos (animais de companhia, *pets* ou pequenos animais) e dos animais exóticos (zoológicos). Por isto, é crescente o número de Farmácias Magistrais que manipulam medicamentos de uso veterinário para animais de companhia bem como o interesse de médicos veterinários em prescrevê-los.

4. Formas farmacêuticas e vias de administração

A escolha da forma farmacêutica para veiculação dos fármacos depende, principalmente, das propriedades físicas destas substâncias, anteriormente descritas. Outros parâmetros a serem avaliados são a quantidade de fármaco (grande ou pequena) no medicamento, o gosto do fármaco (ácido, doce, amargo ou salgado), a ação pretendida (local ou sistêmica), a espécie animal que fará uso do produto final e a possibilidade de administração pelo próprio proprietário.

As formas farmacêuticas são classificadas em sólidas, líquidas, semissólidas, sólido-plásticas e gasosas. Formas farmacêuticas sólidas convencionais destinadas a uso veterinário são os pós, comprimidos, cápsulas e tabletes. Os pós podem ser pulverizados sobre a comida a ser ingerida. Os bolos e os biscoitos são formas sólidas consideradas alternativas, administradas quando os animais rejeitam as formas sólidas convencionais. Os gatos, por exemplo, preferem medicamentos preparados na forma de biscoitos flavorizados com sabor peixe. Já os cães,

aceitam bem os comprimidos pequenos, colocados diretamente no fundo da cavidade bucal. Em aves, existe a tendência dos medicamentos sólidos ficarem armazenados no papo, juntamente com os alimentos. Neste caso, as formas sólidas podem ser dispersas em água para garantir que toda a dose administrada seja ingerida. Todas as formas farmacêuticas sólidas são administradas pela via oral, sendo que os comprimidos podem ser de uso intravaginal e os pós podem ser atomizados pela via pulmonar.

As formas farmacêuticas líquidas são as soluções (aquosas ou oleosas) e as suspensões. As preparações líquidas podem ser administradas pela maioria das vias de administração: oral, tópica, oftálmica, nasal, otótica, intravenosa (exceto soluções oleosas e suspensões), subcutânea, intramamária, intramuscular ou intrarruminal, com ou sem o auxílio de dispositivos dosadores como as seringas, pistolas, cânulas, garrafas e aspersores. Soluções são também utilizadas para banhos de imersão e em sistemas de aspersão *pour on*. Quando o animal é destinado à alimentação, prefere-se uma via de administração diferente da intramuscular, para evitar a presença de resíduos de fármacos ou danos nos músculos, principalmente se o tratamento é de longa duração e/ou as doses são elevadas. A via de escolha para substituir a intramuscular é a subcutânea. Em ambas formam-se depósitos dos fármacos após administração e, respostas inflamatórias a longo prazo podem ocorrer. Também é comum o uso de soluções pela via pulmonar: as gotículas líquidas são atomizadas por aerossolização ou nebulização e alcançam diretamente as vias aéreas superiores. Fármacos sólidos, insolúveis em água, podem ser incorporados em suspensões para administração pela via oral ou intramamária. Vitaminas lipossolúveis podem ser adicionadas aos óleos vegetais para a preparação de soluções oleosas orais (MEDLICOTT, WALDRON, FOSTER, 2004; RIVIERE, 2007).

As formas farmacêuticas semissólidas são representadas pelas emulsões, géis, pastas, e pomadas. Unguentos veterinários nada mais são que pomadas aplicadas com o auxílio de fricção e massagens. Os produtos semissólidos são, preferencialmente, de uso tópico, visando ação local ou sistêmica. A grande vantagem da administração tópica é evitar que os fármacos sofram os efeitos da eliminação pré-sistêmica, reduzindo a dose administrada e suprimindo a possibilidade de ocorrência de efeitos adversos. A integridade da pele, a extensão do local de aplicação, bem como a presença de promotores de penetração nas formulações, influencia no sucesso do tratamento. A principal desvantagem é que os medicamentos podem ser retirados por lambedura (em pequenos animais) ou por ação da chuva (em grandes animais e rebanhos) (MAGNUSSON, WALTERS, ROBERTS, 2001). Para evitar a lambedura, o uso de colares, coletes, bandagens ou focinheiras, ou, a adição de componentes amargos nos produtos pode ser útil em casos de tratamentos por longos períodos, uma vez que a maioria dos animais não tolera este sabor e não irão lamber o local da aplicação. Géis transdérmicos são úteis para a administração de fármacos de ação sistêmica em animais de estimação com dificuldade de deglutição, em decorrência do pequeno volume da cavidade oral. Preparações semissólidas podem ser administradas por outras vias. As pastas orais, por exemplo, podem ser úteis para administrar fármacos em equinos: cavalos aceitam pastas flavorizadas com maçã, aplicadas com seringa na cavidade oral. Vitaminas lipossolúveis podem ser incorporadas em emulsões tanto de uso oral como intramuscular.

As formas farmacêuticas sólido-plásticas são os supositórios de uso retal e vaginal. A via intravaginal apresenta a facilidade de aplicação e remoção da forma farmacêutica, sendo a via de escolha para a administração de hormônios e outros poucos fármacos que precisam apresentar características específicas como rápida absorção, baixa dose, solubilidade mínima nos fluidos vaginais e não serem irritantes para a mucosa vaginal, o que restringe as possibilidades. Após inserção, é desejável que o implante sofra expansão e permaneça retido. Materiais como poliuretano, polipropileno, silicone, borracha e metais, são empregados na fabricação destes dispositivos. Já as formas farmacêuticas gasosas são destinadas à

administração de fármacos pela via pulmonar, comum para o tratamento de infecções das vias aéreas superiores e em processos que requerem anestesia e sedação.

Além de permitir a administração pela via adequada, a escolha de uma forma farmacêutica acertada contribui para facilitar a adesão do animal ao tratamento (*compliance*) e, consequentemente, para o sucesso da farmacoterapia. A prática de triturar e/ou misturar os medicamentos nos alimentos tem como principal limitação a ingestão de somente parte da dose prescrita e, muitas vezes, o animal não permite que o proprietário administre o medicamento diretamente na boca. Neste sentido, o sabor, o cheiro, a textura e até mesmo o formato da preparação exercerão influência para a tomada do medicamento e de toda a dose necessária. Comprimidos e tabletes com formatos variáveis (osso, cenoura, peixe) encontram-se disponíveis comercialmente ou podem ser manipulados (PAYNE-JOHNSON et al., 2006; PAYNE-JOHNSON et al., 2007; PETRY, FOURIE, WOLKEN, 2014). As formulações orais sólidas, semissólidas e líquidas contêm flavorizantes diversos, conforme a preferência da espécie. Cachorros aceitam flavorizantes de carne, frango, queijo chedar, fígado, morango e manteiga de amendoim. Gatos gostam de atum, franco, carne e manteiga de amendoim. Cavalos preferem maça, mel, caramelo e cereja. Pássaros aceitam uva, tutti-frutti e laranja (TIWARI, MITKARE, BHANGALE, 2014). Outros excipientes que tornam as formulações palatáveis para os animais são sacarose, lactose, amido, xarope de milho, entre outros.

5. Sistemas de liberação de fármacos - SLFs

Existem inúmeras similaridades entre as indústrias de medicamentos para humanos e animais, entre elas, a presença global de ambas, o envolvimento de aspectos regulatórios, a competitividade pelo mercado e a necessidade de determinação da eficácia e segurança dos produtos propostos. A principal diferença entre os setores é o maior custo global envolvido no desenvolvimento do medicamento veterinário, já que as formulações são complexas e diversificadas, exigindo investimentos equivalentes ou superiores em pesquisa. Enquanto os ensaios de eficácia e segurança para produtos de uso em humanos são demorados e caros, envolvendo inúmeras fases, em animais os mesmos são estabelecidos em espécies alvos, em um menor período (AHMED, KASRAIAN, 2002).

O delineamento de formas farmacêuticas inovadoras é prática constante nos setores de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação (PD&I) dos laboratórios farmacêuticos. Fármacos de uso consagrado possuem perfis farmacológicos e toxicológicos já bem conhecidos e descritos na literatura. Tal fato, aliado ao alto custo envolvido no desenvolvimento de uma nova molécula e ao enorme tempo dispendido para que esta dê origem a um novo medicamento, com uso e comercialização aprovados, faz da inclusão de fármacos já conhecidos em sistemas de liberação de fármacos, uma alternativa viável (ALLEN, POPOVICH, ANSEL, 2013).

Apesar dos produtos destinados ao uso em animais requererem estratégias de liberação que atendam às diferentes necessidades fisiológicas e anatômicas dos pacientes veterinários, a descoberta de novas formas farmacêuticas contendo fármacos já conhecidos é objeto de interesse de pesquisadores nas áreas acadêmica e da indústria (AHMED, KASRAIAN, 2002).

Neste sentido, a otimização do desempenho de fármacos já disponíveis no arsenal terapêutico torna-se objeto de constantes estudos na área farmacêutica, tanto para uso em humanos como em animais. Outros fatores que justificam o interesse em desenvolver medicamentos baseados em sistemas de liberação de fármacos para animais são: (*i*) a necessidade de administração contínua sem causar *stress* nos animais por manipulação extensa; (*ii*) eliminação da prática de injeções repetidas; (*iii*) conhecer a quantidade de fámaco ingerida, contornando o problema da medicação misturada à comida ou água; (*iv*) diminuição da exposição humana durante administrações coletivas ou na comida; (*v*) redução dos custos do

tratamento a longo prazo; e (*vi*) menor trabalho e tempo em casos de grandes rebanhos (SWARBRICK, 2004; ROTHEN-WEINHOLD, DAHN, GURNY, 2000; RATHBONE, 2012).

Na literatura, é comum o emprego de várias denominações para os sistemas de liberação de fármacos, tais como liberação sustentada, liberação controlada, liberação prolongada e liberação estendida. Porém, todos estes são sinônimos e referem-se aos produtos capazes de prolongar o tempo de liberação do fármaco e de modular sua concentração plasmática em função do tempo, reduzindo o número de tomadas, diminuindo a ocorrência de problemas de biodisponibilidade e, melhorando a adesão à farmacoterapia. Devem ser diferenciados destes, os sistemas de liberação de doses múltiplas – aqueles que contêm mais de uma dose, liberadas uma de cada vez; os sistemas de liberação retardada – aqueles que liberam o fármaco rapidamente, mas, em local diferente do convencional; e, os sistemas de liberação programada – a liberação é controlada magneticamente ou eletronicamente (SWARBRICK, 2004; ALLEN, POPOVICH, ANSEL, 2013).

Os sistemas de liberação de fármacos podem ser obtidos na forma de comprimidos, géis transdérmicos, adevisos, suspensões, emulsões, implantes e dispositivos veterinários, preparados como sistemas matriciais, reservatórios e bomba osmótica, principalmente. Os mecanismos que controalam a liberação do fármaco são a erosão, a difusão, a degradação seguida de erosão e a pressão osmótica. Os SLFs podem ser administrados pelas vias convencionais e, os principais fármacos de uso veterinário incorporados nas formas farmacêuticas são antibióticos, antiparasitários, hormônios, promotores de crescimento e suplementos para aumento da produtividade (CARDINAL, 1985; RATHBONE, GURNY, 2000; RATHBONE, 2012).

Dentre os SLFs de desempenho terapêutico avançado, desenvolvidos ao longo dos últimos 70 anos, produtos micro e nanoparticulados são cada vez mais explorados em vista da grande efetividade terapêutica, seja no campo de saúde humana ou animal. A principal vantagem destes sistemas é que os mesmos podem carrear os fármacos para sítios específicos no organismo, como tecidos ou órgãos, reduzindo a toxicidade para células saudáveis e diminuindo a possibilidade do aparecimento de reações adversas. Assim, a dose administrada pode ser diminuída em comparação com as formas farmacêuticas convencionais e outros SLFs e, a biodisponibilidade pode ser aumentada. As micro e nanopartículas aão constituídas por materiais biodegradáveis, como polímeros (sintéticos ou naturais), lipídeos, fosfolipídeos ou, até mesmo, metais. A classificação destas é feita de acordo com as dimensões das partículas: as que apresentam diâmetro menor que 1 µm são denominadas nanopartículas, enquanto as que apresentam diâmetro maior ou igual a 1 µm são denominadas micropartículas (SWARBRICK, 2004).

O emprego do termo micro/nanopartículas contempla ainda dois tipos de estruturas diferentes: as esferas e as cápsulas, ambos podendo apresentar dimensões micro (microesferas/microcápsulas) e nano (nanoesferas/nanocápsulas). Denominam-se esferas os sistemas em que a substância ativa encontra-se homogeneamente dispersa no interior de uma matriz polimérica sólida. Este polímero forma uma rede tridimensional, que irá reter a substância ativa por adsorção (forças intermoleculares) ou mediante ligação covalente desta na superfície da partícula, podendo formar sistemas de dissolução, dispersão ou sistemas porosos. As cápsulas, por sua vez, são pequenas partículas compostas por uma cavidade central denominada núcleo, que contêm a substância ativa e um material polimérico de revestimento, que circunda a região central. O material do núcleo pode ser um líquido ou um constituinte sólido. Ambos os sistemas, irão promover a liberação controlada de fármacos ou substâncias biologicamente ativas, sejam elas hidrofílicas ou hidrofóbicas. As nanopartículas, nanocápsulas, lipossomas, micelas e nanoemulsões são exemplos de alguns dos avanços resultantes de pesquisas no campo de SLFs, já estando presentes em produtos contemporâneos para o cuidado da saúde humana e animal em países do mundo todo (COUVREUR et al., 1995).

As nanopartículas poliméricas são preparadas por meio da combinação da substância ativa com um polímero (naturais ou sintéticos) de natureza adequada à finalidade de aplicação, que podem assumir uma grande variedade de formas, desde nanoesferas até dendrímeros (Figura 2a). Os componentes ativos são convenientemente dissolvidos, aprisionados ou adsorvidos à superfície destas nanopartículas poliméricas. Nanopartículas sólido-lipídicas são compostas de lipídios que se apresentam sólidos à temperatura ambiente, estabilizados por um tensoativo e suspendidos em uma solução aquosa. São produtos que exibem mais vantagens, se comparados aos materiais poliméricos. Por exemplo, podem apresentar maior eficácia de encapsulamento de ativos, podem ser administrados por múltiplas vias (oral, tópica e intravenosa), exibem maior eficácia para atingir o Sistema Nervoso Central, dado sua natureza lipofílica, conferem maior estabilidade aos fármacos lipossolúveis, além de não utilizar solventes orgânicos na sua produção, dentre outros aspectos (SOUTO, DOKTOROVÁ, 2009).

Os lipossomas consistem de pequenas vesículas esféricas compostas por uma ou mais bicamadas fosfolipídicas, envolvendo um centro aquoso (Figura 2b). Trata-se de um SLF altamente versátil, capaz de carrear tanto substâncias hidrofóbicas quanto hidrofílicas. Podem ser conjugados com anticorpos e ligantes, além de ter seu tamanho, número de bicamadas fosfolipídicass, composição lipídica, características e carga da superfície projetadas para otimizar sua adequação ao tipo de utilização. São adequados para aplicação tópica, administração intramuscular e intravenosa. Encontram-se disponíveis comercialmente produtos destinados ao uso em muitas espécies animais, tais como, gato, cachorro, porco, cavalo, ovelha, pássaros, etc. Apesar da importância, algumas limitações do uso de lipossomas recaem sobre problemas de estabilidade apresentado por certas formulações, pela observação de reações adversas sobre o sistema cardiovascular, respiratório, trato genitourinário, alergias e restrições de uso por via oral, já que as bicamadas lipídicas são bastante suscepíveis à degradação pelo ácido estomacal (SCHROEDER et al., 2009).

Emulsões são sistemas heterogêneos, instáveis, constituídos pela mistura de dois líquidos imiscíveis, em que um está disperso no outro na forma de gotículas. Micro e nanoemulsões são obtidas por reação de emulsificação, na qual ocorrerá a dispersão das minúsculas gotículas oleosas em uma fase aquosa externa, estabilizada por um sistema tensoativo (Figura 2c). Ocorre a formação de um filme na interface óleo-água, impedindo a coalescência das gotículas. Apresentam-se como líquidos de aspecto leitoso, reduzido diâmetro de gotícula e baixa viscosidade, sendo que o fármaco veiculado encontra-se preferencialmente disperso no núcleo oleoso. São preparações de baixo custo, fácil preparo, boa estabilidade e útil para uso oral e em sistemas transdérmicos. Além disso, ao contrário das microemulsões que geralmente exigem elevadas concentrações de tensoativos, o que em muitos aspectos inviabiliza a aplicação farmacêuticas destes sistemas, as nanoemulsões podem ser preparadas utilizando-se concentrações bastante reduzidas (WADHWA et al., 2012).

Outra estratégia importante para o aumento da solubilidade de fármacos em SLFs é a incorporação em micelas poliméricas. Micelas poliméricas apresentam uma estrutura coloidal de composição única, caracterizado por um núcleo hidrófobo que é estericamente estabilizado por uma camada hidrófila (Figura 2d). Estas estruturas podem ser vantajosas devido a possibilidade de liberação prolongada no sangue, ao fato de não se acumularem a longo prazo, terem alta solubilidade em água e alta estabilidade química, podendo formar microdepósitos no núcleo hidrófobo, onde os ativos são solubilizados e protegidos da degradação enzimática. Entretanto, as micelas são muito dinâmicas com relação à continua troca com as unidades de monômeros entre a estrutura da micela e as unidades livres em solução (FLORENCE, ATWOOD, 1998).

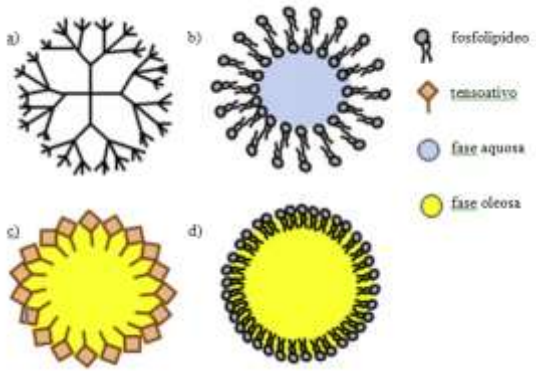

Figura 2. Representação esquemática de (a) partícula polimérica, (b) lipossoma, (c) nanoemulsão e (d) micela (UNDERWOOD, EPS, 2012).

6. CONSIDERAÇÕES Finais

O interesse no estudo das formas farmacêuticas de uso veterinário é crescente, tanto no âmbito magistral quanto no industrial. A preparação de medicamentos convencionais bem como de produtos inovadores é sempre um desafio ao formulador, seja para garantir a adesão do animal ao tratamento ou para tornar a farmacoterapia mais eficaz. Na atualidade, existem inúmeras formas farmacêuticas de liberação modificada disponíveis na terapêutica veterinária, as quais utilizam tanto tecnologia já bem delineadas, quanto ferramentas mais complexas e inovadoras. No entanto, até o presente, continua sendo um desafio à expansão da nanotecnologia de produtos farmacêuticos transpor a barreira que existe entre a abordagem experimental e clínica. Diante de inúmeros aspectos, ainda é de grande relevância trabalhos que esclareçam, por exemplo, os mecanismos de interações biológicas existentes entre estes materiais e os respectivos alvos terapêuticos, bem como os riscos toxicológicos associados ao uso crônico dos SLFs por diferentes espécies animais. Neste sentido, a colaboração entre várias disciplinas, incluindo as que versam sobre saúde humana e animal, engenharia e ciência dos materiais será fundamental para ampliar o arsenal terapêutico e sua aplicabilidade para uso veterinário. Embora ainda não tenha ocorrido nehuma revolução, as nanopartículas estão mudando seu caminho para o domínio veterinário, e é provável que continue a fazê-lo no futuro bastante próximo.

7. REFERÊNCIAS

AHMED, I.; KASRAIAN, K. Pharmaceutical challenges in veterinary product development. Advanced Drug Delivery Reviews, v.54, p.871-882, 2002.

ALLEN, L.V.; POPOVICH, N.G.; ANSEL, H.C. Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos. 9ª ed. Porto Alegre: Artmed. 2013.

BAGGOT, J.D. Bioavailability and bioequivalence of veterinary drug dosage forms. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, v.15, p.160-173, 1992.

BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa n° 11 de 8 de junho de 2005. Brasília: Diário Oficial da União.

CARDINAL, J.R. Controlled drug delivery: veterinary applications. Journal of Controlled Release, v.2, p.393-403, 1985.

COUVREUR P., DUBERNET C., PUISIEUX F. Controlled drug-delivery with nanoparticles current possibilities and future-trends. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, v.41, p.2-13, 1995.

FLORENCE A.T., ATTWOOD D. Physicochemical principles of pharmacy. 3ª. Hampshire: Macmillan Press, 1998.

HANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M; MOORE, P.K. Farmacologia. Rio de Janeiro: Elsevier, 7ª ed. 2003.

KAYNE, S.B.; JEPSON, M.H. Veterinary pharmacy. London: Pharmaceutical Press, 2004, 606p.

NEBBIA, C.; CEPPA, L.; DACASTO, M.; NACHTMANN, C.; CARLETTI, M. Oxidative monensin metabolism and cytochrome P450 3A content and functions in liver microsomes from horses, pigs, broiler chicks, cattle and rats. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, v. 24, n. 6, p. 399–403, 2001.

MAGNUSSON, B.M.; WALTERS, K.A.; ROBERTS, M.S. Veterinary drug delivery: potential for skin penetration enhancement. Advanced Drug Delivery Reviews, v.50, p.205–227, 2001.

MEDLICOTT, N.J.; WALDRON, N.A.; FOSTER, T.P. Sustained release veterinary parenteral products. Advanced Drug Delivery Reviews, v.56, p.1345–1365, 2004.

PAYNE-JOHNSON, M.; MAITLAND, T.P.; BULLARD, J.; GOSSELLIN, J. Comparative palatability of three commercial formulations of carprofen and one commercial formulation of firocoxib in dogs. Revue de Médecine Vétérinaire, v.157, p.431-440, 2006.

PAYNE-JOHNSON, M.; MAITLAND, T.N.; GOSSELLIN. J. An evaluation of the relative palatability of two commercial oral tablet formulations of carprofen and meloxicam in dogs using acceptance and preference tests. Revue de Médecine Vétérinaire, v.158, p.519-524, 2007.

PETRY, G.; FOURIE, J.; WOLKEN, S. Comparison of the palatability of a new flavoured Drontal® Plus Tablet (Drontal® Plus Treat 10 kg) and Milbemax® Chewable Tablets when presented to privately owned dogs. Open Journal of Veterinary Medicine, v.4, p.163-169, 2014.

PRIETSCH, R.F.; PEREIRA, R.A.; BRAUNER, C.C.; RABASSA, V.R.; CORRÊA, M.N.; DEL PINO, F.B. Formas farmacêuticas de liberação modificada utilizadas em ruminantes: uma revisão. Science and Animal Health, v.2, n.1, p.3-26, 2014.

QUEIROZ, F.F.B.; BATISTA, M.E. Manual prático veterinário para manipulação de medicamentos. Tecmedd, 2004. 158 p.

RATHBONE, M.J. Delivering drugs to farmed animals using controlled release science and technology. International e-Journal of Science, Medicine & Education, v.6, supl.1, p.S118-S128, 2012.

RATHBONE, M.J.; MACMILLAN, K.L.; BURGGRAAF, S.; BUNT, C.R. Conceptual and commercially available intravaginal veterinary drug delivery systems. Advanced Drug Delivery Reviews, v.28, p.363–392, 1997.

RATHBONE, M.J.; GURNY, R. Controlled release veterinary drug delivery: biological and pharmaceutical considerations. Amsterdam: Elsevier. 2000.

RATHBONE, M.J.; BRAYDEN, D. Controlled release drug delivery in farmed animals: commercial challenges and academic opportunities. Current Drug Delivery, v.6, p.383-390, 2009.

RIVIERE, J.E. The future of veterinary therapeutics: a glimpse towards 2030. The Veterinary Journal, v.174, p.462–471, 2007.

ROTHEN-WEINHOLD, A.; DAHN, M.; GURNY, R. Formulation and technology aspects of controlled drug delivery in animals. Pharmaceutical Science & Technology Today, v.3, n.7, p.222-231, 2000.

SHARGEL, L.; YU, A.B.C. Applied biopharmaceutics and pharmacokinetics. 4nd ed., Appleton & Lange. 1999.

SCHROEDER, A.; KOST, J.; BARENHOLZ, Y. Ultrasound, liposomes, and drug delivery: principles for using ultrasound to control the release of drugs from liposomes. Chemistry and Physics of Lipids, v.162, n.1–2, p.1-16, 2009.

SOUTO, E.B., DOKTOROVOVÁ, S. Solid lipid nanoparticle formulations: pharmacokinetic and biopharmaceutical aspects in drug delivery. Methods in Enzymology, v.464, p.105–129, 2009.

SWARBRICK, J. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology. 2nd ed, New York: Marcel Dekker . 2004.

TIWARI, S.; MITKARE, S.; BHANGALE, P. Veterinary dosage forms: review. International Journal of Applied Pharmaceutics, v.6, n.1, p.20-29, 2014.

TILLEY, L.P., SMITH J.R, F.W.K. Consulta Veterinária em cinco minutos: espécies caninas e felinas. 2ª ed. São Paulo: Editora Manole, 2003. 1423p.

UNDERWOOD, C.; EPS, A.W.V. Nanomedicine and veterinary science: the reality and the practicality. The Veterinary Journal, v.193, p. 12–23, 2012.

WADHWA, J.; NAIR, A.; KUMRIA, R. Emulsion forming drug delivery system for lipophilic drugs. Acta Poloniae Pharmaceutica, v.69, n.2, p. 179-91, 2012.

Capítulo 24- Principais características biológicas de *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) e sua helmintofauna no Brasil

Binoti, E.[1]; Cuzzuol, M.G.[1]; Calais Junior, A. de[1]; Martins. I.V.F.[2]; Boeloni, J.N.[2]

INTRODUÇÃO

As tartarugas marinhas são animais da classe Reptilia, ordem Testudines e família Cheloniidae. São representantes da linhagem mais antiga de répteis vivos, tendo aparecido pela primeira vez no Jurássico (PRITCHARD, 1997). Atualmente das sete espécies existentes em todos os oceanos, cinco podem ser encontradas no litoral brasileiro, sendo elas, tartaruga de couro ou gigante (*Dermochelys coriacea*), tartaruga cabeçuda (*Caretta caretta*), tartaruga oliva (*Lepidochelys olivacea*), tartaruga de pente ou verdadeira (*Eretmochelys imbricata*) e tartaruga verde ou aruanã (*Chelonia mydas*) (MARCOVALDI; MARCOVALDI, 1999).

Esses animais são pulmonados e tem uma enorme capacidade de permanecerem submersos, seja durante o repouso, ou enquanto caçam seu alimento. Isso é possível graças à distribuição do oxigênio pelo corpo, que é muito eficiente, juntamente com sua baixa taxa metabólica e uma pequena ajuda da respiração acessória, possibilitada pela troca gasosa realizada em órgãos como a cloaca e a faringe (LUTCAVAGE; LUTZ, 1997).

Apresentam ainda como característica marcante a grande adaptação a ambientes aquáticos, que foi possível com o desenvolvimento de uma carapaça hidrodinâmica e membros que se transformaram em nadadeiras. Ainda mantêm a dependência do ambiente terrestre para sua reprodução (oviposição), com isso tem um importante papel neste ecossistema, principalmente nas regiões tropicais até o nível subtropical (PRITCHARD, 1997).

A *Chelonia mydas* está atualmente classificada no Brasil como Vulnerável de acordo com a União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN), mas seu status internacional é Ameaçada (IUCN, 2014). A classificação como Vulnerável é mantida, pois a população brasileira de tartarugas está isolada, já que as mesmas têm um comportamento de filopatria (*homing*) – capacidade das fêmeas de voltarem para se reproduzir na praia onde nasceram, então não existe a possibilidade de migração de adultos de outras regiões para o Brasil. Sendo assim quase impossível a recolonização das praias por fêmeas provenientes de populações de outras áreas (SEMINOFF, 2004).

Possui ampla distribuição geográfica, sendo encontrada desde os trópicos até as zonas temperadas e é a espécie de tartaruga marinha que apresenta hábitos mais costeiros, utilizando inclusive, estuários de rios e lagos (HIRTH, 1997). As áreas de reprodução são principalmente as ilhas oceânicas, Ilha da Trindade (ES), Atol das Rocas (RN) e Fernando de Noronha (PE). No litoral brasileiro, desovas secundárias podem acontecer no litoral norte do estado da Bahia. Menos frequentemente ocorrem também ninhos nos estados do Espírito Santo, Sergipe e Rio Grande do Norte. Enquanto as ocorrências não reprodutivas são registradas em toda a costa do Brasil e também nas ilhas (ALMEIDA et al., 2011).

As fêmeas se deslocam dos locais de alimentação e descanso para as áreas de reprodução, em distâncias que podem chegar a mais de 1500 km. Esta espécie tem um longo

[1]Discente do programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias da UFES
[2]Docente do PPGCV-UFES

ciclo de vida, atingindo a maturidade sexual entre 26 e 40 anos, podendo esta fase ser tardia, demorando até 40 a 60 anos para que retornem à mesma praia onde nasceram para reproduzir pela primeira vez. O período de três gerações ultrapassa os 100 anos (BJORNDAL; ZUG, 1995).

São onívoras nos primeiros anos de vida e após a fase pelágica, com carapaça entre 30 e 40 cm de comprimento, tornam-se herbívoras, com uma dieta principalmente de macroalgas e fanerógamas (BALAZS, 1995). Entretanto, devido a sua grande distribuição, a dieta e suas preferências podem variar de acordo com disponibilidade em cada área. A *C. mydas* sofreu menor impacto antrópico sobre ovos e fêmeas que outras espécies, atribuindo-se isso ao fato de as áreas prioritárias de reprodução estarem localizadas em ilhas oceânicas isoladas, e estas áreas de desova não estão sujeitas à ocupação desordenada da zona costeira (TAMAR, 2014).

É comum a esta espécie que elas se agreguem nas áreas de reprodução e se dispersem nas diversas áreas de alimentação, podendo existir indivíduos de estoques genéticos diferentes em uma mesma área. Análises genéticas realizadas em dois locais do litoral brasileiro (Almofala, CE e Ubatuba, SP) indicam a presença de haplótipos do Atol das Rocas, Ilha da Trindade, Ilha de Ascencion, África, México, Costa Rica e Suriname (NARO-MACIEL et al., 2007). Os estudos realizados nas áreas de desova indicam distinção significativa na estrutura populacional entre a ilha de Trindade e Fernando de Noronha/Atol das Rocas (BJORNDAL et al., 2006).

Avaliar quantitativamente as populações de *C. mydas* torna-se difícil já que estes são animais com alta mobilidade e distribuem-se por amplas áreas geográficas durante todo o seu período de vida. O ideal é avaliar as áreas de reprodução juntamente com as de alimentação. Atualmente as metodologias mais comumente utilizadas no monitoramento destas populações são a contagem do número de vezes que as fêmeas sobrem à praia na temporada reprodutiva ou do próprio número de ninhos (MEYLAN, 1995). Atualmente sua população estimada é de 203 mil fêmeas em idade reprodutiva (TAMAR, 2014).

Atualmente a intervenção humana a nível mundial é a causa do colapso das populações de tartarugas marinhas. Todo o ciclo de vida das tartarugas é ameaçado com a antropização do meio, seja pela perda das praias de desova, das áreas de alimentação até a alta mortalidade na zona costeira devido a interação com a atividade pesqueira, tanto artesanal quanto industrial. São ainda ameaçadas por uma enorme quantidade de resíduos não biodegradáveis e poluentes que são depositados nos oceanos e zonas costeiras. (LUTCAVAGE et al., 1997).

Segundo Lutcavage et al., (1997), Choudhury et al., (2003) e Witherington; Martin, (1996), as principais ameaças ligadas ao desenvolvimento costeiro e que impactam negativamente as populações de tartarugas marinhas são:

- Movimentação da areia da praia que alteram as características das praias onde as fêmeas desovam, causando problemas na escavação do ninho, na arquitetura dos ninhos, temperatura e outros.

- Fotopoluição que pode alterar a maneira como as fêmeas vão escolher seus locais de desovas, como regressam para o mar após a oviposição e como os filhotes se guiarão até o mar após a emergirem dos ninhos.

- Trânsito de veículos que coloca fêmeas e filhotes em risco de atropelamento, além de poder compactar os ninhos em incubação, dificultando que os filhotes emerjam. As marcas deixadas pelos pneus formam “valas” que tornam difícil o acesso dos filhotes ao mar, exigindo grande esforço físico, o que aumenta a suscetibilidade à desidratação e predação.

- Portos, ancoradouros e molhes destacam-se pela degradação/alteração de ambientes bentônicos usados pelas tartarugas para alimentação através de dragagem, descarte do material dragado, assoreamento e alteração das correntes marinhas.

Nas últimas décadas com a modernização e intensificação da atividade pesqueira, a captura incidental de tartarugas marinhas tem sido considerada a maior ameaça tanto para juvenis quanto para adultos destes animais no mundo (KOTAS et al., 2004; LEWINSON et al., 2004; WALLACE et al., 2010). Dentre as modalidades pesqueiras que mais capturam tartarugas marinhas no Brasil estão os espinhéis pelágicos ("long-line"), as redes de emalhe e as redes de arrasto para peixe e camarão. Como não conseguem emergir para respirar, acabam por desmaiar e morrem por afogamento ou mutilação causado pelas redes e anzóis (BUGONI et al., 2008).

A poluição é hoje um grande fator de risco que ameaça a conservação das tartarugas marinhas. São inúmeras as formas de poluição que representam uma ameaça para os hábitats marinhos e terrestres destes animais que incluem som, temperatura, luz, plásticos, produtos químicos, efluentes e outros (HAMANN et al., 2010).

Existem atualmente inúmeros estudos que vêm demonstrando o potencial dano dos poluentes sobre as tartarugas marinhas, em especial os resíduos sólidos, restos de petrechos de pesca descartados, metais pesados, pesticidas organoclorados, poluição por hidrocarbonetos, fluídos, efluentes associados a atividade petrolífera e poluição por esgotos (LUTCAVAGE et al., 1997; CUBAS; BAPTISTOTTE, 2007; TAMAR, 2014;).

Uma enorme quantidade de espécimes juvenis está sendo encontrada encalhada nas praias ou flutuando com diminuída mobilidade e reflexos de fuga, apresentando intensa debilidade, ou às vezes já mortos. Geralmente estes animais vêm acompanhados de sinais poucos específicos, como atrofia muscular, fragilidade óssea e anemia, além de muitos ectoparasitas e/ou epibiontes, o que sugere uma diversidade de causas. Podem-se observar também infecções secundárias associadas, além de uma grande quantidade de endoparasitos, o que torna difícil estabelecer uma *causa mortis* para estes animais (WERNECK et al., 2005).

Helmintofauna em *Chelonia mydas*

Parasitos são seres que utilizam outros seres (hospedeiros) para viver, nutrindo-se destes e usando-os como o ambiente em que passam grande parte do tempo, ou mesmo o tempo todo, completando ou vivendo inteiramente seu ciclo de vida. Os parasitos estão presentes em todos os vertebrados, incluindo os répteis, que podem abrigar diversos tipos de parasitos, ou possuírem parasitos específicos (que só ocorrem em determinada espécie). Essa relação pode beneficiar somente o parasito, ou ambos. No entanto, a presença do parasito pode muitas vezes causar doenças e até provocar a morte do hospedeiro (GREINER; MADER, 2006).

Segundo Greiner e Mader (2006), o conhecimento sobre os parasitos de répteis é bastante escasso, portanto, em alguns casos, não é possível saber se os parasitos são os agentes causadores das doenças (agentes patogênicos), ou se vivem de forma pacífica no hospedeiro, não lhes causando mal algum. Os répteis podem contrair estes parasitos de formas diferentes, uma vez que estes possuem variados ciclos de vida. A forma mais comum é a contaminação via ingestão da forma infectante do parasito no ambiente, podendo ser os ovos, oocistos ou as larvas, podendo ocorrer também como forma de infecção a ingestão dos hospedeiros intermediários que no momento hospedam o parasito no estágio infectante, a penetração das larvas na pele do hospedeiro e a inoculação dessas por um vetor.

Como a alimentação é um dos meios mais prováveis para que ocorra a infecção pelos parasitos, é importante salientar que as tartarugas marinhas contêm hábitos alimentares variados, conforme estágio de sua vida. As tartarugas verdes, por exemplo, quando filhotes são principalmente carnívoras, e quando atingem de 20-25 cm de carapaça, migram para outras partes do oceano, onde começam a se alimentar de algas, tronando-se assim herbívoras (CUBAS; BAPTISTOTTE, 2007). Acredita-se que é a partir deste período que são infectadas, possivelmente pela ingestão de hospedeiros intermediários contendo as formas infectantes dos parasitos (SANTORO et al., 2006).

Dentre os parasitos de tartarugas marinhas encontrados na Costa Brasileira têm-se duas classes de helmintos, os nematódeos e os trematódeos. Com relação aos nematódeos, foram encontradas três espécies em *C. mydas*: *Kathlania leptura* Rud, 1819; *Sulcascaris sulcata* Rudolphi, 1819; e *Tonaudia freitasi* Vicente & Santos, 1968 (VICENTE et al., 1993). Além disso, Xavier (2011), relatou em estudo com 20 *C. mydas*, a ocorrência de dois exemplares de nematódeos da Família Anisakidae em fase larval, sendo o primeiro registro de fases larvais de cestódeos parasitando tartarugas marinhas no Brasil. O *Hepatoxylon trichiuri* se encontrava na fase pós-larval aderido a mucosa do intestino grosso, onde a autora acredita que a tartaruga foi infectada por este cestódeo durante o tempo que ficou em tratamento, sendo alimentada com peixes comprados em estabelecimentos comerciais, que possivelmente estariam infectados com este parasito, o parasito adulto não foi encontrado neste estudo.

Os trematódeos constituem a maior diversidade de parasitos descritos, sendo *C. mydas* o hospedeiro mais estudado (TRAVASSOS et al., 1969), com observação em diferentes fases da vida desta tartaruga. A sua helmintofauna apresenta um alto grau de especificidade, e comparada a outras espécies de tartarugas, como a *Careta careta* e *Lepidochelys olivacea*, a *C. mydas* apresenta uma maior riqueza de espécies e abundância média de helmintos encontrados (WERNECK, 2011).

A espécie *Monostoma trigonocephalum* Rudolphi, 1809, foi o primeiro trematódeo descrito na costa brasileira em *C. mydas*, e data do ano de 1901, pertencente à Família Pronocephalidae, sendo identificado por Braun e depositado no Museu de Viena (RUIZ, 1946).

Em uma pesquisa publicada por Travassos (1934), foi listada uma relação de parasitos de *C. mydas* pertencentes à superfamília Paramphistomoidea que até então não havia sido relatada na costa brasileira, sendo eles: *Schizamphistoma scleroporum*, *Schizamphistomoides spinulosum*, *Microscaphidium reticulare*, *Microscaphidium aberrans*, *Polyangium linguatula*, *Polyangyum miyajimai*, *Angiodictyum parallelum*, *Octangium sagitta*, *Octangium hasta*, *Octangium proteus* e *Deuterobaris proteus*.

Em uma necropsia realizada num exemplar juvenil de tartaruga marinha proveniente do Rio de Janeiro, Freitas e Lent (1938) observaram a presença de trematódeos que ainda não haviam sido descritos, então os autores os denominaram de *Metacetabulum invaginatum* Freitas & Lent, 1938, e a partir dessa nova descoberta criaram uma nova família, a Metacetabulidae. Ainda neste mesmo trabalho, estes autores após pesquisa na Coleção Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz, a partir de exemplares previamente depositados, descreveram outras duas espécies parasitas de tartarugas marinhas que não haviam sido descritas no Brasil, *Orchidasma amphiorchis* Braun, 1899 e *Polyangium linguatula* Looss.

Outra nova espécie de trematódeo denominada *Neoctangium travassosi* foi descrita no Brasil por Ruiz (1943), identificada a partir de uma necropsia em uma tartaruga marinha encontrada no litoral Sul paulista, onde o autor não identifica a espécie da tartaruga (provavelmente *C. mydas*) (MUNIZ-PEREIRA et al., 2009).

Após uma pesquisa nas Coleções Helmintológicas do Instituto Butantã e do Instituto Oswaldo Cruz, Ruiz (1946) fez uma revisão bibliográfica analisando o material depositado, e apresentando uma nova organização sobre a Família Pronocephalidae, relatando as espécies encontradas na região brasileira, e também as identificadas como sendo de outras regiões. Ao estruturar a Família Pronocephalidae, descreveu 28 gêneros divididos em sete subfamílias, onde cinco gêneros são descritos em C. *mydas* na costa brasileira. Sendo eles: *Pronocephalus* Loss, 1899, com as espécies *P. trigonocephalus* e *P. minutus*; *Cricocephalus* Loss, 1899, com a espécie *C. albus*; *Pyelosomum* Loss, 1901, com a espécie *P. crassum*; *Pleurogonius* Loss, 1901, com as espécies *P. longiusculus*, *P. trigonocephalus*, *P. linearis* e *P. lobatus*; e *Metacetabulum* Freitas & Lent, 1938, com a espécie *M. invaginatum*.

Em uma revisão sobre trematódeos de ocorrência no Brasil, Travassos et al. (1969) registraram alguns parasitos ocorrendo em *C. mydas*, sendo listados: *N. travassosi*, *P.*

linguatula, *M. invaginatum*, *O. amphiorchis*, *Rhytidodes gelatinosus*, *P. lobatus*, *Pronocephalus obliquus*, *C. albus*, *P. linearis*, *P. longiusculus*, *P. trigonocephalus*, *P. crassum*, e como nova denominação para *Pleurogonius minutus*, apresentaram *Ruicephalus minutus* Ruiz, 1946.

Após estes achados, Thatcher (1997) descreveu sobre trematódeos neotropicais, relatando em *C. mydas* alguns parasitos: *O. amphiorchis*, *M. invaginatum*, *P. crassum*, *P. obliquus*, *P. longiusculus*, *C. albus*, *R. minutus*, *P. linguatula* e *N. travassosi.*

Outros autores após estudo em indivíduos juvenis recolhidos da região do Litoral Norte do Estado de São Paulo relataram a ocorrência de alguns trematódeos, classificados como *Cricocephalus* e *Deuterobaris*, porém não houve identificação em nível de espécie (MATTEAZZI et al., 2002).

Também no litoral de São Paulo, em 2006 foi encontrado no intestino de uma *C. mydas* juvenil um exemplar de *Schizamphistomum scleroporum* (WERNECK et al., 2006a). E neste mesmo ano, em uma pesquisa realizada em 11 exemplares de também juvenis de *C. mydas*, foi observado que seis dessas tartarugas estavam parasitadas com exemplares adultos do trematódeo *Learedius learedi* (WERNECK et al., 2006b).

Em 2007, Werneck relatou pela primeira vez a presença de dois parasitas de famílias distintas em espécie de *Chelonia mydas* no Brasil, são eles: os trematódeos *Cricocephalus megastomum e Microscaphidium reticulare.* Neste mesmo estudo realizado em animais juvenis desta espécie, dos 62 animais necropsiados, 33 apresentaram parasitos da Classe trematoda, das seguintes espécies: *Cricocephalus albus*, *Cricocephalus megastomum*, *Pleurogonius longiusculus*, *Pronocephalus obliquus* (Pronocephalidae), *Deuterobaris proteus*, *Neoctangium travassosi*, *Polyangium linguatula*, *Microscaphidium reticulare* (Angiodictyidae) e *Metacetabulum invaginatum* (Metacetabulidae).

Posteriormente, foi relatado em coração de dois indivíduos juvenis da espécie *C. mydas*, o trematódeo *Monticellius indicum* (WERNECK et al., 2008). E no ano seguinte, este mesmo autor em pesquisa da ocorrência de Spirorchiidae, analisou 171 exemplares de *C. mydas* juvenis, onde encontrou 79 (46,1%) indivíduos positivos, com exemplares das espécies de *L. learedi*, *Neospirorchis schistosomatoides* e *M. indicum* (WERNECK et al., 2009).

Um levantamento feito por Muniz-Pereira et al. (2009), nos registros disponíveis e relatórios publicados no Instituto Oswaldo Cruz, recuperou informações da Coleção Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC) dos vertebrados ameaçados de extinção do Brasil, e uma lista foi gerada, contendo informações em nível de Brasil e região Neotropical. E nesta lista estão citadas três das cinco espécies de tartarugas marinhas que ocorrem no Brasil, com seus respectivos parasitos descritos. Em *Chelonia mydas* foram citados*: Anisakis* sp., *Cricocephalus albus, Kathlania leptura, Learedius learedi, Metacetabulum invaginatum, Neoctangium travassosi, Orchidasma amphiorchis, Pleurogonius linearis, Pleurogonius lobatus, Pleurogonius longiusculus, Pleurogonius trigonocephalus, Polyangium linguatula, Pronocephalus obliguus, Pyelosomum crassum, Pyelosomum longiusculus, Rhytidodes gelatinosus, Sulcascaris sulcata* e *Tonaudia freitasi.* E este mesmo levantamento aponta que muitos parasitos que são específicos desses animais também estão em risco de extinção junto com seus respectivos hospedeiros, e sugere que também entrem na lista vermelha da IUCN (IUCN, 2014).

A espécie *Amphiorchis indicus* foi relatada em exemplares de *C. mydas* provenientes da Região Sul Fluminense e Norte Paulista em 2010. Apenas 11 trematódeos foram resgatados das amostras, em fígado e intestino delgado. Esta espécie de trematódeo só havia sido relatada em sua descrição original, quando foi encontrado em um exemplar da espécie *E. imbricata*, sendo então o primeiro relato desta espécie em tartarugas verdes. (WERNECK et al., 2010).

Foi encontrado ainda em uma fêmea juvenil de *C. mydas* proveniente do Estado do Ceará, a espécie *Amphiorchis solus*, sendo o primeiro relato deste helminto na costa brasileira e o terceiro relato no mundo (WERNECK et al., 2011).

Em estudo realizado com 337 indivíduos juvenis de *C. mydas*, provenientes de seis Estados brasileiros, 171 destas tartarugas foram positivas para helmintos, sendo encontradas 30 espécies de trematódeos, distribuídos em oito famílias, sendo: Família Microscaphidiidae: *Deuterobaris proteus, Octangium hyphalum, Neoctangium* sp., *Microscaphidium reticulare, Polyangium linguatula, Angiodictyum longum, Angiodictyum parallelume;* Família Rhytidodidae: *Rhytidodes gelatinosus;* Família Pronocephalidae: *Ruicephalus minutus, Pronocephalus obliquus, Charaxicephaloides polyorchis, Charaxicephalus robustus, Metacetabulum invaginatum, Cricocephalus albus, Cricocephalus megastomum, Rameshwarotrema uterocrescens, Pleurogonius longiusculus, Pleurogonius trigonocephalus, Pleurogonius lobatus, Pleurogonius linearis, Pyelosomum crassum, Pyelosomum cochlear;* Família Cladorchiidae: Subfamilia Schizamphistominae*: Schizamphistomum scleroporum;* Família Brachycoeliidae*: Cymatocarpus solearis;* Família Plagiorchiidae*: Enodiotrema* sp.*;* Família Telorchiidae*: Orchidasma amphirochis* (WERNECK, 2011).

Werneck (2011), no mesmo trabalho relata os parasitos do sistema circulatório: *Learedius learedi, Neospirorchis schistosomatoides, Amphiorchis indicus, Monticellius indicum* e *Amphirochis solus*, e também foram encontradas larvas não identificadas de nematódeos. Todas as espécies relatadas já haviam sido descritas em *C. mydas*, porém algumas ainda não tinham sido relatadas ocorrendo no Atlântico Sul Ocidental, são estas: *Octangium hiphalum, Angiodictyum longum, Angiodictyum parallelum, Charaxicephaloides polyorchis, Charaxicephalus robustus, Rameshwarotrema uterocrescens, Pyelosomum choclear, Schizamphistomum scleroporum, Cymatocarpus solearis, Enodiotrema* sp., *Neospirorchis schistosomatoides, Amphiorchis indicus*.

Em 2013 Werneck et al. relataram a primeira ocorrência do trematódeo Spirorchiidae *Carettacola stunkardi* em *C. mydas* no Brasil e a segunda em tartarugas marinhas, sendo o quarto relato no mundo. Apenas um espécime foi encontrado em coração de um indivíduo juvenil de *C. mydas*, proveniente do litoral Norte do Estado do Espírito Santo. Até o presente momento, este foi o último relato publicado de helmintos em *Chelonia mydas* na Costa brasileira.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em estudo em andamento no Sul do Estado do Espírito Santo, já foram encontradas mais de quinze espécies diferentes de trematódeos em tartarugas juvenis da espécie *C. mydas*, sendo o primeiro relato no Brasil de dois desses trematódeos. Já foram identificados até o momento: *Learedius learedi* no coração, *Pronocephalus obliquus, Orchidasma amphiorchis, Cricocephalus albus* e *Pleurogonius trigonocephalus* no estômago, *Metacetabulum invaginatum, Polyangium linguatula, Pleurogonius longiusculus, Plesiochorus cymbiformis* e *Pleurogonius linearis* no intestino delgado, *Neoctangium travassossi, Schizamphistomoides spinulosum* e *Deuterobaris intestinalis* no intestino grosso, *Rhytidodoides similis* na vesícula biliar, e *Pyelosomum* sp. na bexiga.

Baseando-se nos achados até agora descritos, pode-se perceber que a costa brasileira além de ser abundantemente frequentada por tartarugas marinhas da espécie *Chelonia mydas*, principalmente em sua fase juvenil, que esses animais são frequentemente achados albergando uma rica fauna parasitária. A importância do estudo e descoberta destas espécies de parasitos contribui significativamente para a compreensão dos hábitos destes animais, e também elucidam possíveis rotas percorridas por elas, pois muitos desses parasitos descritos só haviam sido anteriormente relatados em outros países, ou até, em outros oceanos.

Além também, de esses achados poderem contribuir no que diz respeito à causa da morte dessas tartarugas, pois ainda não foi possível dizer se as altas cargas parasitárias encontradas em alguns desses animais e seus danos são suficientes para levar ao óbito,

apresentando-se como a causa primária, ou se a elevada presença dos parasitos associada com outras enfermidades precipita a morte desses animais, ou ainda, se a helmintofauna está presente sem causar dano algum, como é visto em algumas tartarugas aparentemente saudáveis, e que contêm algumas espécies de parasitos.

Assim, a realização de mais pesquisas sobre a helmintofauna e os possíveis danos causados pelo parasitismo nas tartarugas *C. mydas* é imprescindível, uma vez que ainda podem existir diversos parasitos para serem relatados nestas tartarugas no Brasil, pois, Yamaguti (1971), descreve a existência de aproximadamente 60 espécies de trematódeos parasitando tartarugas marinhas em todo o mundo, o que sugere que há muito a ser descoberto na costa brasileira. Além também de se aprofundar nas pesquisas sobre a morfologia e biologia dos parasitos, pois, muito pouco se sabe a sobre seus ciclos biológicos, a forma com que a tartaruga adquire a parasitose e principalmente os danos causados por estes parasitos.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A. P. et al. Avaliação do estado de conservação da tartaruga marinha *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) no Brasil. Biodiversidade Brasileira, 1 ed., v. 1, p. 18-25, 2011.

BALAZS, G.H. Growth rates of immature Green turtle in the Hawaiian Archipelago. In: Bjorndal, K.A. (Ed.) Biology and Conservation of Sea Turtles. Washington DC : Smithsonian Institution Press. p. 489-511, 1995.

BJORNDAL, K. A.; ZUG, G. R. Growth and Age of Sea Turtles. In:_____ Bjorndal, K. A. (Ed.) Biology and Conservation of Sea Turtles. Washington DC: Smithsonian Institution Press. p.599-600, 1995.

BJORNDAL, K.A et al. Population structure and diversity of brazilian Green Turtle rookeries based on mitochondrial DNA Sequences. Chelonian Conservation and Biology, v5, n.2, p. 262-268, 2006.

BUGONI, L.; et al. Potencial bicatch of sea birds and turtles in hook-and-line fisheries of the Itaipava fleet, Brazil. Fisheries Research v. 90, p. 217-224, 2008.

CHOUDHURY, B. C.; et al. Sea turtle conservation: Eco (turtle) friendly coastal development. GOI UNDP Project Manual. Centre for Herpetology/Madras Crocodile Bank Trust, Tamil Nadu, India, 2003.

CUBAS, P. H.; BAPTISTOTTE, C. Chelonia (Tartaruga, Cágado, Jabuti). In:_____ CUBAS, P. H Tratado de Animais Selvagens: Medicina Veterinária. São Paulo: Roca, cap. 9, p.86-119, 2007.

FREITAS, J. T.; LENT, H. Sobre alguns trematodeos parasitos de *Chelone mydas* (L.), principalmente Paramphistomoides. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, vol. 33, p. 79- 97, 1938.

GREINER, C.; MADER, D. R. Parasitology. In: Mader, D. R. Reptile Medicine and Surgery. Sauders Elsevier. 2 ed, cap. 21, p. 343-345, 2006.

HAMANN, M.; et al. Global research priorities for sea turtles: informing management and conservation in the 21st century. Endangered Species Research. v. 11, p. 245-269. 2010.

HIRTH, H.F. Synopsis of the biological data on Green Turtle *Chelonia mydas* (Linnaeus 1758). U.S. Fish and Wildlife Service. 1997.

IUCN. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.2. Disponível em: < http://www.iucnredlist.org/search>. Acesso em 12 Ago 2014.

KOTAS, J. E.; et al. Incidental capture of loggerhead (*Caretta caretta*) and leatherback (*Dermochelys coriacea*) sea turtles by the pelagic longline fishery off southern Brazil. Fishery Bulletin. v. 102, p. 393–399, 2004.

LEWINSON, R. L.; et al. Understanding impacts of fisheries bycatch on marine megafauna. Trends in ecology and evolution. v. 19, p. 598 – 604, 2004.

LUTCAVAGE, M. E., et al. Human impacts on sea turtle survival,. In: Lutz, P.L. & Musick, J.A. (Ed.). The Biology of Sea Turtles. Boca Raton, Florida: CRC Press. p. 387-409, 1997.

LUTCAVAGE, M. E.; LUTZ, P. L. Diving Physiolog. In: Lutz, P. L. and Musick, J. A. (Ed.). The Biology of Sea Turtles. Boca Raton, Florida: CRC Press. p. 277–296, 1997.

MARCOVALDI, M. A.; MARCOVALDI, G.G. Marine turtles of Brazil: the history and structure of Projeto Tamar-Ibama. Biological Conservation. v. 91, p. 35-41, 1999.

MATTEAZZI, L.; et al. Ocorrência de endohelmintos no trato digestório de tartarugas marinhas, *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) (Testudines: Cheloniidae) encontradas mortas no litoral de Ubatuba-SP. In: Anais VII Encontro de Iniciação Científica e III Mostra de Pós-graduação. Taubaté: UNITAU. 2002.

MEYLAN, A.B. Estimating population size in sea turtles. In: Bjorndal, K.A. (Ed.). Biology and Conservation of Sea Turtles. Smithsonian Institution Press. p. 135-138, 1995.

MUNIZ-PEREIRA, L. C.; VIEIRA, F. M.; LUQUE, J. L. Checklist of helminth parasites of threatened vertebrate species from Brazil. Zootaxa, vol. 2123, p. 1–45, 2009.

NARO-MACIEL, E.; et al. Testing Dispersal Hypotheses in Foraging Green Sea Turtles (Chelonia mydas) of Brazil. Journal of Heredity. ed. 98, v. 1, p. 29-39. 2007.

PRITCHARD, P. C. H. Evolution, phylogeny, and current status. In: Lutz, P. L. and Musick, J. A. (Ed.). The Biology of Sea Turtles. Boca Raton, Florida: CRC Press. p. 1–28, 1997.

RUIZ, J. M. *Neoctangium travassosi* gen. N., sp. N. (Trematoda: Paramphistomoidea) parasito de quelônio marinho. Chave dos gêneros da família Microscaphidiidae Travassos, 1922. Memórias do Instituto Butantan. vol. 17, p. 35-45, 1943.

RUIZ, J. M. Pronocephalidae (Trematoda) Estudo das espécies brasileiras e revisão da família. Memórias do Instituto Butantan. vol. 19, p. 249-372, 1946.

SANTORO, M., et al. Digenetic trematode community in nesting green sea turtles (*Chelonia mydas*) from Tortuguero Nacional Park, Costa Rica. Journal of Parasitology, vol. 92, p. 1202-1206, 2006.

SEMINOFF, J.A., 2004. MSTG global assessment of green turtles (*Chelonia mydas*) for the IUCN Red List. IUCN Species Survival Commission. Disponível em: http://www.iucn-mtsg.org/red_list/cm/MTSG_Chelonia_mydas_Assessment_April- 2004.pdf. Acesso em: 27 ago. 2014.

TAMAR. Projeto Tamar: Tartaruga verde. Disponível em <http://www.tamar.org.br/tartaruga.php?cod=20 > Acesso em: 05 de ago. 2014.

THATCHER, V. E. Trematódeos neotropicais. Manaus: INPA. p. 553, 1997.

TRAVASSOS, L. Synopse dos Paramphistomoidea. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. vol. 29, p. 19-178, 1934.

TRAVASSOS L.; FREITAS T.; KOHN. A. Trematódeos do Brasil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. vol. 67, p. 1-886, 1969.

VICENTE, J. J., et al. Nematóides do Brasil. Parte III: Nematóides de répteis. Revista Brasileira de Zoologia. vol. 10, n. 1, p.19- 168, 1993.

WALLACE, B. P.; et al. Global patterns of marine turtle bycatch. Conservation Letters. v. 3 n. 3. p. 131-142, 2010.

WERNECK, M. R.; et al. Helmintofauna de *Chelonia mydas* necropsiadas na Base do Projeto Tamar-Ibama em Ubatuba – SP. In: Anais IX Encontro da Associação Brasileira de Veterinários de Animais Selvagens. São José do Rio Preto: UNIRP, p. 42, 2005.

WERNECK, M. R.; et al. Primeiro registro da ocorrência de *Schizamphistomum scleroporum* (Creplin, 1844) (Digenea: Paramphistomidae), em *Chelonia mydas* (L.) na costa brasileira. In: Anais III Congresso da Sociedade Paulista de Parasitologia. Ubatuba: SP. 2006a.

WERNECK, M. R.; et al. *Learedius learedi* Price 1934 (Digenea, Spirorchiidae) in *Chelonia mydas* Linnaeus 1758 (Testudines, Chelonidae) in Brazil: case report. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. vol. 58, p. 550-555. 2006b.

WERNECK, M. R. Helmintofauna de Chelonia mydas necropsiadas na Base do Projeto Tamar-Ibama em Ubatuba, Estado de São Paulo, Brasil. 2007. 50 f. Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual Paulista. Botucatu-SP. 2007.

WERNECK, M. R.; GALLO, B.; SILVA, R. J. First report of *Monticellius indicum* Mehra, 1939 (Digenea: Spirorchiidae) infecting *Chelonia mydas* Linnaeus, 1758 (Testudines: Chelonidae) from Brazil. Brazilian Journal of Biology. v. 68, p. 455 - 456, 2008.

WERNECK, M. R.; GALLO, B.; SILVA, R. J. Infecção por trematódeos digenéticos da família Spirorchiidae em tartarugas verdes (*Chelonia mydas* Linnaeus, 1758) no Brasil. In: Anais V Jornada de Conservación e Investigación de tortugas Marinas del Atlântico Sur Ocidental, Mar del Plata. Argentina: PRICTMA. p. 106-109, 2009.

WERNECK, M. R.; GALLO, B.; SILVA, R. J. Ocorrência de *Amphiorchis indicus* Gupta e Mehrotra, 1981 (Digenea, Spirorchiidae) infectando tartaruga marinha verde *Chelonia mydas* Linnaeus, 1758 (Testudines, Cheloniidae) no Brasil. In: Anais XVI Congresso Brasileiro de Parasitologia veterinária, Campo Grande, MS, 11 A 14 DE Outubro 2010. CBPV, 2010.

WERNECK, M. R. Estudo da Helmintofauna de Tartarugas Marinhas Procedentes da Costa brasileira. Botucatu-SP. 2011. 147 f. Tese (Doutorado) Universidade Estadual Paulista. Botucatu-SP. 2011.

WERNECK, M. R; et al. Occurrence of *Amphiorchis solus* Simha e Chattopadhyaya, 1970 (Digenea, Spirorchiidae) infecting Green turtle *Chelonia mydas* Linnaeus, 1758 (Testudines, Cheloniidae) in Brazil. Comparative Parasitology. vol. 78, p. 200 – 203, 2011.

WERNECK, M. R.; et al. Report of *Carettacola stunkardi* (Martin & Bamberger, 1952) Dailey, Fast & Balazs, 1991 (Digenea: Spirorchiidae) infecting Green Turtle *Chelonia mydas* Linnaeus, 1758 (Testudines, Cheloniidae) in Brazil. Brazilian Journal of Biology. vol. 73, n. 3, p. 675-676, 2013.

WITHERINGTON, B. E.; MARTIN, R. E. Understanding, assessing, and resolving light-pollution problems on sea turtle nesting beaches. Florida Marine Research. Institute Technical Report. TR-2. p. 73, 1996.

XAVIER, R. A. Análise da Fauna Parasitológica Gastrointestinal de Chelonia mydas (Linnaeus, 1758) no litoral Norte e médio do Rio Grande do Sul, Brasil. 2011. 47 f. Monografia (Graduação Ciências Biológicas) Universidade Federal do Rio Grande do Sul: Imbé- RS. 2011.

YAMAGUTI, S. Digenea of Reptiles. Synopsis of digenetic trematodes of vertebrates. Tokyo: Keigaku Publishing. 1 ed., p. 377-474, 1971.

Capítulo 25- Cistoplastias utilizando biomateriais conservados

Oliveira, L.L.; Aptekmann, K.P.; Barata, J.S.; Silva, A.V.P.; Egert, L.; Abílio, E.J.; Carvalho, E.C.Q.; Carvalho, L.N.

INTRODUÇÃO

Desordens da bexiga urinária que necessitam de substituição da parede da bexiga incluem anormalidades congênitas (extrofia vesical), câncer, trauma, infecção, inflamação, defeitos na inervação, lesões iatrogênicas ou condições que levem a sérios danos vesicais.

O objetivo da bexiga nativa é armazenar a urina mantendo a complacência, ser um reservatório de baixa pressão interna e contrair de forma a alcançar o completo esvaziamento. Com grandes ressecções vesicais há uma diminuição de complacência e com isso a bexiga irá armazenar urina com alta pressão interna. As altas pressões internas na bexiga podem desenvolver efeitos nocivos crônicos na função renal bem como hiperatividade no músculo detrusor.

