

VIDA

Revista

Semestral

Volume 1

Número 1

2023

**EXATAS E
CIÊNCIAS
DA TERRA**



**UNIVERSIDADE
BRASIL**



Barbara Izabela Costa

Reitora

Eduardo Batman

Pró-reitor de Graduação e Pós-Graduação

André Luis Dolencsko

Coordenador de Pós-Graduação Stricto Sensu

Equipe Editorial

Editora-Chefe:

Liandra Maria Abaker Bertipaglia

Titular do Programa de Pós-Graduação em Produção Animal, Universidade Brasil
<https://orcid.org/0000-0001-5811-7816>

Editores:

Gabriel Maurício Peruca de Melo

Titular do Programa de Pós-Graduação em Produção Animal, Universidade Brasil
<https://orcid.org/0000-0002-1634-4145>

Wanderley José de Melo

Titular do Programa de Pós-Graduação em Produção Animal, Universidade Brasil
<https://orcid.org/0000-0003-2683-0347>

Editora-técnica:

Maria Claudia Pink L. Dalcorso

Coordenadora do Sistema Integrado de Bibliotecas
<http://lattes.cnpq.br/0717789022582246>

Os índices acumulados da Revista VIDA: Exatas e Ciências da Terra (VIECIT)
A Revista VIDA: Exatas e Ciências da Terra pode ser consultada no Portal de Periódicos da
Universidade Brasil (<https://periodicos.universidadebrasil.edu.br/index.php/viecit>)

Contato: revistavida.viecit@ub.edu.br



ARTIGO CIENTÍFICO

- Abordagem fitoquímica do extrato fluido de folhas de *Euphorbia heterophylla* L. (EUPHORBIACEAE) e cromatografia gasosa do látex (*Francisco José Mininel*).....1-14
- Uso de pós vegetais como alternativa de controle do caruncho do feijão em armazenamento (*Janaina de Fátima dos Santos, Fábio Mazzonetto, Leonardo Toffano, Valéria Peruca de Melo*)15-23
- Estudo de viabilidade econômica para tilapicultura em tanque escavado no Vale do Ribeira, estado de São Paulo (*Claudia Fernanda Souza, Camila Carlino Costa, Susana Luporini Oliveira, Marco Antonio Andrade Belo*)24-35
- Parâmetros hematológicos e bioquímicos de coelhos suplementados com probióticos na dieta (*Cynthia Pieri Zeferino, Natália Karollaine de Lima, Ana Júlia Artoni, Paula Gomes Rodrigues, Käthery Brennecke, Luriany Pompeo Ferraz, Mara Paula Magno, Vando Edésio Soares*).....36-48
- Desenvolvimento de um controlador de ventilação para instalações em cunicultura (*Luiz Arthur Malta Pereira, Brendon Brito Pereira, Cynthia Pieri Zeferino, Käthery Brennecke, Cássia Maria Barroso Orlandi, André de Souza França*).....49-57
- Efeitos da complementação foliar de potássio em diferentes fontes na cultura da berinjela (*Valeria Peruca de Melo, Carlos Alexandre de Moraes, Fábio Mazzonetto, Leonardo Toffano*)58-66

ARTIGO DE REVISÃO

- Biologia do desenvolvimento cartilaginoso e ósseo de frangos de corte (*Julyana Machado da Silva Martins, Sarah Sgavioli, Letícia Salomão Barbosa Adorno, Marcos Barcellos Café*)67-81
- Importância da chuva de sementes na restauração florestal (*Roberto Andreani Junior, Andrey Zagatti Carta*)..... 82-93
- O impacto da tuberculose bovina na produção animal no estado de Rondônia (*João Octavio Abujamra, Rogério dos Santos Ambrósio, Cássia Maria Barroso Orlandi*)..... 94-105
- Maturação in vitro de complexos cumulus oócitos caninos e bovinos (*Jhienny Cristina da Silva Petry, Gabriel Henrique Crippa, Willian Boni, Laís Barbosa Latorraca, Victoria Lamas Scarabel, Cássia Maria Barroso Orlandi*) 106-122

ARTIGO TÉCNICO (NOTA TÉCNICA)

- Germinação de sementes de Urochloa híbrida cv. Mulato II sob diferentes doses de bioestimulante* (*Kathery Brennecke, Paulo Henrique Moura Dian, Liandra Maria Abaker Bertipaglia, José Vanor Felini Catânio, Anderson Braun dos Santos, Fabrício Azevedo Narezzi*)..... 123-130
- Vacinação de brucelose (RB51) em bovídeos no município de Ouro Preto do Oeste-RO* (*Rogério Santos Ambrósio, João Otávio Abujamra, Marcos Gabriel Carneiro Polli, Gizele Monsueth Melo, Cássia Maria Barroso Orlandi*) 131-137



Abordagem fitoquímica do extrato fluido de folhas de *Euphorbia heterophylla* L. (EUPHORBIACEAE) e cromatografia gasosa do látex

Phytochemical approach of the fluid extract of leaves of *Euphorbia heterophylla* L. (EUPHORBIACEAE) and latex gas chromatography

RESUMO

O presente trabalho buscou estudar a fitoquímica da espécie *Euphorbia heterophylla* L. Esta planta tem origem em regiões tropicais e subtropicais das Américas. Todas as partes da planta possuem látex e se constitui numa espécie infestante de pastos e lavouras, sendo resistentes aos herbicidas. A análise fitoquímica de extrato fluido das folhas (reações clássicas de identificação de classes de substâncias), indicou a presença de variedade de compostos, tais como, proteínas e aminoácidos, taninos, catequinas, flavonoides, esteroides e triterpenóides, saponinas espumídica e alcaloides. A análise do látex por cromatografia gasosa (CG-MS) do látex, permitiu detectar a presença de inúmeros compostos com potencial farmacológico ainda a ser estudado.

Palavras-chave: Reações; Potencial farmacológico; Compostos.

ABSTRACT

The present work sought to study the phytochemistry of the species *Euphorbia heterophylla* L. This plant originates from tropical and subtropical regions of the Americas. All parts of the plant have latex and it constitutes an infesting species of pastures and crops, being resistant to herbicides. Phytochemical analysis of the fluid extract of the leaves (classic reactions to identify classes of substances) indicated the presence of a variety of compounds, such as proteins and amino acids, tannins, catechins, flavonoids, steroids and triterpenoids, foaming saponins and alkaloids. The analysis of the latex by gas chromatography (GC-MS) of the latex, allowed to detect the presence of numerous compounds with pharmacological potential yet to be studied.

Keywords: Reactions; Pharmacological potential; Compounds.

F. J. Mininel *

<https://orcid.org/0000-0003-1705-4956>

Engenharia Química, Universidade Brasil,
Fernandópolis, SP, Brasil

*Autor correspondente

1 Introdução

Euphorbia heterophylla L., também conhecida como leiteria ou amendoim bravo pertence à Família Euphorbiaceae e tem origem em regiões tropicais e subtropicais das Américas. Sua dispersão vai desde o sul dos Estados Unidos até o sul do Brasil (COSTA, 1982). Existem registros da espécie, também, em regiões desérticas dos Emirados Árabes Unidos e no Marrocos (SUDA, 2001). No Brasil, *E. heterophylla* L. é conhecida, popularmente, como picão-leiteiro, amendoim-bravo, leiteira (SUDA, 2001), leiteiro, parece-mas-não-é, flor-de-poeta, adeus-brasil, mata-brasil, café-do-bispo e café-do-diabo (LORENZI, 2000). Constitui-se em planta herbácea, ereta, com altura variando entre 40 e 60 cm (Figura 1).

Figura 1. Aspectos das folhas de *Euphorbia heterophylla* L.



Fonte: próprio autor.

Há produção de uma substância leitosa em todas as partes da planta. É planta anual com reprodução por sementes. Seu ciclo é curto, entre a emergência e a frutificação, podendo ocorrer várias gerações em um ano. A planta apresenta bom desenvolvimento em solos férteis e úmidos e boa capacidade de rebrotar quando da ação de herbicidas de contato. Pode ser encontrada em todas as regiões agrícolas do Brasil (LORENZI, 2003).

Tem Cotilédone com formato alongado, pelos e liso. Sua coloração é verde, podendo variar para o vermelho. Suas folhas ocorrem ao longo do caule, com gemas nas axilas. São glabras, medindo de 4 a 10 cm de comprimento. As folhas inferiores são alternadas e lanceadas, enquanto as superiores são opostas ou verticiladas. Abaixo da inflorescência, há maior concentração de folhas (Figura 2). O caule tem formato cilíndrico, simples, com entrenós e nódulos no decorrer do caule. Superfície lisa e glabra, porém, é possível encontrar plantas com caules recobertos de pelos esbranquiçados e curtos. Sua coloração é verde ou avermelhada.

As sementes de *Euphorbia heterophylla* L. tem formato ovalado irregular, apresentando de 2 a 3 mm de comprimento por 2,5 de largura e espessura. Sua casca é rígida, com a superfície áspera, fosca, sem pelos e de coloração castanha. Tem inflorescência na parte superior do caule, ocorre uma bifurcação, onde se desenvolvem os ciátios (flor feminina acompanhada de 30 a 40 flores masculinas). A coloração varia entre o verde e o vermelho (CORREIA, 1978).

Figura 2. Aspectos dos frutos de *Euphorbia heterophylla* L.



Fonte: próprio autor

Euphorbia heterophylla L., representa uma das mais importantes espécies infestantes de lavouras. É considerada planta invasora das culturas de soja, milho, arroz e banana (KISSMANN; GROTH, 1997). Por se desenvolver e reproduzir rapidamente apresenta elevado grau de competitividade em relação à cultura anual, por nutrientes e água. Existem algumas sinonímias para a espécie, tais como *E. prunifolia*, *E. geniculata*, *Poinsettia heterophylla* (ALLEM, 1975), *P. geniculata* (WILSON, 1981), *E. zonosperma* (ALLEM, 1975), *E. elliptica*, *E. frangulaefolia* (BACCHI et al., 1984), *E. epilobiifolia*, *E. morisoniana*, *E. taiwaniana* e *P. ruiziana* (LORENZI, 2000). Barreto e Evans (1998) relataram que as sinonímias *E. geniculata* e *E. prunifolia* são amplamente utilizadas na literatura.

Resistência de plantas daninhas aos herbicidas é, por definição, a ocorrência de biótipo com habilidade herdada de sobreviver aos herbicidas eficazes no controle da espécie. No Brasil, a espécie mais preocupante é *Euphorbia heterophylla*, pois seu centro de origem abrange a região Brasil-Paraguai (KISSMANN; GROTH, 1992), apresenta densidades populacionais elevadas e grande impacto econômico na agricultura nacional. *E. heterophylla* está presente em 74% das áreas de soja na região do Planalto do estado do Rio Grande do Sul. É uma espécie alógama, produz até 3.000



sementes por planta e pode reduzir o rendimento de grãos da cultura da soja em até 80% (KISSMANN; GROTH, 1992).

Apesar de ser considerada uma planta daninha, *Euphorbia heterophylla* L. (planta leiteira) tem se destacado para uso no tratamento de processos patológicos dentre os quais, helmintíases e constipação (NALULE, 2013); artrite, reumatismo, e processos inflamatórios (KARIMI; YOUSEFI; GASHGHAELI, 2010). Em acréscimo, o látex do vegetal tem sido utilizado em infecções fúngicas e gonocócicas, assim como inseticida, dentre outros usos (NALULE; AFAYOA; MAJIDU, 2017).

No trabalho de Tostes et. al, 2019, os flavonóides quercitrina (quercetina 3-O- α -L-ramnopiranosídeo), hiperina (quercetina 3-O- β -D-galactopiranosídeo), isoquercitrina (quercetina 3-O- β -D-glucopiranosídeo) e isoquercitrina-6"-malonato (quercetina 3-O- β -D-(6"-malonato)-glucopiranosídeo) foram isolados de uma partição de acetato de etila de extrato aquoso de acetona de folhas de *E. heterophylla*, 2,3,4,6-penta-O-galoil- β -D-glucopiranosídeo, ácido trans-caféico e cumarina esculetina (6,7-dihidroxicumarina) também foram isolados.

O presente trabalho teve o objetivo de fornecer subsídios ao futuro controle de qualidade da droga e possíveis fitoterápicos a serem obtidos a partir das folhas ou látex da espécie *Euphorbia heterophylla* L.

2 Materiais e Métodos

O material botânico (folhas) foi coletado na cidade de Fernandópolis-SP, no Campus da Universidade Brasil, em maio de 2021 e identificado pelo taxonomista professor Ângelo Donizete Simonato, do Departamento de Botânica, da Universidade Brasil, Campus de Fernandópolis. A coleta do látex foi realizada através de um corte transversal, no mesmo dia em que os testes foram feitos, cerca de 10 cm abaixo do meristema apical de cada galho; o látex bruto foi coletado em recipiente de vidro para evitar a coagulação e transportado para o laboratório.

As folhas de *Euphorbia heterophylla* L. foram secas à temperatura ambiente durante 10 dias, posteriormente foram colocadas em estufa de secagem por mais um período de 10 dias, terminando-se a desidratação total do material com temperatura controlada inferior a 40° C. Após a dessecação total das folhas, o material foi moído em moinho de facas. O pó obtido foi pesado e acondicionado em frasco âmbar e mantido à temperatura ambiente em local seco, arejado e sem iluminação por aproximadamente duas semanas.

Para a execução dos ensaios fitoquímicos das folhas, foi preparado extrato fluido em percolador de aço inoxidável com capacidade para 5000 mL, segundo o processo da Farmacopéia Brasileira, (1959). Utilizou-se o pó obtido adicionando-se 1360 mL álcool etílico 70%. A mistura permaneceu



no percolador durante o período de 7 dias, realizando-se a primeira extração. Adicionou-se ao resíduo a mesma quantidade de álcool etílico 70%, a mistura foi agitada e, após três dias, realizou-se a segunda extração. Obteve-se 1.170 mL de extrato fluido com a concentração, 28,28 g de extrato concentrado (rendimento 11,7%).

O extrato fluido foi armazenado em geladeira por 2 dias, iniciando-se o processo de concentração através de um rotoevaporador Büchi R-114 com temperatura inferior a 60°C e vácuo 70 mbar). O extrato foi filtrado através de papel de filtro e ensaiado para a pesquisa de metabólitos secundários, tais como: flavonoides, esteroides e/ou triterpenóides, alcaloides, saponinas, taninos, antraquinonas, glicosídeos cardiotônicos e ciano genéticos (MATOS; MATOS, 1985).

Foi efetuada a análise de substâncias voláteis a 105° C, resíduo seco, cinza e cinza insolúvel em ácido da droga pulverizada, do órgão fresco (folha) e extrato fluido. Para o extrato fluido foram determinados, além dos parâmetros físicos acima mencionados, pH, índice de refração e teor alcoólico. Nas folhas frescas foram analisadas somente as substâncias voláteis à 105° C e resíduo seco. Os resultados obtidos foram expressos pelo valor médio de três determinações (FARMACOPÉIA, 1959).

As substâncias voláteis e os resíduos secos foram determinados através de analisador eletrônico de substâncias voláteis, marca SATORIUS AG 37070, devendo ter a temperatura final de operação previamente estabelecida (105°C). O resultado foi expresso pela média de três determinações. No extrato fluido (5 mL) foi efetuado o mesmo processo analítico.

Em uma cápsula de porcelana previamente calcinada e de peso conhecido, foram pesados 4 gramas de droga pulverizada. O material obtido foi levado à calcinação ao Bico de Bunsen e em seguida colocada em mufla a 600° C, onde permaneceram até peso constante. Para o extrato fluido foram colocados 5 mL e o solvente foi evaporado em banho-maria, efetuando-se posteriormente o mesmo procedimento utilizado para a droga pulverizada. Os ensaios foram efetuados em triplicata, correspondendo os valores à média em porcentagem.

Em um cadinho previamente lavado com ácido clorídrico 10% e de peso conhecido, foram pesadas 4 g de droga pulverizada (folhas) e levada à calcinação em Bico de Bunsen. Em seguida, foi levado à mufla a 600° C, onde permaneceu até peso constante. Foi acrescentado, após resfriamento, cerca de 50 mL de ácido clorídrico 10%. A parte insolúvel foi recolhida em um papel de filtro quantitativo de cinza conhecida, lavada e calcinada em mufla a 600° C. Logo após, foi efetuada a pesagem. O mesmo método foi empregado para o extrato fluido, utilizando resíduo de 5 mL de extrato. Os resultados foram expressos pela média de três determinações.



Na determinação do pH do extrato fluido foi utilizado pHmetro marca ORION modelo 420 A. Foram feitas três determinações do extrato fluido das folhas e o resultado foi expresso pela média de três determinações.

Para verificação da densidade relativa do extrato fluido a 20° C, foi empregado picnômetro (25 mL), pesando inicialmente água destilada e anotando seu peso. Na sequência, foi efetuado a secagem do picnômetro e acrescentado os extratos fluidos. Foram anotados os pesos e o cálculo da densidade relativa para o extrato realizado dividindo-se o peso obtido para o extrato fluido pelo peso obtido para a água. Os resultados foram expressos pelos valores médios de três determinações.

O índice de refração foi determinado através de refratômetro ABBE 2WAJ. O ensaio foi feito em triplicata e o resultado expresso pela média destes valores. A diluição do extrato foi feita com etanol a 50%.

O teor alcoólico do extrato fluido das folhas seguiu a técnica recomendada pela Farmacopeia Brasileira 2.ed., Métodos Gerais. Foi utilizado um balão de destilação (500 mL), adicionando 25 mL do extrato fluido em 100 mL de água destilada. Foram destilados cerca de 90 mL e transferidos para um balão volumétrico. O volume foi completado até 100 mL a 20° C (FARMACOPEIA, 1959). Foi utilizado um picnômetro para medir a densidade do extrato, comparando o valor obtido com uma tabela de grau alcoólico. O resultado foi expresso pelo valor da média de três determinações.

Na análise do látex de *Euphorbia heterophylla* L., utilizou-se um cromatógrafo gasoso acoplado à espectrômetro de massas (CG-MS) de marca/modelo Scientech/S210 Varian SCAN Saturn 2000, calibrado no momento de uso com padrões certificados nas seguintes condições ambientais, temperatura ambiente de 20° C e umidade relativa do ar de 60%.

Em relação aos testes analíticos qualitativos (screening fitoquímico), foram realizados ensaios para a detecção de polissacarídeos, proteínas e aminoácidos, taninos, catequinas, flavonoides, carotenoides, esteroides e tripterpenóides, depsídeos e depsídonas, derivados da cumarina, saponina espumídica, purinas, antraquinonas, alcaloides e glicosídeos cardioativos (MATOS; MATOS, 1985).

Na detecção de polissacarídeos, foi redissolvido uma pequena quantidade do resíduo ($\pm 1,0$ g) em 5 mL de água destilada. Adicionaram-se 2 gotas de Lugol (dissolver 10 g de iodeto de potássio e 5 g de iodo em 50 mL de água destilada, completar o volume para 100 mL). Coloração azul indica reação positiva.

Para detecção de proteínas e aminoácidos, utilizou-se as reações de Molish e Ninhidrina. Na reação de Molish foi redissolvida uma pequena quantidade do resíduo ($\pm 0,5$ mg) em 2 mL de água destilada (filtrou-se quando necessário), adicionadas 3 gotas de solução alcoólica de α -naftol e, em seguida, cuidadosamente pelas paredes do tubo, 3 mL de ácido sulfúrico concentrado. A formação de



anel violáceo no contato entre as duas camadas indica reação positiva. A reação com ninhidrina foi conduzida redissolvendo-se uma pequena quantidade do resíduo ($\pm 1,0$ g) em 2 mL de água destilada (filtrou-se quando necessário), adicionando-se na sequência 0,5 mL de solução aquosa de ninhidrina 1%. Aquecer em bico de Bunsen até a ebulição. *Coloração violeta persistente indica reação positiva.*

A detecção de taninos foi conduzida redissolvendo-se uma pequena quantidade do resíduo ($\pm 1,0$ g) em 10 mL de água destilada, adicionando-se uma gota de cloreto férrico 1%. Mudança de coloração ou formação de precipitado indica reação positiva.

Classicamente, segundo a estrutura química, os taninos são classificados em dois grupos, hidrolisáveis e condensados. Os taninos hidrolisáveis consistem em ésteres de ácidos gálicos e ácidos elágicos glicosilados, formados a partir do chiquimato, onde os grupos hidroxila do açúcar são esterificados com os ácidos fenólicos. Os taninos elágicos são mais frequentes que os gálicos, e é provável que o sistema bifenólico do ácido hexaidroxidifenólico seja resultante da ligação oxidativa entre dois ácidos gálicos (MONTEIRO, 2005).

Na detecção de catequinas, uma pequena quantidade do resíduo ($\pm 1,0$ g) foi redissolvida em 3 mL de metanol (filtrou-se quando necessário). Adicionou-se 1 mL de solução aquosa de vanilina 1% e 1 mL de ácido clorídrico concentrado. O surgimento de coloração vermelha intensa indica reação positiva.

No caso dos flavonoides, redissolveu-se uma quantidade de resíduo de aproximadamente 1,0 mg em 10 mL de metanol (filtrou-se quando necessário), na sequência foram adicionadas cinco gotas de ácido clorídrico concentrado, finalizando-se ao testar com uma fita de magnésio de 1 cm.

Em relação aos carotenoides, uma quantidade do resíduo ($\pm 1,0$ g) foi redissolvida em 3 mL de clorofórmio (filtrou-se quando necessário) e, na sequência, adicionaram-se algumas gotas de ácido trifluoroacético. Coloração azul é indicativo da presença de carotenoides.

A identificação da presença de esteroides e triterpenóides foi realizada, redissolvendo-se uma quantidade do resíduo ($\pm 1,0$ g) em 3 mL de clorofórmio (filtrou-se quando necessário). Adicionaram-se ao extrato clorofórmico, 2 mL de anidrido acético, agitando-se suavemente. Pelas paredes do tubo, adicionou-se 1 mL de ácido sulfúrico concentrado. No caso de reação positiva, observa-se sucessão de cores, do azul evanescente seguido de verde persistente.

Na detecção de depsídios e depsidonas, redissolveu-se uma quantidade de resíduo de aproximadamente 0,5 mg em 5 mL de éter etílico. (filtrou-se quando necessário). Evaporou-se todo o éter em banho-maria regulado à 60°C. Adicionaram-se ao resíduo, 3 mL de metanol. Agitou-se e, na sequência, adicionaram-se três gotas de cloreto férrico (FeCl_3) 1%. Coloração verde, azul ou cinza indica reação positiva.



A presença de derivados da cumarina foi determinada redissolvendo-se o resíduo ($\pm 1,0$ g) em 5 mL de éter etílico. Procedeu-se a concentração em banho-maria, regulado à 60°C , até um volume aproximado de 0,5 mL. Em papel de filtro, aplicaram-se gotas da solução etérea obtida, de modo a formar duas manchas de 1 cm de diâmetro cada. A uma delas, adicionou-se uma gota de hidróxido de sódio 1 N. Cobriu-se a metade da mancha com papel escuro, procedeu-se a exposição à luz ultravioleta por 30 minutos. O papel escuro foi removido. Fluorescência azul na parte exposta da mancha indica reação positiva.

Na detecção de saponina espumídica foram redissolvidos aproximadamente 0,5 mg do resíduo em 1 mL de etanol 80° GL, avolumou-se até 15 mL com água destilada, agitou-se vigorosamente durante alguns minutos num tubo de ensaio fechado. Quando a camada de espuma permanecer estável por mais de meia hora, o resultado é considerado positivo para saponina espumídica.

A detecção de purinas foi realizada em cápsula de porcelana. Juntou-se ao resíduo 3 gotas de ácido clorídrico 6N e 2 gotas de peróxido de hidrogênio concentrado (30%), evaporou-se em banho maria regulado à 60°C . Deve observar a formação um resíduo corado de vermelho. Na sequência adicionaram-se três gotas de hidróxido de amônio 6N. Coloração violeta indica reação positiva.

A identificação da presença de antraquinonas foi conduzida redissolvendo-se uma alíquota do resíduo ($\pm 0,5$ g) em 3 mL de benzeno (filtrou-se quando necessário). Adicionaram-se 2 mL de hidróxido de amônio 10%, agitou-se suavemente por 10 minutos. Coloração rósea, vermelha ou violeta na fase aquosa indica reação positiva. No caso de reação negativa, manter em ebulição durante 15 minutos, uma quantidade aproximada de 0,5 mg do resíduo com 10 mL de solução aquosa de ácido sulfúrico 10%. Filtrou-se o líquido ainda quente. Transferiu-se o filtrado para um funil de separação, adicionaram-se 10 mL de água destilada, procedendo-se a extração com duas alíquotas de 10 mL de benzeno. As alíquotas de extração foram reunidas e concentradas até volume aproximado de 3 mL e, em seguida, agitada com 3 mL de hidróxido de amônio (10%). Coloração rósea, vermelha ou violeta na fase aquosa indica reação positiva.

Para confirmação da presença ou não de alcaloides, redissolveu-se aproximadamente 1,0 g do resíduo em 4 mL de ácido clorídrico a 5%. Filtrou-se quando necessário. Separar porções de 1 mL em tubos de ensaio, adicionar gotas dos reativos de Bouchardat (Dissolver 4 g de iodeto de potássio e 2 g de iodo em 100 mL de água destilada), Dragendorff (Solução A: dissolver 0,85 g de subnitrito de bismuto em 10 mL de ácido acético e adicionar 40 mL de água destilada; Solução B: dissolver 8 g de iodeto de potássio em 20 mL de água destilada; colocar a solução A pouco a pouco sobre a solução B, armazenar a solução em frasco âmbar), Bertrand (Dissolver 5 g de ácido sílico-tungstico em 100 mL de água destilada) e Mayer (Solução A: dissolver 1,36 g de bicloreto de mercúrio em 60



mL de água destilada; Solução B: dissolver 5 g de iodeto de potássio em 10 mL de água destilada. As soluções A e B são misturadas e diluídas para 100 mL com água destilada).

A formação de precipitados laranja-avermelhado para reativo de Bouchardat; vermelho-tijolo para reativo de Dragendorff e brancos para os reativos de Bertrand e Mayer indicam reação positiva.

Na detecção de glicosídeos cardioativos, redissolveu-se aproximadamente 1,0 g do resíduo em 10 mL de metanol. Filtrou-se quando necessário. Transferiram-se para tubos de ensaio duas alíquotas de 2 ml. Ao tubo 1 foi adicionado reativo de KEDDE (Solução A: dissolver 2 g de 3,5-dinitroácido benzóico para 50 mL de metanol e Solução B: dissolver 5,7 g de hidróxido de potássio para 100 mL de metanol), adicionando-se duas gotas da solução A e, em seguida, duas gotas da solução B, no momento da determinação. Presença de coloração azul ou violeta indica reação positiva. Ao tubo 2, adicionaram 3 gotas de solução recente de nitroprussiato de sódio 5% em água e três gotas de hidróxido de sódio 2N. Coloração roxa intensa indica reação positiva.

3 Resultados e Discussão

A *Euphorbia heterophylla* L. (EUPHORBIACEAE), também conhecida como flor-de-coral é uma planta suculenta e arbustiva, com folhagem e floração ornamentais. O caule apresenta as cicatrizes dos pecíolos caídos, é ramificado, com látex transparente e geralmente não ultrapassa os três metros de altura. As folhas são especialmente distintas, pois são grandes, palmadas, com lobos profundamente recortados, de margens também recortadas e de cor verde-escura. As inflorescências surgem o ano todo, despontando acima da folhagem, por longas hastes. A cor da inflorescência é vermelha, e dela surgem pequenas flores com o centro amarelo. Os frutos que se seguem são do tipo cápsula, amarelos quando maduros e contém cerca de 3 sementes. (SMITH; DOWNS; KLEIN, 1988).

Na Tabela 1, podem ser visualizados os resultados referentes à pesquisa de resíduos secos e substâncias voláteis da droga pulverizada de folhas, folha fresca e do extrato fluido.

Tabela 1. Resultado da análise de substâncias voláteis e resíduos secos da droga pulverizada, folha fresca e extrato fluido de *Euphorbia heterophylla* L.

Amostras	Substâncias voláteis (%p/p)	Resíduo seco (%p/p)
Folha (droga)	11,04	88,95
Folha fresca	85,95	14,04
Extrato fluido	81,49	18,51

Os dados obtidos na pesquisa de cinza e cinza insolúvel em ácido da droga pulverizada de folhas e extrato fluido de folhas de *Euphorbia heterophylla* L., encontram-se na Tabela 2. Os dados indicam



porcentagem elevada de voláteis em folhas frescas e extrato fluido. Tais compostos são oriundos do metabolismo secundário e são liberados no ambiente via exsudados radiculares no solo, lixiviados da parte aérea da planta, decomposição de resíduos vegetais ou por substâncias voláteis no ar (SOUZA FILHO, 2006).

Tabela 2. Resultado da análise de cinza e cinza insolúvel em ácido na droga de folhas e no extrato fluido de folhas de *Euphorbia heterophylla* L.

Amostras	Cinza (%p/p)	Cinza insolúvel em ácido (%p/p)
Folha (droga)	7,39	0,32
Extrato fluido	2,62	0,80

(%p/p), valores expressos em percentagem peso/peso.

Os resultados relativos ao pH, densidade relativa, teor alcoólico e índice de refração do extrato fluido de folhas encontra-se indicados na Tabela 3.

Tabela 3. Resultado da análise do pH, densidade relativa, teor alcoólico e índice de refração do extrato fluido de *Euphorbia heterophylla* L.

Amostras	pH	Densidade Relativa	Teor Alcoólico (% v/v)	Índice de Refração à 20°C
Extrato fluido das folhas	5,97	1,02	40	1,367

As diferentes reações executadas com o resíduo seco do extrato fluido de *Euphorbia heterophylla* L. (screening fitoquímico) detectaram a possível presença de uma variedade de substâncias, conforme indicado na Tabela 4.

Tabela 4. Resultado da presença substâncias no extrato fluido das folhas de *Euphorbia heterophylla* L.

Classes de Substâncias	Presença/Ausência
Polissacarídeos	-
Proteínas e aminoácidos	+
Taninos	+
Catequinas	+
Flavonoides	+
Carotenoides	-
Esteroides e triterpenoides	+
Depisídeos e depsidonas	-
Derivados da cumarina	-
Saponina espumídica	+
Purinas	-
Antraquinonas	-
Alcaloides	+
Glicosídeos cardiotônicos	-

(+) presença; (-) ausência



A literatura aponta também a presença de variedade de compostos detectados em *Euphorbia heterophylla* L., o que corrobora com os resultados obtidos neste trabalho. Os extratos obtidos em metanol indicaram, pela marcha fitoquímica, a possível presença de alcaloides, triterpenos e carboidratos.

Os extratos em hexano e acetato de etila indicaram a presença de triterpenos (JAMES; FRIDAY, 2010). Os extratos metanólicos do caule e folhas de *E. heterophylla* avaliados por Okeniyi et al. (2012), apresentaram em sua composição saponinas, carboidratos, triterpenos, flavonoides e taninos. A fração do extrato botânico da planta *E. heterophylla*, em etanol obtida por Fred-Jaiyesimi e Abo (2010), apresentou em sua composição alcaloides, saponinas e taninos.

A partir da análise do látex de *Euphorbia heterophylla* L. (EUPHORBIACEAE), por CG-MS, foram detectados os compostos indicados na Tabela 5.

Tabela 5. Resultado da análise por CG-MS do látex de *Euphorbia heterophylla* L.