Idealmente, na cistoplastia, o biomaterial que substitui deve ser biocompatível e servir como uma ponte para a regeneração das três camadas da bexiga. Uma variedade de tecidos auto-, homo- e heterólogos e artificiais (aloplásticos) biomateriais têm sido estudados experimentalmente e clinicamente para a substituição da parede vesical tanto em humanos como em animais. O objetivo da substituição é manter a parede da bexiga íntegra, aumentar a capacidade vesical, e manter a pressão interna da bexiga baixa. A enterocistoplastia é a substituição da parede vesical por parte de um segmento intestinal, essa técnica muitas vezes pode ser considerada em pacientes com anormalidade na complacência ou em sintomas de bexiga hiperativa.

Os meios de preservação associados a membranas biológicas, utilizadas em cirurgias reconstrutivas, são uma importante ferramenta para atenuar dificuldades de manuseio e conservação destas, pois preservam a integridade tecidual, diminuem a ação antigênica e aumentam a resistência à tração e a assepsia dos biomateriais.

2. Morfofisiologia da bexiga

A urina é formada nos rins e direcionada até a bexiga, onde é armazenada por um período, e posteriormente conduzida ao exterior no momento da micção (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). A função renal e a continência da urina são extremamente dependentes do bom funcionamento da bexiga, que armazena a urina com baixa pressão e a expulsa com uma contração precisamente orquestrada (TU et al., 2012).

O epitélio do cálice e a pélvis dos rins, os ureteres e a bexiga apresentam a mesma estrutura básica em humanos, porém a parede vai gradativamente se tornando mais espessa próximo à bexiga. A mucosa vesical se origina da associação do urotélio, composto pelo epitélio de transição, com a lâmina própria, formada por um tecido conjuntivo que varia de frouxo a denso (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

A estrutura da bexiga dos mamíferos apresenta dois elementos extremamente importantes para o seu bom funcionamento. O primeiro é a disposição única da musculatura da parede da bexiga (músculo detrusor), a qual se expande sem aumentar a pressão interna. Isto é alcançado pelo progressivo relaxamento do detrusor. Quando este se contrai, o esfíncter uretral se fecha, quando há simultaneamente o relaxamento do esfíncter interno é permitida a entrada da urina na uretra (STAACK et al., 2005).

O segundo e crucial elemento é o epitélio que reveste a bexiga, conhecido como urotélio, o qual é especializado em formar uma barreira para a urina e se acomodar à expansão e rápida contração do órgão (STAACK et al., 2005). As células superficiais do epitélio de transição são as responsáveis por esta barreira osmótica entre a urina e os fluidos teciduais. Nestas células a membrana plasmática em contato com a urina é especializada, apresentando placas espessas separadas por faixas de membranas mais delgadas. Quando a bexiga se esvazia, a membrana se dobra nas regiões delgadas e as placas espessas se invaginam e enrolam, ao se encher novamente ocorre o processo inverso, aumentando assim a superfície das células (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

A porção muscular da bexiga é constituída de três camadas de músculo liso, entrelaçadas, que são separadas apenas na porção do colo vesical. A adventícia da bexiga é formada por tecido conjuntivo denso não modelado contendo grande quantidade de fibras elásticas. Alguns locais da adventícia estão cobertas por uma serosa, uma dobra do peritônio sobre a parede da bexiga, enquanto outros locais podem estar envolvidos por um tecido adiposo (GARTNER; HIATT, 2003).

Fibras autônomas atingem a bexiga por meio de dos nervos hipogástricos simpáticos e pélvicos parassimpáticos. Fibras sensoriais seguem por meio do nervo pudendo. A principal irrigação sanguínea provém da artéria vaginal ou prostática, que é suplementada pelas reduzidas artérias umbilicais (DYCE et al., 1990).

3. Indicações para a cirurgia reconstrutiva de bexiga

O funcionamento ineficiente ou as desordens urinárias ocorrem comumente em humanos e animais. Estas podem ser causadas por inflamação e lesões nervosas que podem influenciar diretamente na fisiologia urinária, na qualidade de vida e em algumas situações podem culminar em insuficiência renal (BRANT et al., 2005). Outras causas de lesões comuns são, infecção e incontinência urinária (STAACK et al. 2005), rupturas por trauma abdominal contuso ou penetrante (GALLATTI; IWASAKI; HIATT, 2004), rupturas de bexiga causada por urolitíases (BARDELA et al., 2007), necroses (LÉVEILLÉ et al., 1992), tumores, na maioria malignos para cães (ROVERE; ALCOBA, 2002; BENIGNI et al., 2006), prejudicam a principal função da bexiga, que é sua capacidade de armazenamento da urina.

A reconstrução vesical é a melhor alternativa em pacientes com disfunção grave de bexiga em que todos os métodos de tratamentos conservadores falharam. A indicação cirúrgica destes casos ocorre para evitar maior deterioração do trato urinário superior ou conseguir atingir a continência urinária (CASTELLAN et al., 2012).

Desta maneira, as desordens da bexiga urinária que necessitam de substituição da parede da bexiga incluem anormalidades congênitas (extrofia vesical), câncer, trauma, infecção, inflamação, defeitos na inervação, lesões iatrogênicas ou condições que levem a sérios danos vesicais (WONGSETTHACHAI et al., 2011). Exemplos de doenças que acometem humanos e podem necessitar de cistoplastia são: a tuberculose geniturinária, cistite intersticial, fístula vesicovaginal, neoplasias, entre outras (ANTONOPOULOS et al., 2009).

A tuberculose geniturinária em humanos pode causar o encolhimento da bexiga, fazendo com que o órgão perca a sua capacidade morfofisiológica, necessitando de uma substituição ou ampliação vesical (PATWARDHAN et al., 2008; ANTONOPOULOS et al., 2009).

A cistite intersticial é uma condição que resulta em desconforto recorrente ou dor na bexiga e regiões ao redor da pélvis. Uma vez que a cistite intersticial varia muito em sintomas e severidade, a maioria dos pesquisadores acredita não ser uma, mas várias doenças. Na cistite intersticial a parede da bexiga pode ser irritada e ficar retesada ou cicatrizada, diminuindo a capacidade do órgão. Esta afecção é muito mais comum em mulheres do que em homens. A

causa ainda não está clara, pesquisas apontam para uma relação com alteração também em outros órgãos (ANTONOPOULOS et al., 2009).

Fístula vesicovaginal pode ser causada por histerectomias, tuberculose geniturinária (infecção crônica), morte fetal intrauterina, hemorragia pós-parto e também está associada à redução da capacidade da bexiga (PATWARDHAN et al., 2008).

Nas neoplasias de cólon e reto, que apresentam tanta ocorrência em humanos, há grande incidência de metástase em bexiga, devido a sua íntima relação anatômica. Sendo assim, a única chance de cura é a retirada de todos os nódulos deixando as margens dos órgãos livres da neoplasia. Muitas vezes, se faz necessária uma cistectomia radical ou a retirada do órgão inteiro, havendo a necessidade da reconstrução cirúrgica desta bexiga (DELACROIX; WINTERS, 2010).

4. Reparação dos tecidos

Alguns tipos de tecido, como as superfícies epiteliais, regeneram de forma bastante satisfatória depois de uma lesão tecidual. Entretanto, em muitos tipos de tecidos, em mamíferos, esta regeneração não ocorre; ao invés, processos de cicatrização preenchem a área lesionada com uma matriz extracelular simples mais elástica, a cicatriz de tecido conjuntivo (RINGLER, 2000).

Deste modo, restaura-se a continuidade anatômica do tecido, substituindo células originais, que foram lesadas, por tecido conjuntivo não especializado. Antes da reparação há sempre um processo inflamatório que é a reação dos tecidos a todas as formas de lesão, envolvendo respostas vasculares, neuro-hormonais, humorais e celulares no local da lesão. O processo inflamatório destrói, dilui e engloba o agente agressor, e abre caminho para reparação (MAIA et al., 2006).

O processo de reparação é caracterizado pela síntese e deposição de colágeno, que é responsável pela força e integridade de todos os tecidos, que dependerá do tipo de fibra colágena e na quantidade de ligações cruzadas (MAIA et al., 2006; MACHADO et al., 2007).

4.1. Colágeno

O colágeno é a molécula mais abundante na matriz extracelular, e compõem por volta de 33% do total da massa protéica corporal. Depois de secretado para o espaço extracelular, as moléculas de colágeno se agrupam em polímeros denominados fibrilas, que agrupadas, são chamadas de fibras de colágeno, que podem ser visualizadas ao microscópio óptico. Diferentes tipos de colágeno têm sido identificados, que pode variar na composição das cadeias de tripla hélice e em distribuição tecidual (SICKLE et al., 1993; SLAUSON, 2002).

A molécula do colágeno apresenta uma estrutura longa e rígida com fita-tripla helicoidal, formada por três cadeias polipeptídicas enroladas umas às outras. Aproximadamente 25 tipos de cadeia já foram identificados com 15 tipos de moléculas encontradas. O colágeno mais comum nos tecidos é o do tipo I, além deste existem os tipos II, III, V e XI. Possuem estrutura tipo corda já que depois de sintetizados e secretados para o espaço extracelular as moléculas se agrupam em fibrilas que se agrupam em fibras, maiores e mais espessas de colágeno (STEEN et al., 2002).

Os colágenos IX e XII são chamados de colágenos associados às fibrilas porque se localizam na superfície das fibrilas, ligando-as entre si a outros componentes da matriz extracelular. Há ainda os colágenos formadores de rede, dos tipos IV e VII. O do tipo IV agrupa-se em uma camada como um feltro formando a parte principal da lâmina basal e o do tipo VII forma um dímero que se agrupa em estruturas chamadas fibras ancoradoras que fazem a ligação da lâmina basal ao conjuntivo subjacente (STEEN et al., 2002). O tipo I está

amplamente distribuído na pele, tendões e ossos, enquanto o tipo IV é o principal constituinte da membrana basal (SICKLER et al., 1993; SLAUSON, 2002).

O fibroblasto é uma célula presente no tecido conjuntivo responsável pela deposição de colágeno no local em que há uma lesão. Na bexiga se observa uma deposição de colágeno, que é fundamental nos processos de reparação. Logo após este órgão sofrer uma lesão a deposição desta molécula aumenta gradativamente e atinge seu nível máximo após sete dias. Inicialmente, na reparação vesical há a predominância do colágeno tipo III, mas gradualmente ele vai sendo substituído pelo do tipo I, conferindo uma maior força no tecido (MACHADO et al., 2007).

4.5. Biomateriais

A cirurgia reconstrutiva lida com o reparo de defeitos e malformações de natureza congênita ou adquirida. Os enxertos vêm ganhando um papel fundamental nesses reparos, pois possuem um baixo risco de causar rejeição por parte dos tecidos. No caso dos xenoenxertos (hetero-enxertos), o receptor e doador são animais de espécies diferentes (PIGOSSI et al., 1971).

Os enxertos são constituídos de células que não apresentam viabilidade no tecido anfitrião e que servem como ponte para a regeneração dos tecidos. Este material não deve ser antigênico ou carcinogênico, e sim facilmente incorporado pelo hospedeiro, funcionar por toda a sua vida, estimular as propriedades mecânicas do segmento original e ser facilmente armazenado e implantável (RAISER et al., 2001).

4.6. Cistoplastia

A cistoplastia com biomateriais é uma cirurgia reconstrutiva vital para a preservação do trato urinário, pois culmina na ampliação vesical após a cistectomia o que evita complicações. O objetivo da bexiga nativa é armazenar a urina, manter complacência vesical, ser um reservatório de baixa pressão interna e contrair de forma a alcançar o completo esvaziamento. Com grandes ressecções vesicais há uma diminuição de complacência e com isso a bexiga irá armazenar urina com alta pressão interna. As altas pressões internas na bexiga podem desenvolver efeitos nocivos crônicos na função renal bem como hiperatividade no músculo detrusor (DELACROIX; WINTERS, 2010).

Segmentos do trato gastrointestinal, como o estômago, jejuno, íleo e cólon de diversas espécies tem sido testados principalmente no reparo vesical e apresentam vantagens e desvantagens no seu uso (GRECA et al., 2004). Estudos recentes buscam encontrar um enxerto ideal que seja implantado com uma técnica cirúrgica simples (RAISER et al., 2001). O objetivo da substituição é manter a parede da bexiga íntegra, aumentar a capacidade vesical, e manter a pressão interna da bexiga baixa. O biomaterial que substitui deve ser compatível e servir como uma ponte para a regeneração das três camadas da bexiga. Uma variedade de tecidos auto-, homo-, heterólogos e artificiais (aloplásticos) tem sido testados experimentalmente e clinicamente para a substituição da parede vesical tanto em humanos como em animais (WONGSETTHACHAI et al., 2011).

A busca por um biomaterial capaz de servir como suporte excelente, que facilite o desenvolvimento de cultura de células nativas da bexiga e induz a regeneração de suas camadas é constante. O biomaterial utilizado na engenharia tecidual deve ser biocompatível, uma vez que a formação do novo tecido depende totalmente da sua interação com as células transplantadas (SHARIFIAGHDAS et al., 2009).

A matriz acelular de colágeno e a membrana aminiótica humana foram avaliadas em cistoplastias e ambas obtiveram excelentes resultados. Estas foram utilizadas em outras

cirurgias reconstrutivas e não induziram reações imunológicas. Entretanto a matriz acelular de colágeno possui custo proibitivo para ser utilizada rotineiramente e a membrana aminiótica humana ainda necessita de mais estudos (SHARIFIAGHDAS et al., 2009).

Estes materiais devem ser biocompatíveis, promover a interação celular, o desenvolvimento dos tecidos e possuir propriedades mecânicas apropriadas, proporcionando a regulação do comportamento celular (adesão, proliferação, migração e diferenciação), promove o desenvolvimento funcional do novo tecido e fornece suporte mecânico até que o novo tecido tenha integridade suficiente para suportar a si próprio (BORGES et al., 2007).

Diferentes biomateriais têm sido usados, mas os que parecem mais promissores são as matrizes de tecido acelular ricas em colágeno, as quais são semeadas por células uroteliais e musculares previamente colhidas e submetidas à reprodução e multiplicação, por meio de técnicas de engenharia genética. Este novo tecido possui complacência e organização celular normal (confirmada por estudos imunocitoquímicos) semelhante ao tecido vesical. Estudos demonstraram que este novo tecido vesical é anatomicamente e funcionalmente normal, no entanto estes trabalhos são ainda experimentais e possui um custo muito elevado devido à alta tecnologia usada (BORGES et al., 2007).

A enterocistoplastia é a técnica atualmente mais utilizada na rotina clínica. Entretanto, uma série de complicações como infecções, vazamento urinário, acidose metabólica, refluxo urinário costumam ocorrer (OMAYA; NASSAR, 2010) e enrugamento do enxerto, que causa diminuição do seu tamanho (KOCKUM et al., 1999). Acredita-se ainda que exista a formação de fatores carcinogênicos derivados da interação entre a urina e bactérias fecais, o que favorece a ocorrência de neoplasias (CROSS et al., 2003).

Conquanto a produção de muco oriunda do segmento ileal nas cistoplastias poderia proteger o epitélio do intestino dos componentes urinários carcinogênicos (UCHÔA et al., 2011). Entretanto há dificuldades em confirmar essa teoria, devido ao longo período de latência dessa doença (CROSS et al., 2003). Por outro lado, o muco acumulado na luz vesical pode ser um fator que estimule a formação de urólitos (UCHÔA et al., 2011). Por estes motivos a busca por alternativas se faz necessária (OMAYA; NASSAR, 2010).

No estudo em que se realizou cistoplastia em coelhos com uma biomatriz a base de colágeno oriunda de submucosa intestinal suína (SIS, COOK®), avaliações foram realizadas em vários momentos por um período de nove meses, como resultado obteve-se a regeneração do urotélio e músculo liso. Porém, como complicação notaram-se consideráveis incrustações no enxerto (NUININGA et al., 2004). Esta submucosa intestinal proveniente de suínos demonstrou ser um bioenxerto capaz de induzir a angiogênese, a neoformação muscular e a deposição de colágeno necessária para aumento e reparo vesical em cães (GRECA et al., 2004).

O estômago tem sido também testado e utilizado como em cirurgias vesicais com objetivo de ampliação da bexiga. As principais vantagens deste biomaterial em relação a outros segmentos são: baixa permeabilidade a solutos urinários, acidificação da urina, excreção de cloretos numa proporção maior que sua absorção, menor produção de muco, baixo índice de aderências e incidências de bacteriúria. O uso do estômago, todavia, pode acarretar o aparecimento de anemia ferropriva, hipoproteinemia, síndrome do estômago curto, esteatorréia e vômitos incoercíveis (GRECA et al., 2004). A neoplasia foi outra grave complicação observada no estudo clínico de Castellan et al. (2012), que acompanharam 29 pacientes submetidos a gastrocistoplastia e entre 11 e 14 anos após a cirurgia três deles morreram por ocorrência de adenocarcinoma.

Em suma, muitos biomateriais têm sido testados, mas ainda apresentam altos índices de complicações que podem culminar em falha do implante e necessidade de procedimento cirúrgico secundário. Além disso, a restauração das características do esvaziamento vesical normal ainda não foi atingida. Portanto, novas membranas devem continuar sendo testadas para que consigam chegar a alguma que cumpra este papel (TU et al., 2012).

A túnica albugínea bovina foi pesquisada como xenoenxerto em cistoplastias experimentais em cães, após ter sido conservada em glicerina a 98%. Observou-se uma recuperação precoce, nenhum episódio de rejeição e bons resultados de reparação vesical na totalidade dos animais estudados. No entanto este biomaterial requer ainda mais estudos para que possa ser utilizado na prática clínica (OLIVEIRA, 2008).

4.7. Meios de preservação

Durante muitos séculos, a procura por métodos de conservação para diversos tecidos vem sendo constante, seja para a preservação de peças anatômicas ou o crescente uso de materiais biológicos nos transplantes homólogos e heterólogos, em cirurgias reconstrutivas e reparadoras de elementos tubulares, valvares e principalmente de sustentação (MOTA et al., 2002).

Os biomateriais conservados por longos períodos apresentam diversas vantagens; servem de ponte para que o tecido natural seja restituído, são resistentes a infecções e têm a possibilidade de serem moldados de acordo com o local de aplicação (MAZZANTI et al., 2001).

Variados tipos de membranas biológicas preservadas têm sido utilizados na reparação de diversos tecidos e órgãos, exemplos delas são: o cordão umbilical bovino conservado em glicerina a 98% para restauração de traquéia de cão (MAZZANTI et al., 2000), peritônio bovino conservado em glicerina a 98% utilizado em reparo de hérnia perineal (DALECK et al., 1992), pericárdio canino mantido em solução hipersaturada de sal para correção de músculo reto abdominal de ratos (BRUN et al., 2002; BRUN et al., 2004), músculo diafragma homólogo conservado em solução supersaturada de açúcar para reparo de diafragma canino (MAZZANTI et al., 2000), cartilagem auricular canina em glicerina a 98% para reconstituição de parede torácica em gatos (RAPPETI et al., 2003), pericárdio bovino em solução supersaturada de açúcar em hernioplastia diafragmática (MAZZANTI et al., 2003), entre outros.

4.7.1. Glicerina

A glicerina é um meio de conservação amplamente utilizado e estudado por conservar membranas biológicas à temperatura ambiente sendo facilmente manuseadas, com baixo custo e bons resultados (VICENTI et al., 2002; VERSEN-HOEYNCK et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2009). Além dessas vantagens, segundo Gioso et al. (2002), o armazenamento em temperatura ambiente, propicia uma melhor conservação, pois não há formação de cristais intra e extracelulares, além de evitar alterações eletrolíticas deletérias às células e à matriz extracelular.

Quando este meio de preservação é utilizado dessa forma devem ficar por um período mínimo de 30 dias, antes do procedimento cirúrgico (RAPPETI et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2003; RABELO et al., 2004, MAZZANTI et al., 2004; FILHO et al., 2008). O tempo mínimo de conservação do biomaterial na glicerina garante a atenuação imunogênica assim como o seu efeito antimicrobiano (BRUN et al., 2004; MAZZANTI et al., 2004).

A ação antigênica deste conservante evita o uso de drogas imunossupressoras durante os períodos trans e pós-operatórios (RAISER et al., 2001; RODASKI et al., 2000; MOTA et al., 2003; BOLSON et al., 2008; VULCANI et al., 2008).

A glicerina, devido a sua acentuada hidrofilia (forma ligações covalentes com as moléculas de hidrogênio presentes na água), possibilita a desidratação do tecido nela conservado, o que proporciona uma ação antimicrobiana. A molécula de glicerina, apesar de polar, penetra na célula por meio dos poros das membranas plasmáticas, devido ao seu pequeno diâmetro, e contato com a água intracelular, exercendo uma ação desidratante. Acredita-se, que o efeito conservante da glicerina, também esteja relacionado pela desnaturação de enzimas

autolíticas celulares, sem haver alteração das características fundamentais da textura do tecido (PIGOSSI et al., 1971).

A microscopia eletrônica do músculo liso intestinal conservado em glicerina a 98% revelou algumas rupturas na membrana plasmática das células musculares. Os componentes citoplasmáticos ficaram levemente afastados entre si, o que não possibilitou observar organelas íntegras, porém foram identificados corpos densos. Os núcleos apresentavam-se dilatados com desagregação da cromatina e figuras mielínicas (MOTA et al., 2002).

O peritônio bovino conservado em glicerina a 98%, manteve a sua elasticidade e aparente resistência (RODASKI et al., 2000), assim como o centro frênico canino, também conservado nesse meio (BRUN et al., 2004). A histologia revelou que o peritônio bovino em glicerina a 98%, por 60 dias, praticamente não sofre alterações. Somente as fibras musculares apresentaram-se mais acidófilas, retraídas e com núcleos condensados. Esses aspectos histológicos seriam compatíveis com a ação desidratante da glicerina (DALECK et al., 1988).

O centro tendíneo diafragmático bovino conservado em glicerina a 98% durante 30 dias não apresentou diferenças significativas quanto à resistência, quando comparado ao material in natura, e após esse período, o conservante apresentou-se eficiente contra formas bacterianas vegetativas (RABELO et al., 2004).

O centro frênico canino em glicerina a 98% utilizado na reparação de defeito da parede abdominal de ratos foi substituído progressivamente pelo tecido do hospedeiro, o que comprovou que o centro frênico conservado nesse meio serve como um arcabouço para o desenvolvimento do tecido vivo (BRUN et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2008). Da mesma maneira ocorreu à substituição progressiva do cordão umbilical bovino conservado em glicerina a 98% por tecido de granulação, o que regenerou lesão traqueal em cães (MAZZANTI et al., 2000).

4.7.2. Glutaraldeído

O glutaraldeído é uma excelente opção no tratamento de membranas biológica, por ser facilmente encontrado, econômico e agir rapidamente no tecido a ser preservado, sendo muito utilizado em biopróteses comerciais (OLIVEIRA et al., 2009). As válvulas cardíacas fabricadas, oriundas de válvulas aórticas porcinas, normalmente são tratadas em baixas concentrações de solução de glutaraldeído (KHOR, 1997). Este conservante é capaz de melhorar a estabilidade bioquímica de biomateriais, o que desencadia mudanças em suas características mecânicas, tornando-os mais resistentes e permitindo uma melhor incorporação biológica no tecido anfitrião (RABELO et al., 2004). Além disso, possui uma excelente ação bactericida (OLIVEIRA et al., 2009).

Entretanto, a calcificação do tecido é a principal causa de insucesso dos materiais mantidos nesse meio (KHOR, 1997; BAUCIA et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2009), indicando que o glutaraldeído possua núcleos de ancoragem de cálcio, o que inicia esse processo (KHOR, 1997).

O glutaraldeído mostrou eficiente ação bactericida quando utilizado na concentração de 4% para conservação de cartilagem auricular homóloga de bovino em hérnia umbilical recidivante (SILVA et al., 2005).

O enxerto vascular homólogo de eqüinos fixado em glutaraldeído apresentou boa manipulação cirúrgica, com a possibilidade a realização do implante com as suturas anastomóticas. O conservante também reduziu a antigenicidade do enxerto, permitindo boa preservação histológica da estrutura vascular (DORNBUSCH et al., 2007).

Segundo Rabelo et al. (2004), o centro tendíneo diafragmático bovino conservado em glutaraldeído a 4% durante 30 dias apresentou incremento em sua resistência quando

comparado ao material in natura. Este meio também se mostrou eficiente quanto à sua ação antisséptica sobre formas vegetativas bacterianas.

5.CONSIDERAÇÕES FINAIS

A cistoplastia é uma técnica cirúrgica utilizada experimental e clinicamente em humanos e animais com excelentes resultados. Esta técnica cirúrgica é responsável por melhorar a qualidade de vidas, muitas vezes, salvar vidas, evitando um comprometimento renal sério a baixo custo. Os biomateriais, além de servir de suporte para que células do tecido anfitrião se desenvolvam, podem funcionar como um eficiente alicerce de células tronco para a regeneração de tecidos e órgãos. Os biomaterias conservados se destacam pela praticidade de seu uso e fácil armazenamento. Além disso, estes meios de preservação tem um importante papel pela ação antimicrobiana, antiimunogênica e de preservação das membranas biológicas. Entretanto, ainda são necessários mais estudos, sempre em busca de biomateriais e meios de conservação que desempenhem seus papeis com o mínimo de complicações pós operatórias.

6.REFERÊNCIAS

ANTONOPOULOS, I.M.; PIOVESAN, A.C.; FALCI, R.; KANASHIRO, H.; SAITO, F.J.; NAHAS, W.C. Contribuições à técnica cirúrgica em transplante renal – Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Revista de Medicina, v. 88, n. 3, p. 163-167, 2009.

BARDELA, G. T; COSTA, I. L. O; SANTOS, C. E. M; CREMONINI, D. N; Ruptura de bexiga ocasionada por urolitíase: Relato de Caso. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária, ano IV, n.8, 2007.

BAUCIA, J.A.; LEAL NETO, R.M.; ROGERO, J.R.; NASCIMENTO, N. Tratamentos anticalcificantes do pericárdio bovino fixado com glutaraldeído: Comparação e avaliação de possíveis efeitos sinérgicos. Brazilian Journal Cardiovascular Surgery, v.21, n.2, p.180-187, 2006.

BENIGNI, L.; LAMB, C.R.; CORZO-MENENDEZ, N.; HOLLOWAY, A.; EASTWOOD, J.M. Lymphoma affecting the urinary bladder in three dogs and a cat. Veterinary Radiology & Ultrasound, v.47, n.6, p.592-596, 2006.

BOLSON, J.; SCHOSSLER, J.E.W.; MACHADO, G., ZEMBRZUSKI, F. B. Pino ósseo hómologo conservado em glicerina a 98% e hemicerclagem com fio poliglactina 910 na osteossíntese umeral de pombos domésticos. Ciência Rural, v.38, n.7, p.1925-1931, 2008.

BORGES, R.P.; RAMOS, M.S.; MARCELO, F. Ampliações vesicais. Acta Urológica. v. 24, n. 3, p. 87-93, 2007.

BRANDT, F.T.; SANTOS JUNIOR, M.W.; ALBUQUERQUE, C.D.C.; LORENZATO, F.R.B.; VIANA, L.A.; CUNHA, A.S.C. Junção uretrovesical e uretra proximal após a cirurgia de alça sem tensão em mulheres de 45 a 72 anos. Revista Brasileira De Saúde Materno Infaltil, v.5, p. 185-191, 2005.

BRUN, M.V.; PIPPI, N.L.; DREIMEIER, D.; CONTESINI, E.A.; BECK, C.A.C.; CUNHA, O.; FILHO, S.T.L.; ROEHSIG, C.; STEDILE R. Solução Hipersaturada de Sal como Conservante de Pericárdio Canino Utilizado na Reparação do Músculo Reto Abdominal de Ratos Winstar. Ciência Rural, v.32, n.6, p.1019-1025, 2002.

BRUN, M.V.; PIPPI, N.L.; DREIMEIER, D.; CONTESINI, E.A.; BECK, C.A.C.; CUNHA, O.; FILHO, S.T.L.; ROEHSIG, C.; STEDILE, R.; SILVA, T.F. Solução Hipersaturada de Sal ou de Glicerina a 98% como Conservante de Centros Frênicos Caninos Utilizados na Reparação de Defeitos Musculares em Ratos Wistar. Ciência Rural, v.34, n.1, p.147-153, 2004.

CASTELLAN, M.; GOSALBEZ, R.; BAR-YOSEF, Y.; LABBIE, A. Complications after use of gastric segments for lower urinary tract reconstruction. The Journal of Urology, v. 187, p. 1823-1827, 2012.

CROSS, W.R.; THOMAS, D.F.M.; SOUTHGATE, J. Tissue Engigineering and Stem Cell Research in Urology. Brazilian Journal of Urology, v.92, p.165-171, 2003.

DALECK, C.R.; ALESSI, A.C.; COSTA NETO, J.M.; DALECK, C.L.M.; PADILHA FILHO, J.G. Substituição de um Retalho Diafragmático de Cão por Peritônio de Bovino Conservado em Glicerina: Estudo Experimental. Ars Veterinária, v.4, n.1, p.53-61, 1988.

DALECK, C.R.; PADILHA FILHO, J.G.; DALECK, C.L.M.; COSTA NETO, J.M. Reparação de Hérnia Perineal em Cães com peritônio de Bovino Conservado em Glicerina. Ciência Rural, v.22, n.2, p.179-183, 1992.

DELACROIX, S.E. E WINTERS, J.C. Bladder reconstruction and diversion during colorectal surgery. Clinical in Colon and Rectal Surgery, v.23, n.23, p. 113-118, 2010.

DORNBUCH, P.T.; HUSSINI, C.A.; YOSHIDA, W.B.; SEQUEIRA, J.L.; VULCANO, L.C.; CILO, G.P. Implante jugular homólogo fixado em glutaraldeído, nos eqüinos. Revista Portuguesa de Ciências Veterinária, v. 102, n.561, p. 81-86, 2007.

DYCE, K.M.; SACK, W.O.; WENSING, C.J.G. Tratado de Anatomia veterinária. Rio de Janeiro, Guanabara, p. 567, 1990.

FILHO, J.G.P.; PENHA, L.H.C.; SOUZA, S.F. Uso do enxerto ósseo cortical bovino conservado em glicerina a 98 % na osteotomia femural em gatos. Ciência Animal Brasileira, v.9, n.4, p.1071-1078, 2008.

GALLATI, L.B.; IWASAKI, M. Estudo comparativo entre as técnicas de ultra-sonografia e cistografia positiva para detecção de alterações vesicais em cães. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, v.41, p.40-46, 2004.

GARTNER, L.P.; HIATT, J.L. Tratado de Histologia em Cores. Rio de Janeiro, 2ª: Guanabara Koogan S.A., 2003, 536p.

GIOSO, M. A.; BENITES, N.R.; KÄMPF G. Análise Microbiológica de Ossos de Cães Conservados por Longo período de Tempo na Glicerina a 98% à Temperatura Ambiente, Objetivando a Enxertia Óssea. Acta Cirúrgica Brasileira, v.17, n.4, p.242-246, 2002.

GRECA, F.H.; FILHO, Z.A.S.; SILVA, A.P.G.; LEONEL, I.S.; SOCCOL, A.T.; FERES, A.N.; Longhi. Utilização da Submucosa de Intestino Delgado Porcino como Retalho para Aumento da Capacidade Vesical em Cães. Acta Cirúrgica Brasileira, v.19, n.6, p.670-676, 2004.

JUNQUEIRA L.C.; CARNEIRO J. Histologia Básica. Rio de Janeiro, 10ª: Guanabara Koogan, p.433, 2004.

KHOR, E.; Methods for the tratments of collagenous tissues for bioprostheses. Biomaterials, v.18, p.95-105, 1997.

KOCKUM, C.C.; WILLÉN, R.; MALMFORMS, G. Bladder Augmentation with Different Forms of Intestinal Grafth: an Experimental Study in the Pig. Brazilian Journal of Urology International, v.83, p.305-311, 1999.

LÉVEILLÉ, R.; BILLER, D.S.; PARTINGTON, B.P.; MIYABAYASHI, T. Sonographic investigation of transicional cell carcinoma of the urinary bladder in small animals. Ultrasound, v.33, n.2, p. 103-107, 1992.

MACHADO, C.; CHIN, E.W.K.; IOSHII, S.O.; FILHO, R.T.; BATHEN, A.V. Influence of nicotine on healing of vesical sutures in rabbits. Acta Cirúrgica Brasileira, v.22, n.6, p. 479-484, 2007.

MAIA, J.M.A.; CZECKO, N.G.; FILHO, J.M.R.F.; DIETZ, U.A.; DUCK, D.; RIBAS, C.A.M.; SANTOS, E.A.; BAPTISTELLA, E.; WALLBACH, T.Z.; VALE, J.R.; YAGUSHITA, N. Estudo da cicatrização de suturas na bexiga urinária de ratos com e sem a utilização de extrato bruto de *Jatropha gossypiifolia L.* intraperitonial. Acta Cirúrgica Brasileira, v. 21, Suplemento 2, p. 23-30, 2006.

MAZZANTI A., PIPPI N., RAISER A.G., GRAÇA D.L., SILVEIRA A.F., EURIDES D., FARIA R.X., ALVES A.S., GONÇALVES G.F., STIDILE R., BRAGA F.A. Músculo Diafragma Homólogo Conservado em Solução Supersaturada de Açúcar para a Reparação de Grande Defeito na Diafragma de Cão. Ciência Rural, v.31, n.2, p.277-283, 2001.

MAZZANTI A., RAISER A.G., PIPPI N., ALVES A.S., FARIA R.X., ALIEVE M.M., BRAGA F.A., SALBEGO F.Z. Hernioplastia Diafragmática em Cão com Pericárdio Bovino Conservado em Solução Supersaturada de Açúcar. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.55, n.6, p.677-684, 2003.

MAZZANTI, A.; PIPPI, N.; RAISER, A.G.; GRAÇA, D.L.; SILVEIRA, A.F.; EURIDES, D.; FARIA, R.X.; GONÇALVES, G.F.; GUEDES, A.G.P.; RIOS M.V. Restauração da Traquéia de Cães com Membrana do Cordão umbilical de Bovino Conservada em Glicerina. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, v.37, n.4, 2000.

MAZZANTI, A.; RAISER, A.G.; PIPPI, N.; BARROS, C.S.L.; BRONDANI, J.T.; MARIN, A.; SILVA, T.R.; HILLE, R.; SALBEGO, F.Z.; STIEVEN, D.; ROHDE, R.; DALMOLIN, F. Homoimplante Ortotópico Conservado, Associado à Terapia "Soft Laser" na Reparação Tenopateler em Cão. Ciência Rural, v.34, n.2, p.429-437, 2004.

MOTA F.C.D., EURIDES D., FREITAS P.M., BELLETTI M.E., MASTRONTONIO E.C., SHIMIZU B.J., SILVA L.A.F., CARDOSO J.R., MARTINS A.K . Análise Morfológica Utilizando-se Diferentes

Métodos de Preservação sobre a Camada Muscular do Intestino Delgado de Cães. Ciência Animal Brasileira, v.4, n.2, p.117-123, 2003.

MOTA, F.C.D.; EURIDES, D.; BELLETTI, M.E.; FREITAS, P.M.; MASTRONTONIO, E.C., SHIMIZU, B.J.; CARDOSO, J.R.; MARTINS, A.K. Análise Ultra-estrutural da Túnica Muscular do Intestino Delgado de Cães Preservado em Diferentes Meios. Brasilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, v.39, n.1, p.13-17, 2002.

NUININGA, J.E.; MOERKERK, H.; HANSSEN, A.; HULSBERGEN, CC.A.; OOSTERWIJK-WAKKA, J.; OOSTERWIJK, E.; GIER, R.P.E.; SCHALKEN, J.A.; KUPPEVELT, T.H.; FEITZ, W.F.J. A Rabbit Model to Tissue Engineer the Bladder. Biomaterials, v.25, p.1657-1661, 2004.

OLIVEIRA, L.L. Reconstituição vesical em cães (*Canis familiares*): xenoenxerto com túnica albugínea bovina conservada em glicerina a 98%. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Campos dos Goytacazes-RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro-UENF, 59p, 2008.

OLIVEIRA, S.T.; REISER, A.G.; GUEDES, A.G.P.; ALVES, S.D.L.; GONÇALVES, G.F.; MAZZANTI, A.; BELETTI, M.E.; STEDILE, R.; SILVA, T.R. Reparação do Ligamento Cruzado Cranial de Cães por Tendão Homólogo Conservado em Glicerina e Associado a Fio de Náilon. Ciência Rural, v.33, n.4, p.717-723, 2003.

OLIVEIRA, L.L.; SOUZA, D.B.; ABÍLIO, E.J.; CARVALHO, E.C. Métodos de preservação de membranas biológicas para uso cirúrgico. Jornal Brasileiro de Ciência Animal, v.2, n.3, p. 175-188, 2009.

OMAYA, A.H. E NASSAR, M.D. Modified Le Bag Pouch after radical cystectomy: continence, urodynamic results and morbidity. Journal of the Egyption National Cancer Institute, v.22, n.1, p. 29-39, 2010.

PATWARDHAN, S.K.; AJIT SAWANT S.; ISMAIL M.; NAGABHUSHANA M.; RADHESHYAM R. VARMA R.R. Simultaneous bladder and vaginal reconstruction using ileum in complicated vesicovaginal fistula. Indian Journal of Urology, v.24, n. 3, p. 348-351, 2008.

PIGOSSI, N.; RAIA, A.; GAMA, A.H.; SIMONSEN, O.; HADDAD, J.; STOLF, N.A.G.; ZERBINI, E.J.; MINITI, A.; TENUTO, R. Estudo Experimental e Clínico sobre o Emprego, como implante, da Dura-Máter Homógena Conservada em Glicerina à Temperatura Ambiente. Revista de Associação Médica Brasileira, v.17, n.8, p.263-278, 1971.

RABELO, R. E. et al. Características físicas e microbiológicas do centro tendíneo diafragmático bovino conservado em glicerina a 98% e no glutaraldeído a 4%. Ciência Animal Brasileira, v. 5, n. 4, p. 229-238, 2004.

RAISER, A.G.; GRAÇA, D.L.; PIPPI, N.L.; ZINN, L.L.; SILVEIRA, D.S.; BORDIN, A.I.; BALOTTO, G.C.; RIOS, M.V.; SILVEIRA, A.F. Homoimplante Ortotópico de Tendão Calcâneo em Cães Conservação, Assepsia e Implantação. Ciência Rural, v.31, n.1, p.89-94, 2001.

RAPPETI, J.C.S.; PIPPI, N.L.; CONTESINI, E.A.; FILHO, S.T.L.P.; ALVES, S.D.L.; STIGGER, A.L.; WANDER, A.W.; SILVA, M.F.E.; DALMOLIN, F.; THOMAZ, J. Reconstituição Experimental da Parede torácica de Gatos com Implante Heterógeno de Cartilagem Auricular Conservada em Glicerina a 98%. Ciência Rural, v.33, n.6 p.1089-1094, 2003.

RINGLER, D.J. Inflamação e Reparo In: JONES, T. C.; HUNT, D.R.; KING, N.W. Patologia Veterinária. 6. ed. São Paulo: Manole, cap. 5. p.119-165, 2000.

RODASKI, S.; GUÉRIOS, S.D.; PERRONI, M.A.; NARDI, A.B.; SILVA, C.A.M. Esfincteroplastia Anal Externa Experimental com Membrana de Peritônio Bovino Preservada em Glicerina a 98% em Cães. Archieves of Veterinary Science, v.5, p.55-60, 2000.

ROVERE, R.L.; ALCOBA, A. Alternativas terapêuticas em las neoplasias vesicales caninas. Archivos de Medicina Veterinaria, Valdivia, v.31, n.1, 2002.

SHARIFIAGHDAS, F.; MOGHADASALI, R.; BAHARVAND, H.; HOSSEINI-MOGHADDAM, S.M.; MAHMOUDNEJAD, N. Special characteristics of culturing mature human bladder smooth muscle cells on human amniotic membrane as a suitable matrix. Urology Journal, v. 6, n. 4, p. 283-288, 2009.

SICKLER, D.C.; DELLMANN, H.D. E BROWN, E. Connective and supportive tissues. *In:* DELLMANN, H.D. Text book veterinary histology, 4ª. Philadelphia: Lea & Febiger, p.29-32, 1993.

SILVA, L.A.F., SILVA, O.C., EURIDES, D., SOUSA, V.R., SILVA, M.A.M., FRANCO, L.G., ALCÂNTARA, A.S., RABELO, R.E., DAMASCENO, A.D., JÚNIOR, H.G. Hernioplastia umbilical em bovino: Emprego de implante de cartilagem auricular homóloga e avaliação clínica dos resultados. Acta Scientia Veterinariae, v.33, n.1, p.57-62, 2005.

SLAUSON, D.O. Disturbances of blood flow and circulation. *In:* Slauson, D.O.; Cooper, B.J. (eds) Mechanisms of disease. 3 ed., Local Editora, p.125-126, 2002.

STAACK, A.; HAYWARD, S.W.; BASKIN, L.S.; CUNHA, G.R. Molecular, Cellular and Developmental Biology of Urotelium as a Basis of Bladder Regeneration. International Society of Differentiation, v.73, p.121-133, 2005.

STEEN, P.E.V.D.; DUBOIS B.; NELISSEN, I.; RUDD, P.M.; DWEK, R.A.; OPDENAKKER, G. Biochemistry and molecular biology of gelatinase b or matrix metalloproteinase-9 (MMP-9). Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology, v.37, n.6, p. 375-536, 2002.

TU, D.D.; SETH, A.; GIL, E.S.; KAPLAN, D.L.; MAUNEY, J.R.; ESTRADA Jr. Evaluation of biomaterials for bladder augmentation using cystometric analyses in various rodent models. Journal of Visualized Experiments, v. 66, n. e3981 p. 1-12. 2012.

UCHÔA, G.S.; RODRIGUES, D.F.; ABREU, S.C.; BORGES, N.C.; VIEIRA, D.; GAMA FILHO, J.B.; PAULO, N.M. Sutures using polyglatin 910 and titanium Staples: urinary and urolithogenic aspects in experimental ileocystoplasties in dogs. Ciência Animal Brasileira, v. 12, n. 4, p.733-741, 2011.

VERSEN-HOEYNCK, F.V.; STEINFELD, A.P.; BECKER, J.; HERMEL, M.; RATH, W.; HESSELBARTH, U. Sterilization and preservation influence the biophysical properties of human amnion grafts. Biologicals, v.36, n.4, p.248-255, 2008.

VICENTI, F.A.M.; LAUS, J.L.; NETO, J.M.C.; TAGLIERI, I.C.; CAMPOS, C.F.; JORGE, A.T.; FERREIRA, A.L.; FANTINATTI, A.P. Use of na Allogenous Túnica Vaginalis Conserved in 98% Glicerine for Keratoplasty in Dogs. Revista Brasileira de Ciências Veterinárias, v.9, n.3, p.182-187, 2002.

VULCANI, V.A.S.; MACORIS, D.G.; PLEPIS, A.M.G. Biomateriais para reparação cirúrgica da parede abdominal em animais domésticos revisão. Arquivo de Ciências Veterinária e Zoologia, v. 12, n. 2, p. 141-147, 2009.

VULCANI, V.A.S.; MASCORIS, D.G.; PLEPIS, A.M.G.; MARTINS, V.C.A.; LAPENA, M.H. Obtensão, caracterização e aplicação cirúrgica de matrizes de colágeno na parede abdominal de equínos. Ciência Animal Brasileira, v.9, n.3, p. 778-785, 2008.

WONGSETTHACHAI, P. et al. Urinary bladder wall substitution using autologous tunica vaginalis in male dogs. Research in Veterinary Science, v. 90, p. 156-159, 2011.

Capítulo 26- Distocias em éguas

Anjos, A.P.[1]; Sena, L.M.[1]; Giacomin, D.[1]; Dias, D.P.M.[2]; Martins, C.B.[3]

INTRODUÇÃO

O parto normal é caracterizado pela expulsão do feto do útero materno após a ruptura dos envoltórios fetais para o meio ambiente externo, caracterizando o término da gestação (PRESTES, 2010). A gestação de uma égua possui duração média de 344 dias, entretanto pode variar entre 315 e 388 dias (LU et al., 2006).

Na espécie equina, durante o parto eutócico o potro precisa modificar a sua estática, assumindo a posição dorsosacral, com membros anteriores e pescoço estendidos em direção ao canal do parto favorecendo sua passagem por meio deste (STOUT, 2011). Em partos normais, 98,9% dos fetos estão na apresentação anterior, 1,0% em apresentação posterior e 0,1% em apresentação transversal (LU et al., 2006).

Segundo Morrow (1986) o parto normal é um evento rápido com duração de aproximadamente 30 minutos. Entretanto, 3 a 5% dos partos apresentam complicações tornando-se distócicos (PRESTES, 2010).

A distocia pode ser definida como a dificuldade ou impossibilidade que o feto encontra de ser expulso do útero materno, podendo ser ocasionada por problemas relacionados à égua e/ou ao potro (TONIOLLO; VICENTE, 2003).

Apresenta maior ocorrência em fêmeas multíparas, representando 59% dos casos. Sendo que, a maior causa é de origem fetal, geralmente associada ao mau posicionamento (FONSECA et al., 2010).

Após a ruptura da membrana corioalantoica e início das contrações abdominais, o tempo para a expulsão fetal, deverá ser, no máximo, de 45 a 60 minutos. Ultrapassando esse limite existe o risco da diminuição do aporte de oxigênio pela placenta, devido ao seu descolamento e consequentemente, redução de sua função, causando sofrimento e/ou morte fetal por asfixia (STOUT, 2011).

Apesar da ocorrência do parto distócico ser rara, deve ser considerado como emergência e o atendimento deve ser feito o mais rápido possível visando a saúde materno-fetal (FONSECA et al., 2010).

A providência a ser tomada em casos de distocia, é a realização da anamnese considerando os aspectos mais importantes, simultaneamente ao exame clínico e obstétrico, buscando identificar a causa e a gravidade da situação. Permitindo desta forma, a escolha do procedimento correto e mais adequado para a retirada do potro com segurança do útero materno (STOUT, 2011).

O parto normal pode ser dividido em três estágios, o primeiro é caracterizado pela mudança de comportamento da égua, em que a mesma normalmente demonstra sinais de desconforto semelhentes à síndrome cólica, inquietação, sudorese, isolamento, coiceamento, podendo urinar, deitar e rolar nessa fase. No final dessa etapa o potro assume a posição dorso sacral com os membros anteriores e cabeça estendidos, ocorrem contrações miometrais e ruptura corioalantóide (TIBARY, 2012).

[1]Estudantes de Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal do Espírito Santo, CCA/UFES, Alegre-ES.
[2]Prof. substituta do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, FCAV/UNESP, Jaboticabal, SP. Email: deborah_dias@hotmail.com
[3]Docente do Departamento de Medicina Veterinária, CCA/UFES, Alegre-ES. Email: cbmvt@hotmail.com

A segunda fase é marcada pela passagem do feto para o canal do parto e eliminação do líquido alantóico, assim como o reflexo de Ferguson, definido como a liberação de ocitocina em resposta a dilatação cervical e pressão realizada pelo potro durante a passagem pelo canal vaginal, gerando estímulos nervosos e consequentemente, contrações miometriais, dilatação da pelve e contrações abdominais e diafragmática. Nessa fase, que possui duração média 15 minutos, aparece o âmnio, os membros anteriores e cabeça do potro entre os lábios vulvares; sendo concluída com a total expulsão do potro do útero materno. É nesta fase que se houver distocia, seja de origem materna ou fetal, que se deve fazer a intervenção. A última etapa do parto é caracterizada pela expulsão das membranas fetais (FINGER, 2010).

De acordo com Threfall e Immegart (2000), as éguas apresentam menos complicações no partos em relação a outras espécies, no entanto, sua ocorrência deve ser considerada uma emergência por se tratar de um parto rápido e extenuante. Por isso, deve ser assistido, monitorando o animal à distância observando e intervindo se necessário (JUDDY, 2005; BRINSKO et al., 2011).

2.1. Distocias de causa materna

Dentre as distocias de origem materna, as mais comuns são as anomalias pélvicas como a pelve juvenil, exostose, luxações sacroilíacas, fraturas e osteodistrofia (PRESTES; LANDIM-ALVARENGA, 2006).

Outra causa de distocia, são as anomalias vulvares que podem ocorrer devido à estreitamentos ocasionados por cicatrizes, tumores, edemas, infantilismo ou até mesmo defeitos anatômicos (PRESTES, 2010).

Anomalias vaginais como tumores, hematomas, retrações cicatriciais, prolapsos, edemas, hipoplasia, estenose, dilatação insuficiente, persistência do hímen e eversão da vesícula urinária também podem estar presentes (BRINSKO et al., 2011).

Normalmente, a vagina da égua não constitui impedimento para que o parto ocorra, todavia fêmeas que apresentam estenose do vestíbulo secundária a retração cicatricial, pós-cirúrgica para correção de laceração perineal grau 2 e 3 devem ser monitoradas, pois apresentam predisposição à distocia (PRESTES, 2010).

Quanto aos problemas cervicais, em casos de estresse excessivo pode ocorrer dilatação cervical insuficiente, dificultando a passagem do feto. Presença de tumores, retrações cicatriciais ou cérvix dupla também dificultam ou impedem a parição (TONIOLLO; VICENTE, 2003).

Dentre as anomalias uterinas mais comuns destacam-se as torções, flexões, desvios, histerocele, atonia e hipertonia (BRINSKO et al., 2011).

A atonia uterina é mais frequente em primíparas, podendo ser classificada em primária e secundária (FRAZER et al., 1997). São inúmeras as causas da atonia primária, podendo-se citar as disfunções hormonais como deficiência de estrógeno, relaxina e ocitocina, e ainda a hipocalcemia, hipomagnesemia e hipoglicemia, hidropsia dos anexos fetais, anomalias de desenvolvimento fetal, hipo ou aplasia hipofisária, degeneração miometrial, rupturas uterinas e do tendão pré-púbico, histerocele gravídica, idade avançada e debilidade da fêmea (TONIOLLO; VICENTE, 2003). Enquanto a atonia secundária resulta de partos prolongados e laboriosos, levando a exaustão das fibras musculares uterinas e da fêmea (PUROHIT, 2011).

As contrações uterinas excessivas, comuns na espécie equina, muitas vezes são improdutivas. A hipertonia pode estar associada ao estresse do animal e redução do oxigênio fetal, como também a ruptura e prolapso uterino, lacerações da via fetal mole, prolapso de reto ou da vesícula urinária (PRESTES, 2010).

A torção uterina, apesar de não ser comum, pode ocorrer devido a inquietude da fêmea gestante quando entra em trabalho de parto, o que faz com o que o animal deite e role, este movimento pode desencadear alteração no posicionamento do órgão (PRESTES, 2010).

2.2. Distocias de causa fetal

Prestes (2010) relata que as distocias que ocorrem mais comumente são as de origem fetal, associadas à estática fetal anormal, ao tamanho e comprimento dos membros, cabeça e pescoço do potro.

2.2.1. "Monstros fetais"

De acordo com Jackson (2006), são considerados monstros fetais, os fetos que apresentam qualquer alteração anormal na cabeça, pescoço, membros ou corpo inteiro. No entanto, sua ocorrência é rara. Estão nesse grupo, produtos que apresentam duas faces (Diprosopus), duas cabeças isoladas (Dicephalus), dois fetos que se unem pela região torácica (Thoracopagus), fetos ligados pela região torácica e abdominal (Thoracogastropagus) e fetos unidos pela cabeça (cephalothoracogastropagus).

Grunert e Birgel (1989) descrevem casos de hidrocefalia, considerada como aumento do crânio devido ao acúmulo de líquidos cefalorraquidianos. A polimelia, considerada o aumento do número de membros. O anasarca pode ser observado em neonatos e caracteriza-se por edema generalizado no tecido subcutâneo em toda superfície corporal, ocasionado devido à torção do cordão umbilical. Ascite, como o acúmulo de líquidos na cavidade abdominal. Contraturas, torções, anquiloses, feto com ausência de vértebras coccígenas, sacrais e lombares, no qual os membros encontram-se rígidos.

2.2.2. Estática fetal anormal

De acordo com Lu et al. (2006) dentre as causas fetais que predispõem a distocia, a estática fetal anômala é apontada como a principal causa, sendo a anomalia postural considerada a mais frequente, seguida da má posição e por último da má apresentação.

A estática fetal pode ser definida de acordo com a apresentação, posição e postura em que se encontra o feto no momento do parto. A apresentação é a relação do eixo longitudinal do feto com o eixo longitudinal da mãe, podendo ser classificada como longitudinal anterior/posterior, transversal dorsal/ventral ou vertical ventral/dorsal. Quanto à posição, considerada a relação entre o dorso do feto e o dorso da mãe, pode ser dorsal, em que o dorso do potro esta voltado para o dorso materno; inferior, no qual o dorso do feto esta voltado para o ventre materno e lateral (direito/esquerdo). A postura considera a relação das partes flexíveis do feto com o restante do seu corpo, os membros podem estar fletidos, estendidos ou cruzados, e a cabeça pode ter desvio lateral, dorsal ou esternal (ARTHUR, 1979; GRUNERT; BIRGEL, 1989; VILLARREAL, 2010).

2.2.2.1. Apresentações anormais

De acordo com Jackson (2006) a apresentação posterior (Figura 1) representa 16% dos casos de distocias, embora existam relatos da ocorrência de 1% de nascimentos de potros normais.

O autor supracitado reporta que a apresentação transversa (Figura 2) corresponde a 16% dos casos de distocias e apenas 0,1% dos casos cursam normalmente. Podendo ser

encontradas a apresentação transversal dorsal e transversal ventral, sendo a última considerada mais comum.

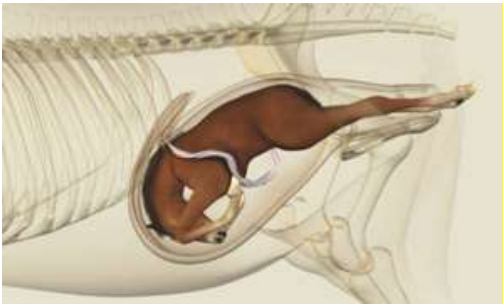

Figura 1. Feto em apresentação longitudinal posterior. Fonte: Foal in mare.

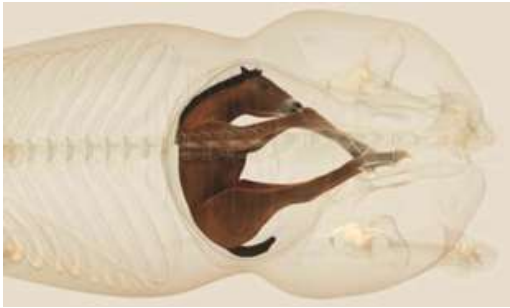

Figura 2. Feto em apresentação transversal ventral, posição lateral e membros estendidos. Fonte: Foal in mare.

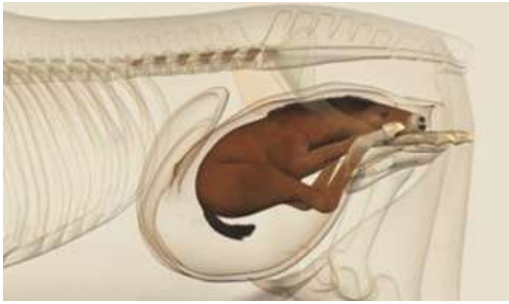

Figura 3. Feto em apresentação vertical (posição de cão sentado). Fonte: Foal in mare.

A apresentação vertical, também pode ser denominada “posição de cão sentado”, ocorre casualmente. Nessa estática a cabeça, pescoço e membros anteriores encontram-se na vagina e as extremidades distais dos membros posteriores situam-se no assoalho pélvico materno (JACKSON, 2006). É considerada a apresentação de maior desafio para o obstetra

(CARD, 2002). O feto pode encontrar-se também em apresentação verticodorsal e verticoventral (PRESTES, 2010).

2.2.2.2. Posições anômalas

Durante o primeiro estágio do parto, o feto que se encontra em posição ventral no útero, deve rotacionar e assumir a posição dorsal (VILLARREAL, 2010; BRINSKO et al., 2011). A má posição geralmente é decorrente da rotação incorreta, desta forma o feto pode assumir posição lateral esquerda, direta ou ventral (JACKSON, 2006).

Figura 4. Feto em posição ventral ou dorso-púbica. Fonte: Foal in mare.

2.2.2.3. Posturas anormais

De acordo com Jackson (2006) e Villarreal (2010), as anomalias posturais ocorrem em decorrência ao deslocamento da cabeça e/ou membros. Tais alterações estão associadas à forma e ao tamanho das estruturas anatômicas, como a cabeça e pescoço dessa espécie. O desvio lateral de cabeça é considerado a causa mais comum de distocia em equinos, sendo responsável por 40% dos casos. Também destaca-se o desvio ventral da cabeça, onde o focinho do potro esta direcionado ao arco pélvico da égua (PRESTES, 2010).

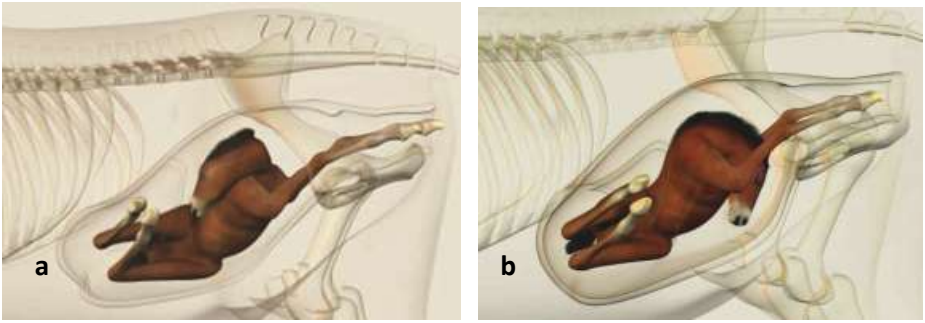

Figura 5. Apresentação longitudinal anterior, posição superior, com desvio da cabeça. **(a)** Desvio lateral da cabeça. **(b)** Retroflexão da cabeça. Fonte: Foal in mare.

Em relação à postura incorreta dos membros anteriores destaca-se a flexão do carpo, extensão incompleta do cotovelo ou flexão do ombro. A segunda postura, mais comum ocorre

se a cabeça do feto for maior do que o normal. E a terceira, se o acometimento for bilateral, entretanto o mais comum é acometer somente um membro (JACKSON, 2006). Prestes (2010) cita a flexão do tarso e flexão coxofemoral como desvios dos membros posteriores.

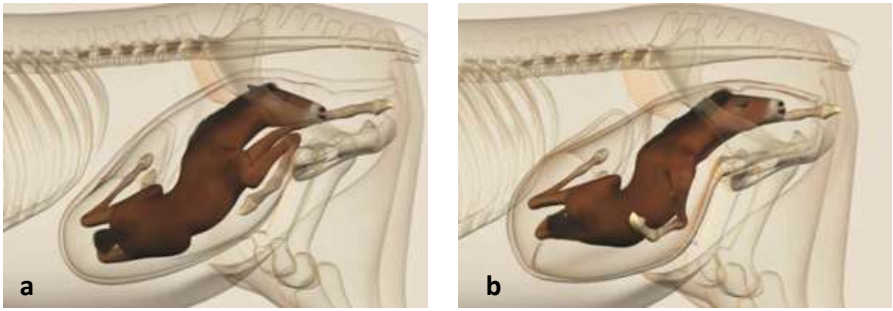

Figura 6. Apresentação longitudinal anterior, posição superior. **(a)** Flexão do carpo. **(b)** Flexão da escápula. Fonte: Foal in mare.

3. Intervenção no parto distócico

Ao intervir em um parto distócico, primeiramente deve-se realizar o exame obstétrico para identificar o problema, determinar a viabilidade fetal e escolher o procedimento mais adequado para o caso (McCUE; FERRIS, 2012).

A identificação do parto distócico pode ser feita a partir de sinais específicos como trabalho de parto prolongado com esforços improdutivos, ou quando há a presença de apenas um dos membros do potro entre os lábios vulvares, sugestivo de má posição fetal, presença de secreção e odor vaginal alterados. O tempo de atendimento é essencial para a sobrevivência da mãe e do produto, se este ainda estiver vivo (BRINSKO et al., 2011; STOUT, 2011).

A escolha do procedimento adequado no momento do parto é fundamental para a sobrevivência do potro e da égua, e para a fertilidade futura desta. Para isso, deve-se ter conhecimento da evolução de um parto normal e os problemas que podem ocorrer durante a esse processo (McCUE; FERRIS, 2012).

Stout (2011) relata que deve-se realizar uma breve anamnese considerando o histórico de partos anteriores, doenças recentes, tempo do parto e de gestação. Também deve ser feito o exame clínico do animal, observando se existe presença de hemorragias, sinais de desidratação ou choque, coloração das mucosas, tempo de perfusão capilar, frequências respiratória e cardíaca, bem como o comportamento da égua. Em seguida, deve ser feito o exame obstétrico verificando a dilatação vaginal, elasticidade da mucosa, abertura cervical, estática fetal e condições dos anexos fetais (PRESTES, 2010).

Stout (2011) reporta que o exame obstétrico deve ser feito com o objetivo de identificar a causa da distocia e solucioná-la de forma rápida e segura. Após o diagnóstico, é importante realizar o prognóstico em relação ao potro, parturiente ou até mesmo as sequelas que podem ser ocasionadas mediante ao procedimento adotado.

O procedimento obstétrico de escolha para intervir no parto distócico dependerá do conhecimento veterinário, espécie envolvida, tempo que o animal entrou em trabalho de parto, viabilidade fetal, equipamentos disponíveis, local e estrutura, bem como a presença de pessoas preparadas para auxiliar (PRESTES, 2010; STOUT, 2011; McCUE; FERRIS, 2012).

A administração de gluconato de cálcio 10% e ocitocina pode auxiliar às contrações, entretanto esse procedimento não é muito utilizado em animais de grande porte. Dentre as

possibilidades de intervenção no parto distócico destaca-se as manobras obstétricas. Destas, a tração forçada é a mais comumente utilizada (PRESTES, 2010). Segundo Card (2002), a força empregada nesse procedimento não deve ultrapassar a força de duas pessoas e deve ser aplicada em direção ao jarrete da égua.

Toniollo e Vicente (2003) e Villarreal (2010) abordam as seguintes manobras obstétricas: Retropulsão: recolocação do feto para dentro do útero de forma manual ou com auxílio de algum instrumento; Extensão: estende-se manualmente membros, cabeça ou pescoço que se encontram fletidos, podendo usar cordas ou ganchos para a execução do movimento; Rotação: objetiva corrigir uma distocia de posição, gira-se o feto manualmente sobre seu eixo longitudinal; Versão: é feita uma manobra para mudar a apresentação do potro de transverso, verticodorsal ou ventral para apresentação posterior ou anterior; Tração: manobra feita para retirada do potro do útero, essa manobra deve ser feita acompanhando as contrações materna, caso estejam presentes. Caso não haja forças expulsivas, a tração será a única força responsável pela expulsão do feto, devendo ser executada manualmente e/ou com auxílio de cordas e/ou ganchos.

Quando necessário, pode-se realizar a episiotomia, técnica cirúrgica, cuja finalidade é facilitar a saída do potro por meio de uma incisão realizada nos lábios vulvares com objetivo de ampliar a abertura (PRESTES, 2010).

A fetotomia, técnica pela qual o feto morto é seccionado utilizando equipamento específico (fetótomo) em vários segmentos menores para facilitar a remoção do útero materno, é indicada quando o feto está morto (JACKSON, 2006; BRINSKO et al., 2011). É imprescindível certificar se o feto está morto. Prestes (2010) relata que para constatar a morte do animal, deve-se testar os reflexos de sucção, digital, anal (caso este se encontre em posição posterior) ou palpar o pulso arterial através do cordão umbilical.

Quando o parto normal não for possível, e o feto estiver vivo, a melhor opção é a cesariana (DUGDALE, 2007; NAHKASHI et al., 2008; VILLARREAL, 2010). Segundo Toniollo e Vicente (2003) a cesariana consiste em uma laparohisterotomia com o objetivo de retirar o feto do útero.

No caso da utilização da sedação ou anestesia, deverão ser utilizados medicamentos de curta duração ou ação reversíveis, no intuito de causar relaxamento e conforto ao animal possibilitando a manipulação do feto com mínimos efeitos cardiovasculares e respiratórios tanto na égua quanto no potro. É importante certificar-se sobre a viabilidade fetal para a escolha adequada do protocolo anestésico (BIDWELL, 2013).

3.1 Procedimentos obstétricos realizados em distocias de origem fetal

Jackson (2006) relata que em casos de monstros fetais a técnica escolhida deve depender do grau da anormalidade. Entretanto, para fetos mortos, o procedimento aconselhável é a fetotomia, enquanto para potros vivos deve-se realizar a cesariana (PUROHIT, 2011).

Para as causas de distocias relacionadas a estática fetal são utilizadas as manobras obstétricas como retropulsão, extensão, rotação, versão e tração. A escolha vai depender da apresentação, posição e/ou postura fetal (TONIOLLO; VICENTE, 2003).

Quando o potro estiver em apresentação posterior, a manobra realizada deve ser retropulsão e se necessário a rotação para a posição dorsal e em seguida a retirada do animal por tração. Na apresentação transversa, devido a dificuldade de manipulação desse feto é aconselhável fazer a cesariana, mesmo quando o feto estiver morto, pois normalmente o animal encontra-se distante da cérvix o que dificulta a manobra obstétrica, mas se for possível o alcance, pode ser feito a fetotomia se o animal estiver morto (VILLARREAL, 2010).

Na apresentação vertical, os membros posteriores do potro devem ser recolocados para dentro do útero, e posteriormente realiza-se a tração do feto, caso não se tenha acesso a

pata posterior do animal, a indicação é fazer a retropulsão da extremidade anterior, em seguida faz-se tração para uma apresentação posterior e posição ventral, seguida de uma rotação para posição dorsal e retirada por tração, entretanto esse procedimento pode causar lesões uterinas. A cesariana pode ser realizada, porém apenas após a manobra de retropulsão, para que seja possível a sua retirada (JACKSON, 2006).

O mesmo autor relata que as formas de correções de anomalias posturais, em casos de desvio lateral de cabeça, no qual após a localização do pescoço do animal acha-se a cabeça, sendo trazida para pelve materna podendo ser puxada pela pele do pescoço ou até mesmo por alguma das orelhas do animal. Caso não seja possível esta execução, torna-se necessário a realização da cesariana ou fetotomia (Figura 7). Já nos casos de desvios de cabeça para baixo, é feita a retropulsão e posteriormente o levantamento do focinho para acima do assoalho da pelve materna; pode-se usar cabrestos para facilitar a correção.

Quando há flexão do carpo e escapulo-umeral (articulação do ombro), indica-se a retropulsão, localizando o membro pelo úmero e procedendo a extensão, a mão do obstetra passa pelo rádio e ao chegar ao carpo, puxa o membro para entrada pélvica. Nas flexões de tarso e coxofemoral, é feita a retropulsão, localiza-se o tarso faz a sua extensão, localiza o metatarso com a finalidade encontrar o casco e por fim o membro é tracionado para o canal do parto (VILLARREAL, 2010).

O executor da manobra obstétrica deve realizá-la com muita cautela, segurança e com o auxílio de lubrificação intensa, para garantir a viabilidade do potro, e que este possa ser liberado do útero evitando sequelas em decorrência do procedimento (JACKSON, 2006).

Prestes e Landim-Alvarenga (2006) citam que é de extrema importância a higienização do períneo, membros posteriores e cauda do animal, bem como o uso de proteção e vestuário adequado pelo obstetra.

Os mesmo autores relatam que se a manobra obstétrica se tornar impossível para a correção da estática fetal, torna-se necessária a abordagem cirúrgica ou fetotomia.

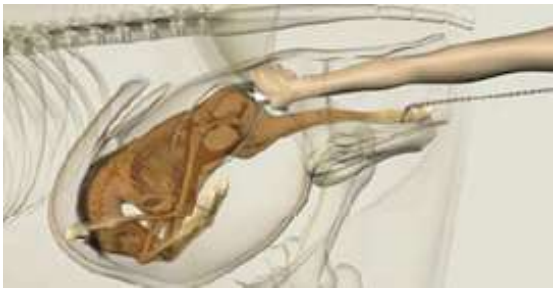

Figura 7. Fetotomia. Notar o posicionamento do fetótomo em torno do membro posterior fletido. Fonte: Foal in mare.

3.2 Procedimentos obstétricos realizados em distocias de origem materna

Em distocias de causa materna o tratamento deve ser realizado com base no diagnóstico e sintomatologia apresentada, dessa forma, procede-se a escolha do método mais adequado para a solução do problema (TONIOLLO; VICENTE, 2003).

Nas anomalias pélvicas, consideradas raras na espécie equina, o tratamento pode ser feito por meio da tração forçada do produto sob intensa lubrificação. Caso não seja possível a realização desta manobra, deve ser feita a cesariana quando o potro estiver vivo e a fetotomia se o potro estiver morto (VILLARREAL, 2010).

Nas obstruções dos tecidos moles, caracterizadas pelas anomalias vaginais, cervicais e uterinas. A sintomatologia clínica normalmente apresentada é a força de expulsão improdutiva, para concluir o diagnóstico, deverá ser feita a palpação transvaginal (TONIOLLO; VICENTE, 2003).

As obstruções vaginais são incomuns em éguas, no entanto, animais idosos podem apresentar carcinoma de células escamosas e melanomas, principalmente as de pelagem tordilha. O ideal é retirar esses animais da reprodução, porém em éguas prenhes deve ser feita a retirada do feto com a tração forçada sob lubrificação ou cesariana na presença de feto vivo (JACSKON, 2006).

Em casos de obstruções cervicais, exceto na presença de tecidos cicatriciais devido a partos anteriores, a cérvix da égua pode ser dilatada manualmente. Pode ser feita cesariana, tração forçada e retirada cirúrgica das bridas presentes (TONIOLLO; VICENTE, 2003).

Nos casos de atonia uterina, pode optar pela cesariana, fetotomia, ruptura manual dos envoltórios fetais seguido de tração do feto, administração de cálcio e ocitócicos (VILLARREAL, 2010).

Éguas que apresentam cólicas no final da gestação devem ser investigadas, pois existe a probabilidade de presença de torção uterina. Caso a égua, apresente este problema, a melhor escolha para a correção, é a cirúrgica, no qual o útero é recolocado via laparatomia em sua posição normal (PRESTES, 2010). A laparatomia pode ser feita pela linha média ventral, o que permite melhor acesso a cavidade abdominal, consequentemente também ao útero. Pode ser identificado comprometimento da parede uterina e feita a sua reparação, bem como saber se o feto ainda esta viável. O procedimento também pode ser realizado pelo flanco com o animal em estação. Sendo a primeira com anestesia geral, e a segunda com anestesia local infiltrativa. Tal procedimento pode ser seguido ou não da cesariana, dependendo do estágio de gestação que o animal se encontra. A literatura aborda outras técnicas para reposicionamento do útero, como a recolocação manual e rolamento da égua sob anestesia geral, entretanto devido aos riscos e ineficácia, a melhor escolha é a correção por meio de cirurgia (JACKSON, 2006).

4. Consequências do parto distócico

O parto distócico pode trazer graves sequelas ao trato reprodutivo da égua, comprometendo a sua fertilidade e causando sérios prejuízos econômicos para o proprietário do animal (SANTOS JÚNIOR et al., 2009).

Como consequências podem ocorrer complicações como hemorragias, lacerações e prolapsos devido principalmente à manipulação excessiva para a retirada do feto (PRESTES, 2010). A égua pode apresentar retenção placentária, retardamento da involução uterina e desconforto abdominal (McGLADDERY, 2001; BYRON et al., 2003; LU et al., 2006).

Hemorragias em pequenas proporções podem ser esperadas, devido à intensa vascularização da mucosa vaginal. A mucosa na fase que antecede o parto se torna edemaciada contribuindo para o rompimento dos vasos sanguíneos. Hematomas podem ser observados na vulva, vestíbulo, vagina e/ou cérvix. Em casos de manipulações bruscas e inadequadas, pouca lubrificação e utilização de instrumentos inadequados pode ocorrer lacerações e perfurações de mucosa, ruptura uterina e descolamento do endométrio (PRESTES, 2010).

Segundo Prestes (2010), devido à anatomia e morfofuncionalidade do útero, ovários e ligamentos, a ocorrência de prolapsos uterinos é rara nessa espécie, diferentemente do que ocorre em bovinos. Animais que apresentam prolapso de uterino no período gestacional, são mais propensos a terem prolapsos no pós-parto, principalmente após o parto distócico com retenção placentária. Podem estar presentes também, o prolapso retal, da vesícula urinária ou ruptura uterina, agravando o quadro.

Figura 8. Imagem fotográfica de uma égua com distocia de origem fetal. (a) Feto morto insinuado na vulva apresentando laceração no focinho. (b) Vulva e região perineal edemaciados com presença de hematomas e retenção placentária. Fonte: Arquivo pessoal.

Segundo Prestes (2010), devido à anatomia e morfofuncionalidade do útero, ovários e ligamentos, a ocorrência de prolapsos uterinos é rara nessa espécie, diferentemente do que ocorre em bovinos. Animais que apresentam prolapso de uterino no período gestacional, são mais propensos a terem prolapsos no pós-parto, principalmente após o parto distócico com retenção placentária. Podem estar presentes também, o prolapso retal, da vesícula urinária ou ruptura uterina, agravando o quadro.

De acordo com Saini et al. (2013), apesar da torção uterina ocorrer com pouca frequência, é um quadro bastante grave que geralmente acomete éguas em fases avançadas da gestação, principalmente no último trimestre. Sinais de dor abdominal são frequentes e podem ser confundidos com síndrome cólica, sendo a palpação transretal essencial para o diagnóstico e prognóstico desta afecção (MONTEIRO et al., 2006). Para corrigir este quadro, deve ser avaliado o grau da torção, os sinais clínicos do animal, como a gravidade da dor, viabilidade do feto e condições financeiras do proprietário do animal. Pode ser feita a rotação manual pelo colo uterino ou correção por meio de laparotomia pelo flanco ou ventral mediana, sendo esta mais indicada (SAINI et al., 2013).

As lacerações podem ser causadas por anomalias na estática fetal, estreitamentos do canal de parto e vulvoplastias. Podem ocorrer em qualquer parte do órgão reprodutivo da fêmea. Nas lesões pequenas a cicatrização ocorre por segunda intenção, espontaneamente, não causando qualquer dano a fertilidade do animal. Diferente das lesões graves, que podem comprometer o órgão reprodutivo de tal forma que impossibilita o animal de emprenhar novamente. Nesses casos, pode-se optar pela reconstituição do tecido por meio de sutura, se a laceração for identificada até no máximo 12 horas após o parto. Se o tempo for superior, a ferida deve ser tratada como aberta (PRESTES, 2010).

O mesmo autor relata que as primíparas são as mais acometidas, entretanto as multíparas que tiveram lacerações em partos anteriores evoluindo para perda tecidual e estenose do canal vaginal, são predispostas. Pode ocorrer comprometimento do vestíbulo vaginal e meato urinário ocasionando refluxo de urina para o fundo vaginal, com consequente inflamação e infecção vaginal, da uretra e vesícula urinária.

Éguas que tiveram parto prolongado ou distócico podem apresentar retenção de placenta e estão mais sujeitas à infecções uterinas no pós-parto, e consequentemente

desenvolvimento de toxemia (BLANCHARD et al., 1986). De acordo com esses autores, existe a associação da toxemia com metrite séptica, isso se deve provavelmente a absorção de endotoxinas de Escherichia coli a partir da mucosa uterina.

Segundo Canisso et al. (2013) a retenção de membranas fetais, considerada quando não há expulsão em até três horas pós-parto, gera graves consequências, pois as membranas retidas proporcionam um ambiente adequado para o crescimento bacteriano e produção de endotoxinas. A absorção sistêmica de endotoxinas e bacteremia são facilitadas devido a dilatação dos vasos uterinos no pré e pós-parto ocasionando metrite, septicemia, laminite e até mesmo a morte do animal.

A metrite séptica pode ocasionar o quadro de necrose hemorrágica aguda do endométrio. As infecções e inflamações uterinas persistentes ou suas sequelas, podem fazer com que a fêmea se torne uma "égua problema", que falha em emprenhar de garanhão fértil por três ou mais ciclos em uma estação reprodutiva (McKINNON, 2013).

A resolução do problema consiste na depuração do útero, controlar o choque e endotoxemia, prevenir e tratar a laminite, manter a contratilidade uterina, modular a inflamação uterina e controlar a proliferação bacteriana na tentativa de evitar complicações no quadro do animal. Pode ser feita a lavagem uterina para auxiliar na remoção de bactérias e detritos celulares, estimular a contratilidade uterina e a migração de neutrófilos para o lúmen uterino auxiliando no controle da infecção (PRESTES, 2010).

O uso de uterotônicos, fármacos como ocitocina, análogos da prostaglandina e borogluconato de cálcio aumentam a contratilidade uterina e facilitam a expulsão do conteúdo uterino e membranas fetais retidas (PRESTES; LANDIM-ALVARENGA, 2006).

Os mesmos autores relatam que pode ser feita a remoção manual das membranas fetais com tração suave, porém existem controvérsias em relação a essa prática, devido ao aumento na probabilidade de hemorragia e/ou infecção uterina. Deve ser feita a administração de antibióticos objetivando prevenir e/ou reduzir o crescimento bacteriano, septicemia secundária e endotoxemia.

Outra consequência da distocia, é a fístula retovaginal, orifício que permite a comunicação do reto com a vagina, devido as lesões causadas pelas manobras obstétricas executadas no momento do parto. Tal sequela permite que as fezes presentes no reto atinjam a vagina, podendo contaminar o útero causando infecções no trato reprodutivo (PRESTES, 2010).

5. Cuidados com o potro e com a égua no pós-parto

As primeiras 24 horas são de extrema importância para a identificação de problemas neonatais (KNOTTENDELT et al., 2003). De acordo Lu et al. (2006) se o neonato sobreviver a distocia, a incidência de morbidade e mortalidade durante as primeiras duas semanas de vida é alta. A maioria dos animais precisará de cuidados intensivos e/ou reanimação. O recém-nascido deve ser colocado em decúbito esternal, ser seco com toalha limpa, e as secreções orais e nasais deverão ser removidas. É importante aferir as frequências cardíaca e respiratória do animal, controlar a temperatura e se necessário realizar a oxigenoterapia. Caso o neonato não comece a respirar deve ser feita a administração de 40 a 100 mg de hidrocloreto de doxapram, fármaco responsável por estimular a atividade respiratória (JACKSON, 2006). Compressões torácicas também deverão ser feitas para a reanimação do potro (LU et al., 2006).

Caso o animal não apresente sinais vitais em até 40 segundos, após a ventilação respiratória e compressões torácicas, deve-se administrar medicamentos para ressuscitação cardiovascular, por via endovenosa. Se o acesso estiver dificultado, alguns medicamentos podem ser administrados via intratraqueal. A adrenalina é a droga de eleição, pois é uma catecolamina endógena que aumenta o tônus vascular, a pressão aórtica diastólica e o fluxo sanguíneo através das artérias coronárias e miocárdio (FINGER et al., 2010).

Alguns potros necessitam de suporte nutricional, antimicrobianos ou suporte cardiopulmonar adicional. O período de asfixia pode resultar na alteração da função neurológica, gastrointestinal, renal ou cardiovascular devido encefalopatia hipóxico-isquêmica. O animal deve ser monitorado quanto ao seu estado clínico e ter seu de posicionamento alterado a cada duas horas (FINGER et al., 2010).

Os autores relatam que os sinais vitais e comportamento do recém-nascido devem ser monitorados durante 24 a 48 horas. A ingestão do colostro deve ser garantida e a cura do umbigo deve ser feita com iodo a 5% duas vezes ao dia até a completa cicatrização. Deve-se observar a eliminação do mecônio, primeiras fezes. Se esta não ocorrer deve ser estimulada com administração de enemas por via retal (JACKSON, 2006).

O estado geral da égua também deve ser observado e se necessário, intervir com tratamento suporte. O trato reprodutivo deve ser avaliado quanto à presença de lesões ou outro potro. Caso seja necessário, deve-se administrar ocitocina para acelerar a expulsão dos anexos fetais, podendo associar a lavagem uterina e antibioticoterapia. Caso o animal apresente retenção placentária, deve-se tomar os devidos cuidados, alertando o proprietário sobre os riscos e a forma de tratamento. Deve-se avaliar ainda, a qualidade macroscópica do colostro, a glândula mamária e traumas associados ao parto (PRESTES; LANDIM-ALVARENGA, 2006).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de não ser comum a ocorrência do parto distócico na espécie equina, deve ser considerada como uma situação de emergência e o atendimento deve ser feito o mais rápido possível, visando a sobrevivência da égua e do produto.

Os exames clínico e obstétrico devem ser realizados de forma dinâmica buscando identificar o problema, determinar a viabilidade fetal e escolher o procedimento mais adequado para o caso em questão.

É de extrema importância a adoção de cuidados especiais no pós-parto, visando a saúde da parturiente e da cria, bem como, adotar medidas preventivas como o parto assistido, nutrição adequada, minimizar situações de estresse e utilizar garanhões que tenham o porte físico compatível com o da égua.

7. REFERÊNCIAS

ARTHUR, G.H. Reprodução e obstetrícia em veterinária. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1979. 573p.

BIDWEEL, A. L. Anesthesia for Dystocia and anesthesia of the Equine Neonate. Veterinary Clinics of North America: Equine Practice, v.29, n.1, p. 215-222, 2013.

BLANCHARD, T. L; ORSINI, J.A; GARCIA, M.C; ELMORE, R.G; YOUNGQUIST, R.S; BIERSCHWA, C.J. Influence of dystocia on white blood cell and blood neutrophil counts in mares. University of Pennsylvania School of Veterinary Medicine Department of Clinical Studies, New Bolton Center Kennett Square, v. 25, n. 2, p. 347-352, 1986.

BRINSKO, S.P.; BLANCHARD, T.L.; VARNER, D.D.; SCHUMACHER, J.; LOVE, C.C.; HINRICHS, K.; HARTMAN, D.L. Dystocia and Postparturient Disease. p. 131-142, In: Brinsko, S.; Blanchard, T.; Varner, D.; Schumacher; Love, C. Manual of Equine Reproduction, 3ed, 2011.

BYRON, C.R.; EMBERTSON, R.M.; BERNARD, W.V.; HANCE, S.R.; BRAMLAGE, L.R.; HOPPER, S. A. Dystocia in referral hospital setting approach and results. Equine Veterinary Journal, v. 35, n.6, p. 82-85, 2003.

CANISSO, I. F.; RODRIGUES, J. S.; SANZ, M. G.; DA SILVA, M. A. C. Clinical Approach to the Diagnosis and Treatment of Retained Fetal Membranes with an Emphasis Placed on the Critically Ill Mare. Journal of Equine Veterinary Science, v.33, n.6, p. 570-579, 2013.

CARD, C. Dystocia in Mares. Large Animal Veterinary Rounds, v.2, p. 82-85, 2002.

DUGDALE, D.J. Dystocia. Equine Study Medicine Course, v.6, n.4, p 25-28, 2007.

FINGER, I. S.; CURCIO, B. R.; FREY, JR F.; NOGUEIRA, C. E. W. Assistência ao parto em equinos. Brazilian Journal of Equine Medicine, v. 5, p. 32-35, 2010.

FONSECA, F. A; VILA FILHO, P.C; HUAIXAN, L.N; XIMENIS, F.B; BORGES, J.R.J; TEIXEIRA NETO, A.R; GODOY, R.F. Estudo retrospectivo de distocia em éguas no HVET-UNB. In: XI CONFERÊNCIA ANUAL DA ABRAVEQ, Suplemento 1, 2010, São Paulo. Anais... São Paulo: Associação Brasileira dos Médicos Veterinários de Equídeos, 2010. v. 29, p. 314.

GRUNERT, E.; BIRGEL, E.H. Obstetrícia veterinária. 3ed. Porto Alegre: Editora Sulina, p. 323, 1989.

JACKSON, P. G. G.; Obstetrícia Veterinária. 2ª ed., São Paulo: Editora Roca, p. 328, 2006.

JUDDY, B. Dystocia in mares. Texas Veterinay News, v.6, n.2, p. 24-26, 2005.

KNOTTENDELT, D.C.; BLANC, M.L.; LOPATE C.; PASCOE, R.R. Equine Stud Farm Medicine and Surgery. Elsevier Science Limited, 2003.

LU, K.G; BARR, B.S; EMBERTSON, R; SCHALER, B.D. Dystocia - A True Equine Emergency, Clinical Techniques in Equine Practice, v. 5, p. 145-153, 2006.

McCUE, P.M.; FERRIS, R.A. Parturition, dystocia and foal survival: A retrospective study of 1047 births. Equine Veterinary Journal, v. 44, suplemento 41, p. 22-25, 2012.

McGLADDERY, A. Dystocia and postpartum complications in the mare. In: Practice, v. 23, p. 74-80, 2001.

McKINNON, A.O. Reprodução da égua problema. Disponível em <http://www.abraveq.com.br/eventos_pdf/conf_sp_egua_problema.pdf> Acesso em: 29 de nov. 2013.

MONTEIRO, G.A.; MAIA L.; IGNÁCIO F.S.; CRUZ A.L.; LOPEZ, M.A.F.; HAGE, M.C.F.N.S. Torção de útero em uma égua – relato de caso. Disponível em < http://intranet.fca.unesp.br/mostra_cientifica/anteriores/2006/FMVZ/Veterin_ria/Cl_nica_> Acesso em 5 de jan de 2014.

MORROW, D. A. Current therapy in Theriogenology. W.B. Saunders Company, Philadelphia. 1986.

NAHKASHI, H. C.; SUTHAR, B. N.; PATEL, R. M. Fetal dystocia in mare. Case reports, n. 1, v. 9, p. 86-88, 2008.

PRESTES, N. C. Consequências do parto distócico em equinos. In: XI CONFERÊNCIA ANULA DA ABRAVEQ, Suplemento 2., 2010, São Paulo. Anais... São Paulo: Associação Brasileira dos Médicos Veterinários de Equídeos, 2010. v. 29, p. 63-65.

PRESTES, N. C.; LANDIM-ALVARENGA, F. C. Obstetrícia Veterinária. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1ed., p. 238, 2006.

PUROHIT, G. N. Intrapartum conditions and their management in the mare: A review. Journal of Livestock Science, v. 2, p. 20-37, 2011.

SANTOS JÚNIOR, D. A.; BARROS, M. B. S.; SILVA, E. G.; HOLANDA, L. C. Prolapso uterino em égua – relato de caso In: IX JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO - JEPEX, 2009, Recife, PE. Anais... Recife: UFRPE /CEGOE, 2009. Disponivel em <http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/lista_area_10.htm>. Acesso em: 14 de dez. 2013.

SAINI, N. S; MOHINDROO, J; MAHAJAN, S.K; RAGHUNATH, M; KUMAR, A; SANGWAN, V; SINGH, T; SINGH, N; SINGH, S.S; ANAND, A; SINGH, K. Surgical Correction of Uterine Torsion and Mare e Foal Survival in Advance Pregnant Equine Patients. Journal of Equine Veterinary Science, p. 31-34, 2013.

STOUT, T.A.E. Lidando com a distocia equina a campo. In: XI CONFERÊNCIA ANUAL DA ABRAVEQ, Suplemento 2, 2011, São Paulo. Anais... São Paulo: Associação Brasileira dos Médicos Veterinários de Equídeos, 2011. v. 35, p. 44-46.

THRELFALL, W. R.; IMMEGART, H. M. Lesões no parto. In: REED, S. M.; BAYLY, W. M. Medicina Interna Equina. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

TIBARY, A. Dystocia and obstetrical manipulations in the maré. In: XI CONFERÊNCIA ANUAL DA ABRAVEQ, 3., 2012, LOCAL. Anais...LOCAL: Associação Brasileira dos Médico Veterinários de Equídeos, 2012. v. 41, p. 72-75.

TONIOLLO, G.H.; VICENTE, W.R.R. Manual de Obstetrícia Veterinária. 2ª ed., São Paulo: Editora Varela, p. 124, 2003.

VILLARREAL, I. Foetal development. In: GOVAERE, J.; MARTENS, K.; KRUIF, A. Foal in Mare - Insights inside the foaling mare, DVD Review, 2nd edition, Merelbeke, Belgium: Ghent University, 2010.

Capítulo 27- Hipertensão arterial sistêmica em gatos

Afonso, B.C.; Passos, C.B.; Castro, B.S.B.; Aptekmann, K.P.; Oliveira, L.L.; Reis, A.C.; Aguiar, M.C.F.; Santos, P.O.P.R.

INTRODUÇÃO

Os gatos podem apresentar um aumento persistente e significante da pressão arterial (PA), caracterizando uma hipertensão arterial sistêmica (HAS), podendo ser de causa primária ou secundária (REUSCH; SCHELLENBERG; WENGER, 2010; JEPSON, 2011). Os valores de PAS que conferem o diagnóstico de HAS variam de acordo com a literatura consultada (HENIK, 1997; BROWN et al., 2007; CHETBOUL; BIOURGE, 2008; SMITH JR; SCHROPE; SAMMARCO, 2008). No entanto, de acordo com as diretrizes do Colégio Americano de Medicina Interna Veterinária (*American College of Veterinary Internal Medicine* - ACVIM), o diagnóstico e a classificação da HAS podem ser feitos com base na categorização de risco associado à lesão de órgãos alvo (RLOA), sendo: hipertensão leve (150-159 mmHg), com risco leve de lesão de órgãos alvo; hipertensão moderada (160-179 mmHg), com risco moderado de lesão de órgãos alvo e; hipertensão severa (≥ 180 mmHg), com risco severo de lesão de órgãos alvo (BROWN et al., 2007).

HAS primária

A HAS primária ou idiopática ocorre quando não é identificada uma causa específica para a elevação da PA pelos exames diagnósticos (WARE, 2010; JEPSON, 2011), podendo chegar a 20% dos casos de HAS em felinos (MAGGIO et al., 2000; ELLIOT et al., 2001; ELLIOTT; FLETCHER; SYME, 2003; JEPSON et al., 2007). Esses resultados porém devem ser interpretados com cautela, uma vez que podem haver doença renal crônica (DRC) subclínica ou hiperaldosteronismo primário não diagnosticados (REUSCH; SCHELLENBERG; WENGER, 2010).

É considerado um problema multifatorial, consequente da interação entre fatores genéticos e ambientais, que levam a desregulação dos mecanismos neuro-humorais e renais, responsáveis pelo controle da PA. No entanto, ainda não foi possível identificar os genes que predispõem a este tipo de hipertensão, mesmo na medicina humana, onde a HAS primária corresponde a 95% dos casos (FREEL; CONNEL, 2004).

O diagnóstico da HAS idiopática é estabelecido por exclusão das doenças de base, quando medições confiáveis da PA sistólica demonstram um aumento sustentado, concomitante com bioquímica sérica e urinálise normais. O aumento da PA pode induzir à poliúria (a chamada diurese de pressão) e, portanto, a presença de baixa densidade específica da urina (<1.030) em um paciente com PA sistêmica elevada não demonstra que a doença renal está presente. Por outro lado, a presença de urina concentrada (>1.030) faz com que a doença renal seja menos provável. A determinação de ureia e creatinina, ultrassonografia e quantificação da proteinúria também podem ser realizados para descartar doença renal subclínica. A dosagem de hormônios, como aldosterona, também pode ser utilizada para descartar endocrinopatias (BROWN et al., 2007).

Existem poucos estudos sobre a influência do sódio na dieta na gênese da HAS em gatos, porém a ingestão elevada de cloreto de sódio, que levaria a HAS primária em humanos, parece não influenciar a PA dos felinos, a menos que a ingestão de sal seja maciça ou haja uma

causa de hipertensão secundária pré-existente (LUCKSCHANDER et al., 2004; SNYDER; COOKE, 2005; XU; LAFLAMME; LONG, 2009).

HAS secundária

A HAS secundária nos gatos é causada principalmente pela DRC. Estudos mostram que cerca de 20 a 65% dos felinos doentes renais são hipertensos (KOBAYASHI et al., 1990; STILES; POLZIN; BISTNER, 1994; SYME et al., 2002). No entanto, ainda não foi possível determinar se nos felinos a hipertensão é causa ou consequencia da DRC. Embora a porcentagem descrita acima para doentes renais hipertensos seja verídica, muitos dos gatos com DRC apresentam PA normal no momento do diagnóstico e podem nunca desenvolver a HAS (JEPSON, 2011).

Na DRC, inúmeros fatores podem contribuir para o aparecimento da HAS. Ocorre alteração do fluxo sanguíneo intrarenal ou estenose da artéria renal, de tal forma que a pressão reduz dentro das arteríolas aferentes renais causando aumento da liberação de renina. Essa ativação constante do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) produz a constrição das arteríolas sistêmicas, induzida pela angiotensina II, aumentando a resistência periférica total (RPT) (BROWN, 2006). Outro fator que atua concomitantemente é a reabsorção renal aumentada de sódio e água, que ocorre mediante ações da angiotensina II no túbulo proximal e da aldosterona no túbulo distal. A elevação da PA normalmente resultaria em excreção de sódio e água pelos rins, porém, com a doença do parênquima renal, essa propriedade é alterada aumentando a reabsorção renal de sódio e água, contribuindo ainda mais para a expansão do volume do líquido extracelular. Com o aumento do volume do líquido extracelular, o retorno venoso aumenta, elevando a pré-carga ventricular e, consequentemente, o volume sistólico também aumenta (BROWN, 2006).

Outra causa comum de HAS secundária, principalmente nos gatos geriátricos, é o hipertireoidismo, com uma prevalência variável de 23 a 87% dos gatos não tratados para esta endocrinopatia (KOBAYASHI et al., 1990; STILES; POLZIN; BISTNER, 1994; BROWN, 2006). Mesmo após a instituição do tratamento e controle da doença, alguns gatos inicialmente normotensos, tornam-se hiperntensos provavelmente pelo desenvolvimento de uma DRC, que é uma complicação comum do hipertireoidismo (WILLIAMS; ELLIOTT; SYME, 2013).

Na espécie felina, o mecanismo pelo qual o hipertireoidismo leva a HAS ainda não está bem definido, mas presumi-se que seja semelhante ao que ocorre nos seres humanos. O excesso de hormônios tireoidianos potencializam a função cardíaca e a sensibilidade do miocárdio às catecolaminas, resultando em taquicardia e aumento de volume sistólico, que culmina na HAS (BROWN, 2006). A vasodilatação e a diminuição na resistência periférica total também são resultado do hipertireoidismo, devido ao acúmulo de metabólitos vasodilatadores locais e também do efeito direto da tri-iodotironina (T3) no músculo liso vascular. A diminuição da RPT também provoca o aumento da frequência cardíaca (FC) e do débito cardíaco (DC). Uma diminuição na RPT reduz a pressão de perfusão renal, que por sua vez, estimula o SRAA, aumentando a reabsorção de sódio e, portanto, aumenta o volume plasmático. O hormônio T3 também pode estimular a produção de eritropoietina e, consequentemente, de células vermelhas do sangue, levando a um aumento no volume de sangue total (JEPSON, 2011).

Causas menos comuns de HAS secundária incluem diabetes mellitus ou, mais raramente, hiperadrenocorticismo, feocromocitoma e hiperaldosteronemia (CHETBOUL; BIOURGE, 2008). A HAS decorrente do diabetes mellitus advém da produção excessiva de renina e da expansão do volume sanguíneo associado à hiperglicemia (BROWN, 2006). Essa doença provoca graves problemas cardiovasculares em humanos, já em cães e gatos, a hiperglicemia não causa alterações evidentes no sistema cardiovascular. Estudos recentes

demonstraram que a HAS (neste caso PA sistólica >160 mmHg e diastólica >100 mmHg) ocorreu em 46% dos 50 cães com diabetes. Já em gatos com diabetes, a HAS é raramente relatada (SMITH JR; SCHROPE; SAMMARCO, 2008). A causa da HAS decorrente da diabetes não é bem conhecida, mas pode estar associada com a duração da doença e com o aumento de albumina e creatinina na urina. Suspeita-se estar relacionada com alterações na conformidade vascular, secundárias a alterações no perfil lipídico, hiperfiltração glomerular generalizada, e microangiopatia imune (SMITH JR; SCHROPE; SAMMARCO, 2008).

O hiperadrenocorticismo aumenta a resistência vascular, a sensibilidade do músculo liso para catecolaminas e a produção do angiotensinogênio. Essas alterações elevam a PA do animal, podendo causar hipertrofia miocárdica, agravando assim os problemas cardíacos subjacentes (SMITH JR; SCHROPE; SAMMARCO, 2008).

Os feocromocitomas são tumores raros de células neuroendócrinas da região medular da glândula adrenal. A consequência dessa doença é a produção excessiva de epinefrina e norepinefrina, que resulta em vasoconstrição periférica, taquicardia e efeito inotrópico positivo, o que eleva o volume sistólico (BROWN, 2006). Os efeitos cardiovasculares resultantes dos feocromocitomas estão associados à estimulação dos receptores α e β-adrenérgicos simultaneamente. Os efeitos β-adrenérgicos incluem taquicardia, aumento da velocidade de condução cardíaca, aumento da contratilidade cardíaca, vasodilatação venosa e arteriolar. Já os efeitos α-adrenérgicos são vasoconstrição venosa e arteriolar. Além disso, o excesso de catecolaminas pode causar lesão miocárdica e vasoconstrição coronariana (SMITH JR; SCHROPE; SAMMARCO, 2008).

Nos casos de hiperaldosteronismo primário, há um excesso na produção do mineralocorticoide aldosterona, geralmente pela presença de um tumor na zona glomerulosa da glândula adrenal. Os efeitos do excesso deste hormônio estão relacionados com o aumento da reabsorção tubular de sódio e a secreção de potássio. O efeito final deste processo é a elevação da PA devido ao aumento do volume do líquido extracelular, que extravasa para dentro dos vasos, aumenta a pressão média de enchimento da circulação, levando ao aumento do DC que eleva a PA (GUYTON; HALL, 2006).

Diversos medicamentos também podem elevar a PA, tais como: corticosteroides, utilizados como antiinflamatórios ou imunossupressores; ciclosporina A, um agente imunossupressor; fenilpropanolamina, agonista α-adrenérgico utilizado em alguns casos no tratamento de incontinência urinária; e eritropoetina, utilizada como estimulante da produção de eritrócitos na DRC (BROWN, 2006).

Hipertensão do jaleco branco

A hipertensão ou síndrome do jaleco branco é relatada como uma consequência da estimulação do sistema nervoso autonomo e central durante situações de estresse, ansiedade ou excitação (JEPSON, 2011). O aumento transitório da PA durante o manejo dos felinos pode ser responsável por um aumento de até 30 mmHg nos valores da PA sistólica. Sendo assim, o médico veterinário deve realizar a aclimatação do paciente por no mínimo 10 minutos, de forma que os efeitos da atividade simpática sobre a PA sejam minimizados. Também é importante que a mensuração da PA seja realizada antes do exame físico e que o ambiente seja o mais calmo possível (BELEW; BARLETT; BROWN, 1999; SPARKES et al., 1999; SCHERK, 2008; REUSCH, SCHELLENBERG, WENGER, 2010).

Um estudo demonstrou que os gatos submetidos a visitas períodicas a clínica veterinária durante um período de seis semanas não mostraram evidência de habituação, permanecendo suscetíveis a síndrome a cada nova visita (BELEW; BARLETT; BROWN, 1999). Isso destaca a importância da aclimatação e do cuidado na avaliação do grau de estresse

do paciente e dos valores medidos da PA, evitando assim um diagnóstico errado (JEPSON, 2011).

Fatores de risco e prevalência da HAS

Além das doenças pré-existentes que levam a HAS, pode-se relacionar este aumento a alguns fatores, denominados fatores de risco, como: idade, peso, tipo de alimentação, estresse, fatores ambientais, dentre outros (PEDRO, 2011).

Quanto à idade, foi identificada uma correlação positiva entre a PA sistólica e a idade dos felinos (PEDRO, 2011), sendo que gatos acima de 11 anos possuem maior probabilidade de apresentar a HAS, o que já é esperado, visto que nesta espécie a hipertensão costuma ser secundária a doenças que ocorrem em indivíduos mais velhos (BODEY; SANSOM, 1998; LUCKSCHANDER et al., 2004; SCHERK, 2008).

Com relação ao peso, um estudo realizado por Jepson e colaboradores (2007) encontrou como média do peso corporal dos gatos hipertensos avaliados, 5,17 kg, variando de 3,7 a 6,2kg. De acordo com Champion (2011), gatos com condição corporal ideal possuem PA mais baixa que os obesos. A relação entre o peso destes animais, principalmente quando obesos, e a HAS está associada com a presença de síndrome metabólica, que representa um conjunto de fatores de risco de origem metabólica envolvidos no desenvolvimento de doenças cardiovasculares e de diabetes mellitus tipo 2 (ALBERTI; ZIMMET; SHAW, 2006). Além disso, nos casos de obesidade, onde os adipócitos estão em elevada quantidade, as concentrações de angiotensinogênio (precursor da angiotensina II) também aumentam, elevando a atividade vasoconstritora, que pode resultar na hipertensão e DRC (HENEGAR et al., 2001; ENGELI et al., 2003).

Sabe-se que em humanos o sistema cardiovascular é um dos mais afetados pelo estresse (MCEWEN; GIANAROS, 2010). O estresse crônico desencadeia a liberação de hormônios e neurotransmissores que, em conjunto, aumentam a FC e a PA (STEPHENSON, 2004). Entretanto, Pedro (2011), comparando a PA de gatos expostos a diferentes fatores ambientais causadores de estresse, como número de gatos por domicílio, tipos e quantidade de contactantes (cães, gatos ou ambos) e acesso à rua, não encontrou significância estatística nos resultados. O único fator ambiental que apresentou significância estatística, foi a relação entre o tempo que o animal brincava e a PA, sendo que esta era mais baixa nos animais que passavam mais tempo brincando. Em outro estudo, Mendes-Junior, Aptekmann e Passos (2013a) não encontraram correlação entre a existência de fatores fisiológicos e/ou ambientais e os valores da PA sistólica dos 50 gatos por eles avaliados. Esse fato porém pode ser explicado pela pequena amostra de animais hipertensos que se enquadravam nas categorias de fatores ambientais avaliadas no primeiro estudo citado e na pequena quantidade de gatos diagnosticados como hipertensos no segundo estudo.

Em um estudo com 104 gatos aparentemente saudáveis, apenas 2% tinham HAS (neste caso, PA >170 mmHg) (BODEY; SANSOM, 1998), enquanto que nos estudos realizados por Passos, Aptekmann e Mendes Júnior (2012b) e por Syme (2002), as prevalências foram de 12% e 19,4%, respectivamente. No entanto, a falta de técnicas uniformes de aferição, dos critérios de inclusão de variáveis e dos limiares inconsistentes para estabelecer um diagnóstico de HAS em medicina veterinária, torna-se difícil interpretar os dados de prevalência (BROWN et al., 2007).

Consequências da HAS

Se diagnosticada tardiamente, as consequências da HAS podem ser graves para os felinos. Os órgãos mais vulneráveis aos danos da hipertensão crônica e as alterações vasculares

por ela causados, são aqueles com um rico suprimento arteriolar, como o coração, o cérebro, os olhos e os rins (MAGGIO et al. 2000; GREEN, 2008). Em um estudo envolvendo 58 gatos com hipertensão, 78% apresentavam sinais cardíacos (sopro em 62% e ritmo de galope em 16%), 54% sinais neurológicos, 53% sinais renais (poliúria e polidipsia) e 48% sinais oculares (CHETBOUL et al., 2003).

A elevação na PA e na RPT aumentam a tensão de pós-carga sobre o coração, causando remodelação e hipertrofia concêntrica do ventrículo esquerdo, podendo levar a insuficiência valvar secundária com sopro sistólico (HENIK, 1997; SCHERK, 2008). Ritmo de galope, taquicardia e pulso oscilante também são achados comumente observados em gatos hipertensos (HENIK, 1997; ELLIOT et al., 2001; STEPIEN, 2011).

Os efeitos da hipertensão sobre os rins dos felinos parecem ser um pouco diferentes dos que foram reconhecidos em cães e seres humanos. Nesta espécie, as arteríolas aferentes, responsáveis por um efeito autorregulador do fluxo renal, são mais resistentes aos efeitos prejudiciais da hipertensão e capazes de compensar mais efetivamente do que em outras espécies (SCHERK, 2008). Porém, a elevação crônica da PA leva a progressiva hipertensão glomerular e lesão renal. Alterações histológicas renais associadas com hipertensão crônica incluem glomeruloesclerose, atrofia glomerular, glomerulonefrite proliferativa e necrose com perda progressiva do parênquima (HENIK, 1997). Achados comumente observados em gatos que apresentam um estado hipertensivo incluem poliúria e polidipsia (SMITH JR; SCHROPE; SAMMARCO, 2008).

A vasoconstrição decorrente da resposta fisiológica à pressões sistêmicas elevadas, a fim de manter um fluxo de sangue cerebral constante, resulta em necrose fibrinóide, que pode levar à diminuição do fluxo sanguíneo, trombose, isquemia, perda de integridade vascular, edema, hemorragia e infarto (GREEN, 2008). Sinais que são consistentes com hemorragia cerebral, como inclinação de cabeça, depressão, nistagmo e convulsões, têm sido clinicamente evidentes em gatos com hipertensão não controlada e estão associados a um prognóstico ruim (HENIK, 1997; HENIK, DOLSON, WENHOLZ, 2005). Os animais também podem apresentar sinais clínicos associados com o aumento da pressão intracraniana, como convulsões ou sensibilidade à luz (STEPIEN, 2011).

Dentre as alterações oculares, a retinopatia é a manifestação clínica mais relatada nos felinos hipertensos (BODEY, SANSOM, 1998; JEPSON et al., 2007). A exposição prolongada a elevadas pressões sistêmicas resulta em hemorragias retinianas, descolamento da retina e hifema. Os sinais podem resultar em alterações na aparência do olho do paciente, como dilatação pupilar persistente ou ainda um início agudo de cegueira (GREEN, 2008; SCHERK, 2008; STEPIEN, 2011).

Diagnóstico

Utiliza-se a PA sistólica sistêmica para a realização do diagnóstico da HAS. Na medicina humana a PA sistólica é um fator de risco cardiovascular mais frequente do que a PA diastólica, e tem um impacto maior sobre o estadiamento da PA, embora isso possa variar de acordo com sexo, idade e país (BANEGAS et al., 2002). Devido a tal fato, acredita-se que na medicina veterinária esta afirmação também proceda, atestando então que a aferição da PA sistólica é mais importante e eficaz para o diagnóstico da HAS.

Existem diversos métodos disponíveis para aferição da PA, sendo eles divididos em duas categorias: invasivos e não invasivos. Independentemente do método escolhido, as medições devem ser realizadas ao nível da base do coração, devido à gravidade que “puxa” o sangue para baixo, provocando um aumento da pressão real em vasos que estão abaixo do coração. Esse efeito pode ser atenuado mantendo o animal em decúbito durante a aferição (STEPHENSON, 2004; REUSCH, SCHELLENBERG, WENGER, 2010).

O método mais preciso para a aferição é o invasivo, tido como padrão ouro, com medição direta da PA, no qual um cateter é colocado na artéria femoral do animal em decúbito lateral. A pressão no cateter é gravada por meio de um transdutor e apresentada num projetor gráfico. No entanto, apesar do método proporcionar resultados mais confiáveis, o mesmo pode causar dor e estresse ao paciente, o que pode aumentar os valores da PA (VAN DE SANDT et al., 2004), além de se revelar um método desconfortável e inadequado para uso rotineiro (ACIERNO et al., 2010; REUSCH, SCHELLENBERG, WENGER, 2010). Por estas razões, é dada preferência aos métodos não invasivos, que são mais simples e menos estressantes, possibilitando determinar a PA na rotina de atendimento na clínica de pequenos animais (VAN DE SANDT et al., 2004).

No método oscilométrico, a braçadeira é acoplada na cauda, próxima ao nível do coração, com o animal em decúbito esternal (STEPIEN, 2011). A braçadeira é insuflada e as oscilações causadas pela onda de pulso na artéria são medidas e convertidas em valores de PA (sistólica, diastólica e média) por um microprocessador (VAN DE SANDT et al., 2004). Porém, de acordo com Green (2008), somente a pressão sistólica é realmente aferida, sendo a baixa eficiência relacionada com o fato das artérias periféricas dos felinos serem pequenas, não permitindo a geração de pressão suficiente para produzir pulso detectável com oscilações de pressão (HENIK, 1997). Outro problema é que, apesar da maioria das máquinas oscilométricas serem automatizadas e requererem apenas um aperto de botão, o tempo para obter as leituras pode demorar vários minutos (GREEN, 2008).

O método de escolha para aferir a PA em felinos é o Doppler, uma vez que as medidas obtidas são consideradas confiáveis, o tempo de aferição é menor que no oscilométrico e o custo é baixo. No entanto, os resultados obtidos por meio deste aparelho também estão relacionados com o operador (HENIK, 1997; VAN DE SANDT et al., 2004; ACIERNO et al., 2010; PETRIC et al., 2010). Assim, para obter resultados confiáveis, o operador responsável pelas aferições deve ser paciente e hábil no manejo do animal e do equipamento (BROWN; HENIK, 1998; HENIK; DOLSON; WENHOLZ, 2005; REUSCH, SCHELLENBERG, WENGER, 2010). O método Doppler pode ainda apresentar outras limitações, como o fato de aferir com precisão apenas a PA sistólica, ser incomodo e levar tempo para utilizar em animais conscientes (PETRIC et al. 2010).

O Doppler possui um transdutor que permite localizar a artéria através de um sinal sonoro do fluxo sanguíneo, gerado pelo movimento das células vermelhas do sangue. A tricotomia prévia do local onde será colocado o transdutor no membro, assim como a utilização de gel, ajudam a melhorar o contato entre o transdutor e a pele do animal (VAN DE SANDT et al., 2004; SCHERK, 2008; SMITH JR; SCHROPE; SAMMARCO, 2008).

Os gatos tendem a ficar mais confortáveis na posição sentado com o membro anterior escolhido suavemente estendido pelo operador, de tal forma que o cotovelo não esteja agudamente flexionado e o punho esteja aproximadamente em nível com o coração (STEPIEN, 2011).

Deve-se dispor de tamanhos diferentes de manguitos pediátricos (braçadeira) para avaliar e escolher qual possui a largura ideal para o paciente, que deve corresponder a 40% da circunferência do membro (VAN DE SANDT et al., 2004; HENIK; DOLSON; WENHOLZ, 2005; GREEN, 2008; SCHERK, 2008; STEPIEN, 2011). O uso do membro anterior ou posterior é igualmente válido (SCHERK, 2008). A seleção do tamanho do manguito e a colocação do mesmo é tido como o fator específico mais importante que afeta a PA. Manguitos de tamanho inadequado afetam a medição da PA em gatos, onde o uso de manguitos demasiadamente grandes resultam numa mensuração de pressão muito baixa, e o contrário também é verdadeiro (HENIK, 1997; SCHERK, 2008; ACIERNO et al, 2010; PETRIC et al., 2010; REUSCH, SCHELLENBERG, WENGER, 2010; STEPIEN, 2011).

O manguito deve ser então colocado em torno do membro anterior em região distal ao cotovelo, ou em torno de um dos membros posteriores em região proximal ao carpo. O transdutor do Doppler é colocado no membro anterior superficialmente à artéria antebraquial (figura 1) ou no membro posterior na região mediodorsal do tarso superficialmente à artéria tibial cranial (VAN DE SANDT et al., 2004). Uma vez que o pulso é localizado, a braçadeira é inflada até que as pulsações não sejam mais detectadas. O manguito deve ser inflado a uma pressão 30 a 40 mm Hg maior do que a requerida para obliterar o pulso (HENIK, 1997). A braçadeira é então esvaziada lentamente até as pulsações serem audíveis novamente, observando o registro da pressão no manômetro (VAN DE SANDT et al., 2004). O primeiro som ouvido é o do sangue quando este começa a fluir através da artéria, sendo esta a pressão sistólica (HENIK, 1997).

Figura 1. Local de colocação do transdutor para detecção do sinal sonoro para aferição da pressão arterial sistêmica em felino, utilizando-se o método Doppler. Fonte: Arquivo pessoal.

Pelo fato dos gatos serem propensos a "síndrome do jaleco branco", os resultados de uma única aferição da PA não devem ser considerados verdadeiros (SMITH JR; SCHROPE; SAMMARCO, 2008), mas existem controvérsias entre autores com relação ao número de medidas que devem ser feitas. A forma mais comumente utilizada é realizar aferições ao longo de vários minutos até uma série de cinco valores e, em seguida obtêm-se a média (SCHERK, 2008; STEPIEN, 2011).

Ruído, medo e a sensação do manguito inflar e desinflar podem contribuir para elevar a pressão no momento em que se faz a medição, sendo causas artificiais que podem induzir a um diagnóstico impreciso (SCHERK, 2008). O uso de fone de ouvido pode ser feito para ajudar a reduzir o ruído para o gato, bem como facilitar o operador de ouvir o sinal, devendo permanecer em silêncio durante todo o procedimento (SCHERK, 2008; SMITH JR; SCHROPE; SAMMARCO, 2008). Sempre que possível, as medições devem ser feitas com o animal no colo do proprietário (SCHERK, 2008).

Outras indicações para garantir uma leitura rápida e tranquila com resultados confiáveis, são: a aferição da PA deve ser feita em uma sala silenciosa; deve-se evitar o trânsito de pessoas e animais dentro e fora da sala; o animal deve ser tratado de maneira calma e paciente; o proprietário do animal deve estar presente desde que seja capaz de acalmar o animal;

deve-se ter um ou mais indivíduos responsáveis para aferir a PA, a fim de assegurar uma técnica consistente; as medidas devem ser tomadas com o animal em uma posição relaxada (ELLIOTT et al. 2001; HENIK; DOLSON; WENHOLZ, 2005; REUSCH, SCHELLENBERG, WENGER, 2010; STEPIEN, 2011).

Recomendar o monitoramento da PA para detectar e gerenciar a hipertensão deve ser parte do exame de qualquer paciente felino com doença renal, doenças endócrinas, obesidade e gatos com achados clínicos compatíveis com lesões de órgãos alvo, tais como alterações oculares reflexivas de hipertensão, sopro cardíaco, alterações ecocardiográficas associadas com aumento da pós-carga e disfunções neurológicas, bem como todos os gatos idosos (BROWN; HENIK, 1998; SCHERK, 2008).

Tratamento

A terapia anti-hipertensiva tem por objetivo manter a PA sistólica abaixo de 150 mmHg e a diastólica abaixo de 95 mmHg, diminuindo assim a gravidade e a probabilidade de lesões a órgãos-alvo (BROWN et al., 2007). Em gatos, pode ser realizado com o uso de bloqueadores dos canais de cálcio, inibidores de enzima conversora de angiotensina (ECA), β-bloqueadores, antagonistas α1-adrenérgicos, sendo os bloqueadores de canais de cálcio os de primeira escolha (MORAIS, 2009).

A ação dos fármacos bloqueadores de canais de cálcio é basicamente diminuir a concentração de íons de cálcio livres nas células musculares cardíacas e arteriolares, resultando em vasodilatação e baixo DC. O efeito vasodilatador também advém da liberação de óxido nítrico dos vasos sanguíneos (WARE, 2010). O besilato de amlodipina tem sido utilizado com sucesso como um único agente terapêutico em gatos hipertensos a uma dosagem de 0,625 mg/gato por via oral a cada 24 horas, sendo que gatos maiores (> 4 kg) muitas vezes exigem 1,125 mg por via oral a cada 24 horas. A PA diminui significantemente durante o tratamento com amlodipina e por ter um início lento de ação, efeitos adversos, como hipotensão, anorexia, azotemia e hipocalemia, não são frequentemente identificados (BROWN; BROWN; SURDYK, 2006). Pode ser combinada com qualquer inibidor de ECA ou com um β-bloqueador. Devem ser tomadas precauções ao usá-la como único medicamento em pacientes com DRC, porque a amlodipina é seletiva e dilata a artéria aferente do glomérulo podendo aumentar a pressão intraglomerular (MORAIS, 2009).

Os inibidores da ECA, como o enalapril e o benazepril, diminuem a produção de angiotensina II, o que tende a reduzir a RPT. Ao diminuir a angiotensina II e a aldosterona, eles também reduzem o volume sanguíneo por meio da diminuição na retenção renal de sódio e água, causando uma queda na PA de 10 a 20 mmHg (BROWN, 2006; ATKINS, 2010). Em gatos, o papel do SRAA na manutenção da HAS foi questionada e, embora menos eficaz em gatos do que em cães, uma dosagem mais elevada (1-2 mg/kg de enalapril por via oral a cada 24 horas) revelou-se eficiente nos gatos hipertensos (BROWN; HENIK, 1998). A alta dose pode ser explicada pelo fato dos gatos hipertensos com DRC serem irresponsivos aos inibidores de ECA, contudo sabe -se que estes fármacos podem ajudar a proteger o paciente contra o dano renal hipertensivo (WARE, 2010).

Os β-bloqueadores adrenérgicos, como o atenolol e o propanolol, podem diminuir a PA pela redução na FC, no DC e na liberação renal da renina. Em felinos com HAS induzida por hipertireoidismo, é recomendado o uso desses fármacos, mas na DRC eles não se mostram muito eficazes como monoterapia (WARE, 2010). Os β-bloqueadores podem ser considerados como uma terapia adjuvante no tratamento da HAS refratária (MORAIS, 2009).

Os antagonistas α1-adrenérgicos diminuem a RPT devido a seu efeito opositor a vasoconstrição desses receptores adrenérgicos, sendo especialmente úteis no tratamento da HAS

causada por feocromocitoma. Tem-se como exemplo dessa classe a prazosina e a fenoxibenzamina (WARE, 2010).

Embora pouco estudado, a recomendação usual é inicialmente instituir uma dieta baixa de sódio a fim de reforçar a eficácia dos agentes farmacológicos. Em animais com DRC e HAS é muito importante manter a adequada quantidade de calorias, sendo que em animais obesos, a perda de peso é desejável. A ingestão de ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 também é recomendada, uma vez que em humanos possui propriedades anti-hipertensivas, contudo ainda não foi evidenciada em cães e gatos (BROWN et al., 2007).

O diagnóstico de HAS associada à DRC necessita de tratamento anti-hipertensivo ao longo da vida, com ajustes de dosagem periódicos, baseados nas medições da PA para avaliar a eficácia do tratamento e evitar a hipotensão. Na HAS associada com hipertireoidismo e hiperadrenocorticismo pode-se esperar a resolução dentro de 1 a 3 meses após o início do tratamento para as doenças endócrinas, a menos que DRC também esteja presente (BROWN et al., 2007).

As avaliações periódicas, além da aferição da PA, devem incluir concentração de creatinina sérica, urinálise, exame de fundo de olho e outras avaliações específicas, dependendo das circunstâncias individuais. Os sinais de progressão para lesões de órgãos-alvo devem ser cuidadosamente monitorizados ao longo do tempo em pacientes recebendo terapia anti-hipertensiva, mesmo quando a HAS é aparentemente bem controlada (BROWN et al., 2007).

Prognóstico

Elliott e colaboradores (2001) avaliaram o tempo médio de sobrevivência a partir do início do tratamento anti-hipertensivo e concluíram que a sobrevida foi de 203 dias (intervalo de 19 a 993 dias). Dos animais estudados, 57% foram classificados como sendo bem controlados pelo tratamento empregado e o restante como inadequadamente controlados, sendo que a PA média para o grupo bem controlado era 150,6 ± 15,2 mmHg.

Já no estudo realizado por Jepson e colaboradores (2007), a expectativa de vida média dos gatos em tratamento com besilato de amlodipina foi de 8,6 meses. A expectativa de vida dos gatos hipertensos em tratamento avaliados por Chetboul e colaboradores (2003) foi de 9 meses, não havendo diferença significativa no prognóstico dos gatos com PA mais elevada no primeiro atendimento.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A aferição da PA por métodos não invasivos, principalmente pelo Doppler vascular, é uma ferramenta útil e barata, que deve ser implementada na rotina clínica, especialmente em felinos de meia-idade a idosos ou naqueles que apresentem sinais clínicos decorrentes de lesões no coração, olhos, cérebro e rins. Também é importante acompanhar pacientes com doenças renais, hipertireoidismo e doenças nas adrenais, diagnosticando a hipertensão antes que haja comprometimento dos órgãos-alvos. Cuidados nos métodos de aferição podem evitar diagnósticos falso-positivos, já que os felinos são susceptíveis a síndrome do jaleco branco. O tratamento da HAS em felinos apenas com a amlopidina apresenta bons resultados, mas, no caso de HAS secundária, deve ser associado com o tratamento da causa de base e com outros fármacos anti-hipertensivos. Estudos prospectivos são necessários para identificar claramente os fatores envolvidos no tempo de sobrevivência dos gatos hipertensos tratados. Além disso, deve-se procurar padronizar as técnicas de aferição e os limiares da PA, para um diagnóstico mais seguro que facilite e permita a identificação da real prevalência da doença na espécie.

REFERÊNCIAS

ACIERNO, M. J.; SEATON, D.; MITCHELL, M. A.; DA CUNHA, A. Agreement between directly measured blood pressure and pressures obtained with three veterinary-specific oscillometric units in cats. Journal of the American Veterinary Medical Association, v. 237, n. 4, p. 402-406, 2010.

ALBERTI, K. G. M. M.; ZIMMET, P.; SHAW. J. - Metabolic syndrome: a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. Journal Compilation Diabetic Medicine, v.23, p. 469–480, 2006.

ATKINS, C. E. Feline hypertension: risks, diagnosis and management. In: PROCEEDINGS OF THE CONGRESO LATINOAMERICANO DE EMERGENCIA Y CUIDADOS INTENSIVOS LAVECCS, 2010, Buenos Aires. Anais…Buenos Aires: LAVECCS, 2010.

BANEGAS, J. R.; RODRIQGUEZ-ARTALEJO, F.; GRACIANI, A.; GUALLAR-CASTILLON, P.; HERRUZO, R. Systolic *vs* diastolic blood pressure: community burden and impact on blood pressure staging. Journal of Human Hypertension, v. 16, n. 3, p. 163–167, 2002.

BELEW, A. M.; BARLETT, T.; BROWN, S. A. Evaluation of white-coat effects in cats. Journal of Veterinary Internal Medicine, v. 13, n. 2, p. 134–142, 1999.

BODEY, A. R.; SANSOM, J. Epidemiological study of blood pressure in domestic cats. Journal of Small Animal Practice, v. 39, p. 567-573, 1998.

BROWN, S.; ATKINS, C.; BAGLEY, R.; CARR, A.; COWGILL, L.; DAVIDSON, M.; STEPIEN, R. Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. ACVIM Consensus Statement. Journal of veterinary internal medicine, v. 21, n. 3, p. 542–558, 2007.

BROWN, S. A.; HENIK, R. A. Diagnosis and treatment of systemic hypertension. The Veterinary clinics of North America. Small animal practice, v. 28, n. 6, p. 1481-1494, 1998.

BROWN, S. A. Hipertensão, insuficiência cardíaca e choque. In: REECE, W. O. Dukes, fisiologia dos animais domésticos. 12 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 316-328, 2006.

CHAMPION, T. Efeitos da obesidade e do sobrepeso sobre parâmetro cardiovasculares e respiratórios em gatos. 2011, 122f. Tese. (Doutorado em Medicina Veterinária). Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária (Clínica Médica Veterinária). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, Jaboticabal, 2011.

CHETBOUL, V.; LEFEBVRE, H. P.; PINHAS, C.; CLERC, B.; BOUSSOUF, M.; POUCHELON, J. L. Spontaneous Feline Hypertension: clinical and echocardiographic abnormalities, and survival rate. Journal of Veterinary Internal Medicine, v. 17, n. 1. p. 89–95, 2003.

CHETBOUL, V.; BIOURGE, V. Acquired cardiovascular diseases in cats: the influence of nutrition. In: PIBOT, P.; BIOURGE, V.; ELLIOTT, D. Encyclopedia of feline clinical nutrition. Paris: Diffomédia. p. 323-356, 2008.

ELLIOTT, J.; BARBER, P. J.; SYME, H. M.; RAWLINGS, J. M.; MARKWELL, P. J. Feline hypertension: clinical findings and response to antihypertensive treatment in 30 cases. Journal of Small Animal Practice, v. 42, n. 3, p. 122-129, 2001.

ELLIOTT, J.; FLETCHER, M.; SYME, H. M. Idiopathic feline hypertension: epidemiologic study [abstract]. Journal of Veterinary Internal Medicine, v. 17, n. 5, p. 754, 2003.

ENGELI, S.; SCHLING, P.; GORZELNIAK, K.; BOSCHMANN, M.; JANKE, J.; AILHAUD, G.; TEBOULD, M.; MASSIÉRAD, F. ; SHARMA, A. M. The adipose-tissue renin–angiotensin–aldosterone system: role in the metabolic syndrome? The international journal of biochemistry & cell biology, v. 35, n. 6, p. 807-825, 2003.

FREEL, E. M.; CONNELL, J. M. C. Mechanisms of hypertension: the expanding role of aldosterone. Journal of the American Society of Nephrology, v. 15, n. 8, p. 1993–2001, 2004.

GREEN, H. W. Feline Systemic Hypertension: Diagnosis and Treatment. In: NORTH AMERICAN VETERINARY CONFERENCE, 2008, Orlando. Anais eletrônicos… Disponível em: < http://www.iknowledgenow.com/search.cfm?documentID=5041>. Acesso em: 20 ago. 2014.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Regulação nervosa da circulação e o controle rápido da pressão arterial. In:_____ Tratado de fisiologia médica. 11 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 204-215, 2006.

HENEGAR, J. R.; BIGLER, S. A.; HENEGAR, L. K.; TYAGI, S. C.; HALL, J. E. Functional and structural changes in the kidney in the early stages of obesity. Journal of the American Society of Nephrology, v. 12, p. 1211-1217, 2001.

HENIK, R. A. Diagnosis and treatment of feline systemic hypertension. The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian (USA), 1997.

HENIK, R. A.; DOLSON, M. K.; WENHOLZ, L. J. How to obtain a blood pressure measurement. Clinical Techniques in Small Animal Practice, v. 20, n. 3, p. 144-150, 2005.