Nome do Composto	Compostos detectados na amostra analisada	Espectro Referência
2-metil-1,3-butadieno	57	57, 41, 70
4-metil-4-hidroxi-2-pentanona	43	43, 59, 101
5,5-dimetil-2[5H]-furanona	97	97, 43, 69
2,4-nonadieno	105	106, 79, 77
2-etil-1-decanol	57	57, 41, 43
Indolizina	117	117, 90, 89
Copaeno	105	105, 119, 151
D-Germacreno	161	161, 105, 91
Humuleno-(v1)	91	91, 105, 67
Azuleno, 1,2,3 ^a ,4,5,6,7-octahidro-1,4	91	91, 121, 94
Naftaleno, 1,2,3,5,6,8 ^a , hexahidro-4,7	161	161, 119, 105
Dietilftalato	149	149, 177, 176
Cedreno	91	91, 119, 195
Dibutilftalato	149	149, 177, 176
Fenol, 4-(1-metil-1-feniletil)	197	197, 149, 199
Fenol-2-(1,1-dimetiletil)-4-(1-metil)	253	253, 254, 73
Fenol-2,6-bis (1,1-dimetiletil)-4-(1-metil)	309	309, 310, 91

Compostos detectados no látex

Muitos dos compostos detectados no látex de *Euphorbia heterophylla* L. possuem propriedades farmacológicas interessantes. A espécie vegetal tem se destacado para uso no tratamento de processos patológicos dentre os quais, helmintíases e constipação; artrite, reumatismo, e processos inflamatórios. Em acréscimo, o látex do vegetal tem sido utilizado em infecções fúngicas e gonocócicas, assim como inseticida, dentre outros usos (NALULE et al., 2017).



4 Conclusão

No presente trabalho, estudou-se a espécie *Euphorbia heterophylla* L., mais especificamente o extrato fluido de folhas e o látex. A partir das reações clássicas de identificação de classes de princípios ativos (abordagem fitoquímica) no extrato fluido de folhas, detectou-se a possível presença de proteínas e aminoácidos, taninos, catequinas, flavonóides, esteróides e triterpenóides, saponina espumídica e alcalóides.

A análise do látex por cromatografia gasosa (CG-MS), indicou a presença de variedade de compostos, tais como, 2-metil-1,3-butadieno, 4-metil-4-hidroxi-2-pentanona, 5,5-dimetil-2[5H]-furanona, 2,4-nonadieno, 2-etil-1-decanol, Indolizina, Copaeno, D-Germacreno, Humuleno-(v1), Azuleno, 1,2,3^a,4,5,6,7-octahidro-1,4, Naftaleno, 1,2,3,5,6,8^a, hexahidro-4,7, Dietilftalato, Cedreno, Dibutilftalato, Fenol, 4-(1-metil-1-feniletil), Fenol-2-(1,1-dimetiletil)-4-(1-metil), Fenol-2,6-bis (1,1-dimetiletil)-4-(1-metil).

Entendemos que novos estudos, principalmente ensaios clínicos, precisam ser realizados para verificar a segurança dos compostos com comprovadas atividades antiproliferativas e antimicrobianas como alternativas adequadas aos medicamentos convencionais.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a todos os técnicos de laboratório da Universidade Brasil, Campus Fernandópolis/SP, que colaboraram na realização dos testes fitoquímicos. Ao botânico professor Ms. Angelo Donizete Simonato por sua colaboração extremamente eficiente na identificação botânica da espécie vegetal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEM, A. C. **Estudo Taxonômico do Gênero *Euphorbia* L.** (Euphorbiaceae) no Rio Grande do Sul – Brasil. 1975. 200 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - UNESP, Instituto de Biociências, Porto Alegre, 1975.
- BACCHI, O.; LEITÃO FILHO, H.; ARANHA, C. **Plantas invasoras de culturas.** Hucitec, 1984.
- BARRETO, R. W.; EVANS, H. C. Fungal pathogens of *Euphorbia heterophylla* and *E. hirta* in Brasil and their potential as weed biocontrol agents. **Mycopathologia**, v.141, p.21-36, 1988.
- COSTA, O. M. M. Morfologia e desenvolvimento de *Euphorbia heterophylla*. **Agric. Sulriogr.** v.18, n.2., p.59-66, 1982.



CORREIA, Manoel Pio. **Dicionário das plantas úteis no Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1926-1978.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. 2.ed. São Paulo: Indústria Gráfica Siqueira, 1959.

FRED-JAIYESIMI, A. A.; ABO, K. A. Phytochemical and Antimicrobial analysis of the crude extract, petroleum ether and chloroform fractions of *Euphorbia heterophylla* Linn Whole Plant. **Pharmacognosy Journal**, v. 2, n. 16, p. 1-4, 2010.

JAMES, O.; FRIDAY, E. T. Phytochemical composition, bioactivity and wound healing potential of *Euphorbia heterophylla* (Euphorbiaceae) leaf extract. **International Journal on Pharmaceutical and Biomedical Research**, v. 1, n. 1, p. 54-63, 2010.

KARIMI, I.; YOUSEFI, J.; GASHGHAEI, A. Ocular toxicity caused by Euphorbia Sap: a case report. **Iranian J Pharmacol Therapeut**. v.9, n.1, p.37-9, 2010.

KISSMAN, K. G.; GROTH, D. **Plantas Infestantes e Nocivas**. 2. Ed., Basf Brasileira, 1997.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil**: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas. 3. ed. Plantarum, 2000.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil**: aquáticas, terrestres, parasitas e tóxicas. Nova Odessa – SP: Instituto Plantarum, 2003.

MATOS, J. M. D.; MATOS, M. E. O. **Farmacognosia**: curso teórico-prático. Fortaleza: UFC, 1985.

MONTEIRO, J. M. **Taninos**: uma abordagem da química à ecologia. *Química nova*, v. 28, p. 892-896, 2005.

NALULE, A. S.; MBARIA, J. M.; KIMENJU, J. W. In vitro anthelmintic potential and phytochemical composition of ethanolic and water crude extracts of *Euphorbia heterophylla* Linn. **J Med Plants Res**. v.7, n.43, p.3202-10, 2013.

NALULE AS, AFAYOA M, MALI B, MAJIDU M. Acute oral toxicity of *Euphorbia heterophylla* Linn. Ethanolic extract in albino mice. **Afr J Pharm Prarmacol**. v.11, n., p.1-9, 2017.



OKENIYI, S. O.; ADEDOYIN, B. J; GARBA, S. Phytochemical Screening, Cytotoxicity, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Stem and Leave Extracts of *Euphorbia heterophylla*. **Journal of Biology and Life Science**, v. 4, n. 1, 2012.

SOUZA FILHO, A. P. S. Interferência potencialmente alelopática do capim-gengibre (*Paspalum maritimum*) em áreas de pastagens cultivadas. **Planta Daninha**, v.24, n.3,p.451-456, 2006.

SUDA, C. N. K. **Hidrolases da Parede Celular em Sementes de *Euphorbia heterophylla* L.** 2001160 f. Tese (Doutorado em Ciências – Bioquímica) - USP, Departamento de Bioquímica e Imunologia, São Paulo, 2001.

SMITH, L. B.; DOWNS, R. J.; KLEIN, R. M. Euforbiáceas. In: **Flora Ilustrada Catarinense** (R. Reitz, ed.). p. 62-137, 1988.

TOSTES, J. B. F. *et al.* **Isolation and characterization of polyphenols from *Euphorbia heterophylla* L. (Euphorbiaceae) leaves**, 2019.

WILSON, A. K. *Euphorbia heterophylla*: A review of Distribution, Importance and Control. **Trop. Pest Manan.** v. 27, p.32-38, 1981.



Uso de pós vegetais como alternativa de controle do caruncho do feijão em armazenamento

Use of vegetal powders as an alternative for controlling bean weevil in storage

RESUMO

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é a espécie mais cultivada deste gênero, contribuindo com cerca de 95 % da produção mundial total. Constitui-se não só no Brasil, mas como em outros países da América Latina, num dos alimentos básicos e fonte acessível de proteína, vitaminas e minerais com elevado conteúdo energético. O Brasil é um dos maiores produtores e maior consumidor mundial de feijão comum, com uma produtividade média de aproximadamente 932 kg ha⁻¹. Dentre os vários fatores que levam à perda de produtividade encontram-se os insetos-praga. Além das pragas de campo, que atacam nos diversos estágios de desenvolvimento da cultura, também são importantes as pragas que atacam os grãos armazenados, dentre as quais inclui-se *Zabrotes subfasciatus*. O controle dessas pragas, utilizando componentes provenientes de plantas com ação inseticida é uma alternativa de controle, vista a alta toxicidade dos produtos químicos utilizados no período de armazenamento do feijão. Este trabalho teve como objetivo o avaliar o efeito de extratos vegetais no comportamento deste importante caruncho. Os experimentos foram conduzidos no laboratório de Fitotecnia, da Universidade Brasil, Campus de Descalvado-SP. Os insetos utilizados nos experimentos foram obtidos da criação estoque mantida no próprio laboratório. Foram realizados testes de atratividade/repelência e testes de mortalidade de diferentes extratos vegetais com intuito de verificar o efeito sobre os insetos. De acordo com os resultados obtidos pode-se verificar que os extratos utilizados na forma de pó de Eucalipto Cheiroso, Capim Limão, Arruda e Laranja Pera apresentaram repelência e efeitos tóxicos aos adultos de *Z. subfasciatus*.

Palavras-chave: Extratos vegetais; *Phaseolus vulgaris*; *Zabrotes subfasciatus*.

ABSTRACT

The common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is the most cultivated specie of this genus, contributing with about 95 % of total world production. It constitutes not only in Brazil, but as in other Latin American countries, one of the staple foods and an accessible source of protein, vitamins, and minerals with high energy content. Brazil is one of the largest producers and the largest consumer of common beans in the world, with an average productivity of approximately 932 kg ha⁻¹. Among the various factors that lead to loss of productivity are insect pests. In addition to field pests that attack at different stages of crop development, pests that attack stored grains are also important, including *Zabrotes subfasciatus*. The control of these pests using components from plants with insecticide action is an alternative control, given the high toxicity of the chemical products used during the bean storage period. This work aimed to evaluate the effect of plant extracts on the behavior of this important weevil. The experiments were carried out in the Phytotechnics laboratory, at Universidade Brasil, Campus Descalvado-SP. The insects used in the experiments were obtained from stock breeding kept in the laboratory. Attractiveness/repellent tests and mortality tests of different plant extracts were carried out to verify the effect on the insects. According to the results obtained, it can be verified that the extracts used in powdered form of *Corymbia citriodora*, *Cymbopogon citratus*, *Ruta graveolens* and *Citrus sinensis* showed repellency and toxic effects to adults of *Z. subfasciatus*.

Keywords: Vegetal Extracts; *Phaseolus vulgaris*; *Zabrotes subfasciatus*.

J.F. Santos

<https://orcid.org/0009-0005-0618-6031>

Universidade Brasil, Descalvado, São Paulo, Brasil

F. Mazzonetto*

<https://orcid.org/0009-0007-2272-8296>

Universidade Brasil, Descalvado, São Paulo, Brasil

L. Toffano

<https://orcid.org/0000-0002-7591-0530>

Universidade Brasil, Descalvado, São Paulo, Brasil

V.P. Melo

<https://orcid.org/0000-0002-5375-723X>

Universidade Brasil, Descalvado, São Paulo, Brasil

*Autor correspondente



1 Introdução

O Feijão é um importante alimento mundial. Embora seja conhecido pelo nome comum de “feijão”, nem todas as plantas são da mesma espécie. Entre a família das leguminosas, as principais espécies de feijão cultivadas no Brasil são: *Phaseolus vulgaris* (feijão comum do grupo Carioca, do Preto ou do Especial) e *Vigna unguiculata* (também conhecido como feijão Caupi, Vigna, feijão-da-colônia, feijão-da-estrada ou feijão-de-corda) (EMBRAPA, 2003).

No Brasil, o feijoeiro comum (*P. vulgaris*) é cultivado praticamente em todo o território nacional e em várias épocas de plantio, o que condiciona uma diversidade de condições climáticas. Com cultivo realizado por pequenos e grandes produtores, e por todas as regiões do Brasil, as variações com as preferências de consumo direcionam a produção e comércio, sendo que cada região possui sua definição na preferência do feijão consumido. Nas regiões do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, sul e leste do Paraná, Rio de Janeiro, sudeste de Minas Gerais e sul do Espírito Santo, o consumo do feijão preto é o mais popular. O feijão caupi tem maior consumo na Região Nordeste, e outros tipos como o feijão roxo e feijão rosinha são consumidos em Minas Gerais e Goiás (EMBRAPA, 2003).

O feijão carioca é o tipo mais produzido e consumido na região Centro-Sul do país e tem maior influência nos preços das bolsas de cereais. Desde meados dos anos 1970, o feijão carioca é o mais cultivado e comercializado no Estado de São Paulo, e concomitantemente o mais consumido e aceito pelo mercado. A maioria da área de produção de feijão é encontrada em pequenas propriedades, em monocultivo e/ou consorciado, nos mais variados arranjos de plantas, o que favorece a diversificação na produção. De acordo com a Conab (2023), a produção brasileira de feijão está projetada para 2023 em 2,9 milhões de toneladas.

Muitos são os fatores que contribuem para a baixa produtividade média nacional e instabilidade da produção, principalmente os diferentes níveis de tecnologia empregados no cultivo. Também, alguns fatores climáticos contribuem, como a deficiência hídrica. Singh (1995) relatou que, na América Latina, em cerca de 93% da área de cultivo de feijoeiro a necessidade hídrica da planta, durante o seu ciclo, não é satisfeita.

Com o aumento na produção de feijão no Brasil, o seu armazenamento é muito importante, com o intuito de preservar a qualidade e evitar a infestação de insetos-praga. Mas as perdas podem ocorrer até mesmo antes, durante e após a colheita, no seu transporte, na industrialização e, como dito, no armazenamento, no qual os fatores influenciadores são diversos como estruturas precárias, umidade, impureza dos grãos e insetos-praga (TAVARES, 2002).

Se armazenado de forma incorreta após a colheita, o feijão pode perder sua qualidade devido à



contribuição de fungos, insetos-praga, germinação, defeitos e escurecimento do feijão. Com o aumento de insetos-praga, perde-se também a qualidade e quantidade do feijão, pois eles se alimentam do endosperma e embrião, onde seu metabolismo aumenta a temperatura e umidade (SILVA et al, 2013).

No caso do feijão carioca, um inseto-praga que o ataca é o caruncho *Zabrotes subfasciatus*. Pertencente à Família Bruchidae, ocorre nos trópicos e em regiões mais quentes. Quando o feijão está em armazenamento, os danos de *Z. subfasciatus* ocorrem devido à penetração e alimentação das larvas dentro dos grãos, provocando perda de peso e redução no valor nutritivo do feijão. Em decorrência, há a desvalorização comercial do produto, por existirem os insetos mortos, fezes e orifícios de saída do inseto-praga na fase adulta (SILVA et al., 2013).

O uso de inseticidas para controlar pragas eleva o custo de produção e devido, muitas vezes, à utilização incorreta destes produtos, além da alta toxicidade, quando utilizados no armazenamento. Uma alternativa ao uso dos produtos químicos são as plantas com ação e substâncias inseticidas (MAZZONETTO, 2002).

De acordo com Quarles (1992), os extratos botânicos, em comparação com os pesticidas sintéticos apresentam vantagens, como adaptar compostos que os insetos-pragas não podem inativar, menor toxicidade do que os compostos puros, biodegradação rápida e por serem criados com recursos renováveis diferentes dos materiais sintéticos. Já de acordo com Mazzonetto (2002), a vantagem de usar as plantas inseticidas é devido favorecer os menores produtores, ao baixo custo, à facilidade em usá-las e poder plantá-las na propriedade, o que facilita a utilização das mesmas.