JEPSON, R. E.; BRODBELT, D.; ELLIOTT, J.; SYME, H. M. Effects of control of systolic blood pressure on survival in cats with systemic hypertension. Journal of Veterinary Internal Medicine, v. 21, n. 3, p. 402–409, 2007.

JEPSON, R. E. Feline systemic hypertension: classification and pathogenesis. Journal of Feline Medicine and Surgery, v. 13, p. 25-34, 2011.

KOBAYASHI, D. L.; PETERSON, M.E.; GRAVES, T. K.; LESSER, M.; NICOLS, C. E. Hypertension in cats with chronic renal failure or hyperthyroidism. Journal of Veterinary Internal Medicine, v. 4, p. 58–62, 1990.

LUCKSCHANDER, M. IBEN, C.; HOSGOOD, G.; GABLER, C.; BIOURGE, V. Dietary NaCl does not affect blood pressure in healthy cats. Journal of Veterinary Internal Medicine, v. 18, n. 4, p. 463–467, 2004.

MAGGIO, F.; DEFRANCESCO, T. C.; ATKINS, C. E.; PIZZIRANI, S.; GILGER, B. C.; DAVIDSON, M. G. Ocular lesions associated with systemic hypertension in cats: 69 cases (1985–1998). Journal of the American Veterinary Medical Association, v. 217, n. 5, p. 695-702, 2000.

MCEWEN, B. S.; GIANAROS, P. J. Central role of the brain in stress and adaptation: links to socioeconomic status, health and disease. Annals of the New York Academy of Sciences, New York, v. 1186, p. 190-222, 2010.

MENDES-JUNIOR, A., APTEKMANN, K.P., PASSOS, C. B. Determinação dos fatores de risco associados à hipertensão arterial sistêmica em felinos. In: JORNADA CIENTÍFICA DA PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO, 2., 2013, Alegre. Tópicos especiais em Ciência Animal II. Alegre: UFES, 2013a, p.278.

MENDES-JUNIOR, A., APTEKMANN, K.P., PASSOS, C. B. Prevalência da hipertensão arterial sistêmica em felinos no município de Alegre-ES. In: JORNADA CIENTÍFICA DA PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO, 2., 2013, Alegre. Tópicos especiais em Ciência Animal II. Alegre: UFES, 2013b, p.303.

MORAIS, H. A. Systemic hypertension: diagnosis and management. WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY CONGRESS, 34., 2009, São Paulo. Anais… São Paulo: WSAVA, 2009.

PEDRO, M. J. C. Relação entre fatores ambientais causadores de stress e pressão arterial felina. 2011. 95 f. Dissertação (Mestre em Medicina Veterinária) - Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, 2011.

PETRIC, A. D.; PETRA, Z.; JERNEJA, S.; ALENKA, S. Comparison of high definition oscillometric and Doppler ultrasonic devices for measuring blood pressure in anaesthetised cats. Journal of feline medicine and surgery, v. 12, n. 10, p. 731-737, 2010.

REUSCH, C. E; SCHELLENBERG, S; WENGER, M. Endocrine Hypertension in Small Animals. Veterinary Clinic Small Animal, v. 40, p. 335-352, 2010.

SCHERK, M. Blood Pressure: A Critical Factor. WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY CONGRESS, 33., 2008, Dublin. Anais… Dublin: WSAVA, 2008.

SMITH JR, F. W. K.; SCHROPE, D. P.; SAMMARCO, C. D. Cardiovascular Effects of Systemic Diseases. In: TILLEY, L. P.; SMITH JR, F. W. K.; OYAMA, M.; SLEEPE, M. M. Manual of Canine and Feline Cardiology. 4 ed. St. Louis: Elsevier, 2008. cap. 13, p. 240-276.

SNYDER, P.S.; COOKE, K.L. Management of hypertension. In: ETTINGER, S.; FELDMAN, E.C. Textbook of Veterinary Internal Medicine. 6 ed. Missouri: Elsevier, 2005. p. 4477-479.

SPARKES, A. H.; CANEY, S. M. A.; KING, M. C. A.; GRUFFYDD-JONES, T. J. Interand intraindividual variation in Doppler ultrasonic indirect blood pressure measurements in healthy cats. Journal of Veterinary Internal Medicine, v. 13, n. 4, p. 314-318, 1999.

STEPHENSON, R. B. Controle neural e hormonal da pressão sanguínea e do volume sanguíneo. In: CUNNINGHAM, J. G. Tratado de Fisiologia Veterinária. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2004. cap. 24, p. 181–217.

STEPIEN, R. L. Feline Systemic Hypertension: Diagnosis and Management. Journal of Feline Medicine and Surgery, v. 13, p. 35-43, 2011.

STILES, J.; POLZIN, D. J.; BISTNER, S. I. The prevalence of retinopathy in cats with systemic hypertension and chronic renal failure or hyperthyroidism. Journal of the American Veterinary Medical Association, v. 30, p. 564–572, 1994.

SYME, H. M.; BARBER, P. J.; MARKWELL, P. J.; ELLIOTT, J. Prevalence of systolic hypertension in cats with chronic renal failure at initial evaluation. Journal of the American Veterinary Medical Association, v. 220, n. 12, p. 1799-1804, 2002.

VAN DE SANDT, R. R.; STADES, F. C.; BOEVE, M. H.; STOCKHOF, A. A. Arterial hypertension in the cat. A pathophysiological and clinical overview with the emphasis on ophthalmic aspects. European Journal of Companion Animal Practice, v. 14, n. 1, p. 47-55, 2004.

WARE, W. A. Hipertensão arterial sistêmica. In: NELSON, R. W.; COUTO, C. G. Medicina interna de pequenos animais. 4 ed. Rio de Janeiro: Mosby Elsevier, 2010. cap. 11, p. 184-191.

WILLIAMS, T. L.; ELLIOTT, J.; SYME, H. M. Renin-angiotensin-aldosterone system activity in hyperthyroid cats with and without concurrent hypertension. Journal of Veterinary Internal Medicine, Philadelphia, v. 27, n. 3, p. 522-529, 2013

XU, H.; LAFLAMME, D. P. L.; LONG, G. L. Effects of dietary sodium chloride on health parameters in mature cats. Journal of feline medicine and surgery, v. 11, n. 6, p. 435-441, 2009.

Capítulo 28- Alternativas naturais para controle do carrapato bovino

Luns, D.A.R.[1]; Queiroz, V.T.[2]; Martins, I.V.F.[3]; Severi, J.[4]; Costa, A.V.[2]

INTRODUÇÃO

O Brasil possui o terceiro maior rebanho de gado do mundo com uma ampla diversidade de raças e seus cruzamentos visando a uma maior produção no campo leiteiro e de corte (VIDOTTO, 2002). Esses cruzamentos com o intuito de aumentar a produção geram por consequência um aumento demográfico da população de carrapatos, já que os cruzamentos acarretam em uma linhagem de gado com baixa resistência ao artrópode (FRISCH, 1999).

O carrapato *Riphicephalus (Boophilus) microplus*, conhecido popularmente como carrapato do boi, está amplamente distribuído nas regiões tropicais e subtropicais do mundo e no Brasil é um dos principais ectoparasitos de importância econômica e sanitária à bovinocultura (HORN e ARTECHE, 1985). Seus prejuízos geram mais de 3,24 bilhões de dólares anualmente devido ao déficit na produção de leite e ganho de peso dos animais (GRISI et al., 2014).

O controle do carrapato *R. B. microplus* está baseado na aplicação de produtos químicos e normalmente é realizado de forma incorreta, com uso indiscriminado e com épocas de aplicação inadequadas. O ideal é o uso de práticas que promovam o controle estratégico do carrapato na propriedade, que envolve a forma responsável de aplicação do produto, no menor número de vezes possível e na época desfavorável ao carrapato (FURLONG, 2005).

O uso indiscriminado dos carrapaticidas químicos ou seu uso incorreto acelera o mecanismo de resistência do carrapato aos principais agentes ativos desses produtos, dificultando ainda mais o controle desses parasitos (GOMES et al., 2011). Além disso, o tratamento com acaricidas químicos culminam em uma elevada toxicidade para o meio ambiente, podendo causar diversos problemas como o desequilíbrio ecológico nas populações tanto de carrapatos como de predadores (TORRES, 2010). Outro entrave são os resíduos que os carrapaticidas deixam na carne e leite dos bovinos, pois eles podem representar um risco potencial para o consumidor. Países como a China, EUA e outros da União Européia já definiram os limites máximos de resíduos em leite e em tecidos comestíveis (WANG et al., 2011).

Como alternativa para controle do carrapato bovino os metabólitos secundários das plantas têm sido utilizados como acaricidas e também modelos para a obtenção de novos pesticidas sintéticos (BALANDRIM, 1985). Ao longo de todo processo evolutivo as plantas começaram a desenvolver mecanismos eficazes de defesa através da produção de constituintes micromoleculares por meio de rotas sintéticas não essenciais, denominadas de metabolismo secundário. Esses metabólitos produzidos são substâncias que influenciam nas relações ecológicas entre o meio ambiente e o vegetal, conferindo vantagens adaptativas, tais como, proteção contra herbivoria, atração de polinizadores, além de defesa contra microorganismos patogênicos (SANTOS, 2013)

[1]Mestrando em Medicina Veterinária - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias (UFES-CCA). email: darcyadriann@hotmail.com
[2]Professor Adjunto do Departamento de Química e Física - UFES-CCA.
[3]Professora Adjunto do Departamento de Medicina Veterinária- UFES-CCA.
[4]Professora Adjunto do Departamento de Farmácia e Nutrição - UFES-CCA.

Os produtos de origem do metabólito secundário se destacam dos carrapaticidas químicos já que seus princípios ativos não danificam o meio ambiente, são biodegradáveis, apresentam baixo custo de produção, conferem menor risco de intoxicação animal, além de apresentar atividade biológica satisfatória contra esses parasitos (TORRES, 2010).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi relatar a importância do carrapato bovino e seus aspectos relacionados ao controle, enfatizando o uso de produtos naturais como alternativa natural.

Classificação e distribuição

O *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é um ácaro da família Ixodidae e a classificação de Flechtmann (1990) coloca o carrapato bovino no gênero *Boophilus*. No entanto, após análises moleculares e filogenéticas este foi reclassificado. Nessa nova classificação o gênero *Boophilus* se tornou um subgênero do gênero *Riphicephalus*, assim sendo o carrapato passou a ser classificado como *Riphicephalus (Boophilus) microplus* (MURREL e BARKER 2003).

O Brasil apresenta condições climáticas ótimas para o desenvolvimento do carrapato bovino em quase sua total extensão. Essas condições permitem que o carrapato complete de 2,5 a 3 ou de 3 a 4 e até mesmo 5 gerações em um único ano em locais com temperaturas acima de 17 ºC. Algumas intempéries como as estações secas podem limitar a sobrevivência do carrapato, levando o animal desde uma paralização nos processos de incubação e postura ou até mesmo o fracasso desses estágios (FURLONG; EVANS, 1991 apud VIDOTTO, 2002)

Morfologia

O carrapato bovino apresenta a base de seu gnatossoma hexagonal com rostro e palpos curtos, achatados, rugosos lateral e dorsalmente. O gnatossoma é o conjunto das peças bucais do carrapato, no qual ele se adere ao seu hospedeiro. Essas peças bucais são quitinizadas e reunidas formando uma única estrutura. Seu escudo dorsal não apresenta nenhum tipo de ornamentação, sendo de uma só cor (comumente marrom) e seus estigmas são arredondados ou ovais. Os machos dessa espécie apresentam dois pares de placas adanais desenvolvidas e geralmente com prolongamento caudal (MONTEIRO, 2011).

Para distinção do sexo utiliza-se a visualização do escudo dorsal. Esse escudo no macho cobre toda a extensão do dorso, enquanto que na fêmea ele cobre parcialmente permitindo a expansão do corpo desta após a hematofagia (URQUHART, 1990).

Ciclo de vida

O carrapato bovino é um ácaro monoxeno, ou seja, possui somente um hospedeiro durante todo seu ciclo de vida, no qual parasitam preferencialmente os bovinos. Todavia, podem parasitar secundariamente equídeos, cervídeos, caprinos, bubalinos e ovinos. Seu ciclo de vida pode ser dividido em fase não parasitária, que se inicia com a queda da fêmea ingurgitada no solo, e a fase não parasitária, quando as larvas se fixam no hospedeiro (FERRETTO, 2013).

Após caírem do hospedeiro as fêmeas do carrapato bovino procuram um abrigo no solo, protegido do sol, e começam a depositar seus ovos, da qual cada fêmea põe em média cerca de 3000 ovos castanhos, esféricos e pequenos (FURLONG e SALES, 2007; FURLONG 2005; MONTEIRO, 2011). Essa postura dura vários dias terminando com a morte da fêmea do carrapato. O período de incubação dos ovos pode variar de 17 a 60 dias devido a vulnerabilidade dos ovos em relação às condições de temperatura, já que em temperaturas mais

baixas os estágios de desenvolvimentos costumam ser mais tardios (MONTEIRO, 2011). Os ovos depositados pelas fêmeas do carrapato bovino apresentam alta taxa de eclodibilidade (cerca de 85% em ambientes com temperaturas de aproximadamente 27 ºC e umidade relativa do ar em torno de 70%) (AGNOLIN, 2012; CORDOVÉS, 1997). No entanto é a fase mais suscetível a dessecação, já que é o único estágio na vida do carrapato que é imóvel (WILKINSON, 1970).

Cerca de 95% da população de carrapatos bovinos são encontrados fora do hospedeiro nas formas de larvas infestantes e de ovos, além das fêmeas ingurgitadas que estão no período pré-postura e postura (FERRETTO, 2013). Durante seu ciclo de vida os carrapatos passam pelos estágios de larva, hexápode, ninfa octópode e adultos. Ao saírem dos ovos as larvas sobem pelas gramíneas esperando a passagem do hospedeiro no qual se aderem. O local de fixação das larvas é principalmente em regiões que apresentam a espessura da pele adequada ao seu desenvolvimento, além de uma temperatura ótima que ocorrem em regiões mais quentes do corpo do bovino, nas quais as temperaturas variam de 31 a 38 ºC (DOUBE e KEMP, 1979; FERRETTO, 2013). Após se fixar no animal a larva começa a se alimentar com sangue ou restos de tecidos mortos próximo ao local de ancoragem (FURLONG e SALES, 2007).

A primeira ecdise do carrapato ocorre após a larva sugar o sangue de seu hospedeiro por alguns dias, tornando-se uma ninfa. Após a cutícula estar enrijecida, as ninfas ingurgitam-se de sangue e mudam novamente de cutícula, tornando-se um adulto. A cópula é realizada sobre o hospedeiro, na qual o macho transfere os espermatozóides para a abertura genital da fêmea por meio de seu aparelho bucal, podendo durar vários dias (MONTEIRO, 2011). As fêmeas após a cópula ingurgitam-se de sangue passando a se chamar teleóginas, podendo aumentar de tamanho até 200 vezes seu peso (FERRETTO, 2013), desprendendo-se do hospedeiro. No solo, após o período de pré-ovoposição que dura de três a vinte dias, as fêmeas iniciam a ovopostura que é contínua e pode durar até dois meses dependendo da temperatura e umidade. Já os machos permanecem um período maior de tempo no hospedeiro, copulando com várias fêmeas (MONTEIRO, 2011).

Importância econômica na pecuária

Em 2002, Grisi e colaboradores levantaram os dados relacionados ao impacto econômico causado pelos parasitos de ruminantes no Brasil e estimaram as perdas econômicas pelo carrapato bovino em mais de 2 bilhões de dólares. Mais de dez anos depois, Grisi et al. (2014) afirmam muitas mudanças no cenário da bovinocultura no Brasil e estimam as perdas já em mais de 3 bilhões de dólares.

O prejuízo causado na produção de leite foi também estimado por Rodrigues e Leite (2013) que avaliam em mais de 900 milhões de dólares a perda quando se trata do rebanho brasileiro. Já nos animais de corte as perdas chegam a mais de 2 bilhões de dólares (Grisi et al., 2014)

O carrapato pode causar prejuízo nos animais por meio de ação direta e indireta. A espoliação sanguínea se enquadra nos danos de ação direta já que gera um baixo rendimento produtivo decorrente da perda de peso, desvalorização do couro e predisposição a instalação de miíases. Além disso, o hábito hematófago gera consequências como anemia, prurido e irritação, causando estresse no animal. O carrapato ainda pode transmitir diversos tipos de agentes patogênicos como os hemoprotozoários causadores da Tristeza Parasitária Bovina, como também inocular diversas toxinas no hospedeiro. Entre os danos indiretos encontram-se os gastos referentes a mão-de-obra para o combate, além das despesas com compras de equipamentos e aquisição de carrapaticidas (FERRETO, 2013; GOMES, 2000)

Métodos de controle e resistência do carrapato bovino

Atualmente, o controle de carrapatos depende do uso de acaricidas e inseticidas podendo estar associado ao manejo integrado de pragas. Sabe-se que estes produtos são onerosos e que a frequência de seu uso, eleva os custos de produção. Devido à alta pressão de seleção imposta pelo uso indiscriminado de acaricidas sintéticos, muitas cepas de carrapatos já apresentam resistências aos acaricidas encontrados no mercado (CUTULLÉ et al., 2009).

No controle químico de*R. (Boophilus) microplus* são usados produtos à base de organofosforados, piretróides, amidinas e avermectinas geralmente na forma de pulverização ou pouron. Entretanto, devido ao longo período de utilização ou forma incorreta de aplicação, o carrapato tem-se mostrado resistente a tratamentos químicos (MARQUES, ARANTES e SILVA, 1995). A resistência do *R. (Boophilus) microplus* vem aumentando tanto em número como em amplitude de princípios ativos, como piretróides e amidinas, recomendando a realização de controle estratégico e uso racional de antiparasitários e com monitoramento constante da eficácia do acaricida usado na cepa em questão (CAMILLO et al., 2009).

Algumas medidas de manejo podem ser usadas pra auxiliar o controle do carrapato, como a aplicação de vassoura de fogo nas instalações dos animais, manter os pastos limpos e roçados para que a incidência solar promova morte de larvas no solo (FURLONG, 2005) e até o cultivo de algumas forrageiras que podem promover a morte de larvas como a *Melinisminutiflora*(capim gordura) e a *Brachiariabrizantha* (braquiarão) (BARROS e EVANS, 1989).

Ainda assim, o método que apresenta um maior grau de eficácia para o controle do carrapato bovino é o controle químico. Este controle, realizado por acaricidas, se realizado da maneira correta é eficaz e economicamente viável. No entanto, seu uso indiscriminado e ~~sua~~ aplicação errônea gera a seleção de carrapatos resistentes aos compostos ativos encontrados nos pesticidas comercialmente disponíveis (WILLADSEN, 2006).

A resistência parasitária é um fenômeno pelo qual uma droga não consegue manter a mesma eficácia contra os parasitos, se utilizada nas mesmas condições, após um determinado período de tempo (CONDER e CAMPBELL, 1995). A resistência ocorre naturalmente em populações de artrópodes como mecanismo de defesa que tem causado grandes problemas a vários países produtores de gado leiteiro e de corte (VIDOTTO, 2002). De acordo com Pires (2006) o desenvolvimento de resistência ocorre por meio de seleção natural e não por mudanças genéticas. Essa seleção favorece o aparecimento de carrapatos resistentes a doses tóxicas letais para a uma população normal da mesma espécie, não podendo ser induzida pela exposição aos carrapaticidas químicos em baixa concentração.

Diversos estudos registram populações de carrapatos que se tornaram resistentes à maioria dos carrapaticidas químicos encontrados no mercado. Farias (1999), Pruett;Pound (2006) e Rodriguez-Vivas et al.(2006) relataram casos de resistência em carrapaticidas químicos a base de organofosforados e piretróides sintéticos, enquanto que Furlong (1999) e Farias et al. (2008) encontraram relatos de resistência para o amitraz. A resistência do carrapato bovino ao amitraz surgiu após quatro a dez anos de uso em diversas partes do mundo(FRAGOSO et al., 2003), porém este ainda possui um alto poder carrapaticida, podendo ser utilizado ainda desde que com parcimônia (MARIA, 2008).

Para avaliar a situação da resistência carrapaticida FURLONG et al. (2006) desenvolveram um teste de sensibilidade carrapaticida. O teste foi desenvolvido para escolher qual o carrapaticida mais eficiente para a população de carrapatos a tratar, e com isso evitar a troca constante e indiscriminada de produto. A determinação do carrapaticida mais eficiente para a população de carrapatos de cada propriedade deve ser realizada baseada no resultado do teste, garantindo o sucesso da eficácia no teste a campo e retardando o processo de resistência carrapaticida.

Diversos grupos de pesquisa têm se empenhado em encontrar alternativas para o controle do carrapato. Umas das alternativas é a produção de vacinas e uma a base da proteína do intestino do carrapato, em conjunto com uma saponina já alcançou eficácia acima de 80% em várias raças de bovinos testados experimentalmente, reduzindo o número e peso de fêmeas adultas, redução do peso médio dos ovos e diminuição da fertilidade dos carrapatos (MARTINES RODRIGUEZ et al., 2014). Assim, os estudos com imunógenos são promissores na elaboração de vacinas que protejam os animais contra a infestação.

Outra alternativa é o uso do controle biológico, com a utilização de micro-organismos, principalmente fungos e bactérias, citados por Zhioua et al. (1999) como potenciais controladores de carrapatos. Algumas espécies de fungos já foram isoladas de todos os estágios de desenvolvimento de carrapatos, inclusive os ovos. Além disso, a utilização desses micro-organismos para controle biológico reduz a aquisição de resistência pelas pragas.

Outra linha de pesquisa em expansão no controle dos carrapatos é a utilização de óleos essenciais e extratos vegetais oriundos de plantas, detalhados nos subitens a seguir.

Metabólitos secundários

Os metabólitos secundários gerados pelas plantas têm apresentado alto grau de toxicidade às pragas da agropecuária, sendo muito utilizados como pesticidas ou modelos para a síntese de agroquímicos (CHAGAS et al., 2002). Entende-se como metabólitos secundários os produtos oriundos do metabolismo vegetal que origina compostos que não possuem uma distribuição universal já que não são necessários para todos os tipos de plantas. Esses metabólitos exercem um importante papel na interação planta-ambiente, agindo contra a herbivoria, ataque de patógenos, atração de agentes polinizadores, competição intra e interespecífica entre as plantas, como dispersores de sementes e de microrganismos simbiontes (PERES, 2004).

De acordo com Rhodes (1994) o surgimento dos metabólitos secundários biologicamente ativos na natureza é determinado pelas necessidades ecológicas e pelas variadas possibilidades biosintéticas, assim a síntese desses metabólitos secundários com funções principalmente de defesa e atração tem sido conduzida pela co-evolução das plantas com insetos, microrganismos e mamíferos.

O metabolismo secundário mesmo com essa nomenclatura ocorre concomitantemente com o metabolismo primário em um mesmo produtor. As alterações no metabolismo primário pode afetar o metabolismo de algum metabólito secundário e embora o metabolismo secundário não interfira no metabolismo primário, já foram descritos casos em que os metabólitos secundários são convertidos para os primários (SIMÕES, 1999). Os metabólitos secundários estão distribuídos em três grandes grupos: compostos fenólicos, terpenos e alcalóides.

Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos fazem parte de uma classe de compostos químicos com grande diversidade de estruturas, simples e complexas, que possuem no mínimo um anel aromático em que um hidrogênio é substituído por um grupamento carboxila (SIMÕES, 1999). São derivados biossinteticamente do ácido chiquímico e/ou do ácido mevalônico. Essa classe de compostos é responsável por características como sabor e odor, atraindo não só os seres humanos, mas também outros animais. Essas substâncias agem atraindo animais para polinização ou dispersão de sementes, protegem as plantas contra os raios UV, vírus, bactérias, fungos, e até mesmo insetos (Artigo 24).

A classificação dos compostos fenólicos está essencialmente relacionada ao tipo de esqueleto molecular e à rota biossintética de origem. Com base na ampla variedade de

características estruturais presentes, os compostos fenólicos são classificados em ácidos fenólicos, fenilpropanóides, flavonóides, cumarinas, taninos, ligninas e flavonoides são, amplamente distribuídos, e outros, tais como, quinonas, xantonas, cromonas, que são fenólicos de distribuição restrita (SIMÕES, 1999).

Terpenos

Outra importante classe de metabólitos secundários são os terpenos. Os terpenos são constituídos por unidades de isopreno (na forma de isopentenilpirofosfato), sendo que sua classificação é determinada pelo número de unidades de isopreno que constituem a molécula inteira.

Muitos dos compostos vegetais importantes são terpenos ou possuem algum derivado desse metabólito em sua molécula. Entre esses compostos estão quatro, das seis classes de hormônios vegetais (PERES, 2004). Além disso, uma importante classe de produtos de origem vegetal chamados óleos essenciais, são constituídos de terpenos. A função desses óleos nas plantas pode ser para atrair agentes polinizadores (ao contrário dos flavonoides os principais agentes polinizadores atraídos pelos terpenos são os de hábito noturno), ou de ação inseticida, sendo que vários estudos relatam esse efeito em diversas plantas (CHAGAS et. al., 2002; PRATES, 1993; SANTOS, 2012).

Alcalóides

Os alcaloides são compostos nitrogenados encontrados predominantemente nas Angiospermas. Esses compostos farmacologicamente ativos são cíclicos e possuem no mínimo um átomo de nitrogênio em seu anel. A maioria desses compostos são de caráter alcalino, entretanto alguns apresentam caráter ácido, como a colchicina, piperina, oximas por exemplo (KUTCHAN, 1995; EVANS, 1996). Essas substâncias devido sua síntese não são encontrados em células jovens já que são sintetizados exclusivamente no retículo endoplasmático e concentrado nos vacúolos (Artigo 24).

A definição dos alcalóides é prejudicada pela dificuldade de uma separação específica entre alcaloides propriamente ditos e aminas complexas de ocorrência natural. Os alcaloides verdadeiros são aqueles que contém um átomo de nitrogênio em um anel heterocíclico e sua classificação é de acordo com o sistema anelar presente na molécula. Os protoalcalóides são substâncias em que o átomo de nitrogênio não-pertencente a um sistema heterocíclico. Já os pseudoalcalóides são os compostos nitrogenados que não são derivados de aminoácidos, contendo eles anéis heterocíclicos ou não (SIMÕES, 1999).

Metabólitos secundários como controle alternativo para controle do carrapato bovino

No campo da medicina veterinária o uso do conhecimento empírico sobre as plantas medicinais na saúde dos animais tem contribuído efetivamente para o aumento na produção de alimentos dentro dos princípios básicos da agroecologia, repercutindo em uma maior redução de insumos usados na produção agropecuária, entre eles no uso de quimioterápicos utilizados no controle de ectoparasitos (CUNHA e SILVA et al., 2010).

A busca por meios alternativos para o controle do carrapato bovino por meio de pesquisas com pesticidas botânicos tem aumentado consideravelmente com o intuito de diminuir os problemas de resistência causado pelos carrapaticidas químicos, impedir a poluição ambiental causada pelo acúmulo dos pesticidas no solo e agua, além de evitar que os produtos de origem animal como carne e leite contenham resíduos desses produtos podendo afetar a saúde dos consumidores (SOUZA et al. 2008).

Extratos vegetais e óleos essenciais anulam o efeito da resistência adquirida aos produtos químicos por serem compostos de vários princípios ativos diferentes associados entre si, impedem o acúmulo no meio ambiente devido à sua composição ser obtida através de recursos renováveis que são rapidamente degradáveis. Além disso, os pesticidas vegetais apresentam um baixo custo de produção e são de fácil acesso para os produtores rurais (ROEL, 2001).

Devido à demanda existente por métodos alternativos para o controle do carrapato bovino, diversos extratos vegetais têm sido testados para avaliar sua eficiência como um carrapaticida entre eles o Nim (BROGLIO-MICHELETTI et al., 2009; BROGLIO-MICHELETTI, 2010; IANNACONE e LAMAS, 2002; SANTOS, 2012), Andiroba (FARIAS, 2007), capim gordura (PRATES, 1993), Majericão (SANTOS, VOGEL e MONTEIRO, 2012) e eucalipto (CHAGAS et. al., 2002; OLIVO et. al., 2013). Além dessas o fumo de corda (OLIVO et al., 2009), o alho (ALVARENGA, 2004; MASSARIOL, 2009), cinamomo (BORGES, et al., 2005; BORGES, da SILVA e das NEVES, 1994; SOUZA et al., 2008) e a Erva de santa maria (ALMANÇA et al. 2013; SANTOS et al., 2013) também têm sido estudadas quanto ao seu efeito carrapaticida e apresentam maior interesse no presente trabalho.

Entre as famílias com potencial efeito carrapaticida encontra-se as arvores da família Meliaceae. A espécie *Melia azedarach*, conhecida popularmente como Cinamomo, é originária da Pérsia, China e Índia, porém devido ao clima e condições favoráveis foi naturalizada no Brasil onde é possível ser encontrada nos ambientes rurais e até mesmo urbanos (BORGES, et al., 2005). Os metabólitos secundários dessa família são amplamente explorados devido a facilidade de serem extraídos, pois são encontrados em todas as partes da planta principalmente nas folhas, frutos e sementes (BROGLIO-MICHELETTI et al., 2009).

A literatura revela a eficiência dos extratos vegetais oriundos dessa família no controle de carrapatos. Santos et al. (2006) comprovou a eficiência dos extratos vegetais oriundo dessa família com os carrapatos da espécie *Hyalomma anatolicum* (Acarina: Ixodidae), *Amblyomma americanum L.* (Acarina:Ixodidae) e *Dermacentor variabilis* (Acarina: Ixodidae) (SANTOS et al., 2006). Já para o carrapato bovino Souza (2008) encontrou alta eficiência para seu controle no extrato de frutos verdes e maduros. Borges (2005) também encontrou uma alta eficiência utilizando extratos hexânicos provenientes de frutos maduros de Cinamomo em bezerros infestados artificialmente. A utilização de extratos oriundos de frutos maduros pode também ser encontrado por Borges (1994) com utilização sob a forma de extratos oleosos.

A espécie *Chenopodium ambrosioides,* vulgarmente conhecida como erva-de-santa-maria, é uma herbácea originária da América tropical e distribuída vastamente em todo território brasileiro. O uso desta planta como agente inseticida é antigo e de uso principalmente doméstico em que todas suas partes frescas são utilizadas em camas e colchões para afugentar pulgas e percevejos ou até mesmo sob a forma de vassouras improvisadas para afastar esses insetos (ALMANÇA et al., 2013).

Estudos mostram que os produtos originados pela erva-de-santa-maria apresentam também um potencial efeito no controle dos carrapatos bovinos. Faria et al. (2010) testando o efeito larvicida da *C. ambrosioides* constatou que extratos aquosos concentrados da folha levaram a uma mortalidade de até 60% nas larvas do carrapato bovino (SANTOS et al., 2006). Almança et al. (2013) avaliou o efeito carrapaticida do extrato hidroetanólico (25% de concentração) da erva-de-santa-maria em fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus (Boophilus)microplus* encontrando uma eficácia de até 30% (ALMANÇA et al., 2013). Já Santos (2013) encontrou uma eficácia carrapaticida de até 95% em fêmeas ingurgitadas quando *C. ambrosioides* é associada a extratos de citronela e quásia (SANTOS et al., 2013).

O alho comum, *Allium sativum,* é amplamente utilizado como tempero na culinária brasileira, sendo considerado como um alimento energético. Além disso seu uso tem se estendido na medicina veterinária e também na nutrição animal principalmente em não

ruminantes.A utilização do alho popularmente tem sido utilizado como opção na pecuária de corte no controle de carrapatos, helmintos, bernes e mosca do chifre (ALVARENGA, 2004), porém seu uso deve ser administrada com prudência, já que seu uso indiscriminado pode interferir nas propriedades organolépticas dos produtos lácteos alterando seu sabor (MASSARIOL, 2009).

O uso de compostos de alho para o controle do carrapato bovino é por meio de acréscimo a dieta do animal. No período de 1993 a 1998 a Embrapa recebeu diversos questionamentos dos produtores de gado de corte em relação a eficácia do alho no sal dos animais para controle das pragas parasitárias. Bianchin (1999) testou o efeito do acréscimo de alho ao sal dos bovinos para o controle de carrapatos, helmintos e mosca de chifre e constatou que o acréscimo de 2% não foi eficiente para o controle dos carrapatos. Entretanto estudos posteriores como o de Alvarenga et al. (2003) e Massariol (2009) ao utilizar resíduos de beneficiamento de alho constatou eficácia nesse tratamento utilizando a concentração de 2% de alho no sal dos animais do experimento.

O Gênero *Nicotiana L.* possui cerca de 75 espécies com distribuição amplamente neotropical, onde 75% das espécies são encontradas. O fumo foi uma das primeiras espécies vegetais a serem utilizadas como inseticida pelo ser humano (DEQUECH, 2010) e seus princípios ativos responsáveis por essa ação são principalmente os alcaloides, a nicotina, a nornicotina e a anabosina, que são extraídos de suas folhas (OLIVO et al., 2009). Em relação ao carrapato bovino, Meinerz (2007) testando uma formulação de fumo a 5% e cal conseguiu uma eficácia carrapaticida de até 60%, enquanto que Olivo et al. (2009) testando extratos aquosos não encontraram resultados satisfatórios, entretanto observaram que o efeito do fumo foi mais eficaz nas formas jovens do ácaro.

Estratégia fitoquímica para obtenção de compostos ativos

A pesquisa e desenvolvimento de novos produtos bioativos potencialmente úteis ao controle do carrapato bovino requer a combinação de técnicas de extração dos compostos a partir da matéria vegetal, purificação dos constituintes extraídos e sua elucidação estrutural.

Dessa maneira, o planejamento do processo extrativo representa o ponto de partida para a obtenção dos constituintes micromoleculares de interesse terapêutico. Entende-se por extração, operações que permitam remover os compostos presentes em uma matriz complexa. Considerando a finalidade do extrato que se intenta preparar, no planejamento de um método extrativo deve-se avaliar as propriedades físico-químicas (solubilidade, estabilidade, etc) das substâncias que se deseja extrair, a eficácia da técnica escolhida, os custos e a segurança toxicológica dos materiais a serem utilizados, bem como as características morfológicas do vegetal (flor, folha, caule, raízes, frutos). Por exemplo, os óleos e gorduras de espécies oleaginosas são obtidos por sistemas de compressão mecânica das sementes, de onde é recolhido o extrato; enquanto que a incisão de estruturas secretoras serve como estratégia para recolher exsudatos, tais como na obtenção de resinas, látex, e até mesmo certos tipos de gomas (Harborne, 1998).

Além destas técnicas, o processo extrativo mais frequentemente utilizado para a obtenção de produtos naturais é feito empregando-se um líquido extrator ou mistura de líquidos, que promovem a dissolução dos constituintes armazenados nos diferentes compartimentos vegetais e sua posterior lixiviação para o meio exterior. Torna-se evidente então, que, neste caso, o preparo de um extrato depende fundamentalmente da seletividade do solvente utilizado para extrair da maneira mais eficaz possível cada um dos grupos de metabólitos secundários conhecidos. Solventes pouco polares (n-hexano, éter de petróleo, benzeno, clorofórmio, etc) extraem do vegetal compostos de natureza preferencialmente lipofílica; enquanto que solventes polares (metanol, etanol, glicerina, propilenoglicol, água, etc) extraem substâncias de caráter

principalmente hidrofílico. Compostos que se comportam como ácidos ou bases lipossolúveis, são extraídos utilizando-se de suas propriedades de formarem sais insolúveis com ácidos ou bases inorgânicas. Ainda considerando o papel da difusão no processo extrativo, o estado de divisão e tenuidade da droga vegetal, o tempo de contato do material vegetal com o solvente, o uso de agitação e a temperatura empregada podem interferir significativamente na velocidade de dissolução dos constituintes e, consequentemente na eficácia do processo extrativo de um dado material vegetal (Raaman, 2006).

Os principais métodos extrativos laboratoriais que empregam líquido extrator à temperatura ambiente são a maceração, percolação e turbolização; enquanto que outros são feitos sob aquecimento, tais como a infusão, decocção, soxhlet, hidrodestilação e arraste a vapor. Na maceração a droga vegetal é misturada com o líquido extrator em um recipiente fechado e então o sistema é mantido em repouso ou com agitação ocasional, durante um período prolongado (horas ou dias). Pela sua natureza, não conduz ao esgotamento da matéria prima vegetal, seja devido à saturação do líquido extrator ou ao estabelecimento de um equilíbrio difusional entre o meio extrator e o interior da célula.

Apesar de certos inconvenientes, é uma das técnicas extrativas mais usuais devido à simplicidade de execução e custos reduzidos. Já a percolação, ao contrário da maceração, é um processo dinâmico, no qual ocorre a lixiviação dos princípios ativos pela passagem contínua do líquido extrator, até o seu esgotamento. Por esta razão, possibilita obter soluções extrativas mais concentradas, sendo um método preferencial para extrair compostos presentes em pequena quantidade ou pouco solúveis. Na turbolização a extração ocorre concomitantemente com a redução do tamanho da partícula, resultado da aplicação de elevadas forças de cisalhamento em rotações de 5000 a 2000 rpm. A redução drástica do tamanho de partícula e o consequente rompimento das células favorece a rápida dissolução das substâncias, resultando em tempos de extração da ordem de minutos e o quase esgotamento de drogas vegetais de elevada dureza ou muito fibrosos, tais como caules, raízes, rizomas ou lenhos (Shah, 2010).

O emprego de processos extrativos que empregam aquecimento deve ser criterioso devido à possibilidade de decomposição térmica de muitos metabólitos e/ou formação de artefatos. Ainda assim, quando se deseja estudar, por exemplo, compostos voláteis presentes em óleos essenciais, sua extração é feita principalmente por hidrodestilação ou por arraste a vapor. Os óleos voláteis possuem tensão de vapor mais elevada que a da água, sendo, por isso, arrastados pelo vapor d'água. Em pequena escala, emprega-se o aparelho de Clevenger. O óleo volátil obtido é separado da água por partição com solvente lipofílico (n-hexano, por exemplo) e seco com Na_2SO_4 anidro. Já a extração em aparelho de Soxhlet, é útil na extração de sólidos com solventes voláteis. A droga vegetal é acondicionada em um cartucho de papel filtro e entra em contato com o solvente, o qual é constantemente renovado em ciclos de evaporação e condensação, o que também confere aumento na eficiência da extração e redução na quantidade de solvente consumido, em comparação com os demais processos extrativos (Hostettman et al., 1995).

Extratos brutos vegetais são misturas complexas constituídas quase sempre por diversas classes de produtos naturais, contendo diferentes grupos funcionais. Por esta razão, a abordagem fitoquímica empregada para a caracterização dos constituintes ativos consiste na combinação de métodos de prospecção fitoquímica qualitativa associados aos métodos cromatográficos e espectroscópicos de análise.

Na abordagem qualitativa os extratos são submetidos a reações químicas que resultam no aparecimento de coloração ou precipitado em decorrência da presença de alguns grupos de metabólitos secundários eventualmente presentes. Matos (2009) propõe um roteiro de analítico sequencial que visa à detecção de ácidos graxos, terpenos, alcalóides, fenóis simples, flavonóides, antocianinas, quinonas, cumarinas, xantonas, taninos, resinas, heterosídeos cianogênicos, saponinas, heterosídeos cardioativos e glicídios, entre outros. Os testes

recomendados são suficientemente sensíveis para detectar a presença destas substâncias em quantidades apreciáveis, mesmo que feitos sob inspeção somente visual. Além disso, são úteis por gerar informações que irão direcionar a estratégia de fracionamento, de acordo com a natureza dos constituintes previamente detectados (Matos, 2009).

Ainda que a prospecção fitoquímica seja uma ferramenta de grande utilidade na caracterização química dos extratos vegetais, esta não permite a identificação de constituintes individualmente. Para este propósito, a identificação da maioria dos compostos orgânicos conhecidos na natureza tem sido feita por meio de técnicas cromatográficas.

A cromatografia representa a mais poderosa técnica analítica disponível para separar fisicamente compostos presentes em misturas complexas, tal como extratos vegetais. É um processo de separação baseado nas diferentes afinidades substâncias frente a duas fases: uma estacionária (um suporte sólido ou líquido) e outra móvel (um líquido ou gás). A interação dos componentes da mistura com estas duas fases é influenciada por diferentes forças intermoleculares, tamanho molecular e solubilidade. Dessa maneira, as velocidades das substâncias que migram pelo material estacionário serão diferentes por causa destas interações, e assim serão fisicamente separadas. A grande variedade de combinações entre fases móveis e estacionárias atualmente existentes a torna uma técnica extremamente versátil e de fundamental importância para a pesquisa e desenvolvimento de novos compostos bioativos (Wixom e Gehrke, 2010).

A determinação da estrutura molecular dos constituintes isolados constitui um campo especializado da química orgânica. Seguramente, as características físicas, químicas e aplicações biológicas ou farmacológicas de qualquer composto orgânico são consequência da sua estrutura molecular (tamanho, estereoquímica, reatividade). Historicamente, a identificação de um composto isolado se baseou em procedimentos de *via química*, por meio da comparação direta de constantes físicas (ponto de fusão, solubilidade, rotação óptica, aspecto, etc) com as de amostras autênticas; em evidências experimentais frente à determinadas reações de identificação (oxidação, hidrólise, condensação, etc), métodos de determinação do peso molecular por microanálise (C, H e N). A partir de meados do século XX, com os avanços tecnológicos no campo de instrumentação analítica, a determinação estrutural de compostos orgânicos evolui consideravelmente com o desenvolvimento de técnicas de *via espectroscópica*.

A espectroscopia representa um meio de investigar as perturbações causadas na matéria em função da interação com a radiação eletromagnética. Neste sentido, as ondas eletromagnéticas mais frequentemente usadas correspondem a áreas de frequências variadas: ondas bastante energéticas, como a radiação ultravioleta-visível; radiação de menor energia, como a de infravermelho, e outras de menor energia, como a ressonância magnética nuclear. Com o uso de aparelhagem especial, os espectrômetros, a via espectroscópica representa hoje a principal estratégia de determinação estrutural ao alcance de pesquisadores do mundo e que tem possibilitado a pesquisa e desenvolvimento de novos compostos bioativos (Feliciano et al., 2007).

REFERÊNCIAS

AGNOLIN, C. A. Avaliação de óleos essenciais de capim limão, citronela e eucalipto no controle do carrapato. 2012. 83 f. Tese (Doutorado do programa de pós-graduação em Zootenia. Universidade Federal de Santa Maria. Rio Grande do Sul. 2012.

ALMANÇA, C.C.J.; POZZATTI, P.N.; CASAGRANDE, F.P.; SILVA FILHO, J.P.; BISSI, B.; BARBOSA, B.C.; PORFÍRIO, L.C.. Eficácia *in vitro* de extratos de *Chenopodium ambrosioides* sobre teleóginas de *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus*. Arq. Inst. Biol., v.80, n.1, p.43-49,, 2013.

ALVARENGA, L.C.; PALVA, P.C.A.; BANYS, V.L.; COLLAO-SAENZ, E.A.; RABELO, A.M.G.; REZENDE, C.A.P. de. Alteração da carga de carrapatos de bovinos sob a ingestão de diferentes níveis do resíduo do beneficiamento do alho. Ciênc. agrotec., v. 28, n. 4, p. 906-912, 2004.

BALANDRIN, M.F.; KLOCKE, J.A.; WURTELE, E.S.; BOLLINGE, W.H.. Natural plant chemicals: sources of industrial and medical materials. Science, 228: 1154-1160. 1985.

BARROS, A.T.M. de; EVANS, D.E. Ação de gramíneas forrageiras em larvas infestantes do carrapato dos bovinos, *Boophilus microplus*. PesquisaVeterinária Brasileira, v.9, n.1/2, p.17-21, 1989.

BORGES, L.M.F.; FERRI, P.H.; SILVA, W.J.; MELO, L.S.; SOUZA, L.A.D.; SOARES, S.F.; FARIA, A.F.; GOMES, N.A.; MORI, A; SILVA, N.F.. Ação do extrato hexânico de frutos maduros de *Melia azedarach* (MELIACEAE) sobre *Boophilus microplus* (ACARI : IXODIDAE) em bezerros infestados artificialmente. Revista de Patologia Tropical, v. 34, n. 62, p. 53–59, 2005.

BORGES, L.M.F.; da SILVA, A.C.; das NEVES, B.P. Teste "in vitro" de eficácia do cinamomo (*Melia azedarch* L .) sobre fêmeas ingurgitadas do *Boophilus microplus*, can (ACARI : IXODIDAE). Rev. Pal. Trop., v. 23, n. 2, p.175-l79, l994.

BROGLIO-MICHELETTI, S.M.F.; DIAS, N.S.; VALENTE, E.C.N.; SOUZA, L.A. de; LOPES, D.O.P.; SANTOS, J.M. dos; Ação de extrato e óleo de nim no controle de *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em laboratório. Rev. Bras. Parasitol. Vet., v. 19, n. 1, p. 44-48. 2010.

BROGLIO-MICHELETTI, S. M. F.; VALENTE, E. C. N.; SOUZA, L. A. DE; DIAS, N. D. S.; ARAÚJO, A. M. N. DE. Extratos de plantas no controle de *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em laboratório. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 18, n. 04, p. 44–48, 2009.

CAMILLO, G. et al. Eficiência *in vitro* de acaricidas sobre carrapatos de bovinos no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Ciência Rural, v.39, n.2, p.490-495, 2009.

CHAGAS, A. C. DE S.; PASSOS, W. M.; PRATES, H. T.; et al. Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de Eucalyptus spp em *Boophilus microplus*. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, v. 39, n. 5, p. 247–253, 2002.

CHIANG, L. C.; CHIANG, W.; LIU, M. C.; LIN, C. C. *In vitro* antiviral activities of Caesalpinia pulcherrima and its related flavonoids. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, v. 52, n. 2, p. 194–198, 2003.

CONDER, G.A.; CAMPBELL, W.C. Chemotherapy of nematode infections of veterinary importance, with special reference to drug resistance. Advances in Parasitology,v.35, p.1-83, 1995.

CORDOVÉS, C.O. Carrapato: controle ou erradicação. Guaíba: Agropecuária. p 176. 1997.

CUNHA e SILVA, S.L. da; CARVALHO, M.G. de; GUALBERTO, S.A.; CARNEIRO-TORRES, D.S.; VASCONCELOS, K.C.F. de; OLIVEIRA, N.F. de. Bioatividade do extrato etanólico do caule de *Croton linearifolius* MULL. ARG. (EUPHORBIACEAE) sobre *Cochliomyia macellaria* (DIPTERA:CALLIPHORIDAE). Acta Veterinaria Brasilica, v.4, n.4, p.252-258, 2010.

CUTULLÉ, C.; JONSSON, N.N.; SEDDON, J. Population structure of Australian isolates of the cattle tick *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus*. VeterinaryParasitology, v.161, p. 283–291, 2009.

DEQUECH, S.T.B.; STURZA, V.S.;RIBEIRO, L.do P.; SAUSEN, C.D.; EGEWARTH, R.; MILANI, M.; SCHIRMANN, J.. Inseticidas botânicos sobre *Liriomyza huidobrensis* Blanchard (Diptera : Agromyzidae) e seus parasitóides em feijão-de-vagem cultivado em estufa. Biotemas. v. 23, n. 2, p. 37–43, 2010.

DOUBE, M.B.; KEMP, D.H.; The influence of temperature, relative humidity and host factors on the attachment and survival of *Boophilus microplus* (Canestrini) Larvae to skin slices. International Journal for Parasitology, v.9, p. 449-454, 1979.

EVANS, W.C. Trease and Evan's pharmacognosy. 14 ed. Londres: WB Saunders, 1996. 612 p.

FARIAS, M.P.O.; SOUSA, D.P.; ARRUDA, A.C.; ARRUDA, M.S.P.; WANDERLEY, A.G.; ALVES, L.C.; FAUSTINO, M.A.G.. Eficácia *in vitro* do óleo da *Carapa guianensis* Aubl. (andiroba) no controle de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). Rev. Bras. Pl. Med., v.9, n.4, p.68-71, 2007.

FARIAS, N.A. Situación de la resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* em la región sur de Rio Grande Del Sur, Brazil. In: Seminário Internacional de Parasitologia Animal, 4., Puerto Vallarta, Mexico. Anais... PuertoVallarta: CONASAGA. p.25-30. 1999.

FARIAS, N.A.R.; RUAS, J.L.; SANTOS, T.R.B. Análise da eficácia de acaricidas sobre o carrapato *Boophilus microplus*, durante a última década, na região Sul do Rio Grande do Sul. Ciência Rural, v.38, n.6, p 1700-1704, 2008.

FELICIANO, A. S.; PÉREZ, A. L.; OLMO, E. D. Manual de determinación estructural de compuestos naturales. Bogotá: Programa Iberoamericano de Ciencia e Tecnologia, 2007. 617 p.

FERRETTO, R. Revisão de literatura sobre *Riphicephalus* (Boophilus) *microplus*. Porto Alegre. 2013.

FLECHTMANN, C. H. W. Ácaros de importância médico-veterinária. 2. ed. São Paulo: Nobel,. p. 197. 1990.

FORTES, E. Parasitologia Veterinária. 2. Ed., Porto Alegre: Sulina. 1993, 606p.

FRAGOSO, H.; JOÃO, S.; MARTINS, R.; OCTÁVIO, C.; CÉSPEDES, C. Avaliação *in vitro* de uma cepa de campo de *Boophilus microplus* (Acari : Ixodidae) resistente à Amitraz. , p. 737–742, 2003.

FRISCH, J.E. Towards a permanent solution for controlling cattle ticks. International Journal for parasitology, v.29, n.1, p.57-71, 1999.

FURLONG, J. et al. Diagnóstico *in vitro* da sensibilidade do carrapato *Boophilus microplus* a acaricidas. In: Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 8, Ouro Preto: Revista Brasileira de Parasitologia, p.305. 2004.

FURLONG, J. Carrapato: problemas e soluções. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2005. 65 p.

FURLONG, J ; PRATA, M. C. A. ; REIS, E S ; MARTINS, J R S ; COSTA JR, L M ; COSTA, J C R . Diagnóstico *in vitro* da sensibilidade do carrapato *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus* a acaricidas. In: XIV Congresso Brasleiro de Parasitologia Veterinária, 2006, Ribeirão Preto, SP: CBPV, 2006. v. 1. p. 237-237.

FURLONG, J.; SALES, R.O.. Controle estratégico de carrapatos no bovino de leite: uma revisão. Revista Brasileira de higiene e sanidade animal, v.01, n. 02, p. 44-72. 2007.

GOMES, A. Carrapato-de-boi: prejuízo e controle. Disponível em: < http://www.cnpgc.embrapa.br/publicacoes/divulga/GCD42.html>. Data de acesso: 20 de agosto de 2014.

GOMES, A.; KOLLER, W. W.; THADEU, A.; BARROS, M. DE. Suscetibilidade de *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus* a carrapaticidas em Mato Grosso do Sul. Cienc. Rural. v.41, n.8, Santa Maria. 2011.

GRISI L, MASSARD CL, MOYA BORJA GE, PEREIRA JB. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. Hora Veterinaria, v. 21, n.125, p.8-10, 2002.

HARBORNE, J. Phytochemical Methods: a guide to modern techniques of plant analysis. London: Chapman e Hall, 1998. 302 p.

HORN, S.C. e ARTECHE, C.C.P. Situação parasitária da pecuária no Brasil. Hora Veterinária, v. 23, p.12-32, 1985.

HOSTETTMAN, K.; MARSTON, A.; MAILLARD, M.; HAMBURGER, M. Phytochemistry of plants used in traditional medicine. Clarendon Press. 1995, 424 p.

GRISI, L. et al .Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. Rev. Bras. Parasitol. Vet., v. 23, n. 2, 2014.

IANNACONE, J.; LAMAS, G.. Efecto de dos extractos botanicos y un insecticida convencional sobre el depredador Chrysoperla externa. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología, n. 65, p. 92–101. 2002.

KANADASWAMI, C.; LEE, L.; LEE, P. H.; et al. The Antitumor Activities of Flavonoids. In Vivo. v. 910, p. 895–909, 2005.

KUTCHAN, T. Alcaloid biosynthesis - the basis for metabolic engineering of medicinal plants. Plant Cell., v.7, p. 1059-1070, 1995.

MARCELA, A. S.; MICHELE, F.; SÔNIA, S. Flavonoids : Potential therapeutic agents for the inflammatory process. Revista Virtual de Química, v. 1, n. 3, p. 241–256, 2009.

MARIA, S. Análise da eficácia de acaricidas sobre o carrapato *Boophilus microplus*, durante a última década, na região sul do Rio Grande do Sul. Ciência Rural, v.38, n.6, p.1700-1704. 2008.

MARQUES, A. O.; ARANTES, G. J.; SILVA, C.R. Avaliação da eficácia da ivermectina a 1% (solução injetável), no tratamento de bovinos naturalmente infestados pelo carrapato *Boophilus microplus* (canestrini, 1887) (acari: ixodide) e mantidos em pastagem. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v.4, n.2, p. 117-119, 1995.

MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, LC; VARGAS, MI; PATARROYO, JH; TAFUR, GA; MURTA, D. Resposta de linfonodos em bovinos inoculados a campo com a vacina recombinante rSBm7462 anti *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus*. Pesquisa Veterinaria Brasileira, v.34, n.6, p.503-508, 2014.

MASSARIOL, P.B.; OLIVO, C.J.; RICHARDS, N.; AGNOLIN, C.A.; MEINERZ, G.R.; BOTH, J.F.; FACCIO,; HOHENREUTHER, F.; MARTINELLI, S.. Alteração da carga de ectoparasitas em vacas da raça Holandesa submetidas a diferentes níveis de alho (*Allium sativum* L.) na alimentação. Rev. bras. plantas med., v. 1, p. 37–42, 2009.

MATOS, F. J. A. Introdução à fitoquímica experimental. 3. ed. Fortaleza: Edições UFC, 2009. 150 p.

MONTEIRO, S.G.. Parasitologia na Medicina Veterinária.1 ed. São Paulo: Roca. 2011. 356 p.

MURRELL, A.; BARKER, S.C.. Synonymy of Boophilus Curtice, 1891 with *Rhiphicephalus* Koch, 1844 (Acari: Ixididae). Systematic Parasitology, Dordrecht, v. 56, n.3, p. 169-172, 2003.

OLIVO, C. J.; AGNOLIN, C. A.; PARRA, C. L. C.; et al. Efeito do óleo de eucalipto (*Corymbia citriodora*) no controle do carrapato bovino. Ciênc. Rural, v. 43 , n. 2, p. 331–337, 2013

OLIVO, C. J.; HEIMERDINGER, A.; ZIECH, M. F.; et al. Extrato aquoso de fumo em corda no controle do carrapato de bovinos. Ciência Rural, v. 39, n. 4, p. 1131–1135. 2009.

PATARROYO J. H.; LOMBANA, C. G. Resposta imune a vacinas sintéticas anti *Boophilus microplus*. Rev. Bras. Parasitol. Vet., v. 2, p. 129–134, 2004.

PERES, L.E.P. Metabolismo Secundário. Piracicaba – São Paulo: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ/USP. 2004. p. 1-10.

PRATES, H.T.; OLIVEIRA, A.B.; LEITE, R.C.; CRAVEIRO, A.A.. Atividade carrapaticida e composição química do óleo essencial do capim-gordura. Pesqu. Agropec. Bras., v.28, n.5, p. 621-625. 1993.

PRUETT.J.H.; POUND, J.M. Biochemical diagnosis of organophosphate-insensitivity with neural acetylcholinesterase extracted by sonication from the adult tick synganglion. Veterinary Parasitology, v. 135, n. 3-4, p. 355-363, 2006.

RAAMAN, N. Phytochemical Methods. New Delhi: Nem India Publishing Agency. 2006, 295p.

RODRIGUES DS, LEITE RC. Economic impact of *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus*: estimate of decreased milk production on a dairy farm. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia v.65, n.5, p.1570-2, 2013.

RODRÍGUEZ-VIVAS, R.I.; RODRÍGUEZ-AZAREVALO, F.; ALONSO-DÍAZ, M.A.; FRAGOSO-SANCHEZ, H; SANTAMARIA, V.M.; ROSARIO-CRUZ, R. Prevalence and potential risk factors for amitraz resistence in *Boophilus microplus* ticks in cattle farms in the State of Yucatan, Mexico. Preventive Veterinary Medicine, v.75, n.3-4, p. 280-286, 2006.

ROEL, A.R.. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o Desenvolvimento Rural Sustentável. Revista Internacional de Desenvolvimento Local. v. 1, p. 43–50, 2001.

RHODES, M.J.C. Physiological roles for secundary metabolites in plants: from progress, many oustandig problems. Plant mol. biol., v.24, n. 1, p.1-20, 1994.

SANTOS, A.C.G. dos; RODRIGUES, O.G., SANTOS, S.B.; GUERRA, R. de M.S.N. de; FEITOSA, M.L.; TEIXEIRA, W.C.; SANTOS-RIBEIRO, A.. Uso de Extrato de Nim no Controle de Acaríase por *Myobia musculi* Schranck (Acari : Miobidae) e *Myocoptes musculinus* Koch (Acari : Listrophoridae) em Camundongos (Mus musculus var . albina L.). Neotropical Entomology. n. April, p. 269–272, 2006.

SANTOS, A. V.; APARECIDA, R.; OLIVEIRA, D.; RÊGO, G. Efeito *in vitro* do extrato de nim (*Azadirachta indica*) e óleo essencial de cravo (*Syzygium aromaticum*) sobre *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus* , Revista Brasileira de Medicina Veterinária. v. 34, n. 2, p. 111–115, 2012.

SANTOS, F. C. C. dos; VOGEL, F. S. F.; MONTEIRO, S. G. Efeito do óleo essencial de manjericão (*Ocimum basilicum* L.) sobre o carrapato bovino *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus* em ensaios *in vitro*. Semina: Ciências Agrárias, v. 33, n. 3, p. 1133–1140, 2012.

SANTOS, F.C.C. dos; VOGEL, F.S.F.; ROLL, V.F.B.; MONTEIRO, S.G.. In vitro effect of the association of citronella, santa maria herb (*Chenopodium ambrosioides*) and quassia tincture on cattle tick *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus*. Ci. Anim. Bras., v.14, n.1, p. 113-119, 2013.

SANTOS, M.A.I. dos..Folhas de mandioca: caracterização de compostos fenólicos, atividades antioxidantes e inseticida. Dissertação (Pós graduação em Agroquímica). Universidade Federal de Lavras. Minas Gerais. 2013

SHAH, A. S. Textbook of Pharmacognosy and Phytochemistry. New Delhi:Elsevier, 2010. 604p.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.P.C.de; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 6 ed. São Paulo. Editora UFSC.1999.1102 p.

SOUZA, L.A.D. de; SOARES, S.F.; JÚNIOR, H.B.P.; FERRI, P.H.; BORGES, L.M.F.. Avaliação da eficácia de extratos oleosos de frutos verdes e maduros de cinamomo (*Melia azedarach*) sobre *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus* (ACARI: IXODIDAE). Rev. Bras. Parasitol. Vet., v. 17, n. 1, p. 36-40. 2008.

TORRES, F. C. Avaliação da atividade carrapaticida das frações dos óleos essenciais de citronela (*Cymbopogon winterianus*), alecrim (*Rosmarinus officinalis*) e aroeira (*Schinus molle*). 2010, 69f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Tecnologia de Materiais). Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Porto Alegre,

2010.VIDOTTO, O. Complexo Carrapato -Tristeza Parasitária e outras parasitoses de bovinos. , p. 1–10, 2002.

URQUHART, G. M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J. L.; DUNN, A. M.; JENNINGS, F. W. Parasitologia Veterinária, Editora Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, p 306, 1990.

WILKINSON, P. R.; Factors affecting the distribuition and abundance of the cattle tick in Australia: observations and hypothesis. Acarologia, v. 10, p. 492-508, 1970.

WANG, F.; CHEN, J.; CHEN, H.; TANG, Z.; ZHANG, G.; NIU, A.; PANG, S.; WANG, X; LEE, F.S.Multi-residue method for the confirmation of four avermectin residues in food products of animalorigin by ultra-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. Food Additives and Contaminants, v. 28, n.5, 627–639, 2011.

WILLADSEN, P. Tick control: thoughts on a research agenda. Veterinary parasitology, v. 138, n. 1-2, p. 161–8, 2006. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16497440>. Acesso em: 8/8/2014.

WIXOM, R. L.; GEHRKE, C. W. Chromatography: a science of Discovery. New Jersey: John Wiley e Sons. 2010. 411p.

ZHIOUA, E.; HEYER, K.; BROWNING, M.; GINSBERG, H.S.; LEBRUN, R.A. Pathogenicity of *Bacillus thuringiensis* variety Kurstaki to Ixodesscapularis (Acari: Ixodidae). Journal of Medical Entomology, v.36, n.6, p.900-902, 1999.

Capítulo 29- Aspectos Fisiológicos e comportamentais de peixes relacionados a agentes estressores

Souza, J.G.S.[1]; Faria,B.P.[2]; Oliveira, A.P.G.[2]; Selvatici, P.D.[2]; Gonçalves Junior,L.P.[3]; Mendonça, P.P.[1]

INTRODUÇÃO

A piscicultura é uma atividade agropecuária que representa uma alternativa de oferta de pescado, uma vez que a demanda do mercado consumidor é crescente. Por permitir que os peixes recebam alimento de boa qualidade, controle do ambiente de criação e maior acompanhamento do crescimento dos peixes, a piscicultura possibilita a comercialização de pescado de qualidade. Durante a criação, seja para fins ornamentais ou para abate, os peixes estão sujeitos adiversas situações que causam estresse. O transporte, biometrias, despesca, restrições alimentares, manipulação durante a reprodução artificial, parâmetros de qualidade de água fora da faixa de conforto ou mesmo mudanças bruscas destes representam algumas das fontes de estresse para os peixes. Diferentes espécies apresentam distintas respostas fisiológicas ao estresse, algumas apresentam maior tolerância e outras não.

O que é conhecido como "estresse" é um conjunto de reações dos peixes, que se iniciam na percepção do agente estressor, seja ele qual for, e culmina no esforço de adaptação e caso este esforço seja excessivo pode levar à morte do peixe. As reações ao agente estressor são divididas em: reações primárias (alterações hormonais); respostas secundárias(alterações fisiológicas) e respostas terciárias (comprometimento de desempenho). Conhecer as reações fisiológicas dos animais ao estresse embasa muitos estudos sobre técnicas de manejo que diminuam possíveis prejuízos decorrentes de doenças oportunistas que se manifestam após estresse intenso.

É crescente a preocupação com o bem-estar dos animais durante o processo de produção e, além de possibilitar uma condição saudável de criação, medidas que reduzem o estresse oferecem um ambiente em que o sofrimento dos peixes seja menor.

Estes cuidados podem gerar melhor desempenho zootécnico e oferecer um produto final que se enquadre nos parâmetros dos mercados consumidores mais exigentes. O que se segue é uma revisão sobre as principais reações fisiológicas e comportamentais ao estresse sofrido pelos peixes na aquicultura.

O estresse

A palavra "estresse" deriva do latim por muitos anos significou "fadiga" ou "cansaço", posteriormente passou a ser relacionada à termos como "pressão" e "esforço" (FARIAS, 1985). Atualmente estresse pode ser definido como um esforço adaptativo realizado pelo organismo, quase sempre gerando gasto de energia extra, causado por estímulos externos. maneira geral, o estresse é benéfico aos peixes, desde que o gasto de energia necessário para o

[1]Zootecnista, Professor Doutor do Instituto Federal do Espírito Santo – *Campus* Alegre. Email: ppierrom@gmail.com
[2]Mestrando no Programa de Pós graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Espírito Santo. Alto Universitário, s/nº - Cx Postal 16, Guararema - 29500-000 Alegre-ES.
[3]Mestrando no Programa de Pós graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual Norte Fluminense – Darcy Ribeiro.

retorno à homeostasia não seja maior do que as reservas contidas no corpo do peixe (METZ, 2006)

Como já dito, os peixes estão expostos a diferentes agentes estressores durante a criação, estes podem ser os mais diversos. Silva, *et al*. (2012) estudaram os efeitos do estresse da exposição ao ar sobre tilápias(*Oreochromisniloticus*) e concluíram que existem alterações nos níveis de glicemia, no número de células de sanguíneas de defesa e na quantidade de íons dissolvidos no sangue dos animais à medida em que se intensificou a exposição ao agente estressor. Estudando a ocorrência de *Streptococcus*spp em criação de tilápia-do-Nilo em tanques-rede, Salvador *et al*. (2003), constatou que as elevadas densidades de estocagem e a qualidade da água em que os peixes foram criados aumentou a susceptibilidade à doenças causadas pela bactéria estudada.

Os estudos citados acima refletem fatos comuns na piscicultura comercial, rotineiramente os peixes são expostos ao ar em biometrias e despescas seletivas e elevadas densidades são muito praticadas na criação de peixes. Mas os peixes possuem um limite de exposição ao estresse o qual não ocorrem mortes nem enfermidades, e o primeiro passo para saber este limite é conhecer como acontece o estresse. Primeiramente os peixes percebem o agente estressor por meio dos órgãos dos sentidos. Os peixes possuem muitos órgãos que captam de estímulos externos, além do sentido da visão, audição, olfato, tato e paladar, contam também com receptores de energias mecânica, química, térmica, luminosa e osmorreceptores que permitem a rápida percepção de mudanças no meio em que estão. Existem muitas espécies de peixes cada espécie desenvolveu seus órgãos dos sentidos por meio de seleção natural o que gerou espécies com diferentes tamanhos de boca, olhos, presença ou não de barbilhões táteis entre outras adaptações morfológicas.

Reação ao Estresse

A percepção do agente estressor gera as chamadas reações primárias, consideradas as reações de alarme. Os agentes estressores são detectados pelo organismo e a informação chega ao hipotálamo, pelo Sistema Nervoso Sináptico, ocorre a liberação das catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) pelo rim cefálico; neuroreceptores (corticortrofinas) liberados pelo hipotálamo irão estimular a produção de corticosteroides, principalmente cortisol (OBA*et al*. 2009). O cortisol é considerado o principal hormônio do estresse e é utilizado como parâmetro para quantificar o estresse em muitas espécies de peixes nos estudos científicos (BRANDÃO *et al*. 2006; MARIANO *et al*. 2009).

A adrenalina estimula o aumento da frequência de batimentos cardíacos e operculares, o que aumenta a taxa de respiração dos peixes; o cortisol, após liberação na corrente sanguínea, age, principalmente, sobre as brânquias, músculos e fígado, iniciando um segundo tipo de reação ao estresse, chamadas respostas secundárias. Este conjunto de respostas é caracterizado pelas alterações nos tecidos, o que não acontece nas respostas primárias. Durante as respostas secundárias é comum que ocorra elevação dos níveis de glicose e lactato no sangue, redução das reservas de glicogênio (músculos e fígado), redução das reservas de gordura,inibição de síntese proteica e alterações no balanço osmótico.

Os níveis de glicemia, lactatocemia e balanço eletrolítico sanguíneo também são indicadores do nível de estresse em muitos estudos. Inoue*et al.* (2008) avaliaram a reação fisiológica de juvenis de matrinxãs (*Bryconamazonicus*) submetidas à choque térmico e constataram elevadas alterações nos níveis de cortisol sanguíneo e glicemia 1 hora após o estresse e tendência à redução dos valores destes parâmetros nas 24 horas subsequentes. Barbosa *et al*. (2007), também utilizando juvenis de matrinxãs na sedação com eugenol, contataram que ocorrem elevações nos níveis de lactato sanguíneo após a imersão no anestésico e recuperação do níveis normais 24 horas após o estresse; constataram também que após a

exposição ao anestésico ocorreu redução nos níveis de glicogênio hepático, havendo posterior recuperação. Takahashi *et al*. (2006) estudaram os efeitos do ambiente pós-transporte sobre juvenis de pacu (*Piaractusmesopotamicus*) e observaram interferência significativa nos níveis de sódio (Na), potássio (K), cloro (Cl), cálcio (Ca) no sangue, bem como na osmolaridade sanguínea dos peixes.

As alterações fisiológicas sofridas pelos peixes são um mecanismo para possibilitar a adaptação à condição estressora ou fuga para um ambiente ou condição mais favorável. Caso o esforço de adaptação não seja suficiente para superar o agente estressor ou a fuga seja impossível, ocorrem as respostas terciárias. Melo *et al.* (2009) estudaram os efeitos do estresse crônico por hipóxia em tilápias (*O. niloticus*) constataram modificações no perfil proteico dos peixes. Winkaler*et al.* (2001) estudando os biomarcadores fisiológicos para avaliação da saúde de lambaris (*Astyanaxaltiparannae* e *A. fasciatus*) em ambiente natural, observaram que os valores baixos de glicemia dos peixes pode ser atribuído ao estresse crônico causado por poluentes.Além destes, o estresse crônico causa a redução no desempenho reprodutivo, crescimento prejudicado e proliferação de doenças causadas por bactérias como *Streptococcusagalactiae*(LONGHI *et al*. 2012), *Aeromonashydrophila* (GARCIA; MORAES, 2009) e *Edwardsiella tarda* (ALBINATI *et al.* 2006). É importante salientar que existem muitas espécies de peixes que podem ser cultivadas e muitas com potencial para criação que ainda não são trabalhadas, e existem diferenças interespecíficas de reações ao estresse, e conhece-las é tão importante quanto conhecer como acontece o estresse.

Estresse em diferentes espécies

É fácil observar que algumas espécies são mais tolerantes ao estresse do que outras. Para o transporte de peixe, por exemplo, existem recomendações para carga de transporte (quilogramas de peixes/ litro de água) para as diferentes espécies. A tilápia (*Oreochromisniloticus*) é uma espécie considerada de alta resistência ao estresse, porém possui comportamento territorialista e tendem a estabelecer uma hierarquia dentro das estruturas de criação em que estão estocadas; Merighe*et al*. (2004)estudaram o efeito da cor do fundo do ambiente sobre o comportamento social dos peixes, e observaram que as cores verde e preta causaram baixos níveis de cortisol sanguíneo e amenizaram as interações agonísticas entre os indivíduos.

Por outro lado, peixes como os pertencentes ao gênero *Brycon*, o dourado (*Salminus brasiliensis*) e o pintado (*Pseudoplatystoma*corruscans) são considerados com maior sensibilidade ao estresse do que tilápia-do-Nilo (*O. niloticus*) e as carpas-comum (*Cyprinuscarpio*), por exemplo.Pedreira *et al.* (2008) também realizaram um experimento para verificar a influência da cor do ambiente sobre o crescimento de *Bryconorthotaenia* e observaram que tanques de cores claras (verde claro, azul claro e branco) proporcionam melhor crescimento e sobrevivência e que tanques de cores escuras afetam negativamente o Fator de Condição de Fulton.

Não são apenas as reações ao estresse crônico que são variáveis, mas as respostas agudas também variam de acordo com a espécie. Gomes *et al*. (2003)estudando o efeito do estresse causado pelo transporte de juvenis de tambaqui (*Colossomamacropomum*) observaram valores de referência (antes do estresse) de cortisol sanguíneo em torno de 80 ng/mL e para glicemia valores próximos a 70 mg/dL. Brandão *et al.* (2008), também estudando os efeitos do estresse do transporte, mas utilizando pirarucu (*Arapaima gigas*) observaram valores iniciais de cortisol de 20 ng/mL e, aproximadamente, 25 mg/dL. O tambaqui e o pirarucu são considerados espécies com boa tolerância ao estresse (CHAGAS *et al*. 2006; CAVERO *et al*. 2004) mas apresentam valores cortisol e glicose sanguíneas tão distintos, mesmo em condições experimentais semelhantes.

Quantificar o estresse em peixes não é uma tarefa fácil. Os principais parâmetros de mensuração de intensidade do estresse são os valores de cortisol sanguíneo e glicemia, o primeiro indicando a intensidade das respostas primárias e o segundo as respostas secundárias. Mas o método de coleta do sangue (a manipulação dos peixes pode desencadear as reações de alarme e iniciar alterações hormonais) e um possível estresse crônico podem interferir nos resultados das análises. Martinez-Rochas *et al.* (2009) em sua revisão sobre o uso dos valores de cortisol e glicose como indicadores de estresse a nível experimental citam que peixes provenientes de ambiente natural apresentam valores de cortisol e glicose diferentes de indivíduos da mesma espécie que foram aclimatados em laboratório, citam ainda que os valores de glicose estão intimamente ligados à fase de desenvolvimento e estado nutricional dos peixes, então podem refletir um estado que é influenciado por outros fatores que não o estresse causado pela situação testada.Apesar destas observações os autores reconhecem que os valores de glicose e cortisol sanguíneos são considerados parâmetros válidos para determinação dos níveis de estresse em peixes.

Reações fisiológicas

Segundo Earley et al (2008), a homeostase é o trabalho de sistemasfisiológicostaiscomo pH, temperatura corporal, glicemia, tensão de oxigênio, paramanter a estabilidadequefaz com que o corposejacapaz de suportar a vida, através da manutençãodessessistemasdentro de umafaixa de variaçãoótima. Quandoexisteumasituação a qualcausa o afastamentodestesparâmetrosdesteintervaloótimo, entramemaçãomediadoresfisiológicoscomocatecolaminas, cortisol e citocinas, queregulam e alteramossistemasenvolvidos com a homeostase de forma a retornar à estabilidade.

Um dos primeirospesquisadores a demonstrarexperimentalmente a ligação do estressecom o enfraquecimento do sistemaimunológicofoi Louis Pasteur (1822-1895). Emestudopioneiro no final do século 19, eleobservouquegalinhasexpostas a condições estressantes eram mais susceptíveis ainfecções bacterianas que galinhas não estressadas (DUKES, 1996).

Peixes não possuem glândula adrenal distinta e bem delimitada como os mamíferos em geral. As substancias produzidas por essas glândulas nestes animais são produzidos pelas células cromafins e interrenais,respectivamente, localizadas no rim cefálico, ondeosdoistipos de células podem estar misturados ou intimamente relacionados, emcontatocom as veiaspós-cardinais (MOMMSEN et al., 1999).

Frente a exposição a fatores de estresse, iniciam-se as alterações desencadeadas pelo acionamento do hipotálamo pelas vias dos sentidos, que leva à ativação de dois eixos neuro-endócrinos: o eixo hipotálamo-sistema nervoso simpático-células cromafins que resulta na liberação de catecolaminas (epinefrina enorepinefrina) no final da reação, pelas células cromafinspresentes na porção anterior do rim, sob estímulo direto do sistema nervoso simpático, e o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal que estimula a liberação dos corticosteróides cortisol e cortisona.

A ação destes hormônios em variados locais alvo, especialmente naqueles que estão sob intenso controle endócrino, resultam em modificações bioquímicas e fisiológicas (estimulando a utilização das reservas de glicogênio hepático, aumentando a glicemia, aumentando os batimentos cardíacos, marcando o início de uma resposta secundária (SMITH, 1982; PERRY & LAURENT, 1993; WENDELAAR BONGA, 1997).

Em peixes, assim como em mamíferos, a síntesee liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) pela glândula hipófise está sob controle do hipotálamo, via síntese e liberação do fator liberador de corticotrofina (CRF) podendo também ser mediada pelo hormônio estimulante de melanócito (MSH) e, por endorfina (WENDELAAR BONGA, 1997).

Quando existe o estimulo externo, ocorre ativação do hipotálamo, que libera CRF, o qual estimula as células corticotróficas da hipófise a produzir e liberar ACTH que, por sua vez, estimula a síntese e liberação dos corticosteróides pelas células localizadas na região cranial do rim (NANDI, 1962; DONALDSON, 1981).

Em seguida os efeitos terciários incluem as alterações no animal e na população. A resposta terciária é marcada pela diminuição da resistência imunológica dos peixes, pois ocorre uma diminuição no número de leucócitos, ocorrendo linfocitopenia (diminuição do número de linfócitos circulantes na corrente sanguines) e neutrofilia (aumento do número de neutrófilos circulantes) de acordo com MAZEAUD et al. (1977).

Indicadores de estresse

Dentre os indicadores utilizados para avaliar estresse animal, o cortisol plasmático é o indicador mais utilizado em peixes, qualquer que seja o seu estágio de desenvolvimento (WENDELAAR BONGA, 1997). O cortisol em sua complexidade pode ser dividido em dois tipos de frações, mineralocorticóides e glicocorticóides. Em sua função mineralocorticóide, o cortisol atua na regulação osmótica e iônica; enquanto que na função como glicocorticóide, ele estimula a glicogenólise e a gliconeogênse hepática (PICKERING, 1981; WENDELAAR BONGA, 1997).

A glicose, uma vez que mobilizada em maior quantidade através da ação do cortisol,é utilizada como indicador de estresse, facilitando a identificação do níveis basais de peixes teleósteos (RANZANI-PAIVA et al., 1991). O desequilíbrio iônico também tem sido relatado no diagnóstico de estresse, por meio da diferenciação de células de cloreto nas brânquias e pela atividade da enzima sódiopotássioadenosinatrifosfatase (Na+/K+ - ATPase) que participa no transporte ativo de íons sódio e cloreto (WENDELAAR BONGA, 1997).

A avaliação de padrões imunológicos constitui um bom parâmetro de avaliação, uma vez que, após a liberação de hormônios glicocorticóides, quer seja endógeno ou exógeno, se reflete de forma quantitativa sobre os leucócitos (RIJNBERK & MOL, 1997).

Através da ação modeladora do cortisol ocorre uma diminuição da atividade fagocitária e da migração de leucócitos para a região de inflamação. Esses efeitos provavelmente se devem ao fato do cortisol agir diminuindo a formação de prostaglandinas e leucotrienos a partir do ácido araquidônico nas membranas das células lesadas que, de outro modo, aumentariam a vasodilatação, a permeabilidade capilar e consequentemente a mobilidade dos leucócitos (OLIVEIRA-JUNIOR et al., 2008).

Observa-se concomitantemente neutrofilia e linfopenia, em que o aumento de neutrófilos se deve a diminuição na migração de neutrófilos para o tecido (diapedese), e aumento do seu tempo na circulação, ou seja, um desvio do compartimento marginal para o circulante. Já a diminuição de linfócitos se deve pela redistribuição dos linfócitos circulantes, com seqüestro nos tecidos linfóides e medula óssea, assim como pela lise de alguns tipos de linfócitos nos linfonodos (MAZEAUD et al., 1977; RIJNBERK & MOL, 1997). A trombocitose ocorre devido à contração esplênica, em que o baço armazena de 1/4 a 2/3 do total de plaquetas para a circulação, o que se resulta no aumento do volume globular.

Todos os animais possuem uma capacidade natural de responder fisiologicamente ao estressepara superar a perturbação imposta e sobreviver no meio natural, seja, fugindo de predadores ou lutando; no entanto, quando os mecanismos fisiológicos sãoforçados além do limite os efeitos podem se tornar deletérios para o animal a curto e a longo prazo, o que pode resultar eminibição do crescimento, falha reprodutiva e queda na resistência a patógenos, mudança de comportamentos (WENDELAAR BONGA, 1997).

O estresse e a expressão de padrões comportamentais

Como mencionado anteriormente, estímulos estressores resultam em diversas alterações fisiológicas no animal. Contudo, essas modificações são expressas externamente por meio de comportamentos, que, na maioria das vezes, compreendem a comportamentos anormais, mas também podem envolver os comportamentos naturais, tais como àqueles relacionados à reprodução, importantes à manutenção do animal, bem como da espécie.

O comportamento é a resposta do animal a um determinado estímulo e compreende a uma forma simples e econômica do organismo se manifestar frente ao efeito estressor. A resposta comportamental pode ser efetuada através da expressão de movimentos ou imobilização frente ao objeto causador de sentimentos diversos, incluindo o medo e a dor.

Desta forma, um estímulo que ocasiona dor, aumenta a taxa respiratória, levando o animal a desenvolver aversão ao objeto, desencadeando o comportamento de fuga e proporcionando a aprendizagem, ou seja, toda vez que o animal se deparar com o estímulo, sentirá emoções relacionadas à lembrança da dor e fugirá, sendo esta ação conhecida como aprendizagem ou comportamento aprendido (CHANDROO et al., 2004).

As emoções que são alterações fisiológicas expressas por meio do comportamento estão frequentemente relacionadas à aprendizagem, adquirida cientificamente por meio do condicionamento clássico e operante e estão diretamente relacionadas a forma como um organismo percebe e processa determinada informação (MENDL; PAUL, 2004).

A simples troca de posição num recinto pode significar a busca do animal em se afastar de uma situação estressante. Contudo, caso essa alternativa não seja o suficiente, o animal poderá desencadear uma série de outros comportamentos conhecidos como estereotipias (ANDRADE; OLIVEIRA, 2002).

Estereotipias ou comportamentos estereotipados são atos sem nenhuma relevância ou objetivo aparente, manifestados de modo continuo e repetitivo, a fim de compensar situações estressoras vivenciadas no ambiente físico e que são capazes de afetar psicologicamente os animais (DANTZER, 1986).

Por esta razão, as estereotipias são consideradas comportamentos anormais e consistem em uma resposta não desejável a um estímulo estressor, podendo ser utilizada para sugerir que o nível de bem-estar no animal que expressa esse tipo de comportamento encontra-se reduzido.

O bem-estar consiste então, em uma série de níveis relacionados ao estado interno do animal, podendo variar de muito bom a muito ruim, porém, sempre que o animal estiver na presença de um estressor o bem-estar é reduzido. Contudo, o bem-estar reduzido somente acontecerá quando o indivíduo encontrar dificuldades de adaptar-se à situação estressora (BROOM, 2001).

Todavia, é cabível ressaltar que o estresse, apesar de em muitas situações estar relacionado à diminuição do bem-estar animal não deve ser apontado como sendo a única forma de mensurar esse estado, pois em alguns casos, o estresse (quando não manifestado de forma estereotipada ou através de comportamentos de automutilação) é imprescindível para animal.

Neste contexto, animais com níveis elevados de estresse podem ter seu grau de bem-estar aumentado, quando por exemplo no período reprodutivo, no qual é necessário o dispêndio de grande quantidade de energia para realizar a corte, a dança nupcial e a cópula. O estresse também é essencial para que o animal exerça outras atividades importantes a vivencia em grupo e a manutenção das espécies, atuais como brincadeiras e exploração de novos ambientes (VOLPATO et al., 2007).

Porém, caso o animal seja privado de desenvolver livremente estes comportamentos, o grau de bem-estar pode ser prejudicado. Desta forma, o bem-estar pode ser melhor quantificado

(quando se tratar apenas dos níveis alto e baixo grau) com base no comportamento animal do que através do estresse.

Contudo para inferir o grau de bem-estar de um animal é imprescindível que o pesquisador conheça o etograma do animal, incluindo todos os padrões de comportamentos naturais da espécie, a fim de evitar conclusões errôneas sobre determinado comportamento. Essa questão deve ser considerada ao estudar qualquer espécie, pois, frente a um estímulo, um determinado animal pode expressar vários comportamentos com a mesma função e/ou um comportamento com diversas funções, podendo confundir o pesquisador.

É indiscutível que alterações nos padrões de comportamentos naturais sejam indicativos de que o animal encontra-se estressado, porém, essas modificações nem sempre são prejudiciais, como no caso da troca de posição no recinto. Porém, quando o "novo comportamento" ou reposta ao estímulo estressor não for o suficiente para mitigar o estresse, o organismo então, terá seu estado biológico alterado a fim de ativar o sistema nervoso autônomo, sistema neuroendócrino e sistema imunológico para recuperação da homeostasia (ANDRADE; OLIVEIRA, 2002).

Desta forma, caso os agentes estressores ao qual um determinado organismo estiver submetido sejam moderados, o animal pode sofrer adaptação e restaurar o equilíbrio interno sem ocasionar danos ao animal. Contudo, se o estresse ocorrer em tempo prolongado e em grande proporção, a resposta do organismo será contrária à adaptação, levando o animal a adoecer ou até mesmo morrer (GALHARDO; OLIVEIRA, 2006).

Influência do estresse no comportamento de peixes

Em peixes, o comportamento ocasionado pelo estresse é semelhante àqueles expressos por outros vertebrados e da mesma forma, depende do tipo de agente estressor, podendo ser utilizado para predizer a condição fisiológica do animal em determinada situação (FISHERIES SOCIETY OF BRITISH ISLES, 2002).

Quando o estresse atua negativamente nos peixes, diversos comportamentos anômalos são expressos, entre eles, alterações na frequência da atividade de nado, bem como nos padrões natatórios, redução em comportamentos importantes à sobrevivência, tais como predação e anti-predação, permanência e procura excessiva por abrigos, redução de comportamentos de disputas, principalmente por territórios e redução da capacidade de aprendizagem (SCHRECK et al. 1995).

Outros comportamentos relacionados ao estresse ocasionado pela supressão da realização de certas ações, como a construção de ninhos, podem confundir o pesquisador, pois o animal continuará a atacar outros organismos aquaticos ao detectarem a aproximação destes, de modo semelhante ao natural, porém de forma exagerada (MENDONÇA, 2008). Desta forma, caso a intensidade normal do ataque nesta condição não for previamente conhecida, a conclusão sobre o tipo de comportamento (natural ou anormal), bem como o estado de bem-estar poderá ser inferido de forma equivocada.

Com relação ao tipo de resposta e ao tempo no qual o peixe responderá a determinado estímulo, bem como a intensidade desta frente ao estímulo estressor, dependerá de diversos fatores, incluindo principalmente a espécie, o local de nascimento (ambiente natural ou cativeiro), as condições do recinto, as características genéticas e a susceptibilidade aos agentes causadores do estresse (BARTON, 2002).

Em cativeiro, principalmente, aqueles com condições de instalações inadequadas, o contexto social no qual o animal encontra-se pode ser a principal fonte de estresse, em função da necessidade do estabelecimento de hierarquias, territorialidade, acasalamento e diversos outros aspectos que envolvem a vida em grupo, porém com competição elevada (CHANDROO et al., 2004).

A exposição dos peixes aos agentes do estresse causam respostas fisiológicas e comportamentais. Contudo, essas alterações não estão condicionadas apenas a percepção do estímulo estressor, mas a experiências passadas relacionadas ao estresse ocasionado pela interação com este estímulo (WEINER, 1992). Assim, experiências emotivas vivenciadas com o estresse, conferem ao animal o estresse psicológicos que envolvem três aspectos: reconhecimento de co-específicos, estado de emoção negativa e capacidade de associar o estímulo, antecipando comportamentos agonísticos (BARTON, 1997; CHANDROO et al., 2004).

Em um teste com tilápias do Nilo (*Oreochromisniloticus*) o confinamento, que consiste em uma ação estressora, foi associado a presença de luz, ou seja a luz se torna um estimulo condicionante (condicionamento clássico) e toda vez que os peixes são expostos a luz, a resposta hormonal é modificada, aumentando os níveis de cortisol, levando-os a responder ao estímulo luz através de comportamentos relacionados ao estresse (MOREIRA; VOLPATO, 2004).

O condicionamento clássico também pode ser utilizado de forma positiva como demonstrado em trutas arco-íris que foram condicionadas a associarem a diminuição da água ao fornecimento de alimentos. Dessa forma, toda vez que o animal precisar ser transportado associará o evento ao alimento e a resposta fisiológica, ou seja, o estresse será atenuado (SCHRECK et al., 1995).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estresse acarreta alterações fisiológicas expressas pelos peixes através de comportamentos, podendo ser utilizado pelo organismo de forma positiva ou negativa. Estas modificações podem ser utilizadas para que o animal desenvolva estratégias de adaptações frente ao estímulo estressor. Contudo, quando o estresse atinge níveis elevados, o grau de bem-estar torna-se prejudicado e ao contrário do que aconteceria no processo de adaptação, ao animal torna-se doente, podendo até mesmo morrer.

O estresse é um sinal de que as condições de criação não estão satisfatórias aos peixes e que para o pleno desenvolvimento dos animais é necessário que o estresse da criação não prejudique seu desenvolvimento, então várias estratégias para adequação da condição ambiental são válidas e podem ser evitar adensamento excessivo, utilizar mecanismos para melhoria da qualidade de água (aquecedores e aeradores, por exemplo) e adequações físicas do ambiente para proporcionar uma condição mais favorável aos peixes.

Além de alterações ambientais, é possível reduzir os efeitos negativos do estresse utilizando substâncias anestésicas durante a manipulação e transporte dos peixes (GONÇALVES et al., 2008; OKAMOTO et al., 2009)Outra forma é através da suplementação alimentar; muitos estudos relatam bons resultados da suplementação com vitaminas C e E sobre a atividade imunológica dos peixes (FUJIMOTO et al., 2001 ;MARTINS et al., 2008).

Existe uma tendência mundial de preocupação com as condições de criação dos peixes, a Europa conta com um amplo acervo legal que impõe restrições a produtos de origem animal que foram obtidos em situações degradantes aos animais em criação, e apesar de no Brasil o mercado consumidor ainda não apresentar esta preocupação da mesma forma que o mercado estrangeiro é importante que os produtores e pesquisadores da área acompanhem as exigências de mercados mais exigentes para que em uma perspectiva futura de mercado a piscicultura brasileira se mantenha competitiva.

REFERÊNCIAS

ALBINATI, A. C. L.; ALBINATI, R. C. B.; OLIVEIRA, E. M. D.; LABORDA, S. S.; VIDAL, L. V. O. Edwardsielose em Tilápias do Nilo (Oreochromisniloticus). Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal. v.7. n.2. p.164-168. 2006.

American Fisheries Society, Bethesda, v. 106, n. 3, p. 201-212, 1977. PICKERING, A. D. (Ed.). Stress and fish. London: Academic Press,1981.

ANDRADE, A., PINTO, SC.; OLIVEIRA, RS., orgs. Animais de Laboratório: criação e experimentação [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2002. 388p.

ANDRADE, L. S.; HAYASHI, C.; SOUZA, S. R. Efeito da cor e da presença de refúgio artificial sobre o desenvolvimento e sobrevivência de alevinos de Oreochromisniloticus (Linnaeus, 1758). Acta Scientiarum: BiologicalSciences. v.26. n.1. p.61-66. 2004.

BARBOSA, G. L.; MORAES, G.; INOUE, L. A. K. A. Respostas metabólicas do matrinxã submetido à banhos anestésicos de eugenol. Acta ScientiarumBiologicalSciences. v.29. n.3. p.255-260. 2007.

BARTON, B. A. Stress in finfish: Past, present and future – A historical perspective. In: IWANA, G. K.; PICKERING, A. D.; SUMPTER, J. P.; SCHRECK, C. B. (Eds.). Fish stresse and health in aquaculture (pp. 1-33) (Society for Experimental Biology, Seminar Series, 62) Cambridge: Cambridge University Press, 1997.

BARTON, B. A. Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. Integrative and Comparative Biology, 42, 517-525, 2002.

BRANDÃO, F. R.; GOMES, L. C.; CHAGAS, E. C. Respostas de estresse em pirarucu (Arapaima gigas). Acta Amazonica. v.36. n.3. p.349-356. 2006.

BRANDÃO, F. R.; GOMES, L. C.; CRESCÊNCIO, R.; CARVALHO, E. S. Uso de sal durante o transporte de juvenis (1kg) de pirarucu (Arapaima gigas). Acta Amazonica. v.38. n.4. p.767-772. 2008.

BROOM, D. M. Coping with challenge: welfare in animals including humans. Berlin: Dahlem University Press, 2001.

CAVERO, B. A. S.; PEREIRA-FILHO, M.; BORDINHON, A. M.; FONSECA, F. A. L.; ITUASSÚ, D. R.; ROUBACH, R.; ONO, E. A. Pesquisa Agropecuária Brasileira. v.39. n.5. p.513-516. 2004.

CHAGAS, E. C.; ARAÚJO, L. D.; SILVA, A. L. F.; GOMES, L. C.; BRANDÃO, F. R. Respostas fisiológicas de tambaqui a banhos terapêuticos com mebendazol. Pesquisa Agropecuária Brasileira. v.41. n.4. p.713-716. 2006.

CHANDROO, K.P.; DUNCAN, I.J.H.; MOCCIA, R.D. Can fish suffer? perspectives on sentience, pain, fear and stress. Applied Animal Behaviour Science. v. 86, p. 225-250, 2004.

CUESTAS, A.; MESEGUER, J.; ESTEBAN, M. A. Immuneandosmorregulatory system interaction. In: BALDISSEROTO, B.; MANCERA, J. M.; KAPOOR, B. G. (Org.). Fish Osmorregulation. Science Publishers. 2007.

DANTZER, R. Behavioral physiological and functional aspects of stereotyped behavior: A review and a re-interpretation. Journal Animal Scienci v.62, p.1776-1786, 1986.

DONALDSON E. The pituitary-interrenalaxis as an indicador of stress in fish. In: PICKERING, A. D. (Ed.) Stress andfish. London: Academic Press, 1981. p.11-47.

DUKES, H. H. Fisiologia dos animaisdomésticos. 11 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.

EARLEY, R. L.; HSU, Y. Reciprocity between endocrine state and contest behavior in the killifish, Kryptolebiasmarmoratus.Hormones and Behavior, v. 53, p. 442–451, 2008.

FARIAS, F. R. Sobre o conceito de estresse. Arquivo Brasileiro de Psiquiatria. v.38. n.4. p.97-105. 1985.

FEIDEN, A.; HAYASHI, C.; BOSCOLO, W. R.; REIDEL, A. Desenvolvimento de larvas de Steindachneridion sp. em diferentes condições de refúgio e luminosidade. Pesquisa Agropecuária Brasileira. v.41. n.1. p.133-137. 2006.

Fisheries Society of the British Isles. (2002). Fish welfare (Briefing Paper 2).Fisheries Society ofthe British Isles.Granta Information Systems: 60 Cambridge, UK. http://www.le.ac.uk/biology/fsbi/briefing.html

FUJIMOTO, R. Y.; CARNEIRO, D. J.Adição de ascorbilpolifosfato, como fonte de vitamina C, em dietas para alevinos de pintado, *Pseudoplatystomacorruscans* (Agassiz, 1829). Acta Scientarium: Animal Science. v.23. n.4. 2001.

GALHARDO, L.; OLIVEIRA, R. Bem – estar animal: Um conceito legítimo para peixes? Rev. Etol., v. 8, p. 51-61, 2006.

GARCIA, F.; MORAES, F. R. Hematologia e sinais clínicos de *Piaractusmesopotamicus* infectados experimentalmente com *Aeromonashydrophila*. Acta Scientarum: Animal Science. v.31. n.1. p.17-21.2009.

GOMES, L. C.; ARAUJO-LIMA, C. A. R. M.; ROUBACH, R.; URBINATI, E. C. Avaliação dos efeitos da adição de sal e da densidade no transporte de tambaqui. PesquisaAgropecuáriaBrasileira. v.38. n.2. p.283-290. 2003.

GONÇALVES, A. F. N.; SANTOS, E. C. C.; FERNANDES, J. B. K.; TAKAHASHI, L. S. Mentol e eugenol como substitutos da benzocaína na indução anestésica de juvenis de pacu. Acta Scientarum: Animal Sciences. v.30. n.3. p.339-344. 2008.

INOUE, L. A. K. A.; MORAES, G.; IWAMA, G. K.; AFONSO, L. O. B. Physiological stress responses in the warm-water fish matrinxã (*Bryconamazonicus*) subjected to a sudden cold shock. Acta Amazonica. v.38. n.3. p.603-610. 2008.

LONGHI, E.; PRETTO-GORDANO, L. G.; MÜLLER, E. E. Avaliação da eficácia de vacina autóctone de *Streptococcusagalactiae* inativado aplicada por banho de imersão em tilápia do Nilo (*Oreochromisniloticus*). Semina: Ciências Agrárias. v.33. suplemento 2. p.3191-3200. 2012.

MARIANO, W. S.; OBA, E. T.; SANTOS, L. R. B.; FERNANDES, M. N. Respostas fisiológicas de jeju (*Hoplerytrinusuniataeniatus*) expostos ao ar atmosférico. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal. v.10. n.1. p.210-223. 2009.

MARTINEZ-ROCHA, M.; MARTINEZ-CORDOVA, L. R.; RAMOS-RODRIGUEZ, R. Cortisol and Glucose: Reliableindicatorsoffish stress?. Pan-AmericanJournal os AquaticSciences. v.4. n.2. p.158-178. 2009.

MARTINS, M. L.; MIYAZAKI, D. M. Y.; MORAES, F. R.; GHIRALDELLI, L.; ADAMANTE, W. B.; MOURIÑO, J. L. P. Ração suplementada com vitaminas C e E influencia a resposta inflamatória aguda em tilápia do Nilo. Ciência Rural. v.38. n.1. p.213-218. 2008.

Mazeaud, MM; Mazeaud, F .; DONALDSON, EM primária e efeitos secundários de stress em peixes: alguns novos dados com uma revisão geral. Transactions of the American Fisheries Society , Binghamton, v 106, p.. 201-212, 1977.

MELO, D. C.; OLIVEIRA, D. A. A.; MELO, M. M.; JÚNIOR, D. V.; TEXEIRA, E. A.; GUIMARÃES, S. R. Perfil proteico de tilápia nilótica chitralada (*Oreochromisniloticus*), submetida ao estresse crônico por hipóxia. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. v.61. n.5. p.1183-1190. 2009.

MENDL, M.; BURMAN, O.; LAUGHLIN, K. e PAUL, E. Animal memory and animal welfare. Animal welfare, v.10, p141-S159, 2001.

MENDONÇA, F. Z.; GONÇALVES-DE-FREITAS, E. Nest deprivation and mating success in Nile tilapia (Teleostei, Cichlidae). Revista Brasileira Zoologia, v. 25, p. 413-418, 2008.

MERIGHE, G. K. F.; PEREIRA-DA-SILVA, E. M.; NEGRÃO, J. A. RIBEIRO, S. Efeito da cor do ambiente sobre o estresse social em tilápias do Nilo (*Oreochromisniloticus*). Revista Brasileira de Zootecnia. v.33. n.4. p.828-837. 2004.

METZ, J. R. Stress physiology in fish: Central regulation and organismal adaptations. UB Nijmegen. 187p. 2006.

MOMMSEN, T. P.;VIJAYAN M. M.; MOON, T. W. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanismsofaction, andmetabolicregulation. Reviews in FishBiologyandFisheries, v. 9, p. 211-268, 1999.

MOREIRA, P.S.A.; VOLPATO, G.L. Conditioning of stress in Nile tilapia.JournalofFishBiology, v.64, p.961-969, 2004.

NANDI, J. The structure of the interrenal gland in teleost fishes. University of California Publications in Zoology, Los Angeles, v. 65, p. 129-211,1962.

OBA, E. T.; MARIANO, W. S.; SANTOS, L. R. B. Estresse em peixes cultivados: atenuantes e agravantes para manejo rentável. In: TAVARES-DIAS, M. (Org.). Manejo e Sanidade de Peixes em Cultivo. Embrapa Amapá. Macapá. 2009.

OKAMOTO, M. H.; TESSER, M. B.; LOUZADA, L. R.; SANTOS, R. A.; SAMPAIO, L. A. Benzocaína e eugenol como anestésicos para juvenis do pampo*Trachinotusmarginatus*. Ciência Rural. v.39. n.3. p.866-870. 2009.

OLIVEIRA-JUNIOR, A. A; TAVARES-DIAS, M.; MARCON, J. L. Biochemical and hematological reference ranges for Amazon freshwater turtle, Podocnemisexpansa (Reptilia: Pelomedusidae), with morphologic assessment of blood cells. Research in Veterinary Science, London, v. 86, p. 146-151, 2008.

PEDREIRA, M. M.; LUZ, R. K.; SANTOS, J. C. E.; MATTIOLI, C.C.; SILVA, C. L. Larvicultura de matrinxã em tanques de diferentes cores. Pesquisa Agropecuária Brasileira. v.43. n.10. p.1365-1369. 2008.

PERRY, S. F.; LAURENT, P. Environmental effectsonfishgillstructureandfunction. In: RANKIN, J. C.; JENSEN, F. B. Fish Ecophysiology. London: Chapman & Hall, 1993. p. 231-264.

RANZANI-PAIVA, M. J. T. Hematologia de peixes, In: SANTOS, H. S. L. Histologia de peixes, São Paulo: FCAVJ-UNESP, 1991, p. 65-70.

RIJNBERK, A.; MOL, J. A. Adrenocortical function. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. Clinical biochemistry of domestic animal. 5.ed. San Diego: Academic Press, 1997. p. 533-568.

SALVADOR, R.; MÜLLER, E. E.; LEONHARDT, J. H.; PRETTO-GIORDANO, L. G.; DIAS, J. C.; MORENO, A. M. Isolamento de *Streptococcus*spp de tilápias-do-Nilo (*Oreochromisniloticus*) e qualidade de água de tanques rede na Região Norte do Estado do Paraná, Brasil. Semina: Ciências Agrárias. Londrina. v.24. n.1. p.35-42. 2003.

SCHRECK, C. B.; JOHNSSON, L.; FEIST, G.; RENO, P. Conditioning improves performance of juvenile Chinook salmon, Oncorhynchustshawytscha, to transportation stress. Aquaculture, v.135, p.99-110, 1995.

SILVA, R. D.; ROCHA, L. O.; FORTES, B. D. A.; VIEIRA, D.; FIORAVANTI, M. C. S. Parâmetros hematológicos e bioquímicos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromisniloticus*) sob estresse por exposição ao ar. Pesquisa Veterinária Brasileira. n.32. Supl.1. p.99-107. 2012.

TAKAHASHI, L. S.; ABREU, J. S.; BILLER, J. D.; URBINATTI, E. C.Efeito do ambiente pós-transporte na recuperação dos indicadores de estresse de pacus juvenis, *Piaractusmesopotamicus.* Acta Scientiarum: Animal Science. v.28. n.4. p.469-475. 2006.

VOLPATO, G.L.; GONÇALVES-DE-FREITAS, E.; CASTILHO, M.F. Insight into the concept of fish welfare.Diseases of Aquatic Organisms, v.75, p.165-171, 2007.

WEINER, H. Perturbing the organism:The biology of stressful experience. Chicago: Universityof Chicago Press, 1992.

WENDERLAAR BONGA, S. E. The stress response in fish. PhysiologicalReviews, Washington, v. 77, n. 4, p. 591-625, 1997.

WINKALER, E. U.; SILVA, A. G.; GALINDO, H. C.; MARTINEZ, C. B. R. Biomarcadores histológicos e fisiológicos para o monitoramento da saúde de peixes de ribeirões de Londrina, Estado do Paraná. Acta Scientarum: Animal Science. v.23. n.2. p.507-514. 2001.

Capítulo 30- Aspectos nutricionais relacionados à utilização da proteína para peixes

Gonçalves Junior, L.P.[3]; Selvatici, P.D.[2]; Souza, J.G.S.[3]; Faria, B.P.[2]; Mendonça, P.P.[1]

INTRODUÇÃO

Dentre os vários seguimentos da aquicultura, destaca-se a piscicultura como a principal atividade aquicola no cenário brasileiro. A piscicultura nacional esta sendo praticada principalmente em água doce, porém em menor escala, direcionada para algumas espécies marinhas (MPA, 2010).

O destaque para essa área pode ser atribuído a uma série de incentivos governamentais somado ao grande potencial brasileiro para a produção de organismos aquáticos, como o clima, capacidade hídrica (diversas áreas alagadas e reservatórios naturais de água doce), espécies com ótimo desempenho produtivo em vários sistemas de produção e hábito alimentar geralmente onívoro, além da ótima aceitação no mercado. Também deve-se destacar o fato do país ser um dos maiores produtores grãos do mundo, disponibilizando matéria prima de qualidade para a preparação de ingredientes variados que podem ser utilizados na ração.

Assim, para explorar o máximo desempenho das espécies, é necessário o conhecimento das suas necessidades nutricionais. Os lipídios, minerais, carboidratos, proteínas e vitaminas são necessários em proporções adequadas para suprir as necessidades fisiológicas dos animais (FERNANDES JUNIOR et al., 2010). O cultivo de qualquer organismo aquático em sistema intensivo requer uma dieta nutricionalmente completa, pois nessa situação a disponibilidade de alimento natural é limitada, sendo as necessidades nutricionais atendidas exclusivamente pelas dietas balanceadas.

A diferença das rações para peixes, em relação àquelas produzidas para os animais domésticos tradicionais, está no seu elevado nível de proteína. Diferente dos mamíferos e das aves, os peixes apresentam limitada capacidade de utilizar carboidratos como fonte de energia, resultando na maior utilização de proteína como fonte de energia, o que explica a os elevados níveis de recomendação quando comparado com os outros animais produzidos (TEIXEIRA et al., 2006).

Entre os nutrientes que compõe as dietas dos peixes as proteínas correspondem às maiores proporções do custo da ração e participam de todos os processos metabólicos vitais. Os gastos relacionados com a alimentação, normalmente correspondem a mais de 50 % do custo de produção na piscicultura, isso porque ainda não temos uma ração especifica para cada etapa de vida, assim como uma estratégia eficiente de manejo alimentar para a maioria das espécies de peixes produzidas (RIBEIRO et al., 2007).

[1]Zootecnista, Professor Doutor do Instituto Federal do Espírito Santo – Campus Alegre. Email: ppierrom@gmail.com
[2]Mestrando no Programa de Pós graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Espírito Santo. Alto Universitário, s/nº - Cx Postal 16, Guararema - 29500-000 Alegre-ES.
[3]Mestrando no Programa de Pós graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual Norte Fluminense – Darcy Ribeiro.

2. Fontes de proteína

Dentre as fontes proteicas, a farinha de peixe é o ingrediente mais utilizado em dietas para organismos aquáticos devido ao perfil de aminoácidos essenciais e não essenciais e as funções específicas de cada um (TEIXEIRA et al., 2006). Ainda, além da alta concentração de proteína bruta, ela ainda é uma excelente fonte ácidos graxos essenciais, de energia digestível, minerais e vitaminas. Entretanto, a farinha de peixe representa a fonte de proteína mais cara das dietas (FURUYA et al., 2001).

No Brasil, a farinha de peixe é uma matéria-prima escassa, devido à reduzida disponibilidade de peixes nos mares, por isso, ela acaba sendo elaborada a partir de resíduos da indústria de processamento pesqueiro (TEIXEIRA et al., 2006). Assim, dependendo da matéria prima utilizada, a farinha de peixe pode apresentar alta variação em sua composição, em termos de proteína, gordura, cinzas e aminoácidos. Essas variações irão afetar a digestibilidade e disponibilidade desses nutrientes, resultando em prejuízo no desempenho dos peixes (BOSCOLO et al., 2001).

A produção limitada de farinha de peixe de boa qualidade conjunto com o seu elevado preço levou a busca de fontes alternativa de proteína. Resultados satisfatórios foram obtidos com a redução parcial ou total da farinha de peixe na dieta de peixes cultivados, sendo as fontes de proteína animal mais estudadas, a farinha de vísceras de frango (SIGNOR et al., 2007), a farinha de carne/ossos (PEZZATO et al., 2002), e a farinha de sangue (BARROS et al., 2004).

Entre as fontes de proteína de origem vegetal com grande potência para substituição da farinha de peixe podemos destacar a soja. O farelo de soja é um ingrediente com elevado valor proteico e boa disponibilidade dos nutrientes, o mesmo é um dos principais alimentos utilizados como fonte proteica de origem vegetal na formulação de ração para peixes, substituindo a farinha de peixe (SILVA et al., 2005). Porém o farelo de soja possui alguns fatores anti-nutricionais que devem ser eliminados durante o processamento.

Outras possíveis fontes de proteína vegetal também foram testadas em dietas para peixes. A canola é uma cultura alternativa de inverno que se adéqua bem às nossas condições climáticas, e foi desenvolvida a partir do melhoramento da colza (*Brassica campestris* e *Brassica napus*). A canola apresenta potencial de inclusão quando os demais ingredientes utilizados na formulação da rações apresentarem o custo elevado e o consequente redução no desempenho não seja suficiente para acarretar prejuízo. De maneira geral Viegas et al. (2008), demonstrou que o farelo de canola pode ser utilizado como fonte proteica alternativa, em dietas para animais, além disso, melhora sua palatabilidade. Contudo, a resposta do peixe à inclusão de farelo de canola na dieta tem sido positiva, com algumas restrições quanto aos níveis de inclusão.

Nessa mesma linha de pesquisa, Pianesso et al., (2013) verificaram que o farelo de linhaça quando incorporado em dietas para juvenis de piava (*Leporinus obtusidens*) proporcionou aos peixes o mesmo desempenho do que quando utilizado o farelo de soja. Sendo que o peso, comprimento total, comprimento padrão, ganho em peso relativo, fator de condição e taxa de crescimento específico das piavas não foram influenciados pelos níveis de substituição da soja variando de 0 a 100%.

3. Digestibilidade

A determinação dos coeficientes de digestibilidade tem sido utilizada como uma importante ferramenta no processo de formulação de dietas e inclusão de novas fontes proteicas na nutrição de organismos aquáticos. Segundo (PEZZATO et al., 2002), somente com rações de altos coeficientes de digestibilidade, será possível melhores respostas de conversão alimentar, maximizar os lucros e, principalmente, minimizar o impacto ambiental.

Segundo Lenna & Bonfim (2004) os principais fatores que influenciam os coeficientes de digestibilidade são a metodologia utilizada para a coleta de fezes, a espécie do peixe, a idade do peixe, a composição do alimento, a salinidade, a temperatura da água e o tipo de processamento da dieta. Entre outros benefícios, o processamento da dieta tem a finalidade de facilitar a captura da ração pelo animal, aumento da disponibilidade dos nutrientes, redução de fatores antinutricionais e redução da lixiviação dos nutrientes (RODRIGUES e FERNADES, 2006).

A digestibilidade varia em função da quantidade dos nutrientes digestíveis nos ingredientes. Conforme Gonçalves & Carneiro (2003) em um estudo com o pintado (*Pseudoplatystoma coruscans)*, espécie de habito alimentar onívoro com tendência a carnívoro, o melhor coeficiente de digestibilidade foi obtido para a farinha de peixe (84,14%) seguido pelo farelo de soja (67,10%), milho (64,18%) e farinhas de vísceras de aves (61,25%). Os valores mais baixos 10,47 e 39,56% foram observados para os coeficientes das farinhas de sangue e de penas respectivamente.

As diferenças nos coeficientes de digestibilidade podem estar relacionadas com a capacidade digestiva da espécie. Os diferentes hábitos alimentares dos peixes determinam acentuadas diferenças anatômicas e fisiológicas no aparelho digestivo (LANNA & BONFIM, 2004). Segundo esses autores, as espécies onívoras e herbívoras apresentam maior capacidade de absorção de proteínas de origem vegetal em relação aos peixes carnívoros. Isso se deve ao longo comprimento do intestino, resultando no maior tempo de passagem do alimento pelo tubo digestivo, o que aumenta a eficiência dos processos de digestão e absorção.

Como os peixes são animais de sangue frio (pecilotérmicos), a variação da temperatura afeta seu metabolismo como um todo. Carneiro et al., (1994) determinaram a influência da temperatura e a digestibilidade da proteína no tempo de trânsito do alimento pelo trato gastrointestinal do pacu (*Piaractus mesopotamicus*), utilizando dietas contendo 20 ou 30% de proteína e 3600 ou 4000 kcal/kg de energia bruta. A composição da dieta não influenciou significativamente o tempo de trânsito. Entretanto, a temperatura influenciou significativamente o tempo de trânsito, que a 24°C foi de trinta e quatro horas e trinta e três minutos; a 28°C caiu drasticamente para onze horas e quarenta e dois minutos; e a 32°C reduziu para treze horas e trinta e nove minutos. Resultados que mostram que o aumento da temperatura diminui o tempo de permanência do alimento no trato gastrointestinal dos peixes

4. Proteína bruta

Conforme o apresentado no NRC (2011) o conceito de proteína ideal pode ser definido como o melhor balanço possível de aminoácidos essenciais e não essenciais necessário para promover o máximo crescimento e a maior eficiência na utilização do nitrogênio dietético.

Somente a ingestão regular de proteína supre o organismo dos aminoácidos exigidos continuamente tanto para forma novas proteínas, crescimento e reprodução, como para repor proteínas degradada no corpo do peixe, manutenção de tecidos e órgão (ROLLIN et al., 2003). O consumo de proteína em quantidade menor que o requerido pode resultar na redução do crescimento e síntese proteica, devido à degradação de proteína dos tecidos com o objetivo de manter as funções vitais (BOMFIM et al., 2008).

Por outro lado, dietas com elevados níveis de proteína bruta também não é a melhor estratégia, pois o excesso é parcialmente utilizado para síntese de proteínas e o restante é convertido em energia ou excretado (GONÇALVES et al., 2009). Segundo Brandão et al., (2009) a formulação de rações com excesso de proteína, resulta em elevada quantidade de aminoácidos não essenciais, o que aumenta a excreção de nitrogênio. Outras estratégias podem ser adotadas para balancear o perfil de aminoácidos das dietas, como a combinação de

ingredientes que se complementam ou a suplementação com aminoácidos sintéticos (GAYLORD e BARROWS, 2009).

A necessidade de proteína pode ser influenciada por vários fatores, incluindo a fonte proteica, relação proteína:energia da dieta, tamanho e idade do peixe e temperatura ambiente e a qualidade da proteína. Ribeiro et al., (2007) em um estudo com o objetivo de avaliar o desempenho de juvenis de acará-bandeira alimentados durante 84 dias com dietas extrusadas isoenergéticas (3.338,84 kcal.kg-1) contendo diferentes níveis de proteína bruta (26%, 28%, 30% e 32%) tiveram as seguintes respostas. Os valores intermediários de proteína bruta, 28% e 30%, não apresentaram diferença entre si, e os melhores resultados foram observados com 32% de proteína bruta na dieta. Essa redução do desempenho em função do decréscimo do nível proteico foi atribuída pelos autores ao efeito palatabilizante da farinha de peixe, que, no entanto, é encontrada em menor concentração na dieta de menor nível proteico.

Tabela 1. Recomendação de proteína bruta (%) para varias espécies.

	Peso corporal	
Espécies	20 g	600-1500 g
Salmon do atlântico (*Salmo sal ar*)	8	38
Catfish (*Itacurus punctatus*)	4	32
Carpa (*Cyprinis carpio*)	5	28
Tilápia (*Oreochromis niloticus*)	0	28
Salmom do pacifico (*Oncorhynchus spp*.)	5	32
Truta (*Oncorhynchus mikiss*)	8	32

(NRC, 2011)

O requerimento de proteína bruta varia conforme as particularidades alimentares de cada espécie (Tabela 1). No caso da curimba peixe de hábito alimentar onívoro com tendência a iliófago, ou seja, no ambiente natural se alimentam de algas, terra e matéria orgânica em decomposição (BERNARDES e PÚBLIO, 2012). Essa espécie apresenta trato digestivo longo, devido o baixo valor biológico do alimento ingerido.

Ituassú et al., (2005) estudaram diferentes níveis de proteína bruta (32,7%, 39,3%, 43,4% e 48,6% de proteína bruta) para alevinos de pirarucu (*Arapaima gigas*), uma espécie de habito alimentar carnívora com tendência a ictiófago. Os resultados indicaram que as dietas com 48,6% de proteína resultaram em melhor ganho de peso e crescimento específico. Os resultados relativos ao conteúdo corporal de lipídio mostraram que ocorreram perdas desse nutriente durante os 45 dias de experimento. Essa ultima resposta foi atribuída pelos autores ao fato da energia digestível das dietas não terem sido adequadas à espécie, o que provavelmente foi compensado pela mobilização de gordura corporal.

Nesse sentido, a energia digestível também deve ser levada em consideração na determinação da necessidade de proteína bruta em dietas para peixes. As informações sobre as relações de energia digestível e proteína bruta são de extrema importância na formulação de

dietas para peixes, pois o desempenho, a composição corporal e a exigência de proteína bruta podem ser afetados pelo nível de energia na ração. (COTAN et al., 2006).

Cotan et al., (2006) com o objetivo de determinar os níveis de energia digestível em função do nível de proteína bruta para o lambari tambiú (*Astyanax bimaculatus*) alimentaram os animais com dietas contendo cinco níveis de energia digestível (2.900, 3.000, 3.100, 3.200 e 3.300 kcal/kg) combinados com dois níveis de proteína bruta (32,0 e 38,0%). Os seguintes resultados foram encontrados, os níveis crescentes de energia digestível nas rações com 32% proteína bruta, os peixes apresentaram menor taxa de crescimento específico, mais baixa taxa de eficiência proteica e maior conversão alimentarem, enquanto com as rações com 38% de proteína bruta apresentaram maior rendimento de carcaça. Entretanto, a exigência de energia digestível para o lambari tambiú foi estimada em 2.900 kcal/kg para rações com 32 e 38% de proteína bruta.

A relação entre energia digestível e proteína bruta também influenciou a composição centesimal de alevinos de curimbatá (*Prochilodus affins*) (BOMFIM et al., 2005). Com o nível de 3.000 kcal de ED/kg, obtiveram-se peixes com maiores níveis de matéria seca, gordura corporal e porcentagem de gordura no ganho de peso. A exigência de proteína bruta PB e energia digestível ED para alevinos de curimbatá foi estimada em 26,05% e 2.700 kcal/kg, respectivamente.

5. Aminoácidos

As rações formuladas para atender as exigências dietéticas em proteína bruta para espécies utilizadas na piscicultura, normalmente, contêm elevados níveis de aminoácidos não limitantes (dispensáveis e indispensáveis), resultando em elevada excreção de nitrogênio no meio. O desbalanceamento excessivo dos aminoácidos em relação às exigências reais acaba acarretando na oxidação da cadeia de carbono, desviando do objetivo maior dos aminoácidos, que seria a formação de tecido magro e o segundo aspecto do desbalanceamento excessivo está relacionado à elevação da excreção nitrogenada (ARARIPE et al., 2011).

Definir as relações entre aminoácidos, pode ser uma opção para padronizar e acelerar o conhecimento sobre as exigências aminoacídicas para organismos aquáticos, uma vez que as exigências individuais podem variar, mas as relações permanecem constantes nas várias fases de desenvolvimento dos animais (FURUYA et al., 2005). Nesse aspecto, mesmo seguindo as proporções entre os aminoácidos, devemos levar em consideração a quantidade mínima de proteína bruta para atender as necessidades fisiológicas.

Normalmente, com os tradicionais ingredientes utilizados na alimentação de peixes a lisina é o primeiro aminoácido limitante (Schuhmacher et al., 1997). É também, o aminoácido mais estudado, devido facilidade de sua quantificação, e principalmente, ele é utilizado quase que exclusivamente para a síntese de tecido. Assim, uma vez determinado a necessidade de lisina, baseado nas proporções com os demais aminoácidos, é possível estimar o requerimento dos demais aminoácidos (Furuya et al., 2006).

Takishita et al (2009) verificaram que a exigência de lisina digestível e total em rações para alevinos de tilápia do nilo é, respectivamente, de 2,17% (0,723%/Mcal de energia digestível) e de 2,32% (0,773%/Mcal de energia digestível) para atender às principais características de desempenho e de carcaça utilizando-se o conceito de proteína ideal na formulação das rações.

A lisina é o primeiro limitante e o mais estudado. A suplementação de lisina em dietas para peixes está relacionada com o aumento no ganho de peso, melhoria na conversão alimentar, aumento na retenção de nitrogênio e redução no conteúdo corporal de lipídios (FURUYA et al., 2006).

O aumento da exigência de lisina em dietas para tilápias descrito no NRC (2011), em relação ao valor recomendado anteriormente pelo NRC (1993), está relacionado com os avanços genéticos, e também com os avanços metodológicos experimentais, com a realização de experimentos com peixes de maior porte e em condições comerciais, considerando além do ganho de peso e conversão alimentar, o rendimento de filés e a resposta econômica.

A metionina é um aminoácido essencial, sendo indispensável para o crescimento do animal, requerida na síntese proteica e em outros processos metabólicos (Ruchimat et al., 1997). A metionina juntamente com a lisina, formam um precursor da carnitina, que é importante no carregamento intracelular de ácidos graxos no interior da célula (Walton et al., 1984). O requerimento de metionina na dieta tem sido estimado para diversas espécies de peixes, os valores estimados estão entre 1,8 a 4,0% da dieta proteica (Wilson, 2002). Bonfim et al, (2008) o efeito dos níveis de metionina + cistina digestível, com base no conceito de proteína ideal, em dietas contendo níveis subótimos de lisina digestível (1,40%), para alevinos revertidos de tilápia (*Oreochromis niloticus*), da linhagem tailandesa, com peso inicial de 0,86 ± 0,02 g. O aumento da relação metionina + cistina:lisina da dieta não influenciou as variáveis avaliadas, com exceção dos teores de gordura e umidade corporais, cujos efeitos foram quadráticos e aumentaram e diminuíram, respectivamente, até a relação estimada de 67,0 e 66,7%.

Furuya et al., (2004) chegaram na seguintes conclusão, para juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) os melhores resultados de desempenho foram obtidos com a utilização de 1,00% de metionina + cistina, correspondente a 3,54% da proteína bruta, contendo 0,54% de metionina na ração. Eles ressaltam ainda que a adequada suplementação de metionina em rações contendo o farelo de soja como principal fonte proteica resulta em aumento no crescimento, eficiência na utilização da proteína e rendimento de carcaça de alevinos de tilápia do Nilo.

A treonina, juntamente com a metionina e lisina, são aminoácidos essenciais para o crescimento dos peixes, particularmente no desenvolvimento das fibras musculares, principalmente durante o período de crescimento hipertrófico (Righetti et al., 2011). Estudos tem demonstrado influência do nível de treonina dietético no ganho de peso (Benakappa e Varghese, 2002; Silva et al., 2006), na taxa de eficiência proteica (Bomfim et al., 2008), síntese de imunoglobulinas no sistema imune (Zehra e Khan, 2014). A treonina participa ainda da síntese e secreção de enzimas digestivas no intestino e pâncreas, tais como tripsina, lipase e amilase (Feng et al., 2013).

A suplementação isolada de lisina pode resultar em antagonismo com a arginina, pela alteração da relação entre os mesmos. O efeito negativo do antagonismo da lisina sobre a utilização da arginina é amplamente conhecido, dada a importância da arginina na excreção de nitrogênio, especialmente em dietas com excesso de aminoácidos (SNETSINGER and SCOTT, 1961).

ARARIPE et al., (2011) com o objetivo de definir a menor relação treonina: lisina, que não interfira negativamente no desempenho de alevinos de tambatinga verificaram que relação 48,97% treonina: lisina digestível, que corresponde aos teores de 1,11 e 1,00% de treonina total e digestível, respectivamente, pode ser utilizada na formulação de rações para alevinos de tambatinga, sem prejuízo para o desempenho produtivo.

Furuya et al., (2004) chegaram a conclusão que, para juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) os melhores resultados de desempenho foram obtidos com a utilização de 1,00% de metionina + cistina, correspondente a 3,54% da proteína bruta, contendo 0,54% de metionina na ração. Eles ressaltam ainda que a adequada suplementação de metionina em rações contendo o farelo de soja como principal fonte proteica resulta em aumento no crescimento, eficiência na utilização da proteína e rendimento de carcaça de alevinos de tilápia do Nilo.

Segundo o NRC (1993), a exigência em arginina para peixes varia entre 1,0 a 2,8% da dieta (3,3 a 6,0% da proteína dietética). A exigência por arginina varia entre espécies. Em alguns casos, a arginina dietética é necessária para algumas fases da vida animal. A arginina, ao contrário da lisina, é envolvida em muitas vias metabólicas, tais como síntese de proteínas, produção de uréia e metabolismo de ácido glutâmico (NIKOLIC et al., 2007; REBECA, 2008).

A suplementação de arginina em dietas para peixes pode ser feita pela arginina sintética, porém esta arginina é facilmente lixiviada em contato com a água, e a velocidade de lixiviação é muito rápida - 5 horas para perda total de arginina em uma dieta teste na água - e, além disso, com a lixiviação ocorre um aumento significativo do pH da água. Para evitar a elevada perda deste aminoácido, técnicas como o revestimento da arginina com óleo, carboximetilcelulose ou outras substâncias são atualmente empregadas com sucesso ALAM et al., 2002).

Por outro lado, há evidências, de que o uso excessivo de aminoácidos sintéticos nas rações de baixo teor proteico pode não garante a mesma eficiência de utilização dos aminoácidos oriundos de proteína intacta (Dabrowski & Guderley, 2002).

Gaylord e Barrows, (2009) estudaram dois níveis proteicos e a suplementação de aminoácidos em dietas para truta arco-íres (*Oncorhynchus mykiss).* Esses autores avaliaram cinco tratamentos (T), em que T1= 45% proteína bruta; T2=45% proteína bruta mais Lys, Met e Gly; T3= 35% proteína bruta; T4= 35% proteína bruta mais Lys, Met, Thr e Gly; T5= 35% proteína bruta mais Lys, Met e Thr. Não foi encontrado diferença no ganho de peso entre os tratamentos com 45 e 35% PB; O maior valor para ganho de peso 247,7 g foi observado para o tratamento 5. Entretanto, esse não difere do resultado encontrado para o tratamento 2 e o tratamento 4. Os piores resultados para conversão alimentar foi obtido para o tratamento 3. Segundo esses autores a utilização de aminoácido sintético não resulta na mesma eficiência da utilização da proteína intacta.

6. Nutrição das formas jovens

Um dos pontos críticos da produção intensiva das espécies tem sido a larvicultura, principalmente, no que se refere à nutrição desses animais. O manejo alimentar inadequado na primeira alimentação, normalmente, resulta na redução do crescimento e redução na taxa de sobrevivência (LOMBARDI e GOMES, 2008), sendo de grande a importância à utilização de fontes de proteínas de alta digestibilidade.

Segundo Menossi et al., (2012) à limitada capacidade digestiva das pós-larvas pode ser atribuído ao pequeno tamanho da boca, a baixa capacidade natatória, densidade inadequada de presas, qualidade do alimento, ausência de algumas enzimas digestivas e o estado de desenvolvimento do trato digestivo.