No Brasil, encontra-se uma abundância de espécies vegetais, podendo ser considerado como um depósito para a descoberta de efeitos inseticidas de espécies vegetais antes exploradas para outros fins, mas que seus subprodutos podem ser aproveitados para o controle de pragas em diversas formas (BRITO et al., 2006).

Devido a esses fatores relevantes, muitos pesquisadores, como alternativa, isolam compostos presentes em certas plantas com a intenção de verificar seus efeitos sobre pragas de importância econômica. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes extratos vegetais, na formulação em pó, no comportamento de *Z. subfasciatus* em feijão carioca durante o armazenamento.

2 Materiais e Métodos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fitotecnia da Universidade Brasil, Campus de Descalvado-SP, onde a temperatura ambiente variou entre 23 °C e 26 °C, umidade relativa de 60 ± 10 % e 12 horas de fotoperíodo.

Criação estoque de *Zabrotes subfasciatus*

Os insetos utilizados nos experimentos foram obtidos da criação estoque mantida no próprio laboratório. O substrato utilizado foi o feijão bolinha. As criações foram mantidas em frascos de vidro de 500 mL, com a boca vedada com filó. A cada 30 a 35 dias, o material era peneirado e os adultos resultantes foram utilizados para iniciar a infestação em novos frascos e para a realização dos experimentos.

Obtenção dos extratos vegetais

Os extratos utilizados nos experimentos foram obtidos de plantas coletadas no Centro Experimental da Universidade Brasil, Campus de Descalvado/SP, e transferidos ao Laboratório de Fitotecnia. Foram utilizadas 4 espécies vegetais: eucálio cheiroso (*Corymbia citriodora*); do capim limão (*Cymbopogon citratus*); arruda (*Ruta graveolens*) e laranja pera (*Citrus sinensis*).

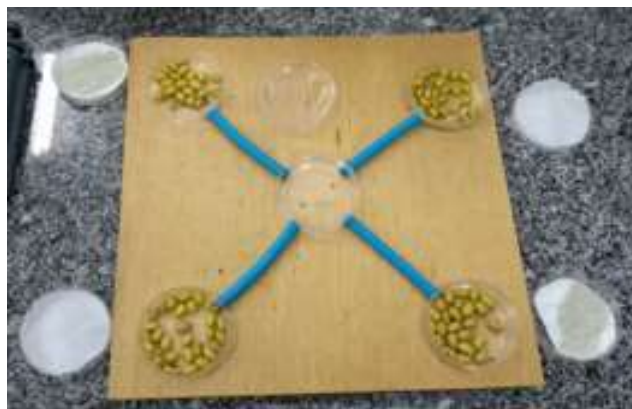
Os extratos na formulação pó seco foram obtidos a partir de plantas submetidas à secagem em estufa com circulação forçada de ar na temperatura constante de 40 °C, durante 48 horas. Posteriormente, o material seco foi triturado em moinho de faca e peneirado para uniformização e obtenção do pó fino. Estes foram devidamente etiquetados e armazenados, individualmente, por espécie, em recipientes de vidro hermeticamente fechados até a utilização.

Bioensaios de atratividade/repelência de adultos

Nos testes de atratividade/repelência dos adultos, foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, com 10 repetições para cada espécie vegetal (4 espécies vegetais).

Para estes testes foram utilizadas arenas formadas por cinco caixas plásticas circulares, sendo a caixa central interligada simetricamente às demais por tubos plásticos, em diagonal (Figura 1).

Figura 1. Detalhe da arena utilizada nos bioensaios.



Fonte: arquivo pessoal



Nesse bioensaio foi utilizada a concentração de 0,3 g de pó seco vegetal por 10 g de feijão carioca, sendo que, nas quatro caixas externas, amostras de feijão tratadas com pós secos e testemunhas (sem pós) foram distribuídas, respectivamente, em dois recipientes simétricos opostos. No recipiente central, foram liberados 20 adultos recém-emergidos da espécie de caruncho e, após 24 horas, contou-se o total de insetos presentes na testemunha (sem pós) e no tratamento com os diferentes extratos vegetais.

A partir dos dados, foi estabelecido um índice de preferência (I.P.) em que:

$$I.P. = \frac{(\% \text{ de insetos na planta teste} - \% \text{ de insetos na testemunha})}{(\% \text{ de insetos na planta teste} + \% \text{ de insetos na testemunha})}$$

Foi considerada planta repelente (I.P.= -1,00 a -0,10); planta neutra (I.P.= -0,10 a +0,10) e planta atrativa (I.P.= +0,10 a +1,00).

As porcentagens calculadas dos carunchos atraídos nos diferentes recipientes foram analisados estatisticamente pelo teste F, sendo as médias comparadas pelo teste t a 1% de probabilidade, com o auxílio do Excel®.

Bioensaios de mortalidade de adultos

Os bioensaios, visando verificar a toxicidade dos extratos vegetais aos adultos dos carunchos, foram realizados em recipientes plásticos circulares de 6,1 cm de diâmetro e 2,1 cm de altura. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com 6 repetições para cada espécie vegetal (4 espécies vegetais).

Nesse bioensaio, foi utilizada a concentração de 0,3 g de pó seco vegetal por 10 g de feijão carioca. As amostras de feijão foram misturadas com os pós secos e testemunha (sem pó), onde foram liberados, em cada recipiente, 20 adultos recém emergidos da espécie de caruncho. Durante um período de 5 dias, todos os recipientes foram abertos e contados, diariamente, o número de insetos mortos em cada tratamento.

As porcentagens de mortalidade calculadas dos carunchos nos diferentes tratamentos foram analisadas estatisticamente pelo teste F, sendo as médias comparadas pelo teste t a 1% de probabilidade com o auxílio do Excel®.

3 Resultados e Discussão

Bioensaios de atratividade/repelência de adultos

Os resultados obtidos das médias das porcentagens de insetos atraídos nos respectivos



tratamentos com a caracterização da análise estatística encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1. Médias e resultados estatísticos da porcentagem (%) de insetos atraídos.

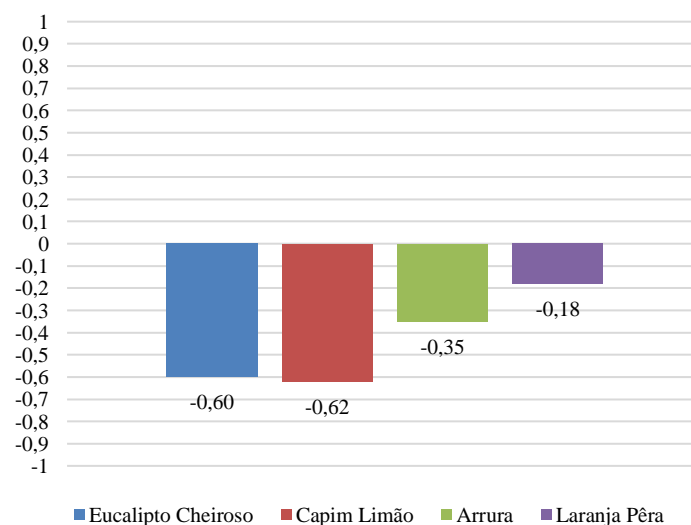
	Eucalipto cheiroso	Capim limão	Arruda	Laranja pera
	% de insetos atraídos ¹			
Sem pó	80,0 a	81,0 a	67,5 a	59,0 a
Com pó	20,0 b	19,0 b	32,5 b	41,0 a
F tratamento	89,7**	119,8**	20,9**	4,85 ^{n.s}
CV %	10,0 %	4,3 %	10,7 %	12,3 %

¹ Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si a 1% pelo teste t (com transformação logarítmica de dados). ** Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

Nos testes de atratividade/repelência dos adultos ocorreram em 24 horas e pode-se verificar que os recipientes com os pós das plantas testadas apresentaram menor porcentagem de insetos coletados, com resultados de apenas 19 % para o tratamento com capim limão, 20 % para o tratamento com eucalipto cheiroso, 32 % para o tratamento com arruda e 41 % para o tratamento com laranja pera, sendo que os recipientes sem a adição dos pós apresentaram valores médios de 81, 80, 67 e 59 %, respectivamente. Somente o tratamento com laranja pera não apresentou diferença estatística com a testemunha.

Quando se calculou o Índice de Preferência (I.P.), pode-se verificar que as plantas testadas apresentaram índices inferiores a 1,0, com valores de -0,62 para capim limão, -0,60 para eucalipto cheiroso, -0,35 para arruda e -0,18 para laranja pera, sendo então classificadas como plantas repelentes aos adultos de *Z. subfasciatus* (Figura 2).

Figura 2. Índices de Preferências dos tratamentos.



Fonte: Autoria Própria



Bioensaios de mortalidade de adultos

Os resultados obtidos das médias das porcentagens de insetos mortos nos respectivos tratamentos com a caracterização da análise estatística encontram-se na Tabela 2.

Nos bioensaios de mortalidade dos adultos ocorreram em 5 dias de teste e pode-se verificar que os recipientes com os pós das plantas testadas apresentaram maiores porcentagens de insetos mortos. Os resultados de mortalidade obtidos foram 100 % para o tratamento com arruda, 95 % para os tratamentos com eucalipto cheiroso e capim limão e 93 % para o tratamento com laranja pera. Pode-se verificar, neste bioensaio, que as porcentagens de insetos mortos nos tratamentos sem a adição dos extratos foram relativamente altas, com valores médios de 42, 43, 67 e 45 %, respectivamente, sugerindo que alguma condição ambiental pode ter afetado estes adultos.

Tabela 2. Médias e resultados estatísticos da mortalidade de insetos.

	Eucalipto cheiroso	Capim limão	Arruda	Laranja pera
	% de insetos mortos ¹			
Sem pó	43,0 a	67,0 a	42,0 a	45,0 a
Com pó	95,0 b	95,0 b	100,0 b	93,0 b
F tratamento	66,4**	18,5**	132,7**	50,5**
C. V %	4,1 %	3,4 %	3,2 %	4,4 %

¹ Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si a 1% pelo teste t (com transformação logarítmica de dados). ** Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

Cada vez mais o interesse e a preocupação da sociedade crescem em relação aos efeitos colaterais dos agrotóxicos, como a toxicidade para os aplicadores, poluição ambiental e a presença de resíduos em alimentos, tem incentivado os pesquisadores a desenvolverem estudos com novas táticas de controle alternativo de pragas, como o uso de inseticidas de origem vegetal (TAVARES; VENDRAMIM, 2005). Plantas com atividade inseticida são ricas em compostos secundários, destacando-se os monoterpenos e seus análogos, que são compostos tipicamente lipofílicos, tendo alto potencial para interferências tóxicas em processos bioquímicos básicos, com consequências fisiológicas e comportamentais em insetos (PRATES; SANTOS, 2002).

Os inseticidas botânicos são de fácil obtenção e manuseio. São compostos muitas vezes de custo baixo e podem diminuir os problemas apresentados pelos produtos químicos. Podem ser utilizados como pós, extrato ou óleos. Atuam no controle de insetos através de toxicidade por contato, ingestão e fumigação, causando mortalidade e alterações no desenvolvimento dos insetos, repelência e diminuição da oviposição. A composição química interfere na sua ação, e é influenciada pelo tipo de vegetal e qual parte dele será utilizada (folhas, flores, caules), por fatores ambientais (como estação do ano, condições ecológicas), e pelos métodos e tempo de extração (ORIANI et al., 1996).

Gakuru e Buledi (1995), estudando o efeito de pós de várias plantas sobre *Acanthoscelides*



obtectus, outra espécie de bruquídeo que ocorre em feijão armazenado, verificaram que algumas delas, incluindo o capim limão (*C. citratus*), apresentaram redução na infestação.

Mazzonetto (2002) observou efeito repelente de pós de eucalipto cheiroso sobre adultos de *Z. subfasciatus* e *A. obtectus*, comportamento este também verificado neste experimento.

Girão Filho et al. (2014) testaram diversos extratos vegetais sobre *Z. subfasciatus*, e observaram plantas que atuavam como inseticida, outras que repeliram o inseto e não causavam a morte, e outras que, além de repelir, também matavam os insetos, quando em contato. A citronela (*Cymbopogon nardus*), planta do mesmo gênero do capim limão (*C. citratus*) apresentou efeito repelente aos adultos de *Z. subfasciatus*.

Conte e Favero (2001) estudaram o uso de arruda (*R. graveolens*) e da laranja pera (*C. sinensis*) para efeito de repelência e mortalidade contra insetos invasores e obtiveram resultados muito significativos e positivos.

4 Conclusões

Pelos dados obtidos neste experimento, pode-se concluir que:

- Os extratos de eucalipto cheiroso, capim limão e arruda, na formulação pó, apresentam efeito repelente aos adultos de *Z. subfasciatus*.
- Estes extratos também foram efetivos no controle de adultos pois apresentam efeitos tóxicos aos insetos, proporcionando altos índices de mortalidade.
- Estas plantas podem ser consideradas promissoras como inseticidas botânicos no controle deste caruncho.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Universidade Brasil, campus de Descalvado-SP, pelo apoio para realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRITO, J. P.; OLIVEIRA, J. E. M.; BORTOLI, S. A. Toxicidade de óleos essenciais de *Eucalyptus* spp. sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae). **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 6, n. 1, p. 96-103, 2006.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Safra Brasileira de Grãos. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em 19 abr. 2021.

CONTE, C.O.; FAVERO, S. Toxidade e repelência de óleos essenciais de menta e capim-limão para o gorgulho do milho. **Horticultura brasileira**, v.19 (suplemento), CD ROM, 2001.



EMBRAPA- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Cultivo do Feijoeiro comum: Características da Cultura. Jan/2003. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/CultivodoFeijoeiro/inex.htm>. Acesso em 19 abr. 2023.

GAKURU, S.; BULEDI, M.K. Efeito comparado de *Nicotiana tabacum* L, Stapf Powders Cymbopogon (DC) e óleo de rícino *Ricinus communis* L. na Conservação de Grãos de Caupi *Vigna Unguiculata* (L.) Walp. **Tropicultura**, v. 13, n. 2, p. 59-61, 1995.

GIRÃO FILHO, J.E.; ALCÂNTARA NETO, F.; PÁDUA, L.E.M.; PESSOA, E.F. Repelência e atividade inseticida de pós vegetais sobre *Zabrotes subfasciatus* Boheman em feijão-fava armazenado. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 3, 2014.

MAZZONETTO, F. **Efeito de genótipos de feijoeiro e de pós de origem vegetal sob o controle de *Zabrotes subfasciatus* (Boh) e *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae)**. 2002. 134 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, Esalq, Piracicaba, 2002.

ORIANI, M. A. de G.; LARA, F. M.; BOIÇA JUNIOR, A. L. Resistência de genótipos de feijoeiro a *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) (Coleoptera: Bruchidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 25, n. 2, p. 213-216, 1996.

PRATES, H. T.; SANTOS, J. P. Óleos essenciais no controle de pragas de grãos armazenados. In: LORINI, I.; MIIKE, L. H.; SENSSEL, V. M. (Eds.). **Armazenagem de grãos**. Campinas: Instituto Bio Geneziz, 2002. p. 443-461, 1000 p.

QUARLES, W. Botanical pesticides from *Chenopodium*. **IPM Practitioner**, v. 14, n. 2, p.01-11, 1992.

SILVA, J.F.; MELO, B.A.; PESSOA, E.B.; FIGUEIREDO NETO, A.; LEITE, D.T. Extratos vegetais para o controle do caruncho-do-feijão *Zabrotes subfasciatus* (Bohemann 1833) (Coleoptera: Bruchidae). **Revista Verde**, Mossoró, v.8, n.3, p. 01-05, 2013.

SINGH, S.P. Selection for water-stress tolerance in interracial populations of common bean. **Crop Science**, Madison, v.35, n.1, p.118-124, 1995.