Em ambiente natural, a maioria das pós-larvas de peixes são planctófagas e quando adultas podem ser herbívoro, carnívoro ou onívoro. A maioria das espécies de peixes, apesar de aceitarem a utilização de ração em sua alimentação, os melhores resultados no cultivo são obtidos quando se utiliza alimento vivo durante a fase inicial de sua vida (LUNA-FIGUEROA et al., 2010). O alimento vivo contém algumas enzimas (proteases, amilases, lípases) que podem ser aproveitadas pelas larvas e também estimulam a síntese de enzimas endógenas, o que facilitaria os processos de digestão até seu sistema digestivo torna-se totalmente desenvolvido, diferenciado e funcional (MENOSSI et al., (2012) .

O náuplio de *Artêmia sp*., é o principal alimento vivo fornecido durante a larvicultura, por suprir boa parte das necessidades nutricionais, principalmente a fração proteica. A utilização de artêmia na alimentação foi estudada na larvicultura de algumas espécies ornamentais de alto potencial zootécnico, como o acará bandeira (*Pterophyllum scalare)*

(LANGROUDI et al., 2009; LUNA-FIGUEROA et al., 2010), tricogaster (*Trichogaster trichopterus)* (SALMA et al., 2013).

Luna-Figueroa et al., (2010) avaliaram o alimento vivo como alternativa na dieta de pós-larvas e juvenis de *Pterophyllum scalare,* pois nessa fase, os alimentos utilizados geralmente não possuem o conteúdo proteico para suprir o crescimento e demais atividades fisiológicas. Conforme esses autores, varias fontes de alimento vivo podem ser utilizadas como fonte de proteína na alimentação dos peixes, podendo ser citado os seguintes organismos *Artemia franciscana, Culex stigmatosoma, Moina sp., Panagrellus redivivus.* Entretanto, o alimento vivo deve possuir algumas características que estimule o consumo como palatabilidade, atractabilidade, ser de fácil captura e altamente digestível.

Da mesma forma da alimentação de formas jovens de peixes ornamentais, para as demais espécies também vem sendo obtidos resultados satisfatórios da utilização do alimento vivo como fonte de proteína. Lombardi e Gomes (2008) testando estratégias alimentares para juvenis de tambacu (♀ *Colossoma macropomum X* ♂ *Piaractus mesopotamicus).* Os resultados obtidos na larvicultura dessa espécie demonstra que a oferta de náuplios de artemia é a melhor estratégia alimentar por proporcionar boa sobrevivência, crescimento e bom desempenho produtivo, além de menor custo. Entretanto, a taxa de crescimento varia conforme a fase de desenvolvimento.

Os animais nas diferentes fases iniciais demonstram rápido crescimento em um curto espaço de tempo, permitindo afirmar que os animas jovens possuem um maior requerimento de proteína do que animais adultos, pois nessas fases há grande atividade de síntese proteica destinada a formação de tecidos, órgãos e estruturas. Posteriormente quanto maior a idade, mais desacelerado é rítimo do crescimento, tendo uma redução também no requerimento de proteína, já que a necessidade de produção de tecidos e outras estruturas é menor.

Dessa forma, os dados citados acima são importantes contribuições para o cultivo de peixes, pois apresentam resultados satisfatórios, porém muitas pesquisas ainda devem ser feitas sobre as necessidades desses animais para outros nutrientes e os efeitos aditivos dos mesmos na fisiologia dos peixes.

REFERENCIAS

ALAM, M.S.; TESHIMA, S.I.; KOSHIO, S.; ISHIKAWA, M. Arginine requirement of juvenile japanese flounder Paralichthys olivaceus estimated by growth and biochemical parameters. Aquaculture, Amsterdam, v.205, p.127-140, 2002.

ARARIPE, M.N.B.A; ARARIPE, A.H.G.; LOPES, J.B.; CASTRO, P. L.; BRAGA, T.E.A.; FERREIRA, A.H.C; ABREU, L.T., Redução da proteína bruta com suplementação de aminoácidos em rações para alevinos de tambatinga, Revista Brasileira Zootecnia, v.40, n.9, p.1845-1850, 2011.

BARROS, M. M.; PEZZATO, L. E.; HISANO, H.; FALCON,D. R.; SÁ, M. V. C. Farinha se sangue tostada em dietas práticas para tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus L.). Acta Scientiarum Aniamla Sciences, v. 26, n. 1, p: 5-13, 2004.

BENAKAPPA, S.; VARGHES, T.J. Dietary threonine requirement of indian major carp, cirrhinus mrigala (Hamilton), juveniles, The Israeli Journal of Aquaculture Bamidgeh, v.54, n.4, p. 183-188, 2002.

BERNARDES, C.L.; PÚBLIO, J.Y., Proteína bruta no desenvolvimento de curimbas (Prochilodus scrofa), Ciências Agrárias, Londrina, v. 33, n. 1, p. 381-390, 2012.

BOMFIM, M.A.D.; LANNA,E. A. T.; SERAFINI,M,A.; RIBEIRO,F.B.; PENA, K.S., Proteína Bruta e Energia Digestível em Dietas para Alevinos de Curimbatá (Prochilodus affins) Rev. Bras. Zootec., v.34, n.6, p.1795-1806, 2005.

BOMFIM, M.A.D.; LANNA, E.A.T.; DONZELE, J.L.; Redução de proteína bruta com suplementação de aminoácidos, com base no conceito de proteína ideal, em rações para alevitos de tilápia-do-nilo. Rev. Bras. Zootec, v.37, n.10, p.1713-1720, 2008.

BOSCOLO, W.R.; HAYASHI, C.; SOARES C.M.; FURUYA, W.M.; MEURER, F. Desempenho e características de carcaça de machos revertidos de tilápias-do-nilo, linhagens Tailandesa e Comum, nas fases inicial e de crescimento. Rev. Bras. Zootec., v.30, p.1391‑1396, 2001.

BRANDÃO, L.V; PEREIRA-FILHO, M.; GUIMARÃES, S. F.; FONSECA, F.A.L., Suplementação de metionina e/ou lisina em rações para juvenis de tambaqui (Colossoma macropomum Cuvier, 1818), Acta Amazo. vol. 39, n. 3, p.675 – 680, 2009.

CARNEIRO, D.J.; RANTIN, R.T.; DIAS, T.C.R. et al. Interaction between temperature and dietary levels of protein and energy in pacu (Piaractus mesopotamicus). 2. Effects on digestibility of protein and transit time through the gastrointestinal tract. Aquaculture, v.124, n.1-4, p.131-140, 1994.

COTAN, J.L.V.; LANNA, E.A.T.; BOMFIM, M.A.D.; DONZELE, J.L.; RIBEIRO, F.B., SERAFINI, M.A., Níveis de energia digestível e proteína bruta em rações para alevinos de lambari tambiú. Rev. Bras. Zootec, v.35, n.3, p.634-640, 2006.

FENG L, PENG Y, WU P, HU K, JIANG W-D. Threonine Affects Intestinal Function, Protein Synthesis and Gene Expression of TOR in Jian Carp (Cyprinus carpio var. Jian). PLoS ONE 8(7): e69974. doi:10.1371/journal, 2013.

FERNANDES JUNIOR, A.C.; PEZZATO, L.E.; GUIMARÃES, I.G.; TEIXEIRA, C.P.; KOCH, J.F.A.; BARROS, M.M. Resposta hemática de tilápias-do-nilo alimentadas com dietas suplementadas com colina e submetidas a estímulo por baixa temperatura. Rev. Bras. Zootec, v.39, p.1619-1625, 2010.

FURUYA, W.M.; GONÇALVES, G.S.; FURUYA, V.R.B. et al. Fitase na alimentação da Tilápia do Nilo Oreochromis niloticus). Desempenho e digestibilidade. Rev. Bras. Zootec., v.30, n.3, p.924-929, 2001.

FURUYA, W. M. SILVA L.C.; NEVES, P.R.; BOTARO, D.; HAYASHI C.; SAKAGUTI, E. S.; FURUYA, V.R.B. Exigência de metionina + cistina para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Ciência Rural*, Santa Maria, 34(6): 1933-1937, 2004.

FURUYA, W.M.; BOTARO, D.; MACEDO, R.M.G; SANTOS, V.D.; SILVA, L.C.R; SILVA, T.C.; FURUYA, V.R.B.; SALES, P.J.P., Aplicação do conceito de proteína ideal para redução dos níveis de proteína em dietas para tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus). Rev. Bras. Zootec, Viçosa, v. 34, n.5, p.1433-1441, 2005.

FURUYA, W. M. et al. Exigência de lisina digestível para juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Revista Brasileira de Zootecnia, v. 34, p. 1933-1937, 2006.

GAYLORD, T. G.; BARROWS, F.T., Multiple amino acid supplementations to reduce dietary protein in plant-based rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, feeds, Aquaculture, n. 287 p. 180–184, 2009.

GONÇALVES, E. G.; CARNEIRO, D.J. Coeficientes de Digestibilidade Aparente da Protena e Energia de Alguns Ingredientes Utilizados em Dietas para o Pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*). R. Bras. Zootec., v.32, n.4, p.779-786, 2003.

GONÇALVES, G.S.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; HISANO, H.; ROSA. M.J.S.; Níveis de proteína digestível e energia digestível em dietas para tilápias-do- nilo formuladas com base no conceito de proteína ideal, R. Bras. Zootec., v.38, n.12, p.2289-2298, 2009.

ITUASSÚ, D.R.; FILHO, M.P.; ROUBACH, R.; CRESCÊNCIO, R.; CAVERO, B.A.S.; GANDRA, A.LG., Níveis de proteína bruta para juvenis de pirarucu, Pesq. agropec. bras., Brasília, v.40, n.3, p.255-259, 2005.

LANGROUDI, H. E.; MOUSAVI, S. H.; FALAHATKAR, S.; MORADKHANI, Z.. Effect of diets containing artemia enriched with unsaturated fatty acids and vitamin C on angel fish Pterophyllum scalare propagation , Int Aquat Res. v.1, p. 67-72, 2009.

LANNA, E. A. T.; BOMFIM, M. A. D.; Fatores que afetam os coeficientes de digestibilidade nos alimentos para peixes, Ver. Elet. Nutri. v.1, n°1, p.20-30, 2004.

LOMBARDI, D. C.; GOMES, L. C., Substituição de alimento vivo por alimento inerte na larvicultura intensiva do tambacu (♀ Colossoma macropomum X ♂ Piaractus mesopotamicus). Acta Sci. Anim. Sci. Maringá, v. 30, n. 4, p. 467-472, 2008.

LUNA-FIGUEROA, J.; VARGAS, Z. T. J.; FIGUEROA, T. J. Alimento vivo como alternativa en la dieta de larvas y juveniles de Pterophyllum scalare (Lichtenstein, 1823). A. en investig. Agrop. v.14 p.47-62, 2010.

MENOSSI, O. C.C.; TAKATA, R, SÁNCHEZ-AMAYA, M. I.; FREITAS, T.M.; YÚFERA, M.; PORTELLA, M.C. Crescimento e estruturas do sistema digestório de larvas de pacu alimentadas com dieta microencapsulada produzida experimentalmente, Rev. Bras. Zootec., v.41, n.1, p.1-10, 2012.

MPA, Boletim estatístico da pesca e aquicultura no Brasil, Ministério da Pesca e Aquicultura, 2010.

NIKOLIC, J.; STOJANOVIC, I.; PAVLOVIC, R.; SOKOLOVIC, D.; BJELAKOVIC, G.; BENINATI, S. The role of L-arginine in toxic liver failure: interrelation of arginase, polyamine catabolic enzymes and nitric oxide synthase Amino Acids, Verlag, v. 32, p. 127-131, 2007.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient Requirements of warmwater fishesand shellfishes. Washington, USA. 1993.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirements of fish and shrimp. Washington, USA. 2011.

PEZZATO, L. E.; MIRANDA, E. C. DE; BARROS, M. M.; PINTO, L. G. Q.; FURUYA, W. M.; PEZZATO, A. C. Digestibilidade Aparente de Ingredientes pela Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Rev. Bras. Zootec., 31(4):1595-1604. 2002.

PIANESSO, D; LAZZARI; R.; MOMBACH, P.I.; ADORIAN, T. J.; UCZAY, J.; NETO, J.R.; EMANUELLI, T., Substituição do farelo de soja pelo farelo de linhaça em dietas para a
piava (Leporinus obtusidens), Ciências Agrárias, , v. 34, n. 1, p. 419-430, 2013.

REBECA, R. Utilização dos aminoácidos L-arginina e L-glutamina e produção de mediadores inflamatórios pelas células Walker 256. 2008. 133 p. Tese (Doutorado em Ciências – Bioquímica) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

RIBEIRO, F.A.S.; RODRIGUES, L.A.;FERNANDES, J.B.K. Desempenho de juvenis de acará-bandeira (Pterophyllum scalare) com diferentes níveis de proteína bruta na dieta. Boletim Instituto de Pesca, n.33 p.195-203, 2007.

RIGHETTI, J.S; FURUYA, W.M; CONEJERO, C.I; GRACIANO, T.S; VIDAL, L.V.O; MICHELLATO,M. Redução da proteína em dietas para tilápias-do-nilo por meio da suplementação de aminoácidos com base no conceito de proteína ideal. R. Bras. Zootec., v.40, n.3, p.469-476, 2011.

RODRIGUES, A.; FERNANDES, J. B. K.; Influência do processamento da dieta no desempenho produtivo do acará bandeira (Pterophyllum scalare), Acta Sci. Anim. Sci. Maringá, v. 28, n. 1, p. 113-119, 2006.

ROLLIN, X.; MAMBRINI, M.; ABBOUDI, T.; The optimum dietary indispensable amino acid pattern for growing Atlantic salmon (Salmo salar L.), Journal of Nutrition, v. 90, p. 865-876, 2003.

RUCHIMAT, T.; MASUMOTO, T.; HOSOKAWA, H.; SHIMENO, S. Quantitative methionine requirement of yellowtail (*Seriola quinqueradiata*). Aquaculture, v. 150, p. 113-122, 1997.

SALMA, D.; DAVOODI, R.; SHAMSAEI, M.; KAMALI. A., Comparative Effect of Fairy Shrimp and Artemia in the Rearing of Blue Gourami, Trichogaster trichopterus, Larvae, Annual Review & Research in Biology, v. 3, n.2, p. 70-75, 2013.

SCHUHMACHER, A.; WAX, C.; GROPP, J.M. Plasma amino acids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed intact protein of a crystalline amino acid diet. Aquaculure, v. 151, p. 15-28, 1997.

SIGNOR, A. A.; BOSCOTO, W. R.; REIDEL, A.; SIGNOR, A.; GROSSO I. R. Farinha de vísceras de aves na alimentação de alevinos de piavuçu (Leporinus macrocephalus). Ciência Rural, v.37, n. 3, p: 828-834, 2007.

SILVA, L.C.R.; FURUYA, W.M.; SANTOS, L.D. et al. Níveis de treonina em rações para tilápias-do-Nilo. Revista Brasileira de Zootecnia, v.35, n.4, p.1258-1264, 2006.

SNETSINGER, D. C.; SCOTT, H. M. Efficacy of glycine and arginine in alleviating the stress induced by dietary excesses of single amino acids. Poultry Science, v. 40, p. 1675-1681, 1961.

TAKISHITA, S.S.; LANNA, E.AT.; DONZELE, J.L.; BOMFIM, M.A.D.; QUADROS, M.; SOUSA, M.P.S., Níveis de lisina digestível em rações para alevinos de tilápia-do-nilo, R. Bras. Zootec., v.38, n.11, p.2099-2105, 2009.

TEIXEIRA, E.A;CREPALDI, D.V.; FARIA, P.M.C.; RIBEIRO, L.P.; MELO, D.C.; EULER, A.C.C.;. SALIBA, E.O.S., Substituição de farinha de peixes em rações para peixes. Rev. Bras. Reprod. Anim., Belo Horizonte, v.30, n.3/4, p.118-125, 2006.

VIEGAS, E.M.M., CARNEIRO D.J., et al. 2008. Canola meal in the diets of pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg 1887): effects on growth and body composition. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.60, n.6, p.1502-1510.

WALTON, M.J.; COWEY, C.B.; ADRON, J.W. The effect of dietary lysine levels on growth and metabolism of rainbow trout (Salmo gairdneri). Br. J. Nutr., 52: 115-122, 1984

WILSON R.P. Amino acids and protein. In: Fish Nutrition (ed. byJ.E. Halver & R.W. Hardy), 3rd edn, pp.143^179. Academic Press, San Diego, CA, USA. 2002.

ZEHRA, S.; KHAN, M.A. Dietary threonine requirement of fingerling Indian major carp, Catla catla (Hamilton) estimated by growth, protein retention efficiency, threonine deposition, haematological parameters and carcass composition, Aquaculture Research, 1–13, 2014.

Capítulo 31- Silagens de cana de açúcar in natura e com aditivos, para alimentação de ruminantes

Rodrigues, P.R.[1]; Deminiciscis, B.B.[2]; Faria, B.P.[2]; Oliveira, M.C.[3], Monteiro, L.F.S.[4]; Costa, F.Q.[5]; Vieira, B.C.R.[6]; Moreira, Y.R.[6]

INTRODUÇÃO

Dado o grande potencial de produção de matéria seca e energia por unidade de área, a cana de açúcar é amplamente utilizada na alimentação de bovinos, principalmente no período de déficit de produção da pastagem. A utilização dessa forrageira permite obter custo de produção relativamente mais baixo do que o observado com o uso de alimentos volumosos normalmente

utilizados no período da seca, como por exemplo, as silagens de milho e sorgo (PIRES et al., 2010).

A ensilagem surgiu como um desenvolvimento natural dos estudos, apesar de registros da literatura acusarem qualidade significativamente inferior da silagem de cana de açúcar, em relação à forragem fresca, devido ao excesso de açúcares solúveis presentes nessa planta. O problema é que a grande maioria das forragens empregadas na alimentação de ruminantes na época da seca, por serem colhidas com alto grau de maturidade, possui alto teor de fibra e baixo teor de proteína bruta (PB) o que por consequência vai ocasionar a baixa digestibilidade da matéria seca (MS). Esta situação pode ser mitigada através de tratamentos físicos, químicos ou biológicos, que promovem elevação do valor nutritivo da forragem tornando-a mais digestível ao animal, especialmente em função de alterações na parede celular.

Além disso, a eficiência de qualquer sistema de conservação de forragens deve considerar não apenas o valor nutricional do produto final, mas também as perdas ocorridas desde a colheita do material vegetal até a alimentação dos animais. Dessa maneira, perdas durante os processos da fermentação, relacionadas às alterações químicas da forragem ensilada tem tido grande enfoque em vários estudos (NEUMANN et al., 2007).

2.1. Conservação de forragens

A conservação de forragens destaca-se como uma técnica de manejo de pastagens e apresenta-se como prática que permite agilizar a exploração da elevada produtividade das forrageiras tropicais. Essa técnica preserva a forragem de alto valor nutritivo com o menor percentual de perdas (PEREIRA et al., 2006).

Em todos os sistemas de produção ocorre a estacionalidade na produção de forragem, o que implica em prejuízos graves para o produtor com o fenômeno conhecido como safra e entressafra. Para que esses problemas sejam reduzidos, alternativas para conservar as forragens

[1]Doutoranda do Programa de Pós Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, Email: patriciarodrigues_zootec@hotmail.com
[2]Professor do Programa de Ciências Veterinárias, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, CCA/UFES, Alegre-ES
[3]Graduando em Zootecnia pela Universidade Federal do Espírito Santo, CCA/UFES, Alegre-ES
[4]Zootecnista, Mestranda do Programa de Pós Graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba, Areia – PB.
[5]Médica Veterinária, D.Sc. Profª da Universidade Iguaçu - UNIG - Itaperuna/RJ, Email: nandaqcvet@gmail.com
[6]Mestrandos do Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias - PPGCV do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, CCA/UFES, Alegre-ES;

devem ser utilizadas, sendo a produção de feno, silagens e pré-secados as opções mais viáveis (DOMINGUES, 2009). Um dos motivos que justificam a conservação de forragens é o suprimento da escassez de alimentos na época seca, mantendo a produção do rebanho (JOBIM et al., 2007), o aumento do número de animais por área, a prática de confinamento que permite a flexibilidade de oferta de animais e produto, e o armazenamento de grande quantidade de alimento em pouco espaço.

Quando o manejo das pastagens é adotado, a conservação de forragens torna-se prática importante, uma vez que manter a oferta de forragem de alta qualidade por todo ano, garante o suprimento da demanda nutricional animal e permite otimizar a eficiência da utilização das pastagens, reduzindo o risco de degradação dessas por conta do superpastejo, em algumas situações, marcado pelo período de crescimento restrito das forrageiras de clima tropical (REIS et al., 2001).

É nesse sentido, que a suplementação volumosa de bovinos mantidos em pastagens tem sido adotada como estratégia para manutenção do equilíbrio entre a oferta e demanda, ou seja, o excedente da produção de forragens pode ser aproveitado antes que a planta amadureça e ocorram perdas na qualidade (DOMINGUES, 2009).

Em todo Brasil, ocorre estacionalidade de produção de forragem, causa das baixas precipitações (seca), baixas temperaturas, ocorrências de geadas ou alagamentos temporários nas áreas ocupadas por pastagens. Assim, algumas estratégias que objetivam conservar as forragens, devem ser adotadas visando suprir a demanda dos animais no período de disponibilidade reduzida e por consequência, evitar prejuízos ao desempenho dos animais (NUSSIO et al., 2006).

A ensilagem e a fenação são as principais maneiras que os pecuaristas adotam para conservar a forragem (REIS et al., 2001), sendo essas, consideradas sistemas complementares e não antagônicos, uma vez que o alimento que se produz apresenta características variáveis. Os autores afirmam que entre as alternativas de conservação de forragens, a ensilagem é mais utilizada no Brasil, pois envolve o uso de máquinas mais simples, com custo mais baixo, quando comparado à fenação.

A ensilagem tem sido adotada como uma das principais estratégias para suprir a carência de alimentos para bovinos no período seco (OTERO; ESPERANCE, 1994). No processo de ensilagem ocorre a fermentação anaeróbia da forragem pelas bactérias produtoras de ácido lático presentes na forragem. Este processo inicia-se no momento da colheita e se encerra após o fechamento do silo, passando pelas fases de enchimento, compactação e armazenagem.

De acordo com Guareschi et al. (2010) para que se tenha um produto final (silagem) de boa qualidade, deve-se fazer a escolha da forrageira adequada (de acordo com a composição de cada espécie), determinar o momento de colheita, de acordo com o teor de matéria seca, haver predominância de bactéria ácido lática e possuir baixa concentração de microrganismos indesejáveis.

2.2. Silagem

Denomina-se silagem a forragem verde, armazenada na ausência de ar (anaerobiose), produto de uma fermentação da matéria vegetal feita por bactérias, onde são produzidos ácido lático e outros ácidos orgânicos (GUIM et al., 2002). Segundo Gimenes et al. (2005), a silagem de forrageiras é a principal forma de conservar e armazenar volumoso e a mais utilizada em todo o mundo.

A técnica mostra-se vantajosa por permitir o fornecimento de alimento de qualidade durante todo o ano, em especial no período de seca, onde ocorre escassez na produção de

forrageiras. Fazendo uso desse recurso é possível aumentar a lotação das pastagens no verão e manter a mesmo lotação no inverno sem que os animais percam peso ou diminuam a produção.

A utilização de silagens em períodos de escassez de forragem na formulação de dietas, funcionando como volumoso suplementar especialmente para gado leiteiro de média à alta produção, é indiscutível. Por outro lado, o processo de ensilagem exige maior emprego de capital, como equipamentos e maquinários necessários ao corte, transporte, compactação e distribuição nos cochos (SENGER, et al.; 2005).

A população microbiótica da silagem é fator fundamental para o processo de conservação ser eficiente e ter sucesso. A presença de bactérias ácido láticas são de extrema importância, enquanto a presença de microrganismos ineficientes na conservação são indesejáveis, devido sua baixa capacidade (ou mesmo a incapacidade) de acidificar o meio, apresentando alto consumo de nutrientes ou deterioração aeróbica (SOUSA, 2006).

2.2.1. Fermentação aeróbia e anaeróbia

Esta é a primeira fase do processo fermentativo da silagem. A fermentação aeróbia inicia-se no enchimento do silo e pode se estender até poucas horas depois do fechamento. A concentração elevada de oxigênio permite o desenvolvimento e crescimento de microrganismos aeróbicos, como fungos, leveduras e algumas bactérias. Esses microrganismos atuando em conjunto com o processo respiratório da forrageira, causam a redução do oxigênio na silagem (SANTOS; ZANINE, 2006).

Após a forrageira ser colhida e ensilada as células vivas continuam o processo de respiração até acabar o oxigênio retido no meio do material ensilado. As bactérias aeróbias, continuam crescendo e se multiplicando enquanto há presença de oxigênio, usando para isso os carboidratos solúveis presentes, dando início então ao processo fermentativo. Num período de quatro a seis horas, todo o oxigênio disponível é consumido, e é produzido em contrapartida, componentes como monóxido de carbono e água (TORRES, 1984).

A fermentação anaeróbia ocorre na ausência de oxigênio, por acidificação do material verde, que tende a ser ensilado. Nesta fase, a formação de ácidos sintetizados através de microrganismos anaeróbios tem início. Eles se multiplicam fazendo a conversão de carboidratos disponíveis em ácidos orgânicos. A princípio ocorre uma pequena produção de ácidos graxos voláteis, principalmente o ácido acético.

As bactérias produtoras de ácido lático começam a proliferar e fermentar os carboidratos solúveis, produzindo ácido lático e promovendo a preservação eficiente do material ensilado (BUGHARDI et al., 1980). Na presença dos ácidos, o pH da silagem sofre redução e inibe o crescimento de todas bactérias, fungos e leveduras. Quando todo carboidrato disponível for consumido e/ou os microrganismos tiverem seu crescimento interrompido devido a presença de ácidos, significa que o processo está completo, ou seja, em fase de preservação anaeróbia (HOLZER et al., 1999). Essa fase tem duração média de 24 a 72 horas.

2.2.2. Perdas durante a fermentação

Em todo sistema de conservação de forragens, deve ser considerado não só o valor nutricional do produto final, assim como as perdas decorrentes desde a colheita até a ingestão pelos animais, onde as perdas da silagem podem ser quantificadas via desaparecimento de matéria seca durante a ensilagem (NEUMANN et al., 2007).

Essas perdas dependem de varios fatores, como o tipo do nutriente e de qual organismo (bactérias, fungos, leveduras) é responsável pela fermentação. Diversos produtos resultantes da fermentação tem valor energético superior ao produto original, assim as perdas são normalmente maiores em matéria seca do que em energia (Mc DONALD, 1981). Em

estudos realizados para avaliar a qualidade nutricional da silagem de cana-de- açúcar, Freitas et al. (2006a) e

Pedroso et al. (2005) encontraram elevados valores para a perda de MS durante a fermentação de 31,1 e 29,2%, respectivamente. Alguns fatores como temperatura, pH, concentração de substrato e opróprio tempo podem interferir na eficiência da conversão do açúcar em etanol (fermentação). Geralmente, ocorre uma queda na eficiência do processo fermentativo ou na qualidade do produto final (CARDOSO, 2006).

Segundo Mühlbach (1999), o processo fermentativo desejável no silo baseia-se na ação de bactérias específicas, especialmente dos gêneros Lactobacillus, Pediococcus e Streptococcus, que transformam os açucares hidrossolúveis da planta (frutose, glicose, sacarose e frutosanas), em ácido lático. Logo, quanto mais rápida e eficiente essa produção de ácido lático, um ácido forte e não volátil, menores serão as perdas no processo.

Ao avaliar as perdas ao longo de 180 dias de ensilagem de cana-de-açúcar, Pedroso et al (2005) observaram perda total de MS de 31,4%, sendo que esta perda cresceu gradativamente desde os primeiros dias de ensilagem. Esta perda contínua pode ser atribuída à atividade das leveduras cuja presença foi detectada a partir de 2,0 log10 ufc/g de forragem ao final do período de 120 dias. Entretanto, a presença das leveduras foi decrescendo (de 5,0 a 2,0 log10 ufc/g de forragem) e, ao final de 180 dias, sua presença não foi mais detectada.

Durante o processo de ensilagem, existem outras perdas físicas naturais como forragem perdida no campo no momento da colheita, perdas após a abertura do silo, devido ao manejo incorreto e até mesmo perdas no momento em que o alimento vai ser ofertado no cocho. Além dessas perdas, uma série de perdas químicas ocorre através da respiração e outros processos enzimáticos na planta, o que compromete o valor enegético do produto final (GORDON et al., 1969).

2.3. Silagem de cana de açúcar

A cana de açúcar é uma boa opção de forragem in natura para uso na secapor obter alta produtividade e coincidir o ponto de amadurecimento no período de menor produtividade das pastagens. Além de reduzir o custo de ração e do produto animal para gado de leite (OLIVEIRA et al., 2004) ou de corte (NUSSIO et al., 2003a). Na última década, observou-se um crescimento elevado do uso da silagem de cana de açúcar na alimentação de ruminantes. A qualidade de de vida do produtor rural, a facilidade do manejo do canavial e os ganhos em logística operacional são os principais fatores que alavancaram esta técnica (SANTOS et al., 2008).

No entanto, algumas dificuldades vão se destacando quando trabalha-se com sistemas de confinamentos industriais de gado de corte ou até mesmo grandes propriedades produtoras de leite. A colheita diária de cana de açúcar dificultando os tratos culturais nas áreas de cultivo e a reforma dos canaviais são uma das dificuldades que faz tornar a silagem uma opção interessante para os produtores (PÁDUA, 2009).

Nussio et al. (2006), confirmam que o processo de ensilagem tem sido utilizado para evitar operações diárias de corte, concentrar as atividades de colheita, que podem ser terceirizadas em um período curto, reduzir custos com transporte e mão de obra diária.

Ainda que haja vantagens operacionais através do uso da cana em forma de silagem, a utilização de aditivos que visam reduzir perdas quantitativas e qualitativas é de extrema importância, e poucos são os trabalhos que determinam o efeito de aditivos sobre o valor nutritivo da silagem de cana de açúcar no momento da abertura e após abertura do silo. Com isso, percebe-se a necessidade de uso de aditivos para controlar a produção de etanol durante o processo de ensilagem, obtendo assim um produto final de qualidade (NUSSIO et al., 2003b).

Jobim e Gonçalves (2003) alertaram para o efeito da entrada de ar na massa ensilada, uma vez que o oxigênio propicia a atuação de microrganismos deterioradores e a redução de açúcares solúveis e ácidos orgânicos, o que resulta em aumento de pH e redução na digestibilidade e no conteúdo de energia. Consequentemente, as silagens deterioradas podem conduzir a perdas econômicas elevadas e baixo desempenho animal.

Siqueira et al. (2007), citam a produção de etanol como um problema na ensilagem de cana, porém além dela existem ainda os problemas relacionados à fermentação realizada pelas leveduras que gera moléculas de água, dióxido de carbono e ATP, sendo essa produção bastante significativa. A fermentação por leveduras ocasiona perdas de 48,9% da MS (MCDONALD et al., 1991).

Esses são alguns dos motivos que tem estimulado a pesquisa sobre ensilagem de cana de açúcar, ou seja, gera-se uma demanda por informações para que a utilização dessa técnica seja feita da forma mais adequada, propiciando menores perdas durante o processo, uma vez que a ensilagem permite o corte de grandes áreas em curto espaço de tempo, na época em que a cultura apresenta seu melhor valor nutritivo e que é a estação do ano mais propícia à movimentação de máquinas no campo (PÁDUA, 2009).

2.4. Composição bromatológica da silagem de cana

A composição bromatológica de qualquer alimento está diretamente relacionado ao valor nutricional do mesmo, e no caso da cana este valor está interligado com o teor de açúcar presente, que chega a alcançar 50% na matéria seca, proporcionando valores de nutrientes digestíveis totais da ordem de 55% a 60% (OLIVEIRA et al., 2007). Como todas as outras forrageiras, a cana de açúcar também pode ser ensilada, uma vez que apresenta as características necessárias para o processo de produção de silagem. Segundo Valvasori et al. (1995), a silagem de cana de açúcar apresenta teor de matéria seca em torno de 25 a 30%, sendo o ideal um valor próximo a 34%, para carboidratos solúveis o teor fica em torno de 10% da matéria natural, e o poder tampão, que permite a queda do pH, valores próximos a 3,5. A matéria seca pode ser catalisada através da fermentação de leveduras, e a partir dessa reação, cada molécula de glicose fermentada gera duas moléculas CO2, duas de H2O e duas de etanol (NUSSIO et al., 2003b).

Ítavo et al. (2010), trabalhando com cana de açúcar in natura e ensilada, ambas sem aditivos, observaram que para os valores de matéria seca e proteína bruta, não houve diferença entre o material natural e o material ensilado, porém para pH, a silagem apresentou teor de 4,07 enquanto antes da ensilagem o valor era de 5,3, ou seja, houve redução de pH após a ensilagem, o que é muito interessante. Muraro et al. (2009) constataram que a idade da planta é um dos fatores que podem influenciar a composição da silagem de cana, visto que o avanço da idade fisiológica reduz o teor de fibras em detergente neutro e aumenta os teores de açúcar e de matéria seca. O menor teor de FDN foi encontrado na cana colhida aos 420 dias (valor médio de 60,38%) como efeito da diluição dos componentes da parede celular, em decorrência do aumento do teor de sacarose promovido pela maturação da planta. Ao avaliar 15 variedades de cana, Azevêdo et al. (2003), verificaram que a proporção de FDN teve variação de 43,8 a 53,8 % da matéria seca (MS), enquanto que o teor de fibra em detergente ácido (FDA) variou de 24,3 a 29,6%.

De acordo com Burgi (1985), tanto a cana de açúcar in natura quanto o bagaço de cana são materiais que apresentam elevado teor lignocelulósico, portanto, para o fornecimento para ruminantes se tornar viável, faz-se necessário o desenvolvimento de métodos de tratamento que promovam o rompimento da parte fibrosa, tornando-a mais digestível.

2.5. Aditivos na ensilagem de cana de açúcar

Pesquisas sobre a adição de aditivos químicos e inoculantes microbianos em silagens vem sendo realizadas, com objetivo de melhorar o processo de fermentação da silagem e melhorar a digestibilidade da fibra, promovendo com isso o desenvolvimento de bactérias ácido lácticas, e a inibição de leveduras e clostrídios, que são microrganismos indesejáveis (PEDROSO, 2003).

Múltiplos aditivos foram avaliados nos últimos anos objetivando controlar a ação das leveduras, melhorar o processo de fermentação da silagem e melhorar a digestibilidade da fibra, permitindo com isso que as bactérias ácidos láticas se desenvolvessem, e as leveduras e clostrídios fossem inibidos, uma vez que são microrganismos indesejáveis para qualidade na ensilagem da cana de açúcar (SIQUEIRA et al., 2012).

Os aditivos tem como finalidade interferir no processo fermentativo, alterando o pH e a pressão osmótica da massa de forragem. Dessa maneira, o desenvolvimento de microrganismos indejaveis durante a fermentação na ensilagem é inibido (SANTOS, 2007). Porém, ocorre junto a isso, o auxilio na mantuntenção das qualidades nutricionais, digestibilidade e estabilidade aeróbia do material ensilado (SILVA et al., 2005; ANDRADE et al., 2001; PEDROSO, 2003). Outras funções dos aditivos são estimular a fermentação pelo fornecimento adicional de carboidratos, prevenir ou inibir com eficiência a fermentação secundária, controlar a fermentação e propiciar condições que favoreçam a atividade de microrganismos desejáveis (Lactobacillus) e iniba a atividade dos não desejáveis (Clostridium) (VILELA, 1984).

O fubá e o melaço em pó são aditivos ricos em carboidratos não fibrosos, e quando adicionados à silagem podem conferir um material de melhor qualidade, reduzindo as perdas (ANDRADE e MELOTTI, 2004).

Bernardino et al. (2005) observaram que adicionando 20% de casca de café em silagem de capim elefante, houve redução na produção de efluentes, consequentemente, diminuindo as perdas.

De acordo com Ávila (2007), a bactéria Lactobacillus plantarum é um dos diversos aditivos mibrobianos, porém este se classifica como principal representante do grupo das bactérias ácido-láticas, e são comumente utilizadas para estimular a fermentação no processo de ensilagem de forrageiras tropicais, e que se caracterizam pela elevada produção de ácido lático.

Na ensilagem, o Lactobacillus plantarum apresenta-se como forte opção, porém o mesmo pode promover aumento das perdas, em razão do aumento da produção de ácido lático, logo, deve-se atentar às recomendações no momento de utilização (PEDROSO et al., 2007).

Outro aditivo microbiano de alta relevância é o Lactobacillus buchneri, porém este pertence ao grupo das bactérias heteroláticas, ou seja, bactérias que produzem outros ácidos orgânicos, como acético e butírico (SCHMIDT, 2008). O autor aponta que a resposta do Lactobacillus buchneri na ensilagem pode ser melhor quando comparado aos demais aditivos (ureia, óxido de cálcio, benzoato de sódio), por ser uma bactéria, ou seja, um organismo vivo que depende de substrato, umidade, população inicial entre outros.

Quando se fala em aditivos químicos, o óxido de cálcio é o que se sobresai, pois apresenta baixo custo de uso, maior efetividade na redução de perdas de matéria seca, além de praticamente não depender das condições do meio para entrar em ação (SIQUEIRA et al., 2012). No entanto, existem outros aditivos químicos, como ureia, hidróxido de sódio, benzoato de sódio entre outros.

A adição de uréia na ensilagem, toma como base a modificação de uréia em amônia, que ao reagir com água, gera hidróxido de amônia, promovendo então o aumento do pH que tende a atuar sobre os microrganismos indesejáveis, como as leveduras (KUNG JUNIOR; STOKES; LIN, 2003). Rossi Junior e Schogor (2006) verificaram aumento na degradabilidade

potencial e efetiva da MS de 7,68 e 15,36%, respectivamente para a cana de açúcar ensilada com 1% de uréia em relação à cana de açúcar sem aditivo.

De forma geral, existe na literatura uma vasta crítica de dados, que permitem a indicação dos referidos aditivos, quando o objetivo é o controle de perdas durante o armazenamento. Já em relação ao desempenho animal, o número de trabalhos é reduzido. No que respeita ao Lactobacillus buchneri, os estudos indicam respostas nulas (SIQUEIRA, 2009), a positivas (PEDROSO et al., 2006), para esse aditivo dificilmente há redução de desempenho. Enquanto em relação ao óxido de cálcio, existem trabalhos que mostram efeito negativo (MARI, 2008) e outros positivos (ROTH et al., 2010), o que permite inferir-se que para se indicar, asseguradamente, o uso de aditivos mais pesquisas são necessárias.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao considerar a produção de silagem de cana-de-açúcar, é fundamental avaliar o uso de um aditivo que atue no controle de perdas de forma integrada, protegendo os nutrientes da fermentação alcoólica e da oxidação após a abertura do silo.

Entretanto, não necessariamente, o uso de aditivos promove redução nas perdas de MS, FDN, NDT, mas promove melhoras na fermentação dos carboidratos e frações fibrosas da silagem de cana de açúcar.

Dos aditivos pesquisados até o momento, o benzoato de sódio e L. buchneri foram os que resultaram em silagens de melhor valor nutritivo, maior ganho de peso e melhor conversão alimentar, provavelmente, em decorrência da melhor estabilidade aeróbia, e a uréia tem se mostrado uma alternativa interessante para incrementar o valor nutritivo da silagem de cana de açúcar.

4. REFERÊNCIAS

ANDRADE, J. B.; FERRARI Jr., E.; POSSENTI, R. A.; LEINZ, F. F.;BIANCHINI, D.; RODRIGUES, C. F. C. R. Aditivo biológico na ensilagem de cana de açúcar tratada com uréia. Boletim de Indústria Animal, v.57, p.139-149, 2000.

ANDRADE, J. B.; FERRARI JUNIOR, E.; BRAUN, G. Valor nutritivo da silagem de cana de açúcar tratada com ureia e acrescida de rolão-de-milho. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 36, n. 9, p. 1169-1174, 2001.

ÁVILA, C. L. S. Isolamento e uso de *Lactobacillus buchneri* na ensilagem de capim-mombaça e cana de açúcar. 2007. 175f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

AZEVÊDO, J. A. G.; PEREIRA, J. C.; CARNEIRO, P. C. S.; QUEIROZ, A. C.; BARBOSA, M. H. P.; FERNANDES, A. M.; RENNÓ, F. P. Avaliação da divergência nutricional de variedades de cana de açúcar (*Saccharum* spp.). Revista Brasileira de Zootecnia, v.32, n.6, p.1431-1442, 2003.

BERNARDINO, F. S.; GARCIA, R.; ROCHA, F. C.; SOUZA, A. L.; PEREIRA, O. G. Produção e características do efluente e composição bromatológica da silagem de capim-elefante contendo diferentes níveis de casca de café. Revista Brasileira de Zootecnia, v.34, n.6, supl., p. 2185-2191, 2005.

BUGHARDI, S. R., GOODRICH, R. D., MEIKE, K. C. Evaluation of corn silage treated with microbial additives. Journal of Animal Science, v.50, n.4, p.729-36, 1980.

BURGI, R. Produção do bagaço de cana de açúcar (*Saccharum* sp L.) auto-hidrolisado e avaliação para ruminantes. 1985. 61p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens)-Escola Superior de Agricultura Luis de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

CARDOSO, A.R.; PIRES, C.C.; CARVALHO, S.; GALVANI, D.B.; JOCHIMS, F.; HASTENPFLUG, M.; WOMMER, T.P. Consumo de nutrientes e desempenho de cordeiros alimentados com dietas que contêm diferentes níveis de fi bra em detergente neutro. Ciência Rural, v.36, p.215-221, 2006.

DOMINGUES, J. L. Uso de volumosos conservados na alimentação de equinos. Revista Brasileira de Zootecnia, vol.38, p. 259-269, 2009.

FREITAS, A. W. P.; PEREIRA, J. C.; ROCHA, F. C.; COSTA, M. G.; LEONEL, F. P.; RIBEIRO, M. D. Avaliação da qualidade nutricional da silagem de cana de açúcar com aditivos microbianos e enriquecida com resíduo da colheita de soja. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 35, n.1, p. 38-47, 2006a.

GIMENES, A. L. G.; MOREIRA, F. B.; MIZUBUTI, I. Y.; PEREIRA, E. S. Efeito da utilização de inoculantes em silagens de forrageiras sobre os teores de proteína e fibra, digestibilidade dos nutrientes, pH, fermentação e estabilidade aeróbia. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 26, n. 4, p. 601-610, 2005.

GORDON, C. H. Storage losses in silage as affected by moisture content and structure. Journal of Dairy Science, v. 50, n.3, p.397-403, 1969.

GUARESCHI, R.F.;. BRASIL, R.B., PERIN, A.; RIBEIRO, J.M.M. Produção de silagem de híbridos de milho e sorgo sem nitrogênio de cobertura em safra de verão. Pesq. Agropec. Trop., Goiânia, v. 40, n. 4, p. 541-546, 2010.

GUIM, A; ANDRADE, P; ITURRINOSCHOCKEN, R. P; FRANCO, G. L.; RUGGIERI, A. C.; MALHEIROS, E. B. Estabilidade aeróbica de silagens de Capim-Elefante (*Pennisetum purpureum*, Schum.) emurchecido e tratado com inoculante microbiano. Revista Brasileira de Zootecnia, v.31, n. 6, p. 2176-2185, 2002.

HOLZER, M.; MAYRHUBER, E.; DANNER, H.; MADZINGAIDZO, L.; BRAUN, R. Effect of *Lactobacillus* sp and *Enterococcus* sp on ensilaging and aerobic stability. In: International silage conference, 12, 1999, Uppsala. Proceedings ...Uppsala: Sweden, p.270-271, 1999.

ÍTAVO, L. C. V.; ITAVO, C. C. B. F.; MORAIS, M. G.; DIAS, A. M.; COELHO, E.M.; JELLER, H.; SOUZA, A. D. V. Composição química e parâmetros fermentativos de silagens de capim-elefante e cana de açúcar tratadas com aditivos. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal, v.11, n.3, p.606-617, 2010.

JOBIM, C. C.; GONÇALVES, G. D. Microbiologia de forragens conservadas. In: REIS, R.A.; BERNARDES, T.F.; SIQUEIRA, G.R. et al. (Eds.) Volumosos na produção de ruminantes: valor alimentício de forragens. Jaboticabal: Funep, 2003. p.1-26.

JOBIM, C. C.; NUSSIO, L. G.; REIS, R. A.; SCHMIDT, P. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. Revista Brasileira de Zootecnia, v.36, 2007.

KUNG JUNIOR., L.; STANLEY, R.W. Effect of stage of maturity on the nutritive value of whole-plant sugarcane preserved as silage. Journal of Animal Science, v.54, p.689-696, 1982.

KUNG JUNIOR, L.; STOKES, M. R.; LIN, C. J. Silage additives. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. (Eds.) Silage science and technology. Madison: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, p.251-304, 2003.

MARI, L. Desempenho de bovinos de corte alimentados com rações contendo cana de açúcar (*Saccharum officinarum* L.) fresca ou ensilada e o padrão de fermentação e a estabilidade aeróbica das silagens aditivadas. 2008. 315p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

McDONALD, P. The biochemistry of silage. New York: John Wiley & Sons, 1981. 207p.

McDONALD, P.; HENDERSON, A. R.; HERON, S. J. E. The biochemistry of silage. 2.ed. Marlow: Chalcomb Publications,1991. 340p.

MUHLBACH, P.R.F. Silagem: produção com controle de perdas. In: LOBATO, J.F.P.; BARCELOS, J.O.J.; HESSLER, A.M. (Eds.) Produção de bovinos de corte. Porto Alegre: Pontíficia Universidade Católica, 1999. p.97-120.

MURARO, G. B.; ROSSI P. J.; OLIVEIRA, V. C.; GRANZOTTO, P. M. de CARLI.; SCHOGOR, A. L. B. Efeito da idade de corte sobre a composição bromatológica e as características da silagem de cana de açúcar plantada em dois espaçamentos e três idades de corte. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 38, n. 8, 2009.

NEUMANN, M.; MÜHLBACH, P. R. F.; NÖRNBERG, J. L.; RESTLE, J.; OST, P. R. Efeito do tamanho de partícula e da altura de colheita das plantas de milho (*Zea mays* L.) sobre as perdas durante o processo fermentativo e o período de utilização das silagens. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 36, n. 5, p.1395-1405, 2007.

NUSSIO, L. G.; SCHMIDT, P.; SCHOGOR, A. L. B. Cana de açúcar como alimento para bovinos. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM, 3., 2006, Viçosa, MG. Anais... Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, p.277-328, 2006.

NUSSIO, L. G.; ROMANELLI, T. L.; ZOPOLLATTO, M. Tomada de decisão na escolha de volumosos suplementares para bovinos de corte em confinamento. In: CBNA (Ed.). Anais... V Simpósio Goiano sobre manejo e nutrição de bovinos de corte e leite. Campinas: CBNA, p.1-14, 2003a.

NUSSIO, L. G.; SCHMIDT, P.; PEDROSO, A. F. Silagem de cana de açúcar In: EVANGEISTA, A.R.; REIS, S.T.; GOMIDE, E.M. (Eds.) Forragicultura e pastagens: temas em evidência -sustentabilidade. Lavras: Editora Universidade Federal de Lavras, p.49-72, 2003b.

OLIVEIRA, M. W.; MENDES L. C.; MARQUES W. P. Adição de hidróxido de cálcio à silagem de cana. Anais...ZOOTEC 2004, 28 a 31 de maio de 2004, Brasília, DF.

OLIVEIRA, M. D. S.; ANDRADE, A. T.; BARBOSA, J. C.; SILVA, T. M.; FERNANDES, A. R. M.; CALDEIRÃO, E.; CARABOLANTE, A. Digestibilidade da cana de açúcar hidrolisada, in natura e ensilada para bovinos. Ciência Animal Brasileira , v.8, n.1, p.41-50, 2007.

OTERO, M; ESPERANCE, M. Estudio de la ensilabilidad de la Guinea Likoni (*P. Maximum* Jacq.) segun el índice azucar/capacidad tampon. Pastos y Forrages, v. 17, p. 277-281, 1994.

PÁDUA, F. T. Avaliação de variedades de cana de açúcar in natura e ensilada com aditivos, para alimentação de ruminantes. 2009. 135p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes.

PEDROSO, A. F.; NUSSIO, L. G.; PAZIANI, S. F.; LOURES, D. R. S.; IGARASI, M. S.; COELHO, R. M.; PACKER, I. H.; HORII, J.; GOMES, L. H. Fermentation and epiphytic microflora dynamics in sugar cane silage. Scientia Agricola, v.62, n.5, p.427-432, 2005.

PEDROSO, A. F.; NUSSIO, L. G.; BARIONI JÚNIOR, W.; RODRIGUES, A. A.; LOURES, D. R. S.; CAMPOS, F.; RIBEIRO, J. L.; MARI, L.; ZOPOLLATTO, M.; JUNQUEIRA, M.; SCHMIDT, P.; PAZIANI, S. F.; HORII, J. Performance of Holstein heifers fed sugarcane silages treated with urea, sodium benzoate or *Lactobacillus buchneri*. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.41, n.4, p.649-654, 2006.

PEDROSO, A. F.; NUSSIO, L. G.; LOURES, D. R. S.; PAZIANI, S. F.; IGARASI, M. S.; COELHO, R. M.; HORII, J.; RODRIGUES, A. A. Efeito do tratamento com aditivos químicos e inoculantes bacterianos nas perdas e na qualidade de silagens de cana de açúcar. Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v. 36, n. 3, p. 558-564, 2007.

PEREIRA, O. G.; GOBBI, K. F.; PEREIRA, D. H.; RIBEIRO, K. G. Conservação de forragens como opção para o manejo de pastagens. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 43, 2006, João Pessoa, PB, Anais... João Pessoa, PB, 2006. p. 507-539.

PIRES, A. V.; SUSIN, I.; SIMAS, J. M. C.; OLIVEIRA JÚNIOR, R. C.; FERNANDES, J. J. R.; ARAUJO, R. C.; MENDES, C. Q. Substituição de silagem de milho por cana de açúcar e caroço de algodão sobre o desempenho de vacas holandesas em lactação. Ciência Animal Brasileira, v.11, n. 2, p.251-257, 2010.

PIRES, A. V.; SUSIN, I.; SIMAS, J. M. C.; OLIVEIRA JÚNIOR, R. C.; FERNANDES, J. J. R.; ARAUJO, R. C.; MENDES, C. Q. Substituição de silagem de milho por cana de açúcar e caroço de algodão sobre o desempenho de vacas holandesas em lactação. Ciência Animal Brasileira, v.11, n. 2, p.251- 257, 2010.

REIS, R.A.; MOREIRA, A.L.; PEDREIRA, M.S. Técnicas para produção e conservação de fenos de forrageiras de alta qualidade. In: Simpósio sobre produção e utilização de forragens conservadas, 2001, Maringá.Anais... Maringá: UEM/CCA/DZO, 2001. 319p.

ROSSI JUNIOR, P.; SCHOGOR, A. L. B. Degradabilidade in situ de cana de açúcar ensilada com uréia e milho em diferentes proporções. Archives of Veterinary Science, v. 11, n. 3, p. 15-18, 2006.

ROTH, A. P. T. P.; REIS, R. A.; SIQUEIRA, G. R.; ROTH, M. T. P.; RESENDE, F. D.; MONTEIRO, R. R. Sugarcane silage production treated with additives at different times post burning. Revista Brasileira de Zootecnia, v.39, n.1, p.88-96, 2010.

SANTOS, M. C. Aditivos químicos para o tratamento da cana de açúcar in natura e ensilada (Saccharum officinarum L.) . 2007. 112f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

SANTOS, M. C.; NUSSIO, L. G.; MOURÃO, G. B.; SCHMIDT, P.; MARI, L. J.; RIBEIRO, J. L. Influência da utilização de aditivos químicos no perfil da fermentação, no valor nutritivo e nas perdas de silagens de cana de açúcar. Revista Brasileira de Zootecnia, v.37, p.1555-1563, n.9, 2008.

SANTOS, E. M.; ZANINE, A. M. Silagem de gramíneas tropicais. Colloquium Agrariae, v. 2, n.1, p. 32-45, 2006.

SCHMIDT, P. Aditivos químicos e biológicos no tratamento de cana de açúcar para alimentação de bovinos. In: JOBIM, C. C.; CECATO, U.; CANTO, M. W. Eds. Produção e utilização de forragens conservadas. Maringá: Masson, 2008. p.117-152.

SENGER, C. C. D.; MUHLBACH, P. R. F.; SÁNCHEZ, L. M. B.; PERES NETTO, D.; LIMA, L. D. Composição química e digestibilidade “in vitro” de silagem de milho com distintos teores de umidade e níveis de compactação.Ciência Rural, v.35, n.6, p.1393-1399, 2005.

SILVA, T. M.; OLIVEIRA, M. D. S., SAMPAIO, A. A. M.; ANDRADE, A. T.; BARBOSA, J. C.; FERNANDES, A. R. M.; CALDEIRÃO, E.; CARABOLANTE, A. Efeito da hidrólise de diferentes variedades de cana de açúcar sobre a digestibilidade ruminal in vitro . In: Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia, 42, Goiânia, 2005. Anais... Goiânia: SBZ, CD ROM, 2005.

SIQUEIRA, G. R.; REIS, R. A.; SCHOKEN-ITURRINO, R. P.; BERNARDES, T. F.; PIRES, A. J. V.; ROTH, M. T. P.; ROTH, A. P. T. P. Associação entre aditivos químicos e bacterianos na ensilagem de cana de açúcar. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 36, n.4, p. 789-798, 2007.

SIQUEIRA, G. R. Aditivos na silagem de cana de açúcar "in natura" ou queimada. 2009, 107f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal.

SIQUEIRA, G. R.; ROTH, M. T. P.; MORETTI, M. H.; BENATTI, J. M. B.; RESENDE, F. D. Uso da cana de açúcar na alimentação de ruminantes. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal, v.13, n.4, p.991-1008, 2012.

TORRES, R. A. Conservação de forragem. In: 3 Curso de pecuária leiteira, 2 a 6 de julho de 1984. Companhia Industrial e comercial brasileira de produtos Alimentares/NESTLE.

SOUSA, D. P. Avaliação de aditivos químicos e microbianos como inibidores da síntese de etanol em silagens de cana de açúcar (*Saccharum officinarum* L.). 2006.147f. Tese (Doutorado em Agronomia)- Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

VILELA, D. Aditivos na ensilagem. Centro Nacional de Pesquisa de gado de Leite, EMBRAPA, Coronel Pacheco, MG. Circular técnica nº 21, nov. 1984

Capítulo 32- "Ambiência e Bem-Estar Animal na Produção de Aves e Suínos"

Cordeiro, M.D.[1]; Menezes , T.Q.[2]; Paula , M.O.[3]

INTRODUÇÃO

A produção avícola e suinícola tem a disposição de suas práticas de criação atualmente material genético de elevado potencial produtivo e reprodutivo, além de tecnologias adequadas ao manejo, nutrição e sanidade, sendo o grande desafio para sua exploração a ação conjunta de todos esses fatores mencionados.

No entanto, fatores ambientais aos quais os animais estão submetidos mostram-se como limitantes ao alcance dessa meta, sendo necessário que seja feito o controle eficaz destes. Eles irão atuar de forma direta e indireta sobre os animais, diminuindo a produtividade e influenciando na qualidade dos produtos, gerando consequentes prejuízos econômicos.

Para que essas influências negativas a produção desses animais sejam eliminadas é necessário antes conhecer como esses animais responderão e/ou se adaptarão fisiologicamente e comportamentalmente ao ambiente externo e que somente a partir desses resultados, será possível decidir em alterar ou não fatores como nutrição e manejo, ou ainda pelo emprego de modificações nas instalações, como a utilização de equipamentos específicos, para otimizar essas atividades.

O ambiente animal compreende tudo aquilo em que o animal estará inserido. Portanto, quando estiver sendo feito um controle ambiental, deverão ser levados em consideração todos os fatores que influenciarão de algum modo o animal, sejam estes físicos, químicos, biológicos, sociais e climáticos.

Quanto à ciência, a ambiência é descrita como o ramo em que são estudadas as formas de promover a adequação do ambiente ao conforto animal. Baseada no contexto ambiental em que estes animais estão presentes, analisa as características de meio ambiente em função da zona de conforto das diferentes espécies, sempre considerando a fisiologia de regulação da temperatura interna atuante na espécie em questão.

A ambiência encontra-se associada ao bem-estar animal, uma ciência que tem agregado à sua estrutura a obrigação de investigar e estabelecer, além dos fatores pertinentes à primeira, formas de minimizar condições estressantes como densidade animal, ausência de poluição sonora e ambiental, além de propiciar conforto e possibilitar ao animal expressar seu comportamento natural.

A suinocultura e a avicultura são as atividades pecuárias em que os sistemas mais comuns de criação ocorrem em reduzidas áreas, de forma extremamente intensiva e em ambientes artificiais, que possuem características muito díspares aos ambientes originais desses animais. Essas atividades necessitam, portanto, de um controle eficaz do ambiente, sendo de fundamental importância o emprego da ambiência nas instalações, e agregado a ela, o emprego de sistemas que promovam o bem-estar animal.

[1]Professora do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, CCA/UFES, Alegre-ES, Email: duranmari@hotmail.com
[2]Graduando em Medicina Veterinária pela Universidade Federal do Espírito Santo, CCA/UFES, Alegre-ES.
[3]Professor da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

2. Influência do Ambiente Térmico na Produção de Aves e Suínos

O ambiente é subdividido pelos diferentes fatores físicos, químicos e biológicos e pode interagir de forma direta e indireta sobre os animais. Dentre os fatores ambientais, aspectos relativos ao ambiente térmico devem ser destacados, uma vez que estes interferem de forma extremamente significativa no desenvolvimento produtivo de aves e suínos. O ambiente térmico animal é caracterizado pela temperatura, umidade relativa, vento e radiação. Segundo Santos et al. (2009), esses elementos não atuam isoladamente, eles apresentam efeito conjunto que pode ser traduzido por uma temperatura ambiental efetiva. O ambiente térmico age de forma específica nas diferentes espécies e fases de vida dos animais.

Aves e suínos são homeotérmicos, ou seja, possuem a capacidade de manter a temperatura do núcleo corporal dentro de limites relativamente estreitos, mesmo que a temperatura ambiental flutue e que sua atividade varie intensamente. Para que isso seja possível, o animal mantém-se em constante troca de energia com o ambiente, formando uma espécie de sistema termodinâmico (FERREIRA, 2005). Neste processo, os fatores externos do ambiente tendem a produzir variações internas no animal, influindo na quantidade de energia trocada entre ambos, havendo então a necessidade de ajustes fisiológicos para a ocorrência do balanço de calor. Entretanto, variações na temperatura corporal dos homeotérmicos normalmente ocorrem e estão relacionadas a condições como idade, sexo, estação do ano, hora do dia, atividade desempenhada pelo animal, condição alimentar, digestão, ingestão de água e temperatura ambiental.

As trocas de energia térmicas do animal para o meio podem ocorrer por troca de calor sensível, através dos mecanismos de condução, convecção, radiação e por troca de calor latente, seja por evaporação cutânea e/ou respiratória. Para que a troca de calor entre o animal e o meio ambiente ocorra por calor sensível é necessário à existência de gradiente de temperatura entre o animal e o meio, da velocidade do vento e da umidade relativa do ar. Já a perda de calor latente por evaporação está diretamente relacionada com a umidade relativa do ar (BRIDI, 2006).

Em temperaturas acima das consideradas ideais, mecanismos de dissipação e de diminuição na produção de calor são acionados. A fim de facilitar ainda mais as trocas térmicas através desses mecanismos, aves e suínos lançam-se de algumas adaptações fisiológicas e comportamentais específicas quando em estresse térmico. Segundo Bridi (2000), aves, no intuito de dissipar maior quantidade de calor, procuram maximizar a área de superfície corporal, agachando e mantendo as asas afastadas do corpo e induzem a ereção das penas e aumento do fluxo sanguíneo para os tecidos periféricos não cobertos com penas como as regiões de pés, cristas e barbela. Outra forma comum das aves perderem calor é através do resfriamento evaporativo respiratório, aumentando a frequência respiratória em até 10 vezes. No caso de suínos, as principais adaptações verificadas são vasodilatação periférica, permitindo aumentar a velocidade de transferência de calor para a pele, e dessa forma, aumentar a perda por condução. Também realizam perda de calor por evaporação através do aumento na taxa respiratória, devido ao estímulo ao centro do calor no hipotálamo, que aumenta de 20 a 100% modificando de 30 a 40 movimentos até 80 movimentos/minuto. Outras adaptações verificadas são a redução na atividade física, na liberação dos hormônios da tireoide e no consumo de ração.

Diferente da maior parte dos mamíferos que conseguem dissipar calor pela sudorese, nos suínos esta perda não é considerada, pois apesar de os mesmos possuírem glândulas sudoríparas, estudos histológicos mostram que estas estão bloqueadas por queratina e se tornam afuncionais quanto à termorregulação (BRIDI, 2000).

Bridi (2000) afirma que aves e suínos como animais homeotérmicos, só são capazes de expressar seu máximo potencial produtivo quando estão em sua zona de conforto térmico (ZCT) que compreende a faixa de temperatura ambiente efetiva onde o calor produzido pelos animais durante seus processos de mantença e produção será igual ao calor perdido para o

ambiente térmico, não havendo necessidade em regular a taxa metabólica para a manutenção do seu equilíbrio homeotérmico. Nesse momento não há sensação de frio ou calor e o desempenho do animal em qualquer atividade é otimizado.

A zona de conforto térmico estabelecida pela literatura para suínos varia de acordo com a idade e com o estado fisiológico dos animais. Em leitões recém-nascidos se encontra entre 30 e 32°C, sendo a temperatura crítica acima de 35°C. Para porcas em gestação e suínos na fase de terminação, a zona de conforto cai para a faixa de 12 a 18°C, sendo a zona crítica situada acima de 27°C. Para ambos, a umidade relativa do ar ideal deve se encontrar entre 40 a 70% (BRIDI, 2000). Suínos são apresentados como sendo animais pouco adaptados aos trópicos por apresentarem aparelho termorregulador pouco desenvolvido, sendo estes extremamente sensíveis ao frio quando jovens e ao calor quando adultos (SILVA, 1999). Quando em estresse proporcionado por calor, diminuem seus movimentos respiratórios e quase todas as suas atividades, ficando quase em estado de latência, o que ajuda muito a vencer esse obstáculo (MÜLLER, 1982).

Condições ambientais acima da zona de conforto térmico dos suínos afetarão sua capacidade produtiva. Em leitões recém-nascidos, ambientes térmicos com temperaturas inferiores a 30ºC, influenciará negativamente na conversão alimentar, ocasionando uma deficiência no crescimento e deposição da gordura subcutânea, podendo afetar todo o processo produtivo do animal em questão. Um estresse por frio severo pode ocasionar, ainda em recém-nascidos, uma maior susceptibilidade as infecções enterotoxigênicas ou até a morte por hipotermia (MORES et al., 1998). No caso de suínos em terminação, quando se afastam da temperatura de 21º C, há diminuição no seu ganho de peso, tanto para altas como para baixas temperaturas, porém, sendo mais prejudiciais nas altas temperaturas (SILVA, 1999). Quando submetidos a uma temperatura de 43,2ºC, todos os suínos adultos, perdem peso, e poucos são os que sobrevivem (MÜLLER, 1982).