TAVARES, M.A.G.C. **Bioatividade da erva-de-santa-maria, *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae), em relação à *Sitophilus zeamais* Mots. 1855 (Col.: Curculionidae)**. 2002. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo, Esalq, Piracicaba, 2002.

TAVARES, M.A.G.C.; VENDRAMIM, J.D. Bioatividade da Erva-de-Santa-Maria, *Chenopodium ambrosioides* L., sobre *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 2, p. 319-323, 2005.



Estudo de viabilidade econômica para tilapicultura em tanque escavado no Vale do Ribeira, estado de São Paulo

Economic viability study for tilapia fish farming in ponds from Ribeira Valley, state of São Paulo

RESUMO

Objetivou-se neste estudo avaliar a viabilidade econômica para criação de tilápias em tanque escavado no Vale do Ribeira, estado de São Paulo. Inicialmente, foi realizado estudo das instalações, tanques e nascentes, tais como, dimensões e profundidade dos tanques escavados, tipo de solo, funcionamento dos mongs e integridade das manilhas, sistemas de escoamento, riscos de perda da produção, pesquisa de mercado local, mão de obra, e levantamento e análise dos investimentos demandados para realização deste projeto de adequação. Os resultados revelaram a viabilidade econômica do projeto, indicando o retorno total do investimento e lucro aproximado de 23% em relação ao investimento no prazo estimado de 12 meses, a contabilizar desde o início do projeto à despesa final para comercialização do pescado. Essa é uma projeção em um cenário que apresente as condições ideais de cultivo e manejo realizado de acordo com as indicações técnicas. Fazendo uma projeção para o próximo ciclo utilizando os mesmos parâmetros, a viabilidade econômica pode chegar a atingir índices de lucratividade de até 60% sobre o investimento. Vale ressaltar que estas análises não levaram em consideração o custo agregado da terra e da construção dos tanques, tendo em vista que o proprietário somente fez adequações na infraestrutura presente na propriedade. Contudo, a implantação de uma piscicultura de tilápias em tanque escavado na Região do Vale do Ribeira/SP demonstrou viabilidade econômica, índices produtivos satisfatórios e boa rentabilidade, apresentando projeção de significativa lucratividade e possibilidade de expansão da atividade aquícola nos próximos ciclos produtivos.

Palavras-chave: *Oreochromis niloticus*; Aquicultura intensiva; Custo de produção.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the economic viability of excavated tank system for raising tilapia in the Ribeira Valley, state of São Paulo. Initially, a study was carried out of the installations, tanks and springs, such as the dimensions and depth of the excavated tanks, the type of soil, the operation of the monk systems and pipes integrity, the drainage systems, local market, labor, and approximate survey of the investments required to carry out this adaptation project. The results revealed the economic viability of the project, indicating the total return on investment and approximate profit of 23% in relation to the investment in the estimated period of 12 months, to be counted from the beginning of the project to the final harvest for fish commercialization. This is a projection in a scenario that presents the ideal conditions for rearing and management in accordance with technical indications. Making a projection for the next cycle using the same parameters, the economic viability can reach profitability rates of up to 60% on the investment. It is noteworthy that these analyzes did not consider the added cost of investing in the land, given that the owner only adjusted the infrastructure present on the property. However, the implementation excavated tank system for tilapia farm in the in the Ribeira Valley area demonstrated economic viability, satisfactory production rates, showing a projection of significant profitability and the possibility of expanding the aquaculture activity for the next production cycles.

Keywords: *Oreochromis niloticus*; Intensive aquaculture; Production cost.

C. F. Souza

Laboratório de Farmacologia e Toxicologia Animal, Hospital Veterinário, Universidade Brasil, Descalvado/SP, Brasil.

C. C. Costa

<http://lattes.cnpq.br/4842917815412323>
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, FCAV- UNESP, Jaboticabal/SP, Brasil

S. L. Oliveira

<http://lattes.cnpq.br/5996757635861515>
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, FCAV- UNESP, Jaboticabal/SP, Brasil

M. A. A. Belo*

<https://orcid.org/0000-0001-5845-3940>
Laboratório de Farmacologia e Toxicologia Animal, Hospital Veterinário, Universidade Brasil, Descalvado/SP, Brasil.

*Autor correspondente



1 Introdução

A aquicultura vem se destacando no agronegócio brasileiro. A alta demanda incentiva desde pequenos produtores a grandes empresários do agronegócio. Conforme dados do Anuário de 2022 da Associação Brasileira de piscicultura (PeixeBR), a piscicultura brasileira cresceu em 2021 cerca de 4,7% com relação aos anos anteriores, atingindo 841.005 toneladas produzidas. Sendo cerca de 63% de toda a piscicultura nacional representada pelas espécies das tilápias, alcançando 534.005 toneladas no ano de 2021, que excede em 9,8% o resultado do ano anterior (2020) quando a atividade registrou 486.155 toneladas da espécie. Esses números mantiveram o Brasil como o 4º maior produtor de tilápia do mundo (FAO, 2022).

O relatório SOFIA “The State of World Fisheries and Aquaculture (FAO, 2022) destaca a elevada capacidade produtiva da aquicultura que vem crescendo nas últimas décadas, tendo potencial para atender ao crescimento populacional mundial. De acordo com o manual de Estratégias de Inclusão Produtiva para Pequenos Piscicultores da Embrapa (PEDROZA FILHO et al., 2014), a piscicultura de pequena escala ou familiar é frequentemente encorajada pelas autoridades governamentais, em que pequenos produtores rurais possam também incluir a criação de peixes entre suas atividades, porém o grande desafio seria como integrar este tipo de produção piscícola nos circuitos de comercialização. Porém, as criações intensivas com elevado adensamento populacional resultam em estresse dos animais, condição fisiológica que suprime os mecanismos de defesa dos peixes (CHARLIE-SILVA et al., 2020; COSTA et al., 2022), resultando em perdas econômicas significativas e necessitando de manejo sanitário das piscigranjas (OLIVEIRA et al., 2022)

Existe uma tendência no mercado mundial pela busca de novas fontes de proteínas visando não só uma melhoria na dieta humana, mas também devido à grande pressão sobre as questões de conscientização e bem-estar animal. Aracati et al. (2022) afirmam que o objetivo da atividade piscícola envolve não somente a produção em escala, mas a segurança do alimento oferecido ao consumidor. O presente trabalho teve por objetivo o estudo, elaboração, implantação e execução de projeto de tilapicultura em tanque escavado no Vale do Ribeira e análise da viabilidade econômica, desde a fase de implementação à finalização do projeto com o retorno financeiro.

2 Materiais e Métodos

2.1 Elaboração do projeto

As análises partiram inicialmente da localização geográfica da propriedade. O sítio Ypê pertence à cidade de Registro, no Vale do Ribeira – SP, e está situado na Estrada da Raposa, s/nº, no bairro: Boa Vista Estrada. É uma propriedade familiar, que não possui atividade produtiva. Abrange



área de quatorze hectares, com oito tanques escavados de dimensões variadas.

No período de junho de 2021, foi realizada a análise dos possíveis impasses ambientais na propriedade e aos arredores, onde foi observada uma fonte de contaminantes que provinha da estrada paralela a propriedade, uma caçamba improvisada pelos moradores para depósito de lixo que estava localizada próximo ao acesso da propriedade. Além de não comportar a demanda de lixo dos moradores, estava localizada em local onde quando ocorriam chuvas densas, por efeito da gravidade, todo chorume e restos de lixo eram levados estrada abaixo em direção ao declive que conduzia os contaminantes para a área de uma das nascentes que abasteciam o tanque um, o que poderia ser crucial para início ou contraposição do projeto, tendo em vista o risco de contaminação da água de forma constante.

Com o auxílio de um funcionário da propriedade, foi realizado o deslocamento da caçamba para outro local onde não haveria o risco de contaminação das nascentes da propriedade e que não houvesse risco para outros moradores. Também, foi colocada uma placa informacional no local, solicitando aos moradores que não fosse depositado qualquer tipo de lixo, a fim de não contaminar a nascente. Uma medida simples que resultou em bons resultados e conscientização da população.

O próximo passo foi a avaliação dos riscos e estudo mais aprofundado das instalações, dos tanques e das nascentes, tais como, dimensões e profundidade dos tanques escavados, o tipo de solo, o funcionamento dos monges e das manilhas, os sistemas de escoamento, espécies de peixes predominantes, os riscos de perda da produção, pesquisa de mercado local, mão de obra e levantamento aproximado dos investimentos demandados para o projeto.

Ao terminar a despesca, as instalações passaram por um período sem novo povoamento, chamado vazio sanitário (Figura 1). Se faz importante, pois a ausência de animais nestes locais de cultivo pode ajudar a interromper o ciclo de vida dos agentes potencialmente causadores de doenças (BRASIL, 2020). O vazio sanitário foi realizado por 20 dias a sol pleno.

Figura 1 - Vazio sanitário 10º dia



Fonte: Arquivo pessoal.

2.2 Restauração do monge

Monge é uma estrutura de esvaziamento da represa construída dentro ou fora da mesma usando concreto, tábuas ou simplesmente madeiras, que são introduzidas na parte interna da estrutura, dividindo-a em dois compartimentos: o primeiro compartimento que recebe a água derivada do lago (água com menor índice de oxigênio), através de um orifício localizado no limite inferior do lago, estrategicamente confeccionado para retirar a água com maior quantidade de matéria orgânica e menor índice de oxigênio dissolvido. Também é utilizado para controle do nível da água através da retirada ou colocação de placas de madeira que são a divisória entre os compartimentos do monge. O compartimento voltado para fora do lago possui outra manilha que leva a água do fundo do lago para o tanque de decantação. Após a decantação, a água é reutilizada para irrigação das árvores frutíferas localizadas na propriedade. O monge estava funcional, porém com avarias e necessitava da troca das divisórias. Enquanto ocorria o vazão sanitário, o monge foi reformado.

2.3 Reparação dos taludes

Os taludes dos tanques estavam com áreas de escape que permitiria a perda dos alevinos, com prejuízo da produção. Foram construídas duas estruturas para aumentar o talude e garantir a segurança contra vazamentos no tanque. Em uma das estruturas optou-se por construir uma mini represa a fim de controlar a entrada de água no lago e simultaneamente criar queda d'água que auxiliasse na oxigenação do lago. E em caso de inundação foram instalados cotovelos de PVC caso fosse necessária uma maior vazão de água.



2.4 Manejo pré-povoamento

A preparação do viveiro antes do início do povoamento é indicada para melhor qualidade do solo e água. O processo consiste em esvaziar o viveiro, deixar secar totalmente e ficar exposto ao sol. A desinfecção pode ser realizada de maneira natural, através da exposição ao sol. O momento ideal para iniciar a próxima fase é quando ao pisar no solo o pé não afunde, demonstrando que o fundo está seco e pronto para o processo de calagem (SCHELEDER, 2016).

2.5 Processo de calagem do tanque

Após a restauração das estruturas físicas, foi iniciado a preparação do solo através do processo de calagem. Este processo é indicado quando existe a necessidade de correção do pH que pode ser realizado aplicando calcário dolomítico de acordo com as indicações contidas na Tabela 1. A aplicação tem a função de reduzir a acidez do solo e neutralizar o pH, acelerar a decomposição da matéria orgânica e reduzir a retenção de fósforo do fundo, e proporciona ambiente adequado aos organismos aquáticos (SCHELEDER, 2016).

Na medição inicial, o pH estava abaixo de 6,0, o que é considerado ácido para criação de peixes. Viveiros podem receber calagem enquanto cheios de água, e ou no fundo do viveiro quando secos no período entre ciclos. A aplicação de calcário deve ser feita lançando o calcário sobre a superfície total do viveiro. Após 2 - 3 semanas, a alcalinidade total deve ser medida para determinar se a alcalinidade almejada foi atingida, caso contrário deve-se medir a alcalinidade e repetir a aplicação de calcário (DURIGON et al., 2017).

Tabela 1 – Indicação de cálculo para processo de calagem

Item	Quantidade
Cal virgem	100 a 130 g por metro quadrado (1.000 a 1.300 kg/ha); ou
Cal hidratada	130 a 200 g por metro quadrado (1.300 a 2.000 kg/ha); ou
Calcário dolomítico	200 a 300 g por metro quadrado (2.000 a 3.000 kg/ha)

Fonte: Adaptado de Borges (2009)

2.6 Medição do pH

Após o período de três semanas foi realizada uma nova medição, com o pH atingindo 7,6, condição ideal para o povoamento do tanque. Foi aplicado a quantidade de 1000 kg de calcário dolomítico para área total de 2900 m². Para o cultivo da maioria dos peixes, o ideal é que o pH se mantenha entre 6,5 e 9,0 sendo o ideal entre 7,0 e 8,5, como indicado na Tabela 2 (BORGES, 2009).



Os valores apresentam variações diárias relacionadas à atividade de fotossíntese pelo fitoplâncton.

Tabela 2. Qualidade da água para criação de tilápia em viveiros

Parâmetro	Ideal	Frequência
Temperatura	26-28°C	Diária
Oxigênio dissolvido	3-6 mg por litro	Quinzenal
Transparência	30-40 cm	Semanal/Diária
Alcalinidade total	30-40 mEq por litro	Mensal
pH	7,0-8,5	Semanal
Amônia não ionizada	Até 0,5 mg por litro	Semanal

Fonte: Borges (2009)

As medições devem ser feitas no início da manhã e no final da tarde e o ideal é que a variação diária seja menor que duas unidades, para que o ambiente seja mais confortável aos animais, especialmente para as pós-larvas e os alevinos (SENAR, 2018a). Entretanto, o pH também fica mais ácido devido à respiração dos organismos aquáticos, principalmente à noite. Durante o dia, com a fotossíntese do fitoplâncton, o pH aumenta, sofrendo, assim, variações ao longo do dia e da noite. É de extrema importância a correção do pH, já que todos os processos químicos e biológicos são influenciados por ele. Valores extremos de pH danificam a superfície das brânquias dos peixes, levando-os à morte (SCHELEDER, 2016).

2.7 Aplicação de adubo 4-14-8

A principal finalidade da adubação é a de estimular o crescimento de organismos que irão servir de alimento aos peixes em cultivo. O processo de adubação é indicado após a calagem e consiste na aplicação de adubo para manter o tanque com níveis de nutrientes adequados a criação e desenvolvimento dos peixes (FARIA et al., 2013). De acordo com as indicações técnicas, foram aplicados vinte e quatro quilos de adubo 4N-14P-8K (quatro partes de nitrogênio, quatorze partes de fósforo e oito partes de potássio) na proporção de um quilo para cada 1000 m².

Adubos ou compostos químicos atuam na estimulação da produção do fitoplâncton através da liberação de nutrientes. O fitoplâncton desempenha papel fundamental na cadeia alimentar dos peixes em todos os ambientes aquáticos, é importante fonte de alimento, juntamente com os constituintes de zooplâncton, os constituintes do plâncton veem sendo utilizados na piscicultura como fonte de alimento para pós-larvas de peixes e alevinos (NETO et al., 1995).

O fitoplâncton é composto por vegetais microscópicos que, na presença de luz, fazem a fotossíntese, processo pelo qual consomem nutrientes e gás carbônico da água para produzir seu



próprio alimento liberando, como subproduto, oxigênio no ambiente aquático (SENAR, 2019).

Esse grupo de microrganismos tem papel fundamental nos ambientes aquáticos, como viveiros, açudes e barragens, representando a principal fonte de abastecimento de oxigênio (NETO et al., 1995). Soma-se a isso o fato de serem essenciais no processo de “autolimpeza” da água, contribuindo com a reciclagem dos resíduos lançados.

Além das funções relacionadas à qualidade da água, o fitoplâncton é à base da alimentação de outros microrganismos e de algumas espécies de peixes e pequenos animais (SENAR, 2018b).

O povoamento deve ocorrer de cinco a sete dias depois das adubações e enchimento dos viveiros com água. Isso irá permitir o desenvolvimento do plâncton, fazendo com que os alevinos encontrem quantidade adequada de alimentos naturais, e irá reduzir o aparecimento de larvas de insetos que podem causar danos aos alevinos (BORGES, 2009).