Em relação ao aspecto reprodutivo, os machos em temperaturas acima das ideais para sua faixa etária, podem ter a espermatogênese comprometida, promovendo o aumento das formas anormais de espermatozoides, diminuição da libido, diminuição de volume espermático e outras anomalias que afetam a reprodução. Segundo Ferreira (2005), em situações de estresse térmico os níveis reprodutivos das matrizes também são afetados, interferindo na puberdade, na sobrevivência embrionária, na produção de leite pela porca e na perda de peso durante a lactação.

As aves, assim como os suínos, são animais sensíveis ao frio quando jovens e ao calor quando adultos. A temperatura corporal das aves oscila entre 40-41ºC, e o recomendado para a temperatura ambiente em frangos de corte, poedeiras e matrizes, se situa entre 15 e 28ºC (JÁCOME et al., 2007), sendo que nos primeiros dias de vida a temperatura ambiente deve ficar entre 33 e 34ºC, dependendo da umidade relativa do ar, que pode variar de 40 a 80%.

Em relação aos pintainhos, em que o estresse por frio é o principal problema, Abreu et al. (2000) observaram que o conforto térmico nas primeiras semanas tem importância na diminuição do efeito das variações térmicas do ambiente sobre o aparelho respiratório dos pintainhos, uma vez que o ar com baixa temperatura deverá ser aquecido nas vias respiratórias, para que a troca gasosa nos pulmões seja eficiente.

Em aves de postura, condições de menor conforto térmico, principalmente por altas temperaturas, podem provocar diminuição da qualidade da casca dos ovos, aumentando a ocorrência de ovos com casca fina e elevando as perdas por trincas (ALVES, 2007). Tal problema surge devido a uma hiperventilação dos pulmões durante a respiração, em contrabalanço ao excesso de calor, promovendo perda excessiva de dióxido de carbono do sangue, fator importante na formação do carbonato de cálcio para a casca (JÁCOME et al., 2007). Silva (2000) também observou diminuição do tamanho dos ovos, redução no peso total de ovos, redução no peso de gema e clara, entre outras anormalidades.

Estudos sobre as edificações mais utilizadas pelos produtores avícolas e suinícolas revelam que normalmente estas apresentam certo grau de desconforto térmico, com temperaturas e umidades excessivas e deficiência de ventilação, bem como, elevação da ocorrência de doenças ligadas à perda de qualidade do ar. Estes aspectos apresentam-se como as principais barreiras para o alcance das metas de otimização econômica desses setores (SILVA, 1999).

São inúmeros os meios de se alcançar às condições do ambiente térmico apropriado dentro dessas edificações. Contudo, são necessárias buscas por alternativas eficientes e econômicas, dentre elas a utilização de mecanismos naturais e artificiais de controle que podem ser inseridos através de modificações ambientais primárias e/ou secundárias.

Modificações ambientais primárias correspondem ao acondicionamento térmico natural. São aquelas relacionadas ao envolto e que permitem proteger o animal durante períodos em que o clima se apresenta extremamente quente ou frio, ajudando-o a aumentar ou reduzir sua perda de calor corporal.

Já as modificações secundárias, envolvem sistemas artificiais de condicionamento, responsáveis por um controle mais refinado do ambiente, sendo utilizadas somente após serem adotadas todas as modificações primárias possíveis e o ambiente ainda se encontrar fora da zona de conforto térmico. Em geral elas exigem mais gastos quando comparadas as modificações primárias. Em separado ou em conjunto com as modificações primárias, elas correspondem ao manejo do microambiente interno das instalações, sejam elas de sistema de confinamento parcial ou total. Estas modificações compreendem os processos artificiais de ventilação, aquecimento e refrigeração, isolados ou em conjunto.

Em países como o Brasil, onde grandes oscilações de temperatura ocorrem em períodos do ano ou até mesmo de um dia, esses métodos de controle ambientais mostram-se eficazes e, sobretudo necessários. Alguns aspectos positivos nesses tipos de modificações podem ser destacados como a economia de espaço físico, disponibilidade de mão de obra e regulamentação do aspecto ambiental (MARCARI & FURLAN, 2001).

Entre os mecanismos de resfriamento do ambiente interior em galpões de aves e suínos destacam-se os ventiladores, os exaustores, os nebulizadores e os resfriadores de ar com células evaporativas. Estes instrumentos podem estar ou não conjugados, formando diferentes sistemas de resfriamento. Sendo na pecuária atual mais adotado os sistemas de ventilação forçada, ventilação tipo túnel, ventilação localizada, resfriamento adiabático evaporativo e ventilação associada à nebulização.

A ventilação forçada é incorporada quando a ventilação natural não é suficiente para promover a renovação do ar ou redução da temperatura. Pode ser utilizada também como um recurso extra de emergência no auxilio da ventilação natural quando esta se torna deficiente, sendo comumente usados ventiladores ou exaustores. Os ventiladores irão empurrar o ar do interior do galpão para fora do mesmo, sendo esta a forma de ventilação forçada positiva. Diferentemente, os exaustores sugam o ar interno do galpão, forçando a sua saída pela formação de um vácuo parcial no interior da instalação. Esse tipo de ventilação poderá ser usada em galpões abertos ou fechados. Porém, quando fechados esse tipo de ventilação passa a ser chamada de tipo túnel (RABELLO, 2008).

No sistema de ventilação tipo túnel, a instalação deve ser totalmente fechada para eficiência do sistema. É um recurso mais utilizado na avicultura de corte e é indicada quando se deseja melhor distribuição da ventilação. O funcionamento desse sistema é apresentado basicamente pela formação de um túnel de vento, onde em uma das extremidades há a entrada do ar e a saída pela outra. Esperando-se com isso, que o ar percorra todo o galpão, retirando o calor gerado pelos animais para fora do mesmo. É indicado que em regiões quentes e secas, a esse sistema seja associado à nebulização ou então a um sistema de resfriamento adiabático (BRIDI, 2006).

O sistema de resfriamento adiabático evaporativo pode ser feito associado à ventilação forçada de pressão positiva ou a ventilação de pressão negativa. No primeiro caso, os ventiladores são acoplados a blocos com material poroso, chamados de célula evaporativa. O mecanismo funciona de forma que, impulsionado por um ventilador, o ar seco passa por uma coluna de materiais porosos, umedecida por gotejamentos constantes, promovendo a entrada de ar resfriado para o interior do galpão. Já no segundo caso, exaustores fixados em uma extremidade do galpão promovem uma pressão negativa, que por sua vez forçam a entrada do ar pela outra extremidade onde estão presentes as placas porosas umidificadas (ROSA, 2009). Podem ser utilizados como materiais porosos neste sistema madeira, minerais e vidro, sendo um sistema comum em regiões quentes e secas, onde há a necessidade de diminuição da temperatura do ar antes de passar ao interior do galpão, muito utilizado em galpões destinados a criação de frangos de corte (BRIDI, 2006).

O sistema de ventilação associada à nebulização é caracterizado pela produção no interior do galpão de uma fina neblina misturada com água. É considerado um sistema evaporativo assim como o resfriamento adiabático. Neste tipo de sistema há a incorporação de vapor de água diretamente no ar interno do galpão. É uma técnica de modificação ambiental artificial bastante difundida, principalmente entre avicultores (SARTOR et al., 2001). Nesse sistema canalizações devem ser adotadas para que a água possa chegar aos bicos nebulizadores, sendo que alguns casos o local por onde sai à água pode estar diretamente acoplado aos ventiladores. Alguns produtores adotam a prática de utilizar esse sistema evaporativo somente quando a temperatura for superior a 28ºC e a umidade do ar for inferior a máxima tolerada que varia de 75 a 85% (FERREIRA, 2005). Em regiões mais úmidas deve-se ter cuidado em relação ao uso da nebulização, pois quando feita de forma errônea, a mesma poderá provocar problemas sanitários devido ao umedecimento da cama (MOURA, 2001).

Técnicas de aquecimento são mais aplicadas no caso de suínos e aves nas fases inicias da vida. Ao nascer, aves e suínos apresentarem baixa capacidade de reter calor corporal em razão do menor isolamento térmico de tecido e maior área de superfície corporal em relação ao peso. Mores et al. (1998) define para leitões recém-nascidos que a forma de aquecimento que agrega melhor eficiência com menor custo seria o emprego de lâmpadas em abrigos escamoteadores com termostato para controle de temperatura, mantendo-a fixada em 29ºC.

Em instalações tipo creche para suínos o aquecimento localizado do microambiente do animal pode ser feito por meio de aquecedores radiantes instalados nas baias ou por meio de aquecedores inseridos no piso. No aquecimento localizado são mais utilizadas lâmpadas infravermelhas comuns, de 125 ou 250 W, com a eficiência variando em função da altura de instalação do sistema. O aquecimento localizado ainda pode ser feito por meio de resistências elétricas que devem estar embutidas no piso, paredes, ou no forro do espaço a ser aquecido; ou por meio de outros tipos de aquecedores radiantes que utilizam como combustível o gás natural ou propano, óleo, lenha, etc.

No caso de aves, segundo Abreu et al. (2000), no inverno em muitas regiões brasileiras, enfrentam-se dificuldades para manter a temperatura ideal de conforto das instalações para os pintainhos. Estes, na fase inicial de vida ainda não possuem o sistema termorregulatório desenvolvido, sendo necessário que a temperatura ambiente esteja em faixas adequadas de acordo com o seu desenvolvimento. Na primeira semana o ideal é que a temperatura ambiente esteja próxima de 35°C, reduzindo para 32° C na segunda semana, 29°C, 26° e 23°C sucessivamente até a quinta semana. Os equipamentos mais comumente utilizados para o aquecimento dos pintainhos são as campânulas a gás ou elétricas, as lâmpadas infravermelhas consideradas como aquecedores elétricos, e as fornalhas que utilizam a lenha como fonte de aquecimento. No entanto, estes equipamentos apresentam grande perda de calor, pois se baseiam em fluxo descendente, além disso, no caso de equipamentos com combustão, podem ser eliminados ao ambiente gases tóxicos prejudiciais aos animais. O aquecimento

também pode ser feito através de resistências elétricas sob o piso, ou através do piso por meio de canalizações que levam o calor por intermédio de um fluido térmico (MORO, 1998), como já visto para suínos na fase de creche. Atualmente os aquecedores a gás liquefeito de petróleo (GLP) são os mais adotados na avicultura industrial, uso relacionado principalmente devido ao alto custo da energia elétrica, que faz com que o uso de aquecedores elétricos em grande escala em regiões com disponibilidade de gás GLP sejam inviáveis tanto economicamente quanto ambientalmente (MORO, 1998).

3. Bem-Estar Animal e Sistemas de Criação de Aves e Suínos

No Brasil e no mundo questões sobre bem-estar animal são cada vez mais discutidas, sendo as espécies animais ditas de produção foco principal dessas abordagens. O termo bem-estar apresenta inúmeras definições dadas por diferentes autores. De acordo com Machado Filho (2000), bem-estar animal é o estado de harmonia entre o animal e seu ambiente, caracterizado por condições físicas e fisiológicas ótimas e alta qualidade de vida do animal. Contudo, não há um conceito científico definido para bem-estar animal, apesar de ser considerado uma ciência, a ciência do bem-estar animal (DUNCAN, 2005).

A preocupação com bem-estar animal se iniciou em 1965, durante a reunião do comitê de BRAMBELL, onde foi proposto o conceito das cinco liberdades que, posteriormente, foi revisado pelo Conselho de Bem-Estar de Animais de Produção do Reino Unido (FAWC) em 1992. Neste conceito eram expressas as liberdades mínimas que um animal de produção deveria ter, destacando-se as possibilidades do animal estar livre para virar-se, cuidar-se, levantar-se, deitar-se e estirar seus membros (DALLA COSTA et al., 2005). Explicando de forma mais detalhada, as cinco liberdades garantiriam aos animais a capacidade de permanecerem livres de fome, sede e de má nutrição, livres de medo e de perigo, livres de desconforto físico e térmico, livres de dor, ferimento e doença e liberdade para expressar padrões normais de comportamento (BROOM & MOLENTO, 2004). As Cinco Liberdades fornecem um conjunto de princípios, sendo que os ideais utópicos expressos em cada liberdade representam os marcos a serem utilizados para se avaliar quão longe práticas específicas estão de atingir os padrões do mais alto grau de bem-estar (MOLENTO, 2005).

Como frequentemente afirmado, bem-estar animal é um termo que se origina na sociedade para expressar preocupações éticas sobre a qualidade de vida experimentada pelos animais (DUNCAN, 2005). Segundo Warris & Brown (2000), as pessoas desejam comer carne com "qualidade ética", isto é, carne oriunda de animais que foram criados, tratados e abatidos em sistemas que promovam o seu bem-estar, e que sejam sustentáveis e ambientalmente corretos.

Em fevereiro de 2004 a Organização Mundial de Saúde Animal (do inglês OFFICE INTERNATINAL DES EPIZOOTIES - OIE) salientou a importância de padrões de bem-estar animal a serem adotados por todos os países exportadores de produtos de origem animal, afetando principalmente os países que não se adequarem. Em países da União Europeia existem moratórias para a eliminação completa de sistemas de criação considerados de muito baixo potencial de bem-estar, muito embora esta transição frequentemente envolva menor produtividade. Para a manutenção de poedeiras em gaiolas industriais, um sistema amplamente utilizado em vários países, e também no Brasil, a União Europeia tem legislação obrigando uma eliminação completa dessa forma de criação até 2012. Já para o confinamento de porcas gestantes em gaiolas este deverá ser banido a partir de 2013. Assim, nas sociedades europeias é clara a tendência de um retrocesso a partir do padrão de produção intensiva extrema em virtude de considerações centradas nos interesses dos animais (MOLENTO, 2005).

Conjuntamente, na definição das condições de bem-estar animal tem-se adotado indicadores fisiológicos, comportamentais, de saúde e produtivos (COSTA-E-SILVA et al.,

2009). Exemplos desses indicadores seriam, o dano físico, a dor, o medo, o comportamento, a redução de defesas do sistema imunológico, e surgimento de doenças.

A exploração intensiva para suínos feita sob regime de confinamento é um exemplo de sistema que comumente provoca frustrações a esses animais por restringir aos mesmos seu comportamento original. Alguns comportamentos anômalos são comumente destacados, como a mordedura das barras de celas parideiras por fêmeas gestantes, ou a impossibilidade das porcas em parto e cria de se moverem ou elaborarem um ninho para os leitões, por ausências de materiais adequados para isso (SILVA, 1999). Outra manifestação de estresse evidenciada por criadores é a tendência de suínos na fase de engorda, em que são criados em grupo, morderem as caudas uns aos outros. A insuficiência de estímulos naturais seria, portanto a causa principal destes e outros estereótipos (MENESES, 1999).

Contra isso, duas grandes vertentes de conduta a favor de promover o bem-estar animal podem ser destacadas. Uma delas é o chamado "enriquecimento ambiental", que consiste em introduzir melhorias no próprio confinamento, com o objetivo de tornar o ambiente mais adequado às necessidades comportamentais dos animais (MACHADO FILHO & HÖTZEL, 2000). São exemplos de medidas direcionadas ao enriquecimento ambiental a colocação de objetos, como correntes e "brinquedos", o uso de palha sobre piso, o aumento da área mínima por animal em terminação, a separação das áreas de excreção e descanso, a adoção de gaiolas parideiras com espaço suficiente para a matriz virar-se, dentre outros. Quando aplicadas, estas medidas são capazes de reduzir sintomas de monotonia, agressões, canibalismo e permitir desenvolvimento de comportamentos próprios à espécie como fuçar e construção de ninhos pelas fêmeas no final da gestação.

Na avicultura de corte os sistemas intensivo e semi-intensivo são os mais empregados. Assim como na suinocultura, o regime intensivo causa estresse intenso, tendo como consequência respostas fisiológicas e comportamentais que podem causar sérios problemas à saúde e bem-estar dos animais (SILVA et al., 2003). Os animais criados em sistemas intensivos são impedidos de realizar diversas atividades naturais ao seu comportamento, como os hábitos de ciscar, empoleirar-se e tomar banho de terra. Devido a isto, vários comportamentos anormais são verificados como agressões através de bicadas e canibalismo e por estes motivos, o sistema de criação semi-intensivo é considerado como uma alternativa. De acordo com Santos et al. (2010), o sistema, informalmente conhecido como "tipo caipira", trata-se de um modelo de baixa densidade, crescimento lento e abate tardio. Os animais têm acesso direto ao pasto, consumindo insetos e forragens típicas da sua cadeia alimentar. Isto lhe confere textura, cor e sabor diferenciado, e com menos gordura na carcaça. Mostra-se ainda como um sistema menos agressivo ao meio ambiente e às aves, afetando positivamente na saúde e bem-estar animal.

Ainda na avicultura de corte outra questão a ser abordada é a determinação do melhor sistema de produção utilizando-se em conjunto artifícios que venham promover o bem-estar animal. Santos et al. (2010), avaliando o comportamento de frangos de corte em sistema de produção caipira utilizando diferentes materiais de enriquecimento ambiental, definiram quatro módulos de produção. No primeiro, os animais só tinham acesso a piquete, no segundo, acesso a piquete com poleiro, no terceiro, acesso a piquete e sombreamento artificial e no quarto, acesso a piquete com poleiro e sombreamento artificial. Ao final do experimento foi verificado que as aves submetidas a módulos de produção com acesso a piquete com poleiro e sombreamento artificial tiveram melhor oportunidade de expressar seus comportamentos naturais e de explorar o ambiente externo, potencializando o bem-estar.

Na avicultura de postura o sistema de criação mais adotado é o de baterias de gaiolas. É caracterizado por um conjunto de gaiolas distribuídas em vários níveis, sendo compatível com alta tecnologia, como, arraçoamento automático, esteiras para a retirada de fezes e programação eletrônica de coleta de ovos. As gaiolas dispensam o uso da cama, proporcionando benefícios para as aves e os funcionários, pois eliminam o contato com as fezes, evitando a coccidiose e

verminoses, e melhoram o ambiente de trabalho, com a diminuição dos níveis de poeira e amônia (ROCHA et al., 2008). Previnem o consumo dos ovos pelas galinhas, já que estes rolam para o aparador após a postura, ficando longe do alcance das mesmas. No entanto, gaiolas comumente utilizadas representam uma preocupação para o bem-estar, pois impedem as aves de apresentarem comportamentos naturais, causando estresse. O limitado espaço ainda restringe a movimentação e as atividades das aves, contribuindo para a "osteoporose por desuso", que torna o osso mais frágil e susceptível a fraturas dolorosas (ROCHA et al, 2008).

Vista as limitações demonstradas pelo atual sistema em relação ao bem-estar desses animais, a legislação internacional de bem-estar de aves poedeiras estabeleceu um conjunto de mudanças, nas instalações e no manejo das aves, visando à melhor adaptação aos novos requisitos do mercado, surgindo assim, os sistemas alternativos para a criação de aves poedeiras, tais como o de "gaiolas enriquecidas", e os de semiconfinamento, que poderão proporcionar às aves uma área com cama e poleiro, além de disponibilizar ninho para a postura (BARBOSA FILHO et al. 2007).

No sistema de gaiolas enriquecidas, as mesmas podem conter poleiros, ninhos, banhos de areia e dispositivos de desgaste das unhas. Segundo Roll et al (2007), os resultados de pesquisas indicam que os poleiros em gaiolas enriquecidas são benéficos às aves, pois aumentam o repertório de comportamentos e a resistência dos ossos, diminuindo problemas de fadiga de gaiola e osteoporose. Porém, em alguns casos a presença de poleiros pode ser prejudicial devido o aumento dos desvios no esterno, em função da pressão que estes exercem sobre o peito das aves enquanto elas descansam, e em maior probabilidade de ocorrência de problemas de inflamação plantar, em função de um estado higiênico insatisfatório dos poleiros. Em relação aos dados de desempenho alguns autores sugerem uma leve redução no consumo de ração e no peso dos ovos sem afetar a conversão alimentar. Em relação aos ninhos e banhos de areia, pouco é informado. Quanto aos dispositivos de desgaste das unhas destacou-se a melhora no estado sanitário das poedeiras. O encurtamento das unhas pode ter efeitos positivos sobre alguns aspectos da sanidade e/ou bem-estar, como a diminuição nos enganches nas gaiolas, bem como a diminuição nas quebras de unhas e arranhões entre aves, melhorando a conservação da plumagem.

No sistema de criação semiconfinado os animais são mantidos em galpões com piso, similares aos galpões empregados para a criação de frangos de corte, ou podem ter parte do piso perfurado com grades que separam as aves de suas fezes. Pode apresentar um ou mais níveis, que devem conter cama, ninhos e poleiros. Por apresentarem maior espaço, e a possibilidade das aves desenvolverem suas atividades normais, este pode ser demonstrado como a mais eficiente alternativa quando o emprego do bem-estar animal integra o modelo produtivo. Barbosa Filho et al. (2007), comparando os sistemas confinado em gaiolas e semiconfinado com cama e ninho em relação ao comportamento animal, verificaram a ocorrência dos comportamentos naturais e de conforto no sistema de criação em cama com ninho, possibilitando melhores condições de bem-estar para as aves, quando comparado com o sistema de criação em gaiolas, onde a expressão desses comportamentos praticamente não ocorreu. Verificaram também, que em condições de estresse térmico, o sistema de criação em cama foi o que se mostrou mais adequado sob o ponto de vista de redução dos efeitos do estresse causados pelos altos valores das variáveis ambientais.

4. Influência do Bem-Estar na Qualidade dos Produtos de Aves e Suínos

Investimentos em bem-estar animal atualmente devem ser enxergados como umas das primeiras preocupações dos produtores avícolas e suinícolas. Kepczynski et al. (2009) destacam que a promoção do bem-estar animal vem ganhando cada vez mais importância como uma exigência dos consumidores, principalmente nos países mais desenvolvidos. De suma

importância para uma maior aceitabilidade do produto no mercado, o bem-estar também influencia diretamente na produção, sendo as boas condições de vida dadas aos animais umas das praticas que renderão melhores características aos produtos.

Em animais destinados para corte, onde o produto final é a carne, a qualidade desta será definida pelo resultado líquido dos efeitos de longo prazo, genética, nutrição, e sanidade, com os de curto prazo, como o manejo pré-abate, que envolve a preparação e tempo de jejum dos animais na granja, embarque, transporte, desembarque, período de descanso no frigorífico e métodos de atordoamento e de abate (DALLA COSTA et al., 2005).

O bem-estar deve estar envolvido em todas as etapas produtivas, caso contrário o nível produtivo esperado por aqueles animais poderá ser comprometido. Animais de corte com peso inferior, má conformação de carcaças, aves de postura botando ovos com casca fina são exemplos de animais explorados em ambientes que não garantem de algum modo o bem-estar necessário aos mesmos. Com isso, demonstrar que o bem-estar resulta em um produto de melhor qualidade é um grande incentivo para melhorar a forma com que os animais são criados, manuseados e abatidos.

Mesmo adequando o bem-estar durante o manejo diário dos processos produtivos de frangos de corte e suínos, é no período compreendido pelo pré-abate em que a qualidade do produto final será mais influenciada e é onde poderão ocorrer as maiores perdas. Num manejo pré-abate inadequado às perdas são mais comuns por normalmente ocasionar maior frequência de lesões, contusões, fraturas, alterações negativas nos parâmetros de qualidade da carne, dentre outros. Sendo a mortalidade do animal durante esse manejo o indicador mais extremo da falta de bem-estar (SILVA & VIEIRA, 2010).

As características de qualidade tecnológica e sensorial da carne podem ser afetadas de maneira irreversível para o processamento e consumo in natura. Os dois maiores problemas enfrentados pela indústria processadora de carnes são a carne pálida, mole e exsudativa (PSE) e a carne escura, dura e seca (DFD), sendo ambas resultantes do metabolismo post mortem (BROSSI, 2007).

A carne PSE representa o principal problema de qualidade na indústria de carnes de aves e suínos devido às suas características como baixa capacidade de retenção de água, textura flácida e cor pálida que levam às elevadas perdas de água durante o processamento. A carne PSE é indesejável tanto para os consumidores como para a indústria de processamento, sendo a principal causa do desenvolvimento da condição carne PSE uma decomposição acelerada do glicogênio após o abate, que causa um valor de pH muscular baixo, geralmente inferior a 5,8, enquanto a temperatura do músculo ainda esta próxima do estado fisiológico, maior que 38 °C, acarretando em um processo de desnaturação proteica que irá comprometer as propriedades funcionais da carne (MAGANHINI et al., 2007). A incidência de carnes PSE está principalmente relacionada com os fatores pré-abate. Em suínos o gene da rianodina, também conhecido como gene halotano, é destacado como o fator causador da predisposição dos animais ao estresse, levando à produção de carne PSE. Geralmente, as linhagens de suínos geneticamente melhoradas apresentaram ocorrência elevada para a síndrome do PSE. Em aves, por sua vez, nada conclusivo quanto ao efeito de genes na suscetibilidade ao estresse é destacado, não sendo possível relacionar a esse fator uma maior ou menor incidência de carnes PSE (MARCHI et al., 2010).

O desenvolvimento da carne DFD também está relacionado com o manejo pré-abate. Os exercícios físicos, o transporte, a movimentação, o jejum prolongado e o contato com suínos estranhos ao seu ambiente acarretam o consumo das reservas de glicogênio, levando à lentidão da glicólise com relativa diminuição da formação de ácido lático muscular. O pH reduz ligeiramente nas primeiras horas e depois se estabiliza, permanecendo em geral em níveis superiores a 6,013. Em decorrência do pH alto, as proteínas musculares conservam uma grande

capacidade para reter água no interior das células e, como consequência, a superfície de corte do músculo permanece pegajosa e escura (MAGAHINI et al, 2007).

Dessa forma, para se obter a máxima eficiência produtiva, reprodutiva e maiores retornos econômicos nas pecuárias avícola e suinícola, efeitos indesejáveis do ambiente sobre estes animais devem ser evitados. As inúmeras respostas fisiológicas avaliadas no estudo sobre o ambiente térmico confirmam que este exerce papel fundamental na produtividade desses animais, sendo ele grande responsável pelos atrasos ou decréscimos que podem vir a ocorrer na quantidade e qualidade da produção. Melhorar o bem-estar dos animais de produção é uma meta para os próximos anos, já que é crescente a demanda pelos produtos de origem animal produzidos sem agredirem ao meio-ambiente ou o animal. No entanto, além dos fatores éticos, o bem-estar influencia na qualidade dos produtos animais, mostrando que seu emprego em uma criação poderá elevar valores de venda do produto final para o criador.

5. REFERÊNCIAS

ABREU, P.G.; ABREU, V.M.N.; BAÊTA, F.C. Metodologia de dimensionamento de sistemas de aquecimento em piso, em função da temperatura e espessura de cama, para criação de frangos de corte. In: Revista Brasileira de Ciência Avícola. Campinas, vol.2 n.1, Jan./Apr. 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script =sci_arttext&pid=S1516-635X2000000100003>. Acesso em: 26 out. 2010.

ALVES, S. P. Avaliação do bem-estar de aves poedeiras comerciais: efeitos do sistema de criação e do ambiente bioclimático sobre o desempenho das aves e a qualidade de ovos. In: Revista Brasileira de Zootecnia, v.36, n.5, p.1388-1394, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbz/v36n5/23.pdf>. Acesso em 29 out. 2010.

BARBOSA FILHO, J. A. D. et al. Avaliação dos comportamentos de aves poedeiras utilizando seqüência de imagens. In: Engenharia Agrícola, Jaboticabal, v.27, n.1, p.93-99, jan./abr. 2007. Disponível em: <http://www.sciel o.br/pdf/eagri/v27n1/02.pdf>. Acesso em: 8 nov. 2010

BRIDI, A. M. Instalações e Ambiência em Produção Animal. 2006. Disponível em: <http://www.uel.br/pessoal/ambridi/Bioclimatologia_arquivos/InstalacoeseAmbienciaemProducaoAnimal.pdf>. Acesso em: 24 out. 2010.

BRIDI, A. M. Efeitos do Ambiente Tropical sobre a Produção Animal. 2000. Disponível em: <http://www.uel.br/pessoal/ambridi/Bioclimatologia_arquivos/EfeitosdoAmbienteTropicalsobreaProducaoAnimal.pdf> . Acesso em: 24 out. 2010.

BROOM, D. M.; MOLETO, C. F. M. Bem-estar animal: conceitos e questões relacionadas – revisão. Archives of Veterinary Science. Brasil, v. 9, n .2, p. 1-11, 2004. Disponível em: <http://www.unb.br/posgraduacao/docs/fav/BEMESTARANIMALCONCEITOQUESTOESRELACIONADAS.pdf>. Acesso em: 22 out. 2010.

BROSSI, C. Qualidade de carne de frango: efeito do estresse severo pré-abate, classificação pelo uso da cor e marinação. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Ciências, Universidade Federal de São Paulo, piracicaba, 2007

COSTA-E-SILVA, E, V, da. et al. Bem-estar, ambiência e saúde animal. 2009. Disponível em: <http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/viewFile/79 25/5785>. Acesso em: 23 out. 2010.

DALLA COSTA, O. A.; LUDKE, J. V.; COSTA, M. J. R. P. da. Aspetos econômicos e de bem-estar animal no manejo de suínos da granja até o abate. In: IV Seminário Internacional de Aves e Suínos – AVESUI. Florianópolis, 2005. Disponível em: <http://www.freewebs.com/ hotzel/DallaCostaTransporteSuinos.pdf>. Acesso em: 26 out. 2010.

DUNCAN, I. J. H. Science-based assessment of animal welfare: farm Animals. In: Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz., 2005, 24 (2):483-492. Disponível em: <http://www.labea.ufpr.br/publicacoes/pdf/Tradu%E7%E3o%20LABEA%20WSPA%20Duncan.pdf>. Acesso em: 22 out. 2010.

FERREIRA, Rony Antonio. Maior produção com melhor ambiente: para aves, suínos e bovinos. Viçosa, MG: Aprenda Fácil, 2005.

JÁCOME, J. M. T. D. et al. Avaliação de índices de conforto térmico de instalações para poedeiras no nordeste do Brasil. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v.11, n.5, p.527–531, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbeaa/v11n5/v11n05a 13.pdf> Acesso em 28 out. 2010.

KEPCZYNSKI, F.; PINTO, M. F.; BITENCOURT, D. A. Bem-Estar Animal como Valor Agregado aos Produtos Avícolas: Insensibilização em Atmosfera Controlada. 2009. Disponível em: <http://prope.unesp.br/xxi_cic/27_35439865896.pdf> . Acesso em: 23 out. 2010.

MACHADO FILHO, L. C.; HÖTZEL, M. J. Bem estar em suínos. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE SUINOCULTURA, 5., São Paulo, 2000. Anais... São Paulo: Gessuli, 2000... p. 88-105. Disponível em: <http://www.uov.com.br/biblioteca-arquivos/curso55-6.pdf>. Acesso em: 22 out. 2010.

MACHADO FILHO, L. C. P. Bem-estar de suínos e qualidade da carne: uma visão brasileira. P. 34-40 In: 1ª CONFERÊNCIA INTERNACIONAL VIRTUAL SOBRE QUALIDADE DE CARNE SUÍNA: bem-estar, transporte, abate e consumidor. 2000, Concórdia, SC. Anais... Concórdia: EMBRAPA-CNPSA, 2000. 253p. (EMBRAPA-CNPSA. Documentos, 69). p. 34-40.

MAGANHINI, M. B. et al. Carnes PSE (Pale, Soft, Exudative) e DFD (Dark, Firm, Dry) em lombo suíno numa linha de abate industrial. In: Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 27(supl.): 69-72, ago. 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v27s 1/a12v27s1.pdf> Acesso em: 13 nov 2010.

MARCARI, M.; FURLAN, R. L. Ambiência na produção de aves em clima tropical. In: SILVA, I. J. O. da. Ambiência na Produção de Aves em Clima Topical. Piracicaba, 2001. p. 31-87.

MARCHI, D. F. et al. Avaliação do halotano como agente estressor em frangos. In: Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 31, n. 2, p. 405-412, abr./jun. 2010. Disponível em: <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/viewFile /5344/4855>. Acesso em: 13 nov. 2010.

MENESES, J. F. Produção de suínos e bem estar animal: uma perspectiva européia. In: SILVA, Iran José Oliveira da. Ambiência e Qualidade na Produção Industrial de Suínos. Piracicaba: FEALQ, 1999. p.180-195.

MOLENTO, C. F. M. Bem-estar e produção animal: Aspectos econômicos – revisão. In: Archives of Veterinary Science. v.10, n.1, p. 1-11, 2005. Disponível em: <*ojs.c3sl.ufpr.br/ojs2/index.php/veterinary/article/download/4078/3305*>. Acesso em: 23 out. 2010.

MORES, N. et al. Manejo do leitão desde o nascimento até o abate. In: SOBESTIANSKY, J. suinocultura intensiva: produção, manejo e saúde do rebanho. Brasília: SPI, 1998. p. 135-162.

MORO, D. Sistemas de aquecimento em aves. In: SIMPÓSIO INTERNACINAL SOBRE AMBIÊNCIA E SISTEMAS DE PRODUÇÃO AVÍCOLA. 1998, Concórdia, SC. Anais... Concórdia: EMBRAPA-CNPSA, 1998. 194 p. (EMBRAPA-CNPSA. Documentos, 53).

MOURA, D. J. de. Ambiência na produção de aves de corte. In: SILVA, I. J. O. da. Ambiência na Produção de Aves em Clima Topical. Piracicaba, 2001. p.75-148.

MÜLLER, P. B. Bioclimatogia Aplicada os Animais Domésticos. 2ª ed. Porto alegre: Sulina, 1982.

RABELLO, C. B. Produção de Aves em Clima Quente. Associação brasileira de zootecnistas. João Pessoa, 2008. disponível em: < www.abz.org.br/files.php?file=documentos/Carlos_Boa Viagem_420207005.pdf> Acesso em 08 nov. 2010.

ROCHA, J. S. R., LARA, L. J. C., BAIÃO, N. C. Produção e bem-estar animal: aspectos éticos e técnicos da produção intensiva de aves. In: Ciência Veterinária nos Trópicos, Recife, v. 11, suplemento 1, p. 49-55, 2008. Disponível em: <http://www.veterinarianostropicos.org.br/supl emento11/49-55.pdf> Acesso em: 22 out. 2010.

ROLL, V. F. B. et al. Uso de gaiolas enriquecidas para poedeiras comerciais, 2007. Disponível em: <http://www.aveworld.com.br/aveworld/artigos/post/uso-de-gaiolasenriqueci das-para-poedeiras-comerciais_1360>. Acesso em: 08 nov. 2010.

ROSA, J. F. V. Avaliação de Painéis Porosos Constituídos de Argila Expandida em Sistemas de Resfriamento Adiabático Evaporativo. 2009. 82f. Tese (Doutorado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

SANTOS, M. J. B. dos et al. Comportamento bioclimático de frangos de corte caipira em piquetes enriquecidos. In: Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v.14, n.5, p.554–560, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbea a/v14n5/a14v14n5.pdf > Acesso em: 27 out. 2010.

SANTOS, P. A. dos et al. Avaliação dos sistemas de aquecimento a gás e a lenha para frangos de corte. In: Revista Ceres, V. 56, n. 2, p. 009- 017, 2009. Disponível em: <http://www.ufv.br/dea/ambiagro/arquivos/Artigo%20Albino%20 2009.pdf>. Acesso em: 15 nov. 2010.

SARTOR, V. et al. Sistemas de resfriamento evaporativo e o desempenho de frangos de corte. In: Scientia Agricola, v.58, n.1, p.17-20, jan./mar. 2001

SILVA, I. J. O. da. Sistemas naturais e artificiais no controle do ambiente. In: SILVA, Iran José Oliveira da. Ambiência e Qualidade na Produção Industrial de Suínos. Piracicaba: FEALQ, 1999. p. 81-111.

SILVA, I. J. O. da.; VIEIRA, F.M.C. Ambiência animal e as perdas produtivas no manejo pré-abate: o caso da avicultura de corte brasileira. In: Archivos de Zootecnia. 59 (R): 113-131. 2010. Disponível em: <http://www.uco.es/organiza/servicios/publica/az/php/img/web/08_11_34_1869REVISIONAmbienciaSilva.pdf>. Acesso em: 27 out. 2010.

SILVA, M, A, N, da. et al. Influência do sistema de criação sobre o desempenho, a condição fisiológica e o comportamento de linhagens de frangos para corte. In: Revista Brasileira de Zootecnia, v.32, n.1, p.208-213, 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbz/v32n1/ 16094.pdf>. Acesso em: 26 out. 2010.

SILVA, R. G. da. Introdução à Bioclimatologia Animal. São Paulo: Nobel, 2000.

WARRIS, P. D., BROWN, S.N. Bem-estar de suínos e qualidade da carne: uma visão britânica. In: 1ª CONFERÊNCIA INTERNACIONAL VIRTUAL SOBRE QUALIDADE DE CARNE SUÍNA: bem-estar, transporte, abate e consumidor. 2000, Concórdia, SC. Anais... Concórdia: EMBRAPA-CNPSA, 2000. 253p. (EMBRAPA-CNPSA. Documentos, 69). p. 17-20.

Capítulo 33- Fertilização nitrogenada e orgânica líquida em pastagens

Freitas, G.S.[1]; Freitas, R.S.[2]; Oliveira, M.C.[2], Moraes, G.S.O.[3]; Dobbss, L.B.[4]; Chambela, A.C.[5]; Deminicis, B.B.[6]

INTRODUÇÃO

O Brasil apresenta características climáticas que favorecem a exploração de forragens com grande potencial de produção de biomassa, sendo 20% do território nacional ocupado por plantas forrageiras, ou seja, aproximadamente 180 milhões de hectares (IEIRI et al., 2010). É possuidor do maior rebanho comercial do mundo, com aproximadamente 170 milhões de cabeças, é o segundo maior produtor de carne bovina, apresentando potencial para ampliar de forma significativa a produção (TUFFI SANTOS et al., 2004).

Segundo Vitor et al. (2009), em geral a produção pecuária brasileira, de corte e leite, tem como base de sustentação alimentar as pastagens, pois estas representam uma fonte de alimento de menor custo e de acordo com a exigência da sociedade em qualidade e preservação dos recursos ambientais. Porém a produção de bovinos é caracterizada como uma situação de exploração extrativista, onde as pastagens são conduzidas em solos de baixa fertilidade natural não havendo a restituição dos nutrientes extraídos pelas forrageiras, levando a uma condição de degradação (IEIRI et al., 2010) condicionando a perda da capacidade produtiva das pastagens (MOREIRA e ASSAD, 2000).

Diante da necessidade de uma pecuária empresarial, a pastagem assume papel de importância para o sucesso da atividade, tornando necessário conduzi-la buscando a manutenção da sua capacidade produtiva (TUFFI SANTOS et al., 2004).

Entretanto na prática o que se observa é a predominância de pastagens degradadas. A degradação de pastagens causa grandes prejuízos ambientais e econômicos no Brasil, estimativas recentes sugerem que pelo menos metade das áreas de pastagens em regiões ecologicamente importantes, estão em degradação ou degradadas (DIAS-FILHO, 2002).

A recuperação da produtividade dessas áreas deve ser prioritária, uma vez que as restrições ambientais tendem a reduzir as possibilidades de contínua incorporação de áreas ainda inalteradas para aformação de novas pastagens (DIAS-FILHO, 2006).

O crescimento e persistência das gramineas nos trópicos são limitados pela deficiência nutricional, principalmente de nitrogênio (N), uma vez que este nutriente acelera a formação e crescimento de novas folhas, além de aumentar o vigor de rebrota o que contribuem para melhor recuperação após o corte resultando em maior produção e capacidade de suporte (CECATO et al., 1996).

Reconstituir a fertilidade do solo, esgotada pelos anos de exploração extrativista, é um dos caminhos para reverter a situação atual das pastagens brasileiras, sendo o nitrogênio

[1]Zootecnista, Mestre em Ciências veterinárias pela UFES. Email: guilhermesantosfreitas@hotmail.com
[2]Graduando em Zootecnia pela Universidade Federal do Espírito Santo, CCA/UFES, Alegre-ES.
[3]Zootecnista, Mestranda em Ciência Animal e Pastagens da Universidade Federal Rural de Pernambuco.
[4]Eng. Agronomo, *D.Sc.* Professor da Universidade de Vila Velha – UVV.
[5]Zootecnista, *D.Sc.* Professor do Instituto Federal do Espírito Santo – Campus de Santa Teresa.
[6]Professor do Programa de Ciências Veterinárias, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, CCA/UFES, Alegre-ES.

considerado o nutriente de maior requerimento, desta forma o mais importante na tentativa de recuperar as pastagens que apresentam perda de vigor (COSTA et al., 2009a).

Uma possibilidade que pode ser associada a estratégias de recuperação de pastagem é pelo uso de substâncias húmicas liquidas objetivando o estímulo da forrageira por efeito fisiológico, aumentando a capacidade produtiva das mesmas, uma vez que estão comprovados os efeitos benéficos dessas substâncias sobre os vegetais. Essas substâncias têm atividade parecida com a dos hormônios vegetais e aumentam a absorção de nutrientes e o crescimento vegetal (NARDI et al., 2002).

Tem crescido o interesse pela aplicação de produtos a base de substâncias húmicas em lavouras comerciais em função das respostas obtidas especialmente em cultivos de alto interesse econômico (BALDOTTO et al., 2009).

2. *Brachiaria Brizantha*

As pastagens cultivadas ocupam uma área de cerca de 120 milhões de hectares, das quais 80% são representadas por capins do gênero Brachiaria (SANTOS FILHO, 1996; MACEDO, 2005).

Por adaptar-se excepcionalmente a solos ácidos e de baixa fertilidade natural, as brachiarias, introduzidos entre 1960 e 1975, tiveram nos trinta anos seguintes uma ampla expansão no território brasileiro e América tropical (REZENDE; do VALLE; JANK, 2008). Esta expansão tem sido verificada no Brasil em proporções jamais vistas por outra forrageira em qualquer outro pais de clima tropical (SOUZA, 2002).

Dentre as espécies de brachiaria, a mais utilizada é o capim marandu, (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu), caracterizado pela resistência a cigarrinha (*Zulia spp. E Deois spp*), bom valor nutritivo, alta capacidade produtiva de matéria seca e de sementes. Outros fatores importantes na disseminação de tal espécie são: tolerância ao manejo inadequado, estabelecimento por sementes, aptidão a pastejo diferido, baixa susceptibilidade de ataque de formigas e cupins. Estima-se que 50-60% das áreas de pastagens cultivadas sejam ocupadas por esta gramínea na região centro-oeste (MACEDO, 2005).

Esta cultivar é uma espécie perene, possui sistema radicular vigoroso e profundo, possui elevada tolerância a deficiência hídrica, ao frio e sombreamento, baixa resistência a umidade (BARDUCCI et al.; 2009). É indicada para pastoreio e feno, possui bom potencial forrageiro, produção média de 50 toneladas de massa verde/ha/ano e teor médio de proteína bruta (SOARES FILHO et al., 2002).

3. Pastagem degradada

A degradação das pastagens é relativamente comum em ecossistemas tropicais. Caracterizar uma pastagem como degradada pode estar relacionado a aspectos peculiares, tendo grande relação com a região ou nível tecnológico em que esta se encontra (DIAS-FILHO 2005).

Atualmente a degradação das pastagens é um dos tópicos mais relevantes da pecuária nacional (OLIVEIRA et al., 2004).

Estima-se que 80% dos 50 a 60 milhões de hectares de pastagens cultivadas no Brasil Central encontram-se em algum estado de degradação, ou seja, em processo evolutivo de perda de vigor, sem possibilidade de recuperação natural (IEIRI et al., 2010)

Entende-se por degradação de pastagens o processo de evolução da perda de vigor, de produtividade, de capacidade de recuperação natural para sustentar os níveis de produção e qualidade exigidos pelos animais, assim como superar efeitos nocivos de pragas, doenças e invasoras em conjunto com a degradação avançada dos recursos naturais em razão de manejo inadequado (MACEDO; ZIMMER,1993).

Muller et al (2001), avaliando pastagens degradadas, concluiram que a degradação reduz a cobertura do solo e isso auxilia o processo de aumento de densidade do solo, devido a maior exposição ao pisoteio do gado, diminuindo a porosidade na camada superficial.

Com a ocorrência da diminuição da parte aérea da planta devido ao processo de degradação ocorre cocomitantemente a diminuição do sistema radicular, de forma que este se concentra mais na superfície do solo, restringindo o acesso da planta a água e nutrientes (MULLER et al., 2001).

O solo com baixa cobertura está mais exposto ao impacto das gotas das chuvas, estabelecendo um início de processo erosivo, podendo provocar selamento superficial e diminuição da infiltração e armazenamento de água, intensificando o processo erosivo (MULLER et al., 2001).

Entender o fenômeno da degradação de pastagens e as suas causas é essencial para formular estratégias de recuperação da produtividade dessas áreas, reduzindo, assim, as pressões de desmatamento que visam à formação de novas pastagens.

3.1. Processos, causas e níveis da degradação

A degradação é consequência de vários fatores que atuam isoladamente ou em conjunto, como, preparo incorreto do solo, escolha errada da espécie forrageira, uso de sementes de baixa qualidade, má formação inicial, manejo inadequado e, principalmente, em razão da não reposição dos nutrientes perdidos no processo produtivo (PERON; EVANGELISTA, 2004).

Segundo Tuffi Santos et al (2004) os principais fatores causadores da degradação são: falta de adaptação da espécie cultivada ao meio, má formação inicial, perda de fertilidade pelo solo devido a falta de adubação de manutenção, manejo inadequado.

Segundo Silva et al (2004), a falta de adaptação da espécie forrageira ao local cultivado, assim como a diminuição da fertilidade do solo, associada ao manejo inadequado da pastagem, pode promover o ressurgimento de plantas consideradas invasoras em pastagens cultivadas. Além destes fatores, a utilização extrativista das pastagens acarreta redução da quantidade e da qualidade da forragem produzida.

O uso de mesma taxa de lotação durante todo o ano é prática comum adotada pela maioria dos criadores, o que ocasiona em um pastejo além da capacidade de suporte no período de estiagem, o que contribui acelerando o processo de degradação das pastagens (SILVA et al., 2004).

Segundo Dias-Filho (2007), para pastagens cultivadas, as principais causas de degradação são: práticas inadequadas de pastejo tais como:uso de taxas de lotação ou períodos de descanso que desconsideram a taxa de deposição de tecido da forrageira; práticas inadequadas de manejo da pastagem pela ausência de reposição de nutrientes, uso excessivo do fogo por exemplo; falhas no estabelecimento da pastagem pelo preparo inadequado do solo, uso de sementes de baixa qualidade, plantio em época inadequada e fatores bióticos como o ataque de insetos-praga e patógenos e abióticos como excesso ou falta de chuvas, baixa fertilidade e drenagem deficiente dos solos.

Segundo Barcellos (1986), considera-se uma pastagem com baixo nível de degradação quando a forrageira apresenta perda do vigor vegetativo (enfraquecimento), contribuindo para isto as condições edáficas e climáticas da região onde essa pastagem se encontra.

Com o passar do tempo, após seu estabelecimento, uma pastagem pode ir aos poucos perdendo ainda mais seu vigor vegetativo e consequentemente diminuindo sua capacidade de produção de forragem, cobertura do solo (que permite o aparecimento de algumas invasoras), essas condições caracterizam um médio nível de degradação (DIAS-FILHO, 2007)

Caracteriza um alto nível de degradação em pastagem a presença acentuada de plantas invasoras, alta percentagem de solo exposto na área, cupins, e basicamente, como consequência da falta de cobertura do solo, a erosão (BARCELLOS, 1986).

3.2. Recuperação de pastagens degradadas

Para recuperar áreas degradadas, é fundamental melhorar a fertilidade do solo e o manejo da planta forrageira. O manejo da fertilidade do solo em áreas de pastagens degradadas difere do realizado em áreas recém-implantadas ou manejadas intensivamente. A resposta ao uso de fertilizantes em pastos degradados aumenta durante o processo de recuperação (OLIVEIRA et al., 2003). Segundo Dias-Filho (2007) existem três principais estratégias de recuperação de pastagens degradadas: Renovação da pastagem; implantação de sistemas agrícolas e agroflorestais e pousio da pastagem.

A escolha de cada uma dessas opções estaria condicionada a fatores de natureza econômica, agronômica e ecológica. Esses fatores, por sua vez, seriam influenciados pelo capital disponível pelo produtor, pela localização geográfica da área e pelo nível e forma de degradação (DIAS-FILHO, 2008).

Recuperação ou a renovação de pastagens são estratégias para melhoria da produção e cobertura vegetal em áreas degradadas. Recuperação é o restabelecimento da capacidade produtiva da pastagem formada com a mesma espécie, utilizando-se ou não a semeadura, já a renovação da pastagem, por sua vez, consiste na utilização de práticas agronômicas visando à completa substituição da forrageira existente na pastagem por outras (VITOR et al., 2008)

A resistência do solo à penetração das raízes é uma propriedade física que influencia diretamente no crescimento radicular e consequentemente da parte aérea da planta. A resistência do solo à penetração é muito utilizada para avaliação dos efeitos dos sistemas de manejo do solo sobre crescimento e desenvolvimento radicular (TORMENA e ROLOFF, 1996).

Costa et al. (2009b), trabalhando com pastagens degradadas, concluiu que o uso da cama de frango auxiliou no processo de descompactação do solo, reduzindo a densidade do mesmo. Calagem e fertilizações, associadas ao manejo adequado da planta forrageira, promovem a recuperação da pastagem, representada pelo aumento em produtividade (Oliveira et al.,2004).

Bomfim et al (2003), trabalhando com tratamentos físicos associados a adubação em pastagens degradadas de *Brachiaria*, concluiram que o uso de grade intermediária associado a adubação nitrogenada apresentou efeitos desejados na recuperação da pastagem, enquanto o tratamento com escarificador não apesentou resultados significativos.

Segundo Fávero et al (2008), os sistemas agroflorestais quando conduzidos nos princípios da agroecologia, são uma boa opção para recuperação de áreas degradadas, em razão da disponibilização de nutrientes no solo. Segundo estes autores, os sistemas agroflorestais estabelecidos sobre áreas degradadas, apresentaram maior acumulo de matéria orgânica quando comparado a área de pastagem.

4. Adubação nitrogenada e uréia

O nitrogênio é um dos principais nutrientes para a intensificação da produtividade das gramíneas forrageiras, pois é o constituinte essencial das proteínas e interfere diretamente no processo fotossintético, por meio de sua participação na molécula de clorofila. Este elemento indisponível acarreta redução na produção do pasto, iniciando o processo de degradação (MEIRELLES, 1993).

A fertilização nitrogenada é essencial em pastagens sob uso intensivo, em recuperação e sistemas irrigados, pois nessas condições as plantas forrageiras tropicais respondem a elevadas

doses de nitrogênio (OLIVEIRA et al., 2004). Euclides (2000) considera a perda de fertilidade o principal problema que causa a degradação das pastagens, sendo a deficiência de nitrogênio o fator mais importante.

O uso da adubação nitrogenada é recomendável para aumentar a densidade da forragem e, sobretudo, a disponibilidade das mesmas (PARIS et al., 2009). Ao acelerar a taxa de crescimento, independentemente da altura do pasto, o nitrogênio pode propiciar o aumento do consumo por elevar a produção de matéria seca dentro dos estratos verticais da pastagem (HERINGER; MOOJEN, 2002) e da produção por área (PRIMAVESI et al., 2004).

O uso de fertilizantes nitrogenados é uma prática de manejo de pastagens que proporciona aumento da capacidade suporte na propriedade e melhoria no desempenho econômico, devido o aumento na produção e qualidade forrageira (ANDRADE et al., 2003). Aumentando o nível de nitrogênio no solo, a planta forrageira suporta maior frequência de uso, aumenta a produção de massa seca, taxa de lotação e ganho de peso animal (FAVORETTO et al., 1985).

O potencial produtivo das forrageiras na pastagem pode ser melhorado com a adubação nitrogenada, porém, sua utilização tem sido limitada pelo custo, em virtude da extensão das áreas envolvidas e da necessidade de aplicações frequentes, além de poder ser facilmente perdido quando não associado à parte orgânica do solo (VITOR et al., 2008).

A disponibilidade de N no solo depende do balanço entre os processos de mineralização e de imobilização (COSTA et al., 2008). Em pastagens tropicais com manejo extensivo, sem adubação nitrogenada, a disponibilidade de N depende, em grande parte, da mineralização do nitrogênio dos resíduos vegetais. O balanço entre esses processos pode variar com o tempo e, principalmente, com a natureza do resíduo orgânico em decomposição, além de depender da atividade microbiana do solo (AITA; GIACOMINI, 2007).

Assim, a disponibilidade de nitrogênio é um dos fatores que controlam os processos de crescimento e desenvolvimento da planta, representado sobretudo pela maior rapidez de formação das gemas axilares e de iniciação dos perfilhos correspondentes (VITOR et al., 2009).

Desta forma o nitrogênio merece bastante atenção, em razão dos seguintes motivos: reciclagem no sistema comprometida pela distribuição desuniforme e pelas altas perdas ocorridas nas dejeções dos animais (CORSI; MARTHA JR, 1997); esgotamento do nitrogênio do sistema levando à degradação das pastagens, elevado requerimento em quantidade e maior custo desse nutriente, essencial para a exploração de sistemas intensivos de pastagens (BODDEY et al., 2000).

Perdas, como as gasosas (desnitrificação e volatilização de amônia), a lixiviação, também concorrem, elevando a importância dos fenômenos envolvidos com o uso de N em pastagens (OLIVEIRA; CORSI, 2001).

Por o ciclo do nitrogênio ser complexo, pelas múltiplas transformações e por sua mobilidade no sistema solo-planta, os fertilizantes nitrogenados aplicados passam por uma série de transformações químicas e microbianas, que podem resultar em perdas, nesse contexto, considerando o custo dos adubos nitrogenados, é fundamental o desenvolvimento de formas adequadas de adubação nitrogenada, que busquem o melhor aproveitamento de N pela cultura (CAMPOS et al., 2007).

Desta forma o uso de adubos nitrogenados tem grande impacto nos índices de produtividade e no potencial de melhoria no desempenho econômico da atividade pecuária, pois exerce efeitos positivos sobre a produção e valor nutricional da forragem (ANDRADE et al., 2003).

Lange et al (2006) concluíram que a adubação nitrogenada em pastagens, normalmente aumenta o teor de nitrogênio total, nitrato e amônio no solo, porém fertilizações sucessivas com doses elevadas podem provocar queda do pH.

Segundo Costa; Faquim e Oliveira (2010), o uso de adubação nitrogenada é essencial para a recuperação de pastagens degradadas, aumentando o vigor das plantas, e acúmulo de matéria seca.

Atualmente, a uréia é a fonte nitrogenada mais utilizada na agricultura brasileira, em razão do seu menor custo em relação aos demais fertilizantes nitrogenados sólidos (TRIVELIN et al., 2002). Esta representou 51% das 4,3 milhões de toneladas de fertilizante nitrogenado, comercializado no País em 2010 (Anuário estatístico do setor de fertilizantes 2009-2010, 2010). No entanto, quando aplicada em superfície, pode diminuir muito sua eficiência agronômica, devido a perda de amônia por volatilização (TRIVELIN et al., 2002).

A uréia tem como vantagens sobre os demais fertilizantes nitrogenados o menor custo por quilograma, alta concentração de nitrogênio, fácil manipulação além de causar menor acidificação no solo, o que a torna potencialmente superior a outras fontes de nitrogênio no ponto de vista beneficio/custo (PRIMAVESI et al., 2004; MARTHA JÚNIOR et al., 2004).

Lange et al. (2006) concluiram que a fertilização com uréia, por ser uma molécula de reação básica, provoca aumento do pH no início, principalmente próximo aos grânulos do adubo. Entretanto, após a nitrificação do amônio, originado da hidrólise da uréia, o pH decresce para valores inferiores aos originais.

Porém este fertilizante, devido suas características químicas e pela facilidade de ser hidrolisada no solo, apresenta severas perdas por volatilização do $N\text{-}NH_3$, o que constitui um dos principais fatores responsáveis pela baixa eficiência da ureia em fornecer nitrogênio ás culturas (CANTARELLA, 2007).

Nas pastagens tropicais, a volatilização de amônia (NH_3) é uma das principais vias de perda, principalmente quando a uréia é aplicada a lanço e em cobertura no final do período das chuvas (VITTI et al., 2007). Para reduzir perdas por volatilização pode-se incorporar a uréia ao solo a 4 a 5 cm de profundidade, no entanto, essa prática não é recomendada para pastagens, principalmente cespitosas, pois pode prejudicar o sistema radicular da planta forrageira, diminuindo o vigor de rebrota da pastagem (CORSI et al., 2001).

Os resíduos decorrentes da senescência das plantas formam uma camada sobre a superfície do solo, retendo umidade e dejetos animais, desta forma favorecem o desenvolvimento de microrganismos que sintetizam a enzima uréase, o que intensifica o processo de hidrólise da uréia e favorece as perdas por volatilização (OLIVEIRA; TRIVELIN; OLIVEIRA, 2007).

Carassai et al (2008), trabalhando com pastagens nativas adubadas com uréia, concluíram que a falta de água no sistema não permite que a pastagem responda de forma mais intensa à adubação, o que inviabiliza a aplicação de fertilizantes nitrogenados.

Em estudo de doses de nitrogênio e enxofre em pastagem degradada de capim-braquiária, Bonfim-da-Silva e Monteiro (2006), verificaram que as doses de nitrogênio foram determinantes para a produção de massa seca das lâminas foliares e dos colmos mais bainhas.

As doses e o parcelamento são fundamentais no manejo da adubação nitrogenada, com objetivo principal de diminuir as perdas por volatilização e lixiviação, assim consegue-se melhor aproveitamento do nitrogênio pela planta, redução das perdas e manutenção de taxas de acúmulo de matéria seca mais uniforme (WERNER et al., 2001).

As perdas de nitrogênio, em qualquer uma das formas (lixiviação ou desnitrificação), provenientes no mal manejo da adubação nitrogenada, são potencialmente poluidoras do meio ambiente (SILVA et al., 2011).

Doses elevadas de nitrogênio promovem acréscimos lineares na produção de massa seca e no teor de proteína bruta além de promover redução nos teores de FDN e FDA. (COSTA; FAQUIM e OLIVEIRA, 2010).

Silva et al (2011), trabalhando com diferentes doses de nitrogênio concluíram que a eficiência de utilização de nitrogênio pelo capim-marandu aumentou com o aumento das doses de aplicadas não sendo esta eficiência alterada pelas diferentes fontes.

Cabral et al (2012), trabalhando com doses de nitrogênio em *brachiaria brizantha* concluíram que a fertilização contribui positivamente para o aumento do número de folhas totais, principalmente no período chuvoso, onde encontrou maior eficiência na dose de 250 kg/ha de nitrogênio, pois a forrageira respondeu com aumento na densidade dos perfilhos, permanecendo o efeito ao longo do ano, garantindo a perenidade da gramínea.

Experimentos realizados por Rodrigues et al (2008) levara-os a concluir que ocorre grande exportação de fotoassimilados das folhas para os colmos com o aumento das doses de nitrogênio, provocando redução na relação folha/colmo, contudo há aumento crescente da produção de folhas, refletindo na produção de massa seca total da parte aérea no *Brachiaria brizantha*.

Fagundes et al (2006) trabalhando com doses de nitrogênio aplicadas em diferentes épocas no capim Brachiaria concluíram que a densidade populacional de perfilhos vivos e vegetativos, a biomassa de forragem e a densidade volumétrica de forragem aumentaram linearmente, enquanto a densidade de perfilhos mortos decresceu com a adubação nitrogenada.

5. Matéria orgânica do solo

Mesmo contribuindo com uma pequena parcela do total dos solos, a matéria orgânica representa um componente fundamental para a manutenção da qualidade do solo, essencial em vários processos químicos, físicos e biológicos do ecossistema terrestre (CONCEIÇÃO et al., 2005).

A matéria orgânica é um produto originário de resíduos da biota, principalmente vegetais, decompostos de forma parcial e sintetizados, de forma complexa e diversificada (SILVA; RESCK, 1997).

Compostos orgânicos de baixo peso molecular são comumente encontrados em solos, originários, principalmente, da exsudação de fungos e raízes de plantas e da decomposição e solubilização da matéria orgânica depositada na superfície ou incorporada nos horizontes superficiais do solo (DEVÊVRE et al., 1996).

As substâncias húmicas apresentam grupos funcionais que participam de várias reações químicas no solo, como complexação metal-orgânica e adsorção de íons, podendo promover a amenização de vários elementos toxicos, mobilização do calcário e de cátions no perfil do solo (ZIGLIO et al., 1999).

O principal componente da matéria orgânica são as substâncias húmicas que de acordo com suas solubilidades em diferentes faixas de pH são subdivididas em ácidos húmicos, ácidos fulvicos (PAVINATO; ROSOLEM, 2008).

5.1. Efeito das substâncias húmicas sobre o crescimento vegetal

As substâncias húmicas são supra estruturas, originadas da degradação biológica de resíduos animais, vegetais e ação de microrganismos (ROSA et al., 2001). Apresentam alto teor de grupos funcionais contendo oxigênio na forma de carboxilas, hidroxilas fenólicas e carbonilas (SARGENTINI JÚNIOR et al., 2001).

Segundo Rossi et al (2011), as substâncias húmicas são fracionadas de acordo com a solubilidade a diferentes valores de pH em: ácidos húmicos, ácidos fúlvicos e humina. Os ácidos húmicos são os principais responsáveis pela maior capacidade de troca catiônica (CTC) de origem orgânica na superfície do solo, onde encontra-se os resíduos culturais (BENITES et

al., 2003). Essas substâncias têm atividade parecida com a dos hormônios vegetais e aumentam a absorção de nutrientes e o crescimento vegetal (NARDI et al., 2002).

Desde o início do século passado já se conhecia a propriedade das substâncias húmicas de estimular o crescimento vegetal quando usados em concentrações relativamente pequenas (BOTTOMLEY, 1917). Estas substâncias possuem capacidade de estimular o crescimento radicular, sendo este efeito variável de acordo com a concentração dessas substâncias, a fonte e a espécie de planta utilizada (NARDI et al., 2009).

Os mecanismos fisiológicos responsáveis pela estimulação no crescimento vegetal incluem a formação de complexos mais solúveis com micronutrientes e a interação com constituintes enzimáticos da membrana plasmática de forma semelhante à ação dos hormônios vegetais (CANELLAS et al., 2002). Tem crescido o interesse pela aplicação de produtos a base de substâncias húmicas em lavouras comerciais em função das respostas obtidas especialmente em cultivos de alto interesse econômico (BALDOTTO et al., 2009).

5.2. Vermicomposto como fonte de substâncias húmicas

A vermicompostagem se resume na transformação da matéria orgânica, resultante da ação de minhocas e microrganismos que vivem em seu trato digestivo, acelerando a decomposição dos resíduos orgânicos (LOQUET; VINCESLAS, 1987).

O vermicomposto difere do composto convencional, dentre outras características, pela maior estabilização dos resíduos que, ao passarem pelo trato digestivo da minhoca, sofrem reações enzimáticas adicionais, convertendo rapidamente os resíduos em substâncias húmicas (ALMEIDA, 1991).