2.8 Cálculo de povoamento

De acordo com as dimensões do tanque 70x42x1,30 m³, totalizando 3640.000,00 metros cúbicos, (em metros quadrados temos área de superfície de 2.940 m²), poderíamos ter um povoamento de até 8.820 juvenis, já que a estocagem deve ser de três peixes por m² em tanques de terra, no caso de engorda exclusiva da espécie, fornecendo ração como alimento principal (FARIA et al., 2013).

Em orientação ao proprietário, por medida de segurança, e como é um projeto primário, foi orientado a aquisição de 5000 juvenis com peso médio de cinquenta gramas. Para este tipo de viveiro, áreas entre 2.000 e 5.000 metros quadrados são recomendadas para produção de juvenis (recria) que é o objetivo do projeto.

Antes de soltar os juvenis, os sacos devem ficar flutuando no viveiro por dez a vinte minutos, a fim de que a diferença de temperatura entre a água do saco e a do viveiro seja a menor possível, evitando choques térmicos. Após esse período, a embalagem pode ser aberta, fazendo com que um pouco de água do viveiro entre no seu interior e os alevinos saiam lentamente, o que possibilita melhor adaptação às novas condições (BORGES, 2009).

3 Resultados e Discussão

3.1 Planilhas de custos de implantação

Os custos de implantação do projeto estão relacionados à mão de obra (Tabela 3), insumos de manejo (Tabela 4), infraestrutura de apoio (Tabela 5), e equipamentos (Tabela 6).



Tabela 3 – Cálculo de mão de obra, junho de 2021.

Mão de obra	Unidade	Quantidade	Valor unitário	Valor total
Calagem	Dia/homem	4	R\$ 70,00	R\$ 280,00
Controle da vegetação	Dia/homem	20	R\$ 70,00	R\$ 2.800,00
Valor total				R\$ 3.080,00

Fonte: Autoria própria

Tabela 4 – Cálculo de insumos de manejo, junho de 2021.

Insumos manejo solo/água	Unidade	Quantidade	Valor unitário	Valor total
Calcário dolomítico	Saco 50kg	20	R\$ 10,00	R\$ 200,00
Adução	Saco 25kg	1	R\$ 52,00	R\$ 52,00
Cloreto de sódio	Saco 25kg	10	R\$ 17,50	R\$ 175,00
Valor total				R\$ 427,00

Fonte: Autoria própria

Tabela 5 – Cálculo de infraestrutura de apoio, junho de 2021.

Infraestrutura de apoio	Unidade	Quantidade	Valor unitário	Valor total
Rede de pesca 30mts	1	1	R\$ 700,00	R\$ 700,00
Tarrafa 20mts	1	1	R\$ 260,00	R\$ 260,00
Materiais construção	Diversos	Diversos	R\$ 200,00	R\$ 200,00
Valor total				R\$ 1.160,00

Fonte: Autoria Própria

Tabela 6 – Cálculo de equipamentos, junho de 2021.

Equipamentos	Unidade	Quantidade	Valor unitário	Valor total
Aerador Aquamix B601 / 1,5HP	1	1	R\$ 2.822,00	R\$ 2.822,00
Sonda DO200A O ² / T°	1	1	R\$ 5.910,00	R\$ 5.910,00
Kit medição pH	1	3	R\$ 50,00	R\$ 150,00
Disco de Secchi	1	2	R\$ 80,00	R\$ 160,00
Valor total				R\$ 9.042,00

Fonte: Autoria Própria

3.1 Custos de produção de cultivo (povoamento e ração)

3.1.1 Custos variáveis

São os custos de produção que se alteram de acordo com a evolução da produção dos peixes com os valores de mercado e com a transição nos ciclos de produção (Tabelas 7 e 8). Visto que cada fase é associada a variação na quantidade de arraçoamento e na granulometria da ração.



Tabela 7- Consumo de ração - Valor semanal, junho de 2021.

Fase de cultivo	Semana de cultivo	Peso do peixe (g)	Consumo semanal	Granulometria	Valor semanal
Juvenil	6	26 a 38g	20 a 25kg	2,6mm	R\$ 105,00
(4x dia)	7	38 a 54g	30 a 35kg	2,6mm	R\$ 130,00
Crescimento	8	54 a 75g	40 a 45kg	2,6mm	R\$ 168,00
(2x dia)	9	75 a 100g	50 a 65kg	4,0mm	R\$ 152,00
Crescimento	10	100 a 130g	65 a 70kg	4,0mm	R\$ 197,06
(2x dia)	11	130 a 166g	80 a 85kg	4,0mm	R\$ 243,20
(2x dia)	12	166 a 206g	95 a 100kg	4,0mm	R\$ 288,08
Terminação	13	206 a 251g	110 a 115kg	4,0mm	R\$ 334,40
(2x dia)	14	251 a 301g	125 a 130kg	4,0mm	R\$ 380,00
(2x dia)	15	301 a 356g	140 a 145kg	4,0mm	R\$ 425,60
(2x dia)	16	356 a 416g	155 a 160kg	4,0mm	R\$ 471,20
(2x dia)	17	416 a 481g	175 a 180kg	4,0mm	R\$ 532,00
Terminação	18	481 a 541g	195 a 200kg	6,0mm	R\$ 592,80
(2x dia)	19	541 a 598g	220 a 225kg	6,0mm	R\$ 668,80
(2x dia)	20	598 a 653g	245 a 250kg	6,0mm	R\$ 744,80
(2x dia)	21	653 a 706g	270 a 275kg	6,0mm	R\$ 820,80
(2x dia)	22	706 a 758g	300 a 305kg	6,0mm	R\$ 912,00
(2x dia)	23	758 a 808g	330 a 335kg	6,0mm	R\$ 1.003,20
(2x dia)	24	808 a 853g	370 a 375kg	6,0mm	R\$ 1.124,00
Valor Total					R\$ 9.292,94

Fonte: Autoria Própria

Tabela 8 - Cálculo de custos variáveis (peixes), junho de 2021.

Componentes	Unidade	Quantidade	Valor unitário	Valor total
Juvenis de Tilápias 50g	Mil	5000	R\$ 0,90	R\$ 4.500,00
Valor total				R\$ 4.500,00

Fonte: Autoria Própria

A viabilidade econômica mostrou-se positiva como indica a Tabela 9. Indicando o retorno total do investimento e com lucro aproximado de 23% em relação ao investimento no prazo estimado de 12 meses, a contabilizar desde o início do projeto à despesa final para comercialização do pescado. Essa é uma projeção em um cenário que apresente as condições ideais de cultivo e manejo realizado de acordo com as indicações técnicas.

Tabela 9 – Projeção de cálculo de viabilidade econômica em 2021, implantação do projeto.

Custos totais	Retorno financeiro bruto	Retorno financeiro líquido
R\$ 27.501,94	R\$ 34.000,00	R\$ 6.498,06

Fonte: Autoria Própria



Fazendo uma projeção para o próximo ciclo utilizando os mesmos parâmetros, de acordo com a tabela 10, a viabilidade econômica pode chegar a atingir índices de lucratividade de até 60% sobre o investimento, visto que os custos de infraestrutura serão deduzidos destes cálculos, já que somente serão contabilizados os custos de povoamento, arraçamento e manutenção.

Tabela 10 – Projeção de cálculo de viabilidade econômica para novo ciclo de produção (2022) com os mesmos parâmetros aplicados neste projeto

Custos totais	Retorno financeiro bruto	Retorno financeiro líquido
R\$ 17.609,94	R\$ 34.000,00	R\$ 16.690,06

Fonte: Autoria Própria

4 Conclusão

A implantação de piscicultura de tilápias em tanque escavado na Região do Vale do Ribeira/SP demonstrou viabilidade econômica, índices produtivos satisfatórios e boa rentabilidade, apresentando projeção de significativa lucratividade e possibilidade de expansão da atividade aquícola para os próximos ciclos produtivos.

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram não existir nenhum tipo de conflito de interesse na execução e publicação deste estudo.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Universidade Brasil pelo apoio institucional e fomento para a realização deste estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARACATI, M. F., RODRIGUES, L. F., DE OLIVEIRA, S. L., RODRIGUES, R. A., CONDE, G., CAVALCANTI, E. N. F., BELO, M. A.A. Astaxanthin improves the shelf-life of tilapia fillets stored under refrigeration. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.102, n.10, p. 4287-4295, 2022. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11780>

BORGES, A. M. Criação de Tilápias. In: **2009, Segunda edição – coleção 18 EMATER-DF; vinculada à Secretária de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Governo do Distrito Federal.** Disponível em: <http://www.emater.df.gov.br/wp->



content/uploads/2018/06/Cria%C3%A7%C3%A3o-de-til%C3%A1pias.pdf

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Manual Aquicultura com Sanidade** - versão Produtores (12955214) SEI 21000.050206/2020-11 / pg. 22. Acesso em: 16 mai. 2022.

CHARLIE-SILVA, I., CONDE, G., GOMES, J. M. M., DA ROSA PRADO, E. J., FERNANDES, D. C., DE MORAES, A. C., BELO, M. A.A. (2020). Cyclophosphamide modulated the foreign body inflammatory reaction in tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish & Shellfish Immunology**, v.107, p.230-237. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.09.039>

COSTA, C. C., OLIVEIRA, S. L., ARACATI, M. F., RODRIGUES, L. F., COLTURATO, L., MONTASSIER, H. J., BELO, M.A.A. Clinical safety of treatment with Zileuton, 5-Lox inhibitor, during acute inflammatory reaction in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Ars Veterinaria**, v.38, n.1, p. 23-30, 2022. <https://doi.org/10.15361/2175-0106.2022v38n1p23-30>

DURIGON, E. G.; BATTISTI, E. K.; LOPES, D. L. A.; LAZZARI, R. Importância da calagem na piscicultura. In: 2017, Oferecimento UDESC; Caderno Rural – SB RURAL. ed. 197 anos 9. Disponível em: https://www.udesc.br/arquivos/ceo/id_cpmenu/1043/rural_197_15198248768612_1043pdf

FARIA, R. H. S., MORAIS, M., DE SOUZA SORANNA, M. R. G., SALLUM, W. B. Criação de peixes em viveiros. Brasília. **Codevasf**, p.54-65, 2013.

NETO, G. S., TESTON, J. A., PRADO, J. F. Plâncton dos tanques da estação de piscicultura da Universidade Federal de Santa Maria, RS, **Brasil. Ciência e Natura**, p.57-64, 1995. <https://doi.org/10.5902/2179460X26529>

OLIVEIRA, S. L., COSTA, C. C., CONDE, G., ARACATI, M. F., RODRIGUES, L. F., SILVA, I. C., BELO, M.A.A. Safety of oral doxycycline treatment in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Ars Veterinaria**, v.38, n.3, p.127-138, 2022. <https://doi.org/10.15361/2175-0106.2022v38n3p127-138>

PEDROZA FILHO, M. X., BARROSO, R., FLORES, R., & da SILVA, A. P. (2014). **Modelos associativos como estratégia de inclusão produtiva para pequenos piscicultores**. Embrapa, Brasília, 2014, 48p.



PEIXE BR - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA PISCICULTURA – **PEIXE BR. Anuário 2022.**

Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anuario-2022/>.

SCHELEDER, J.; SKROBOT, Keyla. **Calagem na piscicultura: técnica de calagem em viveiros de água doce.** Curitiba: Instituto GIA, 2016. 46p. il.; color. Acesso em: 21 abr. 2023.

SENAR. Piscicultura: construção de viveiros escavados. *In:* **2018a, Serviço Nacional de Aprendizagem Rural – COLEÇÃO SENAR 209.** Disponível em: <https://www.cnabrazil.org.br/assets/arquivos/209-VIVEIROS-ESCAVADOS.pdf>. Acesso em: 20 abr. 2023.

SENAR. Piscicultura: criação de Tilápias em tanques-rede. *In:* **2018b, Serviço Nacional de Aprendizagem Rural – COLEÇÃO SENAR 208.** Disponível em: <https://www.cnabrazil.org.br/assets/arquivos/208-CRIA%C3%87%C3%83O-DE-TIL%C3%81PIAS.pdf>. Acesso em: 20 abr. 2023.

SENAR. Piscicultura: criação de Tilápias em tanques-rede. *In:* **2019, Serviço Nacional de Aprendizagem Rural – COLEÇÃO SENAR 262.** Disponível em: https://www.cnabrazil.org.br/assets/arquivos/262_Piscicultura-Manejo-da-qualidade-da-agua.pdf. Acesso em: 22 jun. 2023.



Parâmetros hematológicos e bioquímicos de coelhos suplementados com probióticos na dieta

Hematological and biochemical parameters of rabbits supplemented with probiotics in the diet

RESUMO

A pesquisa teve como objetivo testar diferentes tipos de probióticos, em separado ou associados, para a nutrição animal, desenvolvidos em laboratório. Para isto, foram avaliados os parâmetros hematológicos e bioquímicos de coelhos em crescimento. Vinte e quatro coelhos da raça Nova Zelândia Branco, de ambos os sexos, foram distribuídos em delineamento de blocos casualizados, dentro de quatro tratamentos e seis repetições compostas (três baias por tratamento, com dois coelhos em cada baia). O período experimental compreendeu dos 40 aos 96 dias de idade dos coelhos. Os tratamentos foram: controle: sem inclusão de probiótico; LivRab α : probiótico na concentração de 1×10^9 UFC g^{-1} ; LivRab β : probiótico na concentração de 1×10^{10} UFC g^{-1} e LivRab Σ : probióticos associados (LivRab α e LivRab β), na concentração de 1×10^{13} UFC g^{-1} . A inclusão dos probióticos foi na forma de aspersão, adicionados à ração. Para avaliação dos parâmetros hematológicos e bioquímicos, aos 96 dias de idade, oito coelhos machos (dois por repetição) foram submetidos à coleta de sangue via jugular, pelo método de punção. As análises laboratoriais foram realizadas em amostras de sangue total, em até duas horas após a coleta. As médias foram comparadas pelo teste não paramétrico Kruskal-Wallis, ao nível de 5% de probabilidade. A suplementação de probiótico fornecida em separado ou associados na ração não causou alteração hematológica ou bioquímica ($P \geq 0,05$) nos coelhos, durante a fase de crescimento. Em conclusão, a suplementação com probióticos resultou em parâmetros hematológicos e bioquímicos normais nos coelhos durante a fase de crescimento, o que comprova a segurança do produto administrado na ração.

Palavras-chave: Aditivos; Bactérias; Cunicultura; Microorganismos; Sangue.

ABSTRACT

The research aims to test different types of probiotics, separately or associated in animal nutrition, developed in the laboratory. It is proposed to evaluate the hematological and biochemical parameters of growing rabbits. Twenty-four New Zealand White rabbits, of both sexes, were distributed in a randomized block design, within four treatments and six composite replications (three pens per treatment, with two rabbits in each pen). The experimental period comprised from 40 to 96 days of age of the rabbits. The treatments were: control: without inclusion of probiotic; LivRab α : probiotic at a concentration of 1×10^9 UFC g^{-1} ; LivRab β : probiotic at a concentration of 1×10^{10} UFC g^{-1} and LivRab Σ : associated probiotics (LivRab α and LivRab β) at a concentration of 1×10^{13} UFC g^{-1} . The inclusion of probiotics was by aspersão, added to the feed. For the evaluation of hematological and biochemical parameters, at 96 days of age, eight male rabbits (two per replicate) were submitted to blood collection via the jugular vein, using the puncture method. Laboratory analyzes were performed on total blood samples within two hours after collection. Means were compared using the non-parametric Kruskal-Wallis test, at a 5% probability level. Probiotic supplementation supplied separately or associated in the diet did not cause hematological or biochemical changes ($P \geq 0.05$) in rabbits during the growth phase. In conclusion, supplementation with probiotics resulted in normal hematological and biochemical parameters in rabbits during the growth phase, which proves the safety of the product administered in the feed.

Keywords: Aditives; Bacterium; Rabbit production; Microorganisms; Blood.

Natália Karollaine de Lima

<http://lattes.cnpq.br/3709830576134169>
Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Brasil, Descalvado, SP, Brasil

Ana Júlia Artoni

<http://lattes.cnpq.br/1995073421714586>
Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Brasil, Descalvado, SP, Brasil

Paula Gomes Rodrigues

<https://orcid.org/0000-0003-1140-8899>
Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE

Cynthia Pieri Zeferino*

<https://orcid.org/0000-0003-0873-1740>
Programa de Mestrado em Produção Animal, Universidade Brasil, Descalvado, SP, Brasil

Käthery Brennecke

<https://orcid.org/0000-0001-6758-9532>
Programa de Mestrado em Produção Animal, Universidade Brasil, Descalvado, SP, Brasil

Luriany Pompeo Ferraz

<http://lattes.cnpq.br/0097237077976631>
Orgolabs LTDA, Descalvado, SP

Mara Paula Magno

<http://lattes.cnpq.br/4193847425331343>
Programa de Mestrado em Produção Animal, Universidade Brasil, Descalvado, SP, Brasil

Vando Edésio Soares

<https://orcid.org/0000-0001-6258-0264>
Programa de Mestrado em Produção Animal, Universidade Brasil, Descalvado, SP, Brasil

*Autor correspondente



1 Introdução

A busca por melhor eficiência na produção animal incentivou o desenvolvimento e aprimoramento nutricional que proporcionaram incremento à produção, redução na ocorrência de distúrbios metabólicos e dos custos de produção, sem detrimento ao desempenho animal, aliado ao fato que os setores da agroindústria tornam cada vez mais competitivos, e a um mercado consumidor mais exigente com a qualidade dos produtos (PENA et al., 2018).

Considerando a saúde intestinal e a ótima eficiência zootécnica do coelho, uma ferramenta importante é a utilização de aditivos na dieta. Aplica-se a esse termo aditivo para as substâncias, as quais quando adicionadas às rações são capazes de melhorar o desempenho do animal e a qualidade física dos alimentos (ARAÚJO et al., 2007). Sendo assim, a utilização de fontes nutricionais alternativas mais econômicas e/ou aditivos que melhorem o aproveitamento dos nutrientes podem proporcionar diminuição nos custos de produção, acarretando aumento na lucratividade, com maior saúde ao animal.

Os aditivos do tipo probióticos são suplementos à base de microrganismos que afetam benéficamente o hospedeiro, promovendo o balanço da biota intestinal. Seu objetivo é criar uma barreira intestinal contra agentes patógenos e alguns deles têm se mostrado proveitosos ao desempenho dos coelhos. O uso dos probióticos podem melhorar também a digestibilidade de diversos nutrientes.

Diversos são os probióticos utilizados na dieta de coelhos, porém, sua eficácia depende basicamente da concentração de microrganismos de cada composto, bem como da variedade de espécies utilizadas, sendo mais comum o uso de leveduras do tipo *Saccharomyces* e *Lactobacillus* (FERREIRA; FERREIRA, 2013).

No contexto dos alimentos funcionais ricos em probióticos inserem-se a kombucha e o kefir (ou quefir), considerados suplementos elaborados à base de microrganismos vivos, além de serem alimentos com baixo valor calórico, desintoxicantes ou promotores do sistema imunológico (SANTOS, 2016).

A kombucha, é uma bebida milenar de origem asiática, caracterizada pelo sabor agri-doce, produzida originalmente com chá preto ou verde açucarado e fermentado em temperatura ambiente por um consórcio simbiótico de bactérias acéticas e leveduras denominado *Scoby* (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*) (PALUDO, 2017; SANTOS, 2016). Desta forma, o *Scoby*, pode ser definido por um composto de microrganismos aglomerados em uma massa de celulose, que ao consumirem o açúcar presente no meio onde são inseridos produzem ácidos orgânicos, etanol, vitaminas hidrossolúveis e uma diversidade de micronutrientes (JAYABALAN et al., 2014).

Na alimentação humana, o kefir e a kombucha são bastante utilizados em função dos benefícios



e propriedades nutricionais, entretanto, há poucos estudos na alimentação animal. Estes suplementos, administrados em separado ou associados, podem se constituir em alternativa para melhor desempenho produtivo e saúde do animal (MAGNO et al., 2021).

A composição bioquímica do sangue reflete de maneira confiável o equilíbrio entre o ingresso, o egresso e a metabolização dos nutrientes no tecido animal. Este equilíbrio chama-se homeostase, e neste processo complexos mecanismos metabólico-hormonais estão envolvidos. A quebra da homeostase leva a redução do desempenho zootécnico (GONZÁLEZ et al., 2000). O plasma sanguíneo, de acordo com sua composição, reflete a situação metabólica dos tecidos animais, de forma a avaliar lesões teciduais, transtornos no funcionamento de órgãos, adaptação do animal diante de desafios nutricionais e fisiológicos, além de desequilíbrios metabólicos específicos ou de origem nutricional (CAROLLO, 2019).

De acordo com a literatura científica, há poucos estudos conduzidos até o momento sobre o efeito do uso de probióticos na alimentação de coelhos, em particular, aos parâmetros hematológicos e bioquímicos. Tais parâmetros, por estarem diretamente relacionados ao estado de saúde, fornecem informações importantes sobre a condição do animal e, portanto, se constitui em indicador de mudanças internas que podem ser causadas por condições externas (TUMOVÁ et al., 2007). Em outras palavras, podem indicar alterações fisiológicas, patológicas, e nutricionais, o que permite o monitoramento da saúde clínica (DE SOUZA et al., 2018).

Diante do exposto, torna-se essencial que novos trabalhos sejam conduzidos visando melhorar o entendimento dos benefícios da inclusão de probióticos na dieta de coelhos de engorda, bem como, determinar a composição e os níveis ideais, com enfoque na saúde e produção dos coelhos, variáveis que podem ser consideradas como consequência dos benefícios dos probióticos sobre o organismo do animal como um todo.

A presente pesquisa tem como objetivo testar diferentes tipos de probióticos, em separado ou associados na nutrição animal, desenvolvidos em laboratório. Para isto, propõe-se avaliar os parâmetros hematológicos e bioquímicos de coelhos em crescimento. Com as informações geradas neste estudo espera-se auxiliar no desenvolvimento de um produto probiótico específico para coelhos.

2 Materiais e Métodos

Os procedimentos envolvendo animais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA, protocolo número 2200027) da Universidade Brasil.

Local, animais e condições experimentais



O setor de cunicultura consistiu de um galpão com área aproximada de 30 m², pé direito de 4 m, fechamento total no lado norte e sul, parede de 50 cm de altura nas laterais e acima dela, vão aberto com proteção de tela de alambrado até o teto, além das cortinas reguláveis para manutenção do conforto ambiental (temperatura, umidade relativa do ar e ventilação).

Foram utilizados 24 coelhos da raça Nova Zelândia Branco, de ambos os sexos, desmamados aos 35 dias de idade. Os coelhos foram distribuídos em delineamento de blocos casualizados, dentro de quatro tratamentos e seis repetições compostas (três baias por tratamento, com dois coelhos em cada baia). O peso médio de 780 g por animal, aos 40 dias, foi considerado como fator de blocagem.

Os animais foram alojados em baias coletivas, com dimensões de 1,00 m (comprimento) x 1,00 m (largura) x 1,00 m (altura) e piso de cimento. Optou-se por não utilizar nenhum tipo de cama nas baias para não interferir no consumo dos probióticos. Em cada baia foram incluídas placas de descanso para patas, de forma a garantir o bem-estar dos animais (Figura 1).

Figura 1. Galpão de alojamento. Cada baia contém dois coelhos Nova Zelândia Branco, além das placas de descanso para patas, um comedouro e um bebedouro (ambos do tipo cumbuca de barro).



Após o desmame, aos 35 dias de idade, os animais foram submetidos a um período de cinco dias de adaptação às baias, local onde foram mantidos até os 96 dias de idade. Portanto, o período experimental compreendeu dos 40 aos 96 dias de idade dos coelhos.

Durante o período de adaptação, os coelhos foram vermifugados com Ivomec®, medicamento à base de ivermectina (dose de 0,02 mL kg⁻¹ de peso vivo), via subcutânea, para garantir aos animais ausência de parasitas, os quais poderiam interferir nos resultados dos parâmetros hematológicos e bioquímicos, a partir da administração dos probióticos.

Para verificar as condições ambientais na instalação, termômetros foram alocados a altura dos animais, no centro do galpão. As temperaturas máxima e mínima foram registradas diariamente às 17h00, usando termômetro de máxima e mínima, enquanto a umidade relativa do



ar foi verificada às 08h00, 12h00 e 17h00, por meio de termômetro de bulbo seco e úmido. As médias de temperatura e umidade relativa do ar no período foram 26°C e 65%, respectivamente.

O programa de luz consistiu de fotoperíodo 12 horas de luz e 12 horas de escuro, ao longo de todo o período experimental, conforme recomendações de Verga et al. (2007) para coelhos em crescimento.

Tratamentos experimentais

O estudo foi composto por tratamentos que consistiram de diferentes tipos de probióticos adicionados, de forma isolada ou associada, à ração dos animais, sendo: Controle: sem inclusão de probiótico; LivRab α : inclusão do probiótico, na concentração de 1×10^9 UFC g^{-1} ; LivRab β : inclusão do probiótico, na concentração de 1×10^{10} UFC g^{-1} ; LivRab Σ : inclusão dos probióticos associados (LivRab α e LivRab β), na concentração de 1×10^{13} UFC g^{-1} .

Todos os tratamentos com probiótico tiveram a adição de meio de cultura (veículo) na mesma dosagem utilizada no tratamento controle. Os probióticos utilizados foram compostos por culturas simbióticas de bactérias (Tabela 1) e leveduras (Tabela 2), além do *Scoby*, composto por mais de 80 gêneros de bactérias e leveduras.

Tabela 1. Bactérias acéticas predominantes na composição dos probióticos.

Gênero	Espécie
<i>Acetobacter</i>	<i>A. xylinum</i>
	<i>A. xylinum</i>
	<i>A. xylinoides</i>
	<i>A. acetie</i>
<i>Bacterium</i>	<i>A. pasteurianus</i>
	<i>B. gluconicum</i>

Tabela 2. Principais gêneros e espécies de leveduras envolvidos na composição dos probióticos.

Gênero	Espécie
<i>Saccharomyces</i>	<i>S. cerevisiae</i>
	<i>S. ludwigii</i>
	<i>B. bruxelless</i>
<i>Brettanomyces</i>	<i>B. lambicus</i>
	<i>B. custersii</i>
<i>Kloeckera</i>	<i>K. apiculata</i>
<i>Hanseniaspora</i>	<i>H. guilliermondii</i>
<i>Schizosaccharomyces</i>	<i>S. pombe</i>
<i>Zygosaccharomyces</i>	<i>Z. bailii</i>
<i>Torulaspota</i>	<i>T. delbrueckii</i>
<i>Candida</i>	<i>C. stellate</i>

A inclusão do probiótico foi na forma de aspersão (1mL, por coelho, por dia) realizada diretamente no comedouro, juntamente com a ração (*on top*), em função da consistência gelatinosa



de ambos os probióticos. Os comedouros utilizados foram do tipo cumbuca de barro, sendo um por baia (Figura 1).

A alimentação dos coelhos consistiu no fornecimento, a vontade, de ração comercial peletizada balanceada (MP 872®, PRIMOR; 12% de proteína bruta) para coelhos em crescimento, sem inclusão de probiótico. A ração foi ofertada diariamente às 08h00. A aspersão dos probióticos na ração (tratamentos) foi realizada neste momento de fornecimento.

Os bebedouros utilizados também foram do tipo cumbuca de barro, higienizados constantemente e a oferta de água ocorreu de forma irrestrita durante todo o período experimental (Figura 1).

Avaliação dos parâmetros hematológicos e bioquímicos

Ao fim do período experimental, aos 96 dias de idade, oito coelhos machos (dois por repetição) foram tomados de forma aleatória (sorteados) e submetidos à tricotomia, na região do pescoço, para possibilitar a coleta de sangue.

As amostras (volume total de 4,0 a 6,0 mL) foram coletadas através da veia jugular, pelo método de punção, utilizando agulhas de calibre 0,55 x 20 mm (Figuras 2A e 2B) e armazenadas em microtubos (EDTA K2 0,5 ml, Labor Import, Osasco, São Paulo, Brasil), previamente identificados para análise dos parâmetros hematológicos e armazenadas em tubos (Seco 2 mL, Greiner), previamente identificados para análise dos parâmetros bioquímicos (Figura 2C). Em seguida, os tubos foram imediatamente tampados e o conteúdo homogeneizado suavemente por inversão repetida.

As análises laboratoriais (hemograma completo) foram realizadas nas amostras de sangue, em até duas horas após a coleta. Para análise hematológica foi utilizado o analisador “HumaCount 30TS automatizado” (Human GMBH, Wiesbaden, Alemanha) e realizadas a leitura manual de contagem diferencial e a pesquisa de hemoparasitas. A técnica empregada na rotina laboratorial foi a coloração por panótico rápido (OLICHESKI, 2003).

As amostras individuais de soro sanguíneo foram analisadas quanto aos níveis de Eritrograma (série vermelha; hemácias ($\text{milhões}/\text{mm}^3$), hemoglobina (g dL^{-1}), hematócrito (%), volume corpuscular médio (VCM; fL), concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM %), Leucograma (série branca; leucócitos (mm^3), mielócitos (mm^3), metamielócitos (mm^3), bastonetes (mm^3), neutrófilos segmentados (mm^3), basófilos (mm^3), eosinófilos (mm^3), linfócitos típicos (mm^3), linfócitos atípicos (mm^3), monócitos (mm^3), eritroblastos (mm^3), além dos níveis de plaquetas (mm^3) e proteínas plasmáticas (g dL^{-1}).

Figura 2. A: contenção do coelho; B: coleta das amostras de sangue por meio da veia jugular; C: amostras de sangue armazenadas (para a análise hematológica foram utilizados os microtubos de coloração roxa e para a análise bioquímica foram utilizados os tubos de coloração vermelha).



Para análise bioquímica foi utilizado o analisador “Labmax100”, além dos kits Labtest. Foram realizadas análises de alanina aminotransferase (ALT; U.I. L⁻¹), fosfatase alcalina (ALP; U.I. L⁻¹), ureia (mg dL⁻¹), albumina (g dL⁻¹), creatinina (mg dL⁻¹), globulina (g dL⁻¹), aspartato aminotransferase (AST; U.I. L⁻¹) e proteínas totais (g dL⁻¹).

Análise estatística

Os dados dos parâmetros hematológicos e bioquímicos foram submetidos às prerrogativas de normalidade, homogeneidade de variância e análise de resíduo. As médias das variáveis foram comparadas pelo teste não paramétrico Kruskal-Wallis, ao nível de 5% de probabilidade. Todas as análises foram efetuadas com o programa computacional Statistica, versão 12.0 (STATSOFT INC., 2014).

3 Resultados e Discussão

Na Tabela 3 são apresentados os resultados dos parâmetros hematológicos de coelhos em crescimento, de acordo com os diferentes tipos de probióticos. Não houve efeito ($P \geq 0,05$) de tratamento com probióticos sobre os resultados do eritrograma, do leucograma, além das plaquetas e das proteínas plasmáticas.

Os parâmetros relativos (%) e absolutos (mm³) de: mielócitos, metamielócitos, bastonetes, basófilos, linfócitos atípicos e eritroblastos apresentaram resultado zero para todas as amostras,



independentemente dos tratamentos. Quanto ao resultado da pesquisa de hematozoários, não foram observados hemoparasitas em nenhuma das amostras avaliadas.