O composto de minhoca aumenta a fertilidade do solo pelo aumento da oferta de nutrientes e pela melhoria das propriedades físicas do solo (LANDGRAF et al., 1999). As minhocas aumentam significativamente a velocidade da decomposição dos resíduos orgânicos e também produzem substâncias húmicas com elevada atividade biológica (QUAGGIOTTI et al., 2004). Os benefícios do uso de vermicomposto são bem documentados, incluindo o efeito direto das substâncias húmicas sobre o desenvolvimento e metabolismo de várias espécies de plantas (FAÇANHA et al., 2002).

Segundo Rodda et al (2006) acidos húmicos extraidos de vermicomposto produzido a partir de esterco de curral, possuem capacidade de estimular o crescimento das raízes de forma significativa. Utilizar vermicomposto como material para extração de substâncias húmicas apresenta algumas vantagens como: ser facilmente e comercialmente obtido, ser fonte renovável de matéria orgânica líquida e apresentar capacidade de estimular diretamente o crescimento vegetal (RODDA et al., 2006).

6. REFERÊNCIAS

AITA, C; GIACOMINI, S.J. Matéria orgânica do solo, nitrogênio e enxofre nos diversos sistemas de exploração agrícola. In: SIMPÓSIO SOBRE NITROGÊNIO E ENXOFRE NA AGRICULTURA BRASILEIRA, Piracicaba, 2007. Anais. Piracicaba, IPNI Brasil, 2007. 722p.

ALMEIDA, D.L. Contribuição da matéria orgânica na fertilidade do solo. Seropédica, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1991. 188p. (Tese de Doutorado)

ANDRADE, A.C.; FONSECA, D.M.; QUEIROZ, D.S.; SALGADO,L.T.; CECOM,P.R. Adubação nitrogenada e potássica em capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum. Cv. Napier). Ciência e Agrotecnologia. Edição especial. p.1643-1651, 2003

ANUÁRIO estatístico do setor de fertilizantes 2009-2010. São Paulo: Associação Nacional para Difusão de Adubos, 2010.

BALDOTTO, L.E.B.; BALDOTTO, M.A.; GIRO, V.B.; CANELLAS, L.P.; OLIVARES, F.L. & BRESSAN-SMITH, R. Desempenho do abacaxizeiro 'Vitória' em resposta à aplicação de ácidos húmicos durante a aclimatação. Revista Brasileira de Ciência do Solo. V. 33, p. 979-990, 2009.

BARCELOS, A . Recuperação de pastagens degradadas, 1986. Planaltina - DF: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) e Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados (CPAC), 38 p.

BARDUCCI, R. S. A.; COSTA, C. A. C.; CRUSCIOL, E. et al. Produção de Brachiaria brizantha e Panicum maximum com milho e adubação nitrogenada Archivos. Zootecnia., v.58, n. 222, 211-222, 2009.

BENITES, V.M.; MADARI, B.; MACHADO, P.L.O. A. Extração e fracionamento quantitativo de substâncias húmicas do solo: um procedimento simplificado de baixo custo. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2003. 7p. (Comunicado Técnico, 16).

BODDEY, R.M. A degradação das pastagens e o ciclo do nitrogênio. In: WORKSHOP: NITROGÊNIO NA SUSTENTABILIDADE DE SISTEMAS INTENSIVOS DE PRODUÇÃO PECUÁRIA, 2000, Dourados. Anais… Dourados: EMBRAPA, 2000. p.110-123

BOMFIM, E.R.P.; PINTO, J.C.; SALVADOR,N.; MORAIS,A.R.; ANDRADE,I.F.A.; ALMEIDA,O.C. Efeito do tratamento físico associado à adubação em pastagem degradada de braquiária, nos teores de proteína bruta, fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido. Ciência agrotécnologia., Lavras, v. 27, p. 912-920, 2003.

BONFIM-DA-SILVA, E.M.; MONTEIRO, F.A. Nitrogênio e enxofre em características produtivas do capim-braquiária proveniente de área de pastagem em degradação. Revista Brasileira de Zootecnia., v.35, p.1289-1297, 2006.

BOTTOMLEY, W.B. Some effects of organic-promotion substances auxinones) on the growth of Lema minor in mineral cultural solutions. Royal Society Publishing.. V.89, p. 481- 507, 1917.

CABRAL, W.B.; SOUZA, A.L.; ALEXANDRINO, E.; TORAL, F.L.B.; SANTOS,J.N.; CARVALHO,M.V.P.; Características estruturais e agronômicas da Brachiaria brizantha cv. Xaraés submetida a doses de nitrogênio. Revista Brasileira de Zootecnia., Viçosa, v. 41, p.846-855, 2012 .

CAMPOS, N.R.; PACIULLO, D.S.C.; BONAPARTE, T.P.; GUIMARAES NETO, M.M.; CARVALHO, R.B.; TAVELA, R.C.; VIANA, F.M.F. Características morfogênicas e estruturais da *Brachiaria decumbens* em sistema silvipastoril e cultivo exclusivo. Revista Brasileira de Biociências, v. 5, p. 819-821, 2007.

CANELLAS, L.P.; FAÇANHA, A.O.; FAÇANHA, A.R.; OLIVARES, F.L. Humic acids isolated from earthworm induces root mitotic sites and plasma membrane H^+-ATPase. Plant physiology., v. 30, p. 1951-1957, 2002.

CANTARELLA, H.; NOVAIS, R.F.; ALVAREZ V., V.H.; CANTARUTTI, R.B.; NEVES, J.C.L.; Nitrogênio. Fertilidade do solo. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p.375-470.

CARASSAI,I.J.; NABINGER, C.; CARVALHO,P.C.F.; SANTOS, D.T.; FREITAS, F.K.; GONÇALVES, E.N.; SILVA, C.E.G. Recria de cordeiras em pastagem nativa melhorada submetida à fertilização nitrogenada: 1. Dinâmica da pastagem. Revista Brasileira de Zootecnia. v. 37, p.1338-1346, 2008.

CECATO, U.; GOMES, L.H.; ASSIS, M.A. Avaliação de cultivares do gênero *Cynodon*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 33., 1996, Fortaleza. Anais... Fortaleza: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1996. p.114-116.

CONCEICAO, P.C.; AMADO, T.J.C.; MIELNICZUK, J.; SPAGNOLLO, E. Qualidade do solo em sistemas de manejo avaliada pela dinâmica da matéria orgânica e atributos relacionados. Revista Brasileira de Ciência do Solo. v. 29, p. 777-788, 2005.

CORSI, M.; MARTHA JR., G.B. Manutenção da fertilidade do solo em sistemas intensivos de pastejo rotacionado In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 14., 1997, Piracicaba. Anais.Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários "Luiz de Queiroz", 1997. p.161-193.

CORSI, M.; MARTHA JR., G.B.; PAGOTTO, D.S. Sistema radicular: dinâmica e resposta a regimes de desfolha. In: SILVA, S.C.; PEDREIRA, C.G.S. (Eds.). A produção animal na visão dos brasileiros - pastagens. Anais. Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, 2001. p.838-852.

COSTA, K.A.P.; FAQUIN, V.; OLIVEIRA, I.P.; SEVERIANO, E.C.; OLIVEIRA, M.A. Doses e fontes de nitrogênio na nutrição mineral do capim-marandu. Ciencia Animal Brasileira., v.10, p.115-123, 2009a.

COSTA, A.M.; BORGES, E.N.; SILVA, A.A.; NOLLA, A.; GUIMARÃES, E.C. Potencial de recuperação física de um latossolo vermelho, sob pastagem degradada, influenciado pela aplicação de cama de frango. Ciência Agrotecnologia., Lavras, v. 33, p. 1991-1998, 2009b .

COSTA, K.A.P.; FAQUIN, V.; OLIVEIRA, I.P.; ARAUJO, J.L.; RODRIGUES, R.B.. Doses e fontes de nitrogênio em pastagem de capim-marandu: II - nutrição nitrogenada da planta. Revista Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa , v. 32, p. 1601-1607, 2008 .

COSTA, K.A.P.; FAQUIN, V.; OLIVEIRA, I.P. Doses e fontes de nitrogênio na recuperação de pastagens do capim-marandu. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia. v. 62, p. 115-123, 2010.

DEVÊVRE, O.; GARNAYE, J.; BOTTON, B. Release of complexing organic acids by rhizosphere fungi as a factor in Norway spruce yellowing in acidic soils. Mycological Research. v. 100, p. 1367-1374, 1996.

DIAS-FILHO, M.B. Sistemas silvipastoris na recuperação de pastagens degradadas. Embrapa Amazônia Oriental. 30p. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 258). 2006.

DIAS FILHO, M. B.. Tolerance to flooding in five Brachiaria brizantha accessions. Pesquisa Agropecuária Brasileira. V.36, p. 439-447, 2002.

DIAS-FILHO, M.B. Degradação de pastagens: processos, causas e estratégias de recuperação - 3a.Edição. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 190p. 2007.

DIAS-FILHO, M.B. Degradação de pastagens: processos, causas e estratégias de recuperação. 2. ed. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 173p. 2005

DIAS-FILHO, M.B.; FERREIRA, J.N. Influência do pastejo na biodiversidade do ecossistema da pastagem. In: Pereira, O.G.; Obeid, J.A.; Fonseca, D.M. da; Nascimento Júnior, D. do .Simpósio sobre manejo estratégico da pastagem. Viçosa. Anais. Universidade Federal de Viçosa, p. 47-74. 2008.

EUCLIDES, V.P.B. Alternativas para intensificação da produção de carne bovina em pastagem. Campo Grande, Embrapa Gado de Corte, 2000. 65p.

FAÇANHA, A.R.; FAÇANHA, A.R.; OLIVARES, F.L.; VELLOSO, A.C.X.; BRAZ-FILHO, R.; SANTOS, G.A. & CANELLAS, L.P. Bioatividade de ácidos húmicos: efeitos sobre o desenvolvimento de prótons. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 37, p. 1301-1310, 2002.

FAGUNDES, J.L.; FONSECA, D.M.; MISTURA, C.; MORAIS, R.V.; VITOR, C.M.T.; GOMIDE, C.A.; NASCIMENTO JÚNIOR, D.; CASAGRANDE, D.R.; COSTA, L.T. Características morfogênicas e estruturais do capim-braquiária em pastagem adubada com nitrogênio avaliadas nas quatro estações do ano. Revista Brasileira de Zootecnia, v.35, p.21-29, 2006.

FAVERO, C.; LOVO, I.C.; MENDONCA, E.S. Recuperação de área degradada com sistema agroflorestal no Vale do Rio Doce Minas Gerais. Revista Árvore, v. 32, p.861-868, 2008 .

FAVORETTO, V.; REIS, R.A.; VIEIRA, P.F.; MALHEIROS, E.B. Efeito da adubação nitrogenada ou de leguminosas no ganho de peso vivo de bovinos em pastagens de capim colonião. Pesquisa Agropecuária Brasileira. v. 20, p. 475-482, 1985.

HERINGER, I.; MOOJEN, E.L. Potencial produtivo, alteração da estrutura e qualidade da pastagem de Milheto submetida a diferentes níveis de nitrogênio. Revista Brasileira de Zootecnia, v.31, p. 875-882, 2002.

IEIRI, Y.I.; LANA, R.M.Q.; KORNDORFER, G.H.; PEREIRA, H.S. Fontes, doses e modos de aplicação de fósforo na recuperação de pastagem com brachiaria. Ciência. Agrotecnologia, v. 34, p. 1154-1160, 2010 .

LANDGRAF, M.D.; ALVES, M.R.; DA SILVA, S.C.; REZENDE, M.O.D. Characterization of humic acids from vermicompost of cattle manure composting by 3 and 6 months. Química Nova, v. 22, p. 483-486, 1999.

LANGE, A.; CARVALHO. J.L.N.; DAMIN, V.; CRUZ, J.C. & MARQUES, J.J. Alterações em atributos do solo decorrentes da aplicação de nitrogênio e palha em sistema semeadura direta na cultura do milho. Ciencia Rural, v. 36, p. 460–467, 2006.

LOQUET, M. & VINCESLAS, M. Cellulolytic and ligninolytic activates in the gut of *Eisenia foetida*. Rev d'ecol. Boil. Sols, V. 24, P. 559-560, 1987.

MACEDO, M.C.M. Pastagens no ecossistema Cerrados: evolução das pesquisas para o desenvolvimento sustentável. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42., 2005, Goiânia. Anais. Goiânia: SBZ. p.56-84.

MACEDO, M.C.M.; ZIMMER, A.H. Sistema pasto-lavoura e seus efeitos na produtividade agropecuária. In Favoretto, V.; Rodriques, L.R.A.; Reis, R.A. (eds.). SIMPÓSIO SOBRE ECOSSISTEMAS DE PASTAGENS, 2, 1993, Jaboticabal. Anais. Jaboticabal: FUNEP, UNESP, p.216-245. 1993.

MAGALHÃES, A.F.; PIRES, A.J.V.; DE CARVALHO, G.G.P.; DA SILVA, F.F.; SOUSA, R.S.; VELOSO, C.M. Influência do nitrogênio e do fósforo na produção do capim-braquiária. Revista Brasileira de Zootecnia , V.36, P.1240-1246, 2007.

MARTHA JÚNIOR, G.B.; CORSI, M.; TRIVELIN, P.C.O.; VILELA, L.; PINTO, T.L.F.; TEIXEIRA, G.M.; MANZONI, C.S. & BARIONI, L.G. Perdas de amônia por volatilização em pastagem de capim-tanzânia adubada com uréia no verão. Revista Brasileira de Zootecnia, V. 33, P. 2240-2247, 2004.

MEIRELLES, N.M.F. Degradação de pastagens - Critérios de avaliação. In: ENCONTRO SOBRE RECUPERAÇÃO DE PASTAGENS, 1993, Nova Odessa. Anais... Nova Odessa: Instituto de Zootecnia, p.1-27. 1993.

MOREIRA, L. Segmentação e classificação supervisi- onada para identificar pastagens degradadas In: WORKSHOP BRASILEIRO DE GEOINFORMÁTICA, 2, 2000, São Paulo. Anais. São Paulo: Sociedade Brasileira de Computação, 15p. 2000.

MULLER, M.M.L.; GUIMARÃES, M. de F.; DESJARDINS, T.; MARTINS, P.F. da S. Degradação de pastagens na Região Amazônica: propriedades físicas do solo e crescimento de raízes. Pesquisa Agropecuária Brasileira., Brasília, v. 36, p.1409-1418, 2001.

NARDI, S., PIZZEGHELLO, D., MUSCOLO, A., VIANELLO, A.,. Physiological effects of humic substances on higher plants.Soil. Biol. Biochem. v. 34, p. 1527–1536. 2002.

NARDI, S.; CARLETTI, P.; PIZZEGHELLO, D.; MUSCOLO, A. Biological activities of humic substances. In: SENESI, N.; XING, B. & HUANG, P.M., eds. Biophysico-chemical processs involving natural nonliving organic matter in environmental systems. New Jersey, Wiley, 2009. p.305-339.

OLIVEIRA, G.C.; DIAS JÚNIOR, M.S.; RESCK, D.V.S. & CURI, N. Caracterização química e físico-hídrica de um Latossolo Vermelho após vinte anos de manejo e cultivo do solo. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v. 28, p. 327-336, 2004.

OLIVEIRA, P.P.A.; BOARETTO, A.E.; TRIVELIN, P.C.O.; OLIVEIRA, W.S.; CORSI,M. Liming and fertilization to restore degraded Brachiaria decumbens pastures grown on an entisol. Agriculture Science, Piracicaba, v. 60, p.125-131,. 2003.

OLIVEIRA, P.P.A.; CORSI, M. Eficiência da fertilização nitrogenada e sulfatada em pastagens. In: WORKSHOP SOBRE MANEJO DE FERTILIZANTES NITROGENADOS E SULFATADOS NA AGRICULTURA, 2001, Piracicaba. Anais. Piracicaba:. 36p. 2001.

OLIVEIRA, P.P.A.; TRIVELIN, P.C.O.; OLIVEIRA, W.S. Balanço do nitrogênio (15N) da uréia nos componentes de uma pastagem de capim-marandu sob recuperação em diferentes épocas de calagem. Revista Brasileira de Zootecnia. v. 36, p.1982-1989, 2007.

PARIS, W.; CECATO, U.; BRANCO, A. F.; BARBELO, L.M.; GALBEIRO, S.; Produção de novilhas de corte em pastagem de Coastcross-1 consorciada com Arachis pintoi com e sem adubação nitrogenada. Revista Brasileira de Zootecnia., Viçosa, v. 38, p.122-129, 2009.

PAVINATO, P.S.; ROSOLEM, C.A.;. Disponibilidade de nutrientes no solo: decomposição e liberação de compostos orgânicos de resíduos vegetais. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v. 32, p. 911-920, 2008.

PERON, A.J.; EVANGELISTA, A.R. Degradação de pastagens em regiões de cerrado. Ciência e Agrotecnologia, v.28, p.655-661, 2004.

QUAGGIOTTI ,S.; RUPERTI, B.; PIZZEGHELLO, D.; FRANCIOSO, O.; TUGNOLI, V.; NARDI, S.; Effect of low molecular size humic substances on nitrate uptake and expression of genes involved in nitrate transport in maize (*Zea mays* L.). Journal of Experimental. v. 55, p.803-813, 2004.

RESENDE, R.R.S.; VALLE, C.B. DO.; JANK. L.; (Eds.) (2008). Melhoramento de forrageiras tropicais. 1ª ed. Campo Grande, Embrapa.

RODDA, M.R.C.; CANELLAS, L.P.; FAÇANHA, A.R.; ZANDONADI, D.B.; GUERRA, J.G.M.; ALMEIDA, D.L. & SANTOS, G.A. Estímulo no crescimento e na hidrólise de ATP em raízes de alface tratadas com humatos de vermicomposto I. efeito de doses de humatos. Revista Brasileira Ciencia do Solo. v. 30, p. 649-656, 2006.

RODRIGUES, R.C.; MOURÃO, G.B.; BRENNECKE, K.; LUZ, P.H.C.; HERLING, V.R.. Produção de massa seca, relação folha/colmo e alguns índices de crescimento do Brachiaria brizantha cv. Xaraés cultivado com a combinação de doses de nitrogênio e potássio. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 37, p.394-400, 2008.

ROSA, A.H.; ROCHA, J.C.; SARGENTINI JUNIOR, É. A flow procedure for extraction and fractionation of the humic substances from soils. Understanding and managing organic matter in soils, sediments and waters. New York: International Humic Substances Society,. p.41-46. 2001

ROSSI, C.Q.; PEREIRA, M.G.; GIACOMO, S.G.; BETTA, M.; POLIDORO, J.C.; Frações húmicas da matéria orgânica do solo cultivado com soja sobre palhada de braquiária e sorgo. Bragantia, , v. 70, 2011

SANTOS FILHO, L.S. Seed production: perspectives from the Brazilian private sector In: Brachiaria: Biology, Agronomy, and Improvement. Miles, J.W., Maass. B.L.,Valle, C.B.(eds). Centro Internacional de Agricultura Tropical - CIAT/Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA . CIAT Publication nº 259, 1996. p.141-146.

SARGENTINI JUNIOR., E.; ROCHA, J. C.; ROSA, A. H.; ZARA, L.F.; SANTOS, A. Substâncias húmicas aquáticas: fracionamento molecular e caracterização de rearranjos internos após complexação com íons metálicos. Química Nova, v.24, p.339-344, 2001.

SILVA, D.R.G.; COSTA, K.A.P.; FAQUIN, V.; OLIVEIRA, I.P.O.; SOUZA, M.R.F.; SOUZA, M.A.S. Eficiência nutricional e aproveitamento do nitrogênio pelo capim-marandu de pastagem em estágio moderado de degradação sob doses e fontes de nitrogênio. Ciência Agrotecnologia. v. 35, p. 242-249, 2011.

SILVA, J.E.; RESCK, D.V.S. Matéria orgânica do solo. In: VARGAS, M.A.T.; HUNGRIA, M. (Ed.). Biologia dos solos dos cerrados. Planaltina: EMBRAPA Cerrados, p.467-524, 1997.

SILVA, M.C.; SANTOS, M.V.F.; DUBEUX JUNIOR, J.C.B.; LIRA, M.A.; SANTANA, D.F.Y.; FARIAS, I.; SANTOS, V.F.; Avaliação de métodos para recuperação de pastagens de braquiária no agreste de Pernambuco: 1. aspectos quantitativos. Revista Brasileira de Zootecnia. Viçosa, v. 33, p. p.1999-2006, 2004 .

SOARES FILHO, C. V.; RODRIGUES, L. R. A.; PERRI, S. H. V. et al. Produção e valornutritivo de dez gramíneas forrageiras na região Noroeste do estado de São Paulo.Maringá, v. 24, n. 5, p. 1377-1384, 2002.

SOUZA, F. H. D. As sementes de espécies forrageiras do gênero Brachiaria no Brasil Central. In: PAULINO, V.T. et al. A Brachiaria no Novo Século, 2 ed., Nova Odessa, Instituto de Zootecnia, 2002. 151p.

TORMENA, C. A.; ROLOFF, G. Dinâmica da resistência à penetração de um solo sob plantio direto. Revista Brasileira de Ciência do Solo, Campinas, v.20, p.333-339, 1996.

TRIVELIN, P.C.O.; OLIVEIRA, M.W.; VITTI, A.C.; GAVA, G.J.C. & BENDASSOLLI, J.A. Perdas do nitrogênio da uréia no sistema solo-planta em dois ciclos de cana-de-açúcar. Pesquisa Agropecuária Brasileira., v. 37, p. 193-201, 2002.

TUFFI SANTOS, L.D.; SANTOS, I.C.; OLIVEIRA, C.H.; SANTOS, M.V.; FERREIRA, F.A.; QUEIROZ, D.S. Levantamento fitossociológico em pastagens degradadas sob condições de várzea. Planta Daninha, v. 22, p.343-349, 2004.

VITOR, C. M.T.; FONSECA, D.M.; CÓSER, A.C.; MARTINS, C.E.; NASCIMENTO JÚNIOR, D.; RIBEIRO JÚNIOR, J.I. Produção de matéria seca e valor nutritivo de pastagem de capim-elefante sob irrigação e adubação nitrogenada. Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v. 38, p.435-442, 2009.

VITOR, C.M.T.; FONSECA, D.M.; MOREIRA, L.M.; FAGUNDES, J.L.; NASCIMENTO JÚNIOR, D.; RIBEIRO JÚNIOR, J.I.; . Rendimento e composição química do capim-braquiária introduzido em pastagem degradada de capim-gordura. Revista Brasileira de Zootecnia.v. 37, p. 2107-2114, 2008 .

VITTI, A.C.; TRIVELINII, P.C.O.; GAVA, G.J. de C.; FRANCO, H.C.J.; BOLOGNA, I.R.; FARONI, C.E. Produtividade da cana-de-açúcar relacionada à localização de adubos nitrogenados aplicados sobre os resíduos culturais em canavial sem queima. Revista Brasileira de Ciência do Solo. v.31, p.491-498, 2007.

WERNER, J.C.; COLOZZA, M.T.; MONTEIRO, F.A. Adubação de pastagens. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGENS. 18., 2001, Piracicaba. Anais... Piracicaba: FEALQ, 2001. p.129-156.

ZIGLIO, C.M.; MIYAZAWA, M. & PAVAN, M.A. Formas orgânicas e inorgânicas de mobilização do cálcio no solo. Arquivo Brasileiro de Biologia e Tecnologia. v. 42, p. 257-262, 1999.

Capítulo 34- Atividade antileishmanial de alguns óleos voláteis

Pinheiro , J.A. [1]; Zanini, M.S.[2]; Almeida , S.L.H.[3]; Giori , S.G.[4]; Souza , R.A.[5]; Costa , A.V.[6]; Pinheiro , P.F.[7]; Queiroz , V.T.[8]

INTRODUÇÃO

A leishmaniose é uma doença causada por protozoários do gênero *Leishmania* dependendo dos fatores de virulência do parasita e da resposta imune estabelecida pelo hospedeiro a doença pode se manifestar de forma cutânea ou visceral (GRIMALDI; TESH, 1993).

Protozoários do gênero Leishmania são transmitidos através do repasto sanguíneo de flebotomíneos causando as diversas formas clínicas da leishmaniose (KAYE E SCOTT, 2011). A doença na sua apresentação cutânea possui diferentes manifestações clínicas que variam de lesões da pele de forma cutânea e mucocutânea a úlceras (AÏT-OUDHIA ET AL. 2011).

A leishmaniose é endêmica em muitas áreas da América subtropical constituindo um problema de saúde pública de grande significância. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), existem cerca de 1,5 a 2 milhões de novos casos de leishmaniose cutânea por ano em todo o mundo. Esta doença é endêmica em 88 países, com um total de 350 milhões de pessoas em situação de risco. Acredita-se que 12 milhões de pessoas são afetadas pela leishmaniose em todo o mundo (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2010).

No Brasil, a doença ocorre em todo o território nacional em suas formas visceral, cutânea e mucocutânea (PÉREZ-AYALA et al., 2009). A forma visceral é causada particularmente pela *L. infantum (Leishmania chagasi).*

Na América subtropical, a forma cutânea da doença recebe o nome de Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA). Sua prevenção e controle ainda permanecem um desafio para autoridades sanitárias em países como o Brasil, onde ocorre em todo o território e está associada à pobreza, urbanização e migração humana (BAÑULS et al., 2011).

O tratamento dessa doença é feito através da utilização de antimoniais pentavalentes, o glucantime, além de pentamidinas e a anfoterecina B. Porém, os mesmos apresentam reações adversas não desejadas, além de resultados nem sempre positivos. Além disso, não é aceito o tratamento de animais enfermos com essas drogas, pois acredita-se induzir à resistência do parasita ao medicamento. Drogas alternativas e fitoterápicas vêm sendo estudadas, e vêm apresentando resultados positivos para o tratamento das feridas causadas por essa doença.

Extratos de plantas ou de compostos derivados de plantas fornecem uma valiosa fonte de novos agentes medicinais (CARVALHO E FERREIRA, 2001; KAYSER E KIDERLEN, 2001).

Apesar dos avanços modernos alcançados no campo da química sintética, as drogas mais eficientes disponíveis têm sua gênese direta ou indiretamente relacionada com o reino

[1]Mestranda em Ciências Veterinárias da Universidade Federal de Espírito Santo (UFES) e-mail juliaassis1@hotmail.com
[2]Professor adjunto do Departamento de Medicina Veterinária e do Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal de Espírito Santo (UFES)
[3]Aluna de Graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Federal do Espírito Santo (UFES)
[4]Aluno de Graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Federal do Espírito Santo (UFES)
[5]Mestrando em Produção Vegetal da Universidade Federal de Espírito Santo (UFES)
[6]Professor adjunto do Departamento de Química da Universidade Federal de Espírito Santo (UFES)
[7]Professor adjunto do Departamento de Química da Universidade Federal de Espírito Santo (UFES)
[8]Professor adjunto do Departamento de Química e do Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal de Espírito Santo (UFES)

vegetal. As comunidades indígenas têm utilizado extratos de plantas para tratar doenças. Muitos desses extratos têm mostrado uma ação efetiva, com novos compostos bioativos que estão sendo extraídos e selecionados a cada ano. Sendo assim, extratos botânicos podem ser uma fonte de agentes terapêuticos para o tratamento da leishmaniose (CARVALHO E FERREIRA, 2001).

Diversos medicamentos usados na antiguidade e nos dias atuais são oriundos de produtos naturais. Nesse sentido vários estudos têm mostrado que o uso de óleos essenciais demonstrou positivamente atividade leishmanicida (SANTOS et al. 2008).

De acordo com a Resolução – RDC n.º 2, de 15 de janeiro de 2007, óleos essenciais são produtos voláteis extraídos de plantas por processo físico (destilação por arraste com vapor de água, destilação a pressão reduzida ou outro método adequado). Os óleos essenciais podem se apresentar isoladamente ou misturados entre si, retificados, desterpenados ou concentrados. Entende-se por retificados, os produtos que tenham sido submetidos a um processo de destilação fracionada para concentrar determinados componentes; por concentrados, os que tenham sido parcialmente desterpenados; por desterpenados, aqueles dos quais tenha sido retirada a quase totalidade dos terpenos (BRASIL, 2007).

As plantas produzem vários compostos orgânicos que não possuem função direta no seu crescimento e desenvolvimento. Estes compostos são chamados de metabólitos secundários, produtos secundários ou produtos naturais. Os óleos essenciais são produtos do metabolismo secundário de diversas plantas (TAIZ, ZEIGER, 2009).

2. Leishmaniose

As leishmanioses são doenças infecciosas não contagiosas de evolução crônica, causadas por espécies de protozoários da ordem *Kinetoplastida*, gênero *Trypanossomatide*, família *Leishmania* divididos nos subgêneros (*Viannia*) e (*Leishmania*), de acordo com seu padrão de desenvolvimento no trato alimentar dos insetos flebotomíneos vetores. Parasitas com ciclo de vida heteroxênico, vivem alternadamente sob forma amastigota em seu hospedeiro vertebrado (mamíferos) e sob forma promastigota nos insetos vetores (flebotomíneos) (DANTAS-TORRES, 2007; BRASIL, 2010).

Zoonose de grande importância mundial é uma das doenças parasitárias mais difundidas e negligenciadas, estimando-se que 350 milhões de pessoas estejam expostas ao risco, com registro aproximado de 2 milhões de novos casos. (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2010).

Considerada a manifestação mais grave da doença, a Leishmaniose Visceral (LV) invariavelmente leva ao óbito sem tratamento (GRAMICCIA; GRADONI, 2005). Caracterizada por febre ondulante, perda de peso, hepatoesplenomegalia e pancitopenia, principalmente anemia, a LV é resultado da replicação das formas amastigotas nos fagócitos mononucleares do fígado, baço e medula óssea (BARRATT et al., 2010; BAÑULS et al., 2011). Atualmente atinge 20 estados brasileiros, com média anual de 3.095 casos no período de 1996 a 2005 e incidência de 2,1 casos por 100.000 habitantes (ALVES, 2009)

Apresentando-se de forma endêmica, no Brasil e em muitos outros países subdesenvolvidos, a leishmaniose em sua forma cutânea constitui um problema de saúde pública (GONTIJO; CARVALHO, 2003), podendo se apresentar de forma localizada ou difusa, acometendo as estruturas da pele e cartilaginosas da nasofaringe (BASANO; CAMARGO, 2004).

2.1. Leishmaniose Tegumentar Americana

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) é uma zoonose que acomete o homem e diversas espécies de animais silvestres e domésticos, podendo se manifestar através de diferentes formas clínicas. É considerada uma enfermidade polimórfica e espectral da pele e das mucosas. De acordo com seus aspectos clínicos, patológicos e imunológicos, as principais manifestações observadas nos pacientes com LTA são classificadas em cutânea localizada, cutaneomucosa, disseminada e difusa. A forma cutânea localizada é caracterizada por lesões ulcerosas, indolores, únicas ou múltiplas; a forma cutaneomucosa é caracterizada por lesões mucosas agressivas que afetam as regiões nasofaríngeas; a forma disseminada apresenta múltiplas úlceras cutâneas por disseminação hematogênica ou linfática e a forma difusa com lesões nodulares não-ulceradas (SILVEIRA et al., 2009).

Com ampla distribuição, a LTA é encontrada na África, Europa, Ásia e América. No velho mundo, as espécies identificadas como agentes são a L. tropica, L. major e L. aethiopica (LESSA et al., 2007).

No Brasil, a LTA é uma doença em fase de expansão geográfica, registrando, na década de 80, casos humanos em 19 estados brasileiros e, a partir de 2003, todos os estados brasileiros passaram a ter registros da doença. No período de 1996 a 2007 a LTA apresentou uma média anual de 28.233 casos novos e coeficientes de detecção variando entre 13,5 a 22,4 casos por 100.000 habitantes (ALVES, 2009).

Tendo como agentes causadores a *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *Leishmania (Leishmania) mexicana, Leishmania (Viannia) panamensis* entre outras espécies(GONTIJO; CARVALHO, 2003) a LTA possui variadas manifestações clínicas. Caracterizada por lesões superficiais na pele, mostram-se tipicamente como úlceras bem definidas de bordas elevadas, apesar de poderem assumir formas incomuns como verrugas, nódulos, pápulas, entre outras, podendo ainda permanecer subclínica, com hospedeiros assintomáticos (BARRATT et al., 2010). Nos cães, a úlcera cutânea sugestiva costuma ser única, eventualmente múltipla, localizada nas orelhas, focinho ou bolsa escrotal (BRASIL, 2010).

2.1.1. Espécie *Leishmania (Viannia) braziliensis*

A *Leishmania (Viannia) braziliensis* foi a primeira espécie descrita e indicada como agente etiológico da LTA e tem ampla distribuição em vários países da América Central e do Sul, e em todo o território nacional (BRASIL, 2010). Além de provocar doença humana em pelo menos 15 países da América subtropical (FALQUETO et al., 2003).

Lesões causadas por esta espécie podem curar espontaneamente, disseminar-se ou ainda metastatizar para a nasofaringe, resultando na forma mais frequentemente associada a esta espécie de parasita, a cutâneo-mucosa (LLANOS-CUENTAS, 1984).

2.1.2 Diagnóstico

O diagnóstico de LTA abrange aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais. Frequentemente sendo necessária a associação de alguns desses elementos para se chegar ao diagnóstico final (GONTIJO; CARVALHO, 2003).

A anamnese e as características da lesão associadas aos dados epidemiológicos da doença vão sugerir o diagnóstico clínico da LTA. Porém com a evolução, as lesões ganham notável polimorfismo, o que dificulta o diagnóstico, e sua diferenciação de piodermites, paracoccidioses, esporotricose, tuberculose cutânea, neoplasias, sífilis, hanseníase, entre outras doenças (BRASIL, 2010). Assim, é de extrema importância a associação com métodos laboratoriais, para que se tenha um diagnóstico preciso.

O diagnóstico laboratorial se dá por métodos diretos como observação do parasito na lâmina por esfregaços ou impressão por aposição, cultura e reação em cadeia da polimerase e métodos indiretos por testes sorológicos (reação de imunofluorescência indireta-RIFI, ELISA, Western Blot) ou do teste cutâneo com antígenos de leishmania (reação de Montenegro) (BRASIL, 2010).

2.1.3. Tratamento

Para tratamento de casos humanos as drogas de primeira escolha, são os antimoniais pentavalentes, podendo ser utilizados o antimoniato de N-metilglucamina (Glucantime) e o estibogluconato de sódio (Pentostan), sendo o último não comercializado no Brasil (BRASIL, 2010; FIOCRUZ, 2014). Consideradas leishmanicidas, essas drogas interferem na bioenergética das formas amastigotas da *Leishmania.* Porém estudos demonstraram que na quimioterapia das leishmanioses, esses medicamentos, apresentam vários inconvenientes, como o prolongado regime de tratamento, sua alta cardiotoxicidade e os resultados que nem sempre são efetivos, além de presença de casos de resistência do parasita ao medicamento (BERMAN et. al., 1988). Por esses motivos, a Organização Mundial de Saúde tem estimulado as pesquisas com drogas alternativas.

Como segunda escolha, tem-se a anfoterecina B e as pentamidinas, quando não se há respostas satisfatórias com o uso dos antimoniatos (BRASIL, 2010). A Anfoterecina B, é extremamente tóxica, o que requer cuidados especiais, enquanto as pentamidinas causam reações adversas significativas, colocando este medicamento como última opção (FIOCRUZ, 2014).

No caso de animais doentes, o tratamento com esses medicamentos já citados não é uma medida aceita, pois se acredita que possa induzir ao risco de selecionar parasitos resistentes (BRASIL, 2010). Porém outros medicamentos alternativos vêm sendo estudados.

3. Fitoterápicos

O termo Fitoterapia foi originado do grego *therapeia*- (tratamento) e *phyton*- (vegetal) e diz respeito ao estudo das plantas medicinais e suas aplicações no tratamento e cura de doenças. A fitoterapia é uma das práticas terapêuticas mais antigas da humanidade (ALMEIDA et al., 2006). O uso de plantas e de seus princípios ativos no tratamento de doenças é tão antigo quanto à história da humanidade, esse conhecimento tem origem pré-histórica e tem influencia tanto no que se refere ao conhecimento popular (etnobotânica) como na experiência científica (etnofarmacologia) (BERG, 1993)

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), as espécies vegetais são a melhor e maior fonte de fármacos para humanidade, sendo importantes fontes para a investigação de produtos biologicamente ativos. Entre os medicamentos do mercado, cerca de um quarto possuem em sua composição extratos (ROSSI-BERGMANN et al., 1997).

O Brasil é privilegiado no tocante a biodiversidade, existem no país cerca de 55 mil espécies de plantas, aproximadamente um quarto de todas as espécies conhecidas. Destas, 10 mil podem ser medicinais, aromáticas e úteis (MARINHO et al., 2007). Sendo assim, torna-se essencial aprofundar os estudos no potencial medicinal da flora do país para sua preservação e uso sustentável (GUARRERA, 2005).

3.1 Produtos Naturais

Os vegetais sintetizam grande número de compostos orgânicos que aparentemente não apresentam função no seu crescimento e desenvolvimento. Essas substâncias são denominadas

metabólitos secundários, produtos secundários ou produtos naturais. De modo geral, esses compostos não apresentam funções diretas nos processos de fotossíntese, respiração, transporte de solutos, translocação, síntese de proteínas, assimilação de nutrientes, diferenciação ou síntese de carboidratos, proteínas e lipídeos (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Os metabólitos secundários, embora não sejam, necessariamente, essenciais para que uma planta complete seu ciclo de vida, desempenham importante papel na interação das plantas com o meio ambiente. Eles podem atuar, por exemplo, na defesa da planta contra herbívoros, ataque de patógenos, competição entre plantas e atração de organismos benéficos como polinizadores, dispersores de semente e nas simbioses plantas-microrganismos. Apresentam também ação protetora em relação a mudanças de temperatura, conteúdo de água, níveis de luz, exposição aos raios ultravioleta (UV) e deficiência de nutrientes minerais (PERES, 2004).

A origem dos metabólitos secundários pode ser resumida a partir do metabolismo da glicose, via dois intermediários principais, o ácido chiquímico e o acetato. O ácido chiquímico origina os aminoácidos aromáticos, precursores da maioria dos metabólitos secundários aromáticos. Alguns metabólitos secundários não derivam de um dos intermediários mencionados, mas são resultantes da combinação de uma unidade de ácido chiquímico e uma ou mais unidades de acetato ou derivados deste, como é o caso das antraquinonas, dos flavonóides e dos taninos condensados. Os metabólitos derivados do acetato podem ser classificados, segundo a via-metabólica seguida, em: via ciclo do ácido cítrico, via mevalonato ou produtos da condensação do acetato (SIMÕES; SPITZER, 2003).

3.2. Biossíntese dos óleos essenciais

Os óleos essenciais nas plantas é produto de seu metabolismo secundário. Os terpenos, principais constituintes na maioria desses óleos, são sintetizados no cloroplasto pela via platídica e no citoplasma pela via deoxi-xilulose-5-fosfato (DOXP). Os fenilpropanóides são sintetizados pela via Chiquimato (BIASI; DESCHAMPS, 2009).

3.2.1. Terpenos

Os terpenos são originados da união de unidades de 5 carbonos, chamados de isoprenos. A classificação dos terpenos é feita com base no número de unidades C_5 que possuem, os que contêm 10 carbonos (duas unidades C_5) são conhecidos como monoterpenos, os de 15 carbonos (três unidades C_5) são os sesquiterpenos e os de 20 carbonos (quatro unidades C_5) diterpenos. Os diterpenos de maiores cadeias são os triterpenos (30 carbonos), tetraterpenos (40 carbonos) e os politerpenos (acima de 8 unidades C_5) (TAIZ; ZEIGUER, 2009). A maioria dos terpenos apresenta uma ou mais ligações duplas, esses compostos podem também possuir funções oxigenadas, como álcoois, éteres, aldeídos, cetonas e lactonas (BARBOSA, 2004).

A síntese de terpenos pela rota do ácido mevalônico, ocorre com a união de três moléculas de acetil CoA, ligadas em uma sequência de reações, que após as etapas de pirofosforilação, descarboxilação e desidratação é produzido o isopentenil difosfato (IPP), unidade C_5 que origina os terpenos. A síntese de isômero do IPP ocorre pela rota do metileritritol fosfato (MEP), levando a formação do dimetilalil difosfato (DMAPP, C_5). A união de IPP e DMAPP propiciam a síntese do geranil difosfato (GPP) precursor dos monoterpenos (C_{10}). A junção de mais uma unidade de IPP ao GPP, leva a síntese do farnesil difosfato (FPP, C_{15}), que origina os sesquiterpenos e triterpenos. Ao unir mais uma molécula de IPP ao FPP ocorre à formação do geranilgeranil difosfato (GGPP, C_{20}), precursor dos diterpenos e pela dimerização origina também os tetraterpenos (C_{40}), podendo originar também politerpenos (TAIZ; ZEIGUER, 2009).

3.2.2. Fenilpropanóides

Os fenilpropadóides são substâncias naturais amplamente distribuídas nos vegetais e constituídas por um anel aromático unido a uma cadeia de três carbonos e derivados biossinteticamente de ácido chiquímico, metabólito precursor das unidades básicas dos ácidos cinâmicos e p-cúmarico. Em seguida, as duas unidades básicas, por meio de reduções enzimáticas, produzem propenilbenzenos e/ou alilbenzenos; por oxidações com degradação das cadeias laterais, formam aldeídos aromáticos, e por ciclizações enzimáticas intramoleculares, produzem cumarinas (SIMÕES; SPITZER, 2003).

O ácido chiquímico é formado por dois metabólitos da glicose, o fosfoenolpiruvato e a eritrose-4-fosfato. Através da junção do ácido chiquímico e de uma molécula de fosfoenolpiruvato ocorre a formação de ácido corísmico (PERES, 2004).

O ácido corísmico é responsável por gerar aminoácidos aromáticos, como a fenilalanina, a tirosina e o triptofano, que são precursores de vários alcaloides. Esses aminoácidos sofrem ação enzimática, dando origem ao ácido cinâmico ou ácido p-cumárico, também chamado de p-hidroxicinâmico (LORENZO et al., 2002).

A partir do ácido cinâmico ou do ácido p-cumárico são formados compostos fenólicos simples denominados fenilpropanóides. Esses compostos costumam ser voláteis, sendo considerados, juntamente com os monoterpenos, óleos essenciais (PERES, 2004).

3.2.3. Métodos de extração do óleo essencial

Os processos de obtenção dos óleos essenciais variam conforme a localização do óleo na planta e com a proposta de utilização do mesmo. Os métodos mais comuns são: enfloração; hidrodestilação, extração com fluidos supercríticos (EFS), prensagem a frio, extração com solventes orgânicos e arraste a vapor.

3.2.3.1. Enfloração

O método de enfloração atualmente é empregado apenas por algumas indústrias de perfumaria. Trata-se de um processo bastante lento, complexo e caro, aplicado principalmente em algumas plantas com baixo teor de óleo, mas de alto valor comercial como pétalas de flores. Essas pétalas são depositadas, a temperatura ambiente, sobre uma placa com óleo vegetal ou animal sem cheiro, durante certo tempo. Em seguida, as pétalas esgotadas são substituídas por novas até a saturação total, quando a gordura é tratada com álcool. Para se obter o óleo essencial, o álcool é destilado a baixa temperatura, obtendo assim o óleo essencial (SIMÕES; SPITZER, 2003).

3.2.3.2. Hidrodestilação

A hidrodestilação é um método antigo e versátil, sendo o mais usado nos países de terceiro mundo, justamente por ser mais fácil e econômico para se implementar porém, traduz-se em óleos de baixa qualidade. Na técnica de hidrodestilação, o material vegetal permanece em contato com a água em ebulição, o vapor faz com que as paredes celulares se abram e o óleo que está entre as células evapore junto com a água que vai para o condensador, onde é resfriado e separado por diferença de densidade. Na obtenção do óleo essencial em laboratório, utiliza-se o aparelho clevenger acoplado ao condensador. A hidrodestilação é mantida após ebulição da água, por aproximadamente 3h para obtenção do hidrolato (mistura de água e óleo). O óleo é extraído com solvente orgânico e depois secado com excesso de sulfato de sódio anidro para retirada de água da amostra, procedendo a sua filtração. O filtrado é levado

ao evaporador rotativo para obtenção do óleo essencial por remoção do solvente (GROSSMAN, 2005; SIMÕES; SPITZER, 2003).

3.2.3.3. Fluido supercrítico

O método de extração fazendo uso do CO_2 supercrítico surgiu em função da dificuldade e periculosidade na extração com solventes orgânicos convencionais. Esse método permite extrair óleo essencial, de modo eficiente, rápido, sob baixas temperaturas e livre de solventes orgânicos, o CO_2 supercrítico é obtido pela compressão e aquecimento a uma temperatura superior a 31 °C. Com essas condições, o CO_2 atinge um quarto estado físico, onde sua viscosidade é próxima a de um gás e sua capacidade de solubilização é elevada tal qual a de um líquido. Após a extração, a pressão é reduzida e desse modo o CO_2 retorna ao estado gasoso, sendo eliminado do material oleoso obtido (SANTOS et al., 2003).

3.2.3.4. Prensagem a frio

O método de prensagem a frio também conhecido como expressão vem sendo utilizado principalmente na obtenção de óleos essenciais de plantas cítricas. Neste processo, as cascas dos frutos que contém as glândulas, são prensadas e a camada contendo o óleo essencial é separada. Após a prensagem, a água é separada do óleo por decantação, destilação fracionada ou centrifugação (BIASI; DESCHAMPS, 2009).

3.2.3.5. Extração com solventes orgânicos

Neste processo a extração é realizada a temperatura ambiente usando solventes orgânicos, principalmente os apolares (éter, éter de petróleo ou diclorometano), que extraem além do óleo essencial, os componentes responsáveis pela pungência, pigmentos e componentes indesejados, obrigando um posterior processo de purificação do produto. Esse procedimento é usado para plantas que possuem baixo rendimento de extração ou quando o componente de interesse não é arrastado pela técnica de destilação (GROSSMAN, 2005).

3.2.3.6 Arraste a vapor

A extração por arraste de vapor é realizada colocando o material vegetal sobre uma placa com orifícios que possibilitam a passagem do vapor introduzido no sistema de forma indireta. O vapor, ao passar pelo material vegetal, destrói as glândulas e arrasta o óleo essencial contido nas mesmas. A mistura óleo: água é condensada e, posteriormente as fases são separadas por diferença de densidade (GUENTHER, 1977).

3.2.4. Atividade leishmanicida de plantas medicinais

O tratamento da LTA, com o uso de plantas, é uma prática antiga entre as populações das áreas endêmicas (MOREIRA et al., 2002). Devido aos efeitos adversos, a toxicidade, a internação prolongada, e ao alto custo do tratamento atual, há necessidade da busca de novas drogas, entre elas os fitoterápicos (PAULA et al., 2003; NAKAMURA et al., 2006).

Isolados de extratos vegetais, diversos compostos químicos têm comprovada atividade antileishmania sobre formas promastigotas e/ou amastigotas de *Leishmania* em ensaios *in vitro*. Ainda existem muitas espécies vegetais com potencial atividade leishmanicida que devem ser

avaliadas, apesar dos diversos estudos nessa área (BEZERRA et al., 2006). Óleos essenciais de plantas do gênero de *Cymbopogon* (MACHADO et al., 2012), Schinus (MOURA-COSTA et al., 2012) e Ocimum (OLIVEIRA et al., 2009) apresentam atividade antileishmanial.

Cymbopogon citratus conhecido popularmente como capim limão é uma erva amplamente utilizada em países tropicais como Asiático, Africano e Sul, em países da América também é conhecida como uma fonte de etnomedicina. É comumente usada na medicina popular na Angola para o tratamento de perturbações gastrointestinais, e como um anti-espasmódico, anti-inflamatório, anti-pirético e diurético. Alguns estudos têm demonstrado sua atividade antimicrobiana, ou seja, propriedades anti-bacterianas, antifúngicas e antiprotozoárias (SANTORO et al, 2007; MAYAUD et al., 2008).

O óleo essencial *Cymbopogon citratus* além de ser ativo contra promastigotas exibe uma atividade mais forte em formas amastigotas como geralmente ocorre entre os extratos naturais e drogas sintéticas (DUTTA et al, 2007; SANTIN et al, 2009). O óleo essencial rico em citral de *C. citratus* tem propriedades leishmanicidas promissoras, e é um bom candidato para mais pesquisas para desenvolver uma nova droga anti-protozoário (SANTIN et al, 2009).

Dentre as diversas metodologias utilizadas para realização de ensaios *in vitro* com a finalidade de avaliar a ação antileishmania de produtos extraídos de plantas se destacou na literatura consultada o ensaio com difeniltetrazolium brometo (MTT). Esse teste baseia-se na medida do dano induzido por uma droga no metabolismo celular de glicídeos usualmente através da atividade de desidrogenases. A atividade celular é quantificada pela redução do brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolium (MTT). As reações com o teste acima citado são usadas para localizar a atividade de desidrogenases presentes em células viáveis. O sal de tetrazólio não reage diretamente com as desidrogenases, mas com os produtos da reação nicotinamida-adenina-dinucleotídeo (reduzido) - NADH ou nicotinamidaadenina-dinucleotídeo fosfato (reduzido) - NADPH que reduzem o MTT para a formazana correspondente. A quantificação da inibição enzimática é realizada espectrofotometricamente permitindo a obtenção dos valores de IC50 - concentração das drogas que inibem 50% da atividade enzimática (MACIEL et al., 2002).

De acordo com Machado et.al. o óleo essencial obtido das partes aéreas de *Cymbopogon citratus* demonstrou concentração inibida por 50% (IC50) após 24 h para *L. infantum* e *L. tropica* e após 48 horas para *L. major*, por meio de dose-resposta.

Além disso, a capacidade de compostos de óleos essenciais difundirem facilmente as membranas celulares e interagirem com alvos intracelulares é extremamente importante para induzir a atividade inibitória sobre os parasitas intracelulares, o *C. citratus* pode representar uma fonte valiosa para o tratamento de infecções causadas por Leishmanias (MACHADO et al., 2012).

A espécie *Schinus terebinthifolius* é conhecida popularmente como aroeira, é uma árvore nativa da América do Sul da família das Anacardiaceae, apresentando uma boa atividade contra *Leishmania amazonensis* e *Leishmania chagasi* (MOURA-COSTA et al., 2012).

O extrato de *Ocimum gratissimum* mostrou uma moderada atividade contra formas promastigotas de *L. chagasi* (OLIVEIRA et al., 2009).

Embora os óleos essenciais das plantas acima referidas já tenham sido estudados, a ação especificamente frente ao protozoário *Leishmania Viannia braziliensis* e seu uso terapêutico tópico para leishmaniose tegumentar americana (LTA) ainda não foram avaliados.

4. REFERÊNCIAS

AÏT-OUDHIA K, GAZANION E, VERGNES B, OURY B, SERENO D. *Leishmania* antimony resistance: what we know what we can learn from the field. Parasitology Research v. 109, n. 5, p. 1225-1232, 2011.

ALMEIDA, K. DE S.; FREITAS, F. L. DA C.; PEREIRA, T. F. C. Etnoveterinária: a fitoterapia na visão do futuro profissional veterinário. Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável, v. 1, n. 1, p. 67–74, 2006.

ALVES, W. A. Leishmaniose visceral americana : situação atual no Brasil. Boletim Epidemiológico Paulista, v. 6, n. 71, p. 25–29, 2009.

BAÑULS, A. L.; BASTIEN, P.; POMARES, C.; et al. Clinical pleiomorphism in human leishmaniasis, with special mention of asymptomatic infection. Clinical Microbiology and Infection, v. 17, n. 10, p. 1451–1461, 2011.

BARBOSA, L.C.A. Os pesticidas o homem e o meio ambiente. Viçosa: Editora UFV. 2004. 215 p.

BARRATT, J. L. N.; HARKNESS, J.; MARRIOTT, D.; ELLIS, J. T.; STARK, D. Importance of nonenteric protozoan infections in immunocompromised people. Clinical Microbiology Reviews, v. 23, n. 4, p. 795–836, 2010.

BASANO, S. D. A.; CAMARGO, L. M. A. Leishmaniose tegumentar americana : histórico , epidemiologia e perspectivas de controle. Revista Brasileira de Epidemiologia, v. 7, n. 3, p. 328–337, 2004.

BERG, M. E. Plantas medicinais na Amazônia – Contribuição ao seu conhecimento sistemático. 2ª Ed. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, CNPq-MCT (Coleção Adolpho Ducke), 1993. 207 p.

BERMAN, J.D. Chemotherapy for Leishmaniasis: Biochemical Mechanisms, Clinical Efficacy, and Future Strategies. Clinical Infectious Diseases, v.10, n.3, p.560-586 , 1988.

BEZERRA, J. L.; COSTA, G. C.; LOPES, T. C.; CARVALHO, I. C. D. S. Avaliação da atividade leishmanicida in vitro de plantas medicinais. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 16, p. 631–637, 2006.

BIASI, L. A.; DESCHAMPS, C. Plantas aromáticas do cultivo à produção de óleo essencial. Curitiba: Layer Studio Gráfico, 2009. 160 p.

BRASIL. 2007. Anvisa. Resolução n.º 2 de 15 de janeiro de 2007.

BRASIL. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana/Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. 2ª Edição ed. 2010.

CARVALHO, P.B., FERREIRA, E.I. Leishmaniasis phytotherapy. Nature's leadership against an ancient disease-review. Fitoterapia v. 72, n. 6, p. 599–618, 2001

DANTAS-TORRES, F. The role of dogs as reservoirs of Leishmania parasites, with emphasis on Leishmania (Leishmania) infantum and Leishmania (Viannia) braziliensis. Veterinary parasitology, v. 149, n. 3-4, p. 139–146, 2007. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17703890>. Acesso em: 9/6/2013.

DUTTA, A., MANDAL, G., MANDAL, C., CHATTERJEE, M. In vitro antileishmanial activity of Aloe vera leaf exudate: a potential herbal therapy in leishmaniasis. Glycoconjugate Journal, v. 24, n.1, p. 81-86, 2007a.

DUTTA, A., MANDAL, G., MANDAL, C., CHATTERJEE, M. Racemoside A, an antileishmanial, water-soluble, natural steroidal saponin, induces programmed cell death in Leishmania donovani. Journal of Medical Microbiology, v. 56, n.9, p. 1196–1204, 2007b.

FALQUETO, A.; SESSA, P. A.; FERREIRA, A. L.; et al. Epidemiological and clinical features of Leishmania (Viannia) braziliensis american cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis in the state of Espírito Santo , Brazil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 98, n. 8, p. 1003–1010, 2003.

Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ). Disponível em:< http://www.dbbm.fiocruz.br/tropical/leishman/leishext/html/tratamento.htm>.Acesso em: 10 ago. 2014.

GONTIJO, B.; CARVALHO, M. DE L. R. DE. Leishmaniose tegumentar americana. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 36, n. 1, p. 71–80, 2003.

GRAMICCIA, M.; GRADONI, L. The current status of zoonotic leishmaniases and approaches to disease control. International Journal for Parasitology, v. 35, p. 1169–1180, 2005.

GRIMALDI, G.; TESH, R. B. Leishmaniases of the New World : Current Concepts and Implications for Future Research. Clinical Microbiology Reviews, v. 6, n. 3, p. 230–250, 1993.

GUARRERA, P.M.; MARIGNOLI, G.F.S. Ethnobotanical and thnomedicinal uses of plants in the district of Acquapendente (Latium, Central Italy). Journal Ethnopharmacoly, v.96, n. 3, p.429-444, 2005.

GUENTHER, E. Individual Essential Oils of the plant Family Myrtaceae. In: The Essential Oils, 4.ed.v.4. New York: Van Nostrand, 1977.

KAYE P, SCOTT P. Leishmaniasis: complexity at the host-pathogen interface. Nature Reviews Microbiology v. 9, n. 1, p. 604-615, 2011.

KAYSER, O., KIDERLEN, A.F. In vitro leishmanicidal activity of naturally occurring chalcones. Phytotherapy Research v.15, n. 2, 148–152, 2001.

LLANOS-CUENTAS, E.A.; CUBA, C.C.; BARRETO, A.C.; MARSDEN, P.D. Clinical characteristics of human *Leishmania braziliensis* infections. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine e Hygiene, v.78, n.6, p. 845-846, 1984.

LESSA, M. M.; LESSA, H. A.; CASTRO, T. W. N.; et al. Leishmaniose mucosa: aspectos clínicos e epidemiológicos. Revista Brasileira de Otorrinolaringologia, v. 73, n. 6, p. 843–847, 2007.

LORENZO, D., GONZALEZ, G., ROSSINI C. Farmacognosia y Productos Naturales. Contenido del curso teórico, Apostila 04: Aceites Esenciales.Universidad de la Republica do Uruguay. Montevideo, 2002, p. 14-18.

MACHADO, M.; PIRES, P.; DINIS, A. M.; et al. Monoterpenic aldehydes as potential anti-Leishmania agents: activity of Cymbopogon citratus and citral on L. infantum, L. tropica and L. major. Experimental parasitology, v. 130, n. 3, p. 223–31, 2012. Elsevier Inc. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22227102>. Acesso em: 22/7/2014.

MACIEL, M. A. M.; PNTO, A. C.; VEIGA-JÚNIOR, V. F. DA. Plantas Medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. Química Nova, v. 25, n. 3, p. 429–438, 2002.

MARINHO, M. L.; ALVES, M. S.; RODRIGUES, M. L. C.; et al. A utilização de plantas medicinais em medicina veterinária : um resgate do saber popular. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v. 9, n. 3, p. 64–69, 2007.

MAYAUD, L.; CARRICAJO, A.; ZHIRI, A.; AUBERT, G. Comparison of bacteriostatic and bactericidal activity of 13 essential oils against strains with varying sensitivity to antibiotics. Letters in applied microbiology, v. 47, n. 3, p. 167–173, 2008. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19552780>. Acesso em: 22/8/2014.

MOREIRA, R. DA C. R.; REBELO, J. M. M.; GAMA, M. E. A.; COSTA, J. M. L. Nível de conhecimentos sobre Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) e uso de terapias alternativas por populações de uma área endêmica da Amazônia do Maranhão , Brasil. Caderno de Saúde Pública, v. 18, n. 1, p. 187–195, 2002.

MOURA-COSTA, G. F.; NOCCHI, S. R.; CEOLE, L. F.; et al. Antimicrobial activity of plants used as medicinals on an indigenous reserve in Rio das Cobras, Paraná, Brazil. Journal of ethnopharmacology, v. 143, n. 2, p. 631–638, 2012. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22867638>. Acesso em: 22/7/2014.

NAKAMURA, C. V; SANTOS, A. O.; VENDRAMETTO, M. C.; et al. Atividade antileishmania do extrato hidroalcoólico e de frações obtidas de folhas de Piper regnelli(Miq.) C. DC. var. pallescens (C.DC.) Yunck. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 16, n. 1, p. 61–66, 2006.

OLIVEIRA, V.C.; MOURA, D.M.; LOPES, J.A.; DE ANDRADE, P.P.; DA SILVA, N.H.; FIGUEIREDO, R.C. Effects of essential oils from *Cymbopogon citratus (DC) Stapf., Lippia sidoides Cham., and Ocimum gratissimum L.* on growth and ultrastructure of *Leishmania chagasi* promastigotes. Parasitology Research, v.104, n.5, p.1053-1059, 2009.

PAULA, C. D. R. DE; SAMPAIO, J. H. D.; CARDOSO, D. R.; SAMPAIO, R. N. R. Estudo comparativo da eficácia de isotionato de pentamidina administrada em três doses durante uma semana e de N-metil-glucamina 20mgSbV / kg / dia durante 20 dias para o tratamento da forma cutânea da leishmaniose tegumentar americana. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 36, n. 3, p. 365–371, 2003.

PERES, L.E.P. In: Metabolismo secundário. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, p.1-26. 2004. Disponível em: http://docentes.esalq.usp.br/lazaropp/FisioVegGrad Bio/MetSec.pdf. Acesso em: 26 ago. 2014.

PÉREZ-AYALA, A.; NORMAN, F.; PÉREZ-MOLINA, J. A.; et al. Imported leishmaniasis: a heterogeneous group of diseases. Journal of Travel Medicine, v. 16, n. 6, p. 395–401, 2009.

ROSSI-BERGMANN, B., COSTA, SS. and MORAES, VLG. Brazilian medicinal plants: A rich source of immunomodulatory substances. Ciência e Cultura. Journal of the Brazilian Association for the Advancement of Science, v. 49, n.5, p. 395-401, 1997.

SANTIN, M.R., DOS SANTOS, A.O., NAKAMURA, C.V., DIAS FILHO, B.P., FERREIRA, I.C., UEDA-NAKAMURA, T. In vitro activity of the essential oil of Cymbopogon citratus and its major component (citral) on Leishmania amazonensis. Parasitology Research, v. 105, n.6, p. 1489–1496, 2009

SANTORO, G.F., CARDOSO, M.G., GUIMARÃES, L.G., FREIRE, J.M., SOARES, M.J. Antiproliferative effect of the essential oil of Cymbopogon citratus (DC) Stapf (lemongrass) on intracellular amastigotes, bloodstream trypomastigotes and culture epimastigotes of Trypanosoma cruzi (Protozoa: Kinetoplastida). Parasitology, v.134, n.11, p. 1649–1656, 2007a.

SANTORO, G.F., CARDOSO, M.G., GUIMARÃES, L.G., MENDONÇA, L.Z., SOARES, M.J. Trypanosoma cruzi: activity of essential oils from Achillea millefolium L., Syzygium aromaticum L. and Ocimum basilicum L. on epimastigotes and trypomastigotes. Experimental Parasitology, v.116, n. 3, p.283–290, 2007b.

SANTOS R.I. dos. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: Claudia Maria Oliveira Simões et. al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5ª ed. Editora da UFSC/UFSC, Porto Alegre, Florianópolis, 2003, p. 403-434

SANTOS AO, UEDA-NAKAMURA T, DIAS-FILHO BP, VEIGA-JUNIOR VF, PINTO AC, NAKAMURA, CV. Effect of Brazilian copaiba oils on *Leishmania amazonensis*. Journal of Ethnopharmacoly, v.120, n.2, p. 204-208, 2008

SILVEIRA, F. . T.; LAINSON, R.; GOMES, C. M. DE C.; LAURENTI, M. D.; CORBETT, C. E. P. Immunopathogenic competences of Leishmania (V.) braziliensis and L. (L.) amazonensis in American cutaneous leishmaniasis. Parasite Immunology, v. 31, n. 5, p. 423–431, 2009.

SIMÕES, C.M.O; SPITZER, V.; Óleos Voláteis. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. Farmacognosia da planta ao medicamento. 5ª ed. Revista ampliada. Porto Alegre/Florianópolis. Editora UFRGS, editora da UFSC, 2003.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Metabólitos Secundários e Defesa Vegetal. Fisiologia Vegetal. 4ª ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2009. p. 309-332.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Control of the Leishmaniases. 2010.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

DOCETE OMNES GENTES

UFES

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-61890-56-8

9 788561 890568