Tabela 3. Parâmetros hematológicos de coelhos em crescimento, suplementados com probióticos na ração.

Parâmetros hematológicos	Tratamentos ¹				Valor de P ²
	Controle	LivRab α	LivRab β	LivRab Σ	
Eritrograma					
Hemácias (milhões/mm ³)	5,2	5,8	5,7	4,5	0,3666
Hemoglobina (g dL ⁻¹)	9,9	10,9	10,2	9,1	0,2796
Hematócrito (%)	37,0	41,0	37,0	33,0	0,3797
Volume corpuscular médio (fL)	71,4	70,1	64,9	73,3	0,1600
Concentração da hemoglobina corpuscular média (%)	27,0	27,1	27,6	27,5	0,9444
Leucograma					
Leucócitos (mm ³)	6450,0	7100,0	5250,0	4950,0	0,4753
Segmentados (mm ³)	2450,0	2456,0	2410,0	2142,0	0,9189
Segmentados (%)	41,0	35,0	46,0	43,0	0,6823
Eosinófilos (mm ³)	255,0	276,0	193,0	270,0	0,9189
Eosinófilos (%)	4,0	4,0	4,0	6,0	0,7539
Linfócitos típicos (mm ³)	3384,0	3876,0	2529,0	2439,0	0,5724
Linfócitos típicos (%)	51,0	55,0	48,0	50,0	0,8692
Monócitos (mm ³)	361,5	493,0	118,5	99,0	0,2440
Monócitos (%)	5,0	7,0	3,0	2,0	0,2075
Plaquetas (mm ³)	375000,0	393000,0	429000,0	479000,0	0,8013
Proteínas plasmáticas (g dL ⁻¹)	6,2	6,0	5,8	5,9	0,9134

¹Tratamentos: Controle = sem inclusão de probiótico; LivRab α = inclusão do probiótico; LivRab β = inclusão do probiótico; LivRab Σ = inclusão dos probióticos associados (LivRab α e LivRab β). ²As médias foram comparadas pelo teste não paramétrico Kruskal-Wallis, ao nível de 5% de probabilidade

Em função da proibição do uso de antibióticos e outros promotores de crescimento em muitas partes do mundo, há crescente interesse em abordagens alternativas que incluem agentes bioterapêuticos (probióticos), como leveduras (espécies *Saccharomyces*) para melhorar a taxa de crescimento e a resistência às doenças nos animais de produção (EZEMA & EZE, 2012; FATHI et al., 2017).

A partir dos resultados da Tabela 3, observa-se que a suplementação com probióticos fornecidos em separado ou associados na ração, não causou alteração hematológica nos coelhos, durante a fase de crescimento. Da mesma forma que o presente estudo, Fathi et al. (2017) também não encontraram diferença significativa de inclusão de probiótico sobre os parâmetros sanguíneos estudados.

De acordo com a literatura científica, os parâmetros hematológicos normais do coelho, nas diferentes categorias, seguem descritos na Tabela 4.



Tabela 4. Parâmetros hematológicos normais do coelho, de acordo com a categoria.

Referência	Parâmetros hematológicos	Amplitudes de distribuição	Categoria
Brenner et al. (2021)	Eritrócitos	5,4 - 6,8 x10 ⁶ uL	Coelhos domésticos de raças variadas
	Hematócrito	41 - 49 %	
	Volume corpuscular médio	71 - 77 fL	
	Plaquetas	328.000 - 544.000 µL	
	Proteínas plasmáticas totais	6,5 - 7,7 g dL ⁻¹	
	Leucócitos	5.800 - 10.800 µL	
	Eosinófilos	0 - 360 µL	
	Linfócitos	2.800 - 6.600 µL	
	Monócitos	40 - 800 µL	
Basófilos	0-36 µL		
Moore et al. (2015)	Eritrócitos	5,15 - 6,48.10 ⁶ µL ⁻¹	De 1 a 3 meses de idade
	Hematócrito	38,1 - 44,1 %	
	Hemoglobina	10,7 - 13,9 g dL ⁻¹	
	Volume corpuscular médio	66,2 - 80,3 fL	
	Concentração da hemoglobina corpuscular média	24,2 - 32,6 %	
	Leucócitos	4,1 - 9,79.10 ³ µL ⁻¹	
	Eosinófilos	0 - 2,4 %	
	Linfócitos	44,6 - 77,8 %	
	Eosinófilos	0 - 2,4 %	
	Monócitos	0 - 13,1 %	
Basófilos	0,1 - 4,5 %		
Archetti et al. (2008) *	Hemácias	4,6 - 6,6. 10 ¹² l ⁻¹	Fase de engorda
	Hemoglobina	9,5 - 13,7 g dl ⁻¹	
	Hematócrito	25,5 - 37 %	
	Volume corpuscular médio	52 - 60 fl	
	Concentração da hemoglobina corpuscular média	35 - 38 g dl ⁻¹	
	Eosinófilos	0,00 - 0,04.10 ⁹ l ⁻¹	
	Eosinófilos	0,0 - 0,5 %	
	Linfócitos típicos	0,5 - 6,4.10 ⁹ l ⁻¹	
	Linfócitos típicos	7 - 70 %	
	Monócitos	0,1 - 2,4.10 ⁹ l ⁻¹	
	Monócitos	4 - 29 %	
	Plaquetas	201 - 716.10 ⁹ l ⁻¹	
	Proteínas plasmáticas	32 - 61 g l ⁻¹	
	Basófilos	0,5 - 9 %	
Basófilos	0,0 - 0,7.10 ⁹ l ⁻¹		

* estudos preliminares

Valores hematológicos fora das amplitudes de distribuição podem indicar alterações fisiológicas e/ou patológicas. Para o presente estudo, os parâmetros hematológicos foram considerados normais o que pode ser considerado como bom indicador para a segurança destes probióticos desenvolvidos em laboratório.

Relatos de pesquisadores indicaram que nem sempre a suplementação com probióticos em dietas para coelhos resultam em alterações hematológicas, sendo que em alguns estudos as respostas foram prejudiciais, enquanto que em outros estudos, houve melhora nos índices hematológicos, permanecendo, portanto, dentro da faixa normal de valores para a espécie (ETIM et al., 2014).



Spinelli et al. (2012) compararam valores hematológicos entre sexos (machos e fêmeas, de 2 a 4 meses de idade) de coelhos da raça Nova Zelândia Branco, criados em condições convencionais e observaram que não houve diferenças significativas entre os sexos nos três anos de estudo.

Ewuola et al. (2010) realizaram um estudo hematológico em coelhos desmamados alimentados com prebióticos dietéticos (Biotronic®) e probióticos (BioVET®-Yc) nas taxas recomendadas de 500 g tonelada⁻¹ e 4 kg tonelada⁻¹ respectivamente. Os resultados mostraram que os eritrócitos e os leucócitos dos coelhos não foram significativamente afetados pelos tratamentos dietéticos. As hemoglobinas dos coelhos foram significativamente as mesmas em relação ao tratamento controle e permaneceram dentro da faixa normal de valores esperados para coelhos.

Na Tabela 5 são apresentados os resultados dos parâmetros bioquímicos de coelhos em crescimento, de acordo com os diferentes tipos de probióticos.

Tabela 5. Parâmetros bioquímicos de coelhos em crescimento, suplementados com probióticos na ração.

Parâmetros bioquímicos	Tratamentos ¹				Valor de P ²
	Controle	LivRab α	LivRab β	LivRab Σ	
Alanina aminotransferase (U.I. L ⁻¹)	123,0	95,0	98,5	78,5	0,2440
Fosfatase alcalina (U.I. L ⁻¹)	155,5	175,0	173,5	172,5	0,8810
Ureia (mg dL ⁻¹)	22,0	16,5	18,00	17,5	0,8468
Albumina (g dL ⁻¹)	3,20	3,40	3,35	2,90	0,8085
Creatinina (mg dL ⁻¹)	0,85	0,75	0,75	0,85	0,6463
Globulina (g dL ⁻¹)	2,20	2,10	2,25	2,50	0,2488
Aspartato aminotransferase (U.I. L ⁻¹)	33,0	37,0	28,5	26,0	0,1290
Proteínas totais (g dL ⁻¹)	5,4	5,5	5,6	5,3	0,8672

¹Tratamentos: Controle = sem inclusão de probiótico; LivRab α = inclusão do probiótico; LivRab β = inclusão do probiótico; LivRab Σ = inclusão dos probióticos associados (LivRab α e LivRab β).²As médias foram comparadas pelo teste não paramétrico Kruskal-Wallis, ao nível de 5% de probabilidade

A partir dos resultados da Tabela 5, observa-se que a suplementação com probióticos fornecidos em separado ou associados na ração, não causou alteração bioquímicas nos coelhos, durante a fase de crescimento de acordo com os valores de referência (CUBAS et al., 2014). Para o presente estudo, os parâmetros bioquímicos normais podem ser considerados como bom indicador para a segurança destes probióticos desenvolvidos em laboratório.

Diferentes respostas dos coelhos em relação à alteração ou não dos parâmetros sanguíneos quando suplementados com probióticos na ração podem, em grande parte, ser atribuídas aos níveis de inclusão e ao desafio à que o animal é submetido. No caso de coelhos submetidos à condição ambiental adversa, espera-se que os probióticos contribuam com maior defesa ao organismo, para manutenção da saúde e imunidade, alterando, portanto, o número de células de defesa. Entretanto, na presente pesquisa, a suplementação com probióticos na dieta não resultou em alterações



hematológicas e bioquímicas, possivelmente, por se tratar de um teste piloto, onde não houve a inclusão de diferentes níveis de probiótico e os coelhos não foram submetidos a qualquer tipo de desafio.

Os diferentes resultados para parâmetros sanguíneos encontrados na literatura em relação aos probióticos fornecidos aos coelhos podem estar associados à inúmeros fatores, como, por exemplo: composição destes produtos, dosagem, condições ambientais, fase fisiológica dos animais, características das dietas e, principalmente, nível de desafio sanitário do local. Além disto, os efeitos benéficos dos probióticos podem aparecer a partir de um determinado tempo, necessário para que o agente se estabeleça no trato digestivo e equilibre a flora.

Na presente pesquisa é importante ressaltar que, por se tratar de um estudo preliminar em relação aos probióticos desenvolvidos em laboratório, os coelhos não foram submetidos a nenhum tipo de desafio, ou condição adversa e foram vermifugados antes do início do experimento. Em função disto, eram esperadas respostas normais destes parâmetros, o que de fato ocorreu.

Diante deste resultado satisfatório, pretende-se realizar novas pesquisas, com um maior número de animais, em relação às diversas condições ambientais, diferentes níveis de inclusão dos probióticos, desafio sanitário e diferentes fases fisiológicas e sexo dos animais para a obtenção de melhores respostas de ação destes probióticos.

4 Conclusão

A suplementação com probióticos resultou em parâmetros hematológicos e bioquímicos normais nos coelhos durante a fase de crescimento, o que comprova preliminarmente, a segurança do produto administrado na ração.

AGRADECIMENTOS

O estudo foi conduzido em parceria com a empresa Orgolabs Orgânicos LTDA. (Descalvado, SP), Universidade Brasil (Descalvado, SP) e Universidade Federal de Sergipe, Departamento de Zootecnia (São Cristóvão, SE).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAUJO, J. A.; SILVA, J. H. V.; AMÂNCIO, A. L. L.; Lima, M. R.; Lima, C. B. Uso de aditivos na alimentação de aves. **Acta Veterinaria Brasília**, v.1, n.3, p.69-77, 2007.

ARCHETTI, I.; TITTARELLI, C.; CERIOLI, M.; BRIVIO, R.; GRILLI, G.; LAVAZZA, A. Serum chemistry and hematology values in commercial rabbits: preliminary data from industrial farms in northern italy. In 9th World Rabbit Congress. Verona, Italy. **Ethology and Welfare**, p.1147-1152, 2008.



BRENNER, L.; LAUX, J.; DUARTE, K. O.; SANTOS, E. O.; ALLGAYER, M. C. Referências hematológicas e bioquímicas em coelhos domésticos (*Oryctolagus cuniculus*) da região de Canoas (RS). **Veterinária e Zootecnia**, v.28, p.001-007, 2021.

CAROLLO, C. Q. **Quitosana na alimentação de coelhos: respostas morfofisiológicas**. Universidade Federal da Grande Dourados. Faculdade de Ciências Agrárias. Curso de Zootecnia. Dourados – MS. 2019.

CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de Animais Selvagens**. 2ª ed. Roca, São Paulo. 1354p. 2014.

DE SOUZA, L. M.; VENTURA, A. S.; GOUVEA, W. S.; CARMO, A. A.; VIEIRA, A. N.; QUEIROZ, C. C.; GANDRA, E. R. S.; GABRIEL, A. M. A. **Parâmetros hematológicos e bioquímicos de coelhos suplementados com quitosana**. 55ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. Goiânia, GO, 2018.

ETIM, N. N.; ENYENIHI, G. E.; AKPABIO, U.; OFFIONG, E. E. A. Effects of nutrition on haematology of rabbits: a review. **European Scientific Journal**, v.10, n. 3, p.1857-7881, 2014.

EWUOLA, E. O.; SOKUNBI, A. O.; ALABA, O.; OMOTOSO, J. O.; OMONIYI, A. B. **Haematology and serum biochemistry of weaned rabbits fed dietary prebiotics and probiotics**. Proceedings of the 35th Annual Conference of the Nigerian Society for Animal Production, 147. 2010.

EZEMA, C.; EZE, D. C. Determination of the effect of probiotic (*Saccharomyces cerevisiae*) on growth performance and hematological parameters of rabbits. **Comparative Clinical Pathology**, v. 21, p. 73-76, 2012.

FATHI, M.; ABDELSALAM, M.; AL-HOMIDAN, I.; EBEID, T.; EL-ZAREI, M.; ABOU-EMERA, O. Effect of probiotic supplementation and genotype on growth performance, carcass traits, hematological parameters and immunity of growing rabbits under hot environmental conditions. **Animal Science Journal**, v.88, n.10, p.1644-1650, 2017.

FERREIRA, F. N. A.; FERREIRA, W. M. Uso de leveduras na alimentação de coelhos. **Revista Brasileira de Cunicultura**, v. 4, n. 1, 2013.

GONZÁLEZ, F. H. D. Uso de perfil metabólico para determinar o status nutricional em gado de corte. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; BARCELLOS, J. O.; OSPINA, H.; RIBEIRO, L. A. O. (Eds). **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre, Brasil, Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000.

JAYABALAN, R.; MALBAŠA, R. V.; LONČAR, E. S.; VITAS, J. S.; SATHISHKUMAR, M. A review on Kombucha tea – microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Chicago, v. 13, n. 4, p. 538-550, 2014.

MAGNO, M. P.; RADIONOFF, A.; FERRAZ, L. P.; ZEFERINO, C. P.; SOARES, V. E. Efeito da



concentração do chá verde e da sacarose no desenvolvimento da cultura simbiótica “scooby” na kombucha. **Anais do II CONTEC BRASIL: Congresso Acadêmico e Tecnológico da Universidade Brasil**, Descalvado, São Paulo, 2021.

MOORE, D. M.; ZIMMERMAN, K.; SMITH, S. A. Hematological assessment in pet rabbits. Blood sample collection and blood cell identification. **Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice**. v. 18, p.9-19. 2015.

OLICHESKI, A. **Comparação entre os métodos de coloração panótico rápido e giemsa para o diagnóstico de protozoários do gênero *Babesia* (Starcovici, 1893) e de riquetsias do gênero *Ehrlichia* (Ehrlich, 1888) em cães (*Canis familiaris*) no município de Porto Alegre, RS, Brasil**. 2003. Dissertação de mestrado em Ciências Veterinárias - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Veterinária. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

PALUDO, N. **Desenvolvimento e caracterização de Kombucha obtida a partir de chá verde e extrato de erva-mate: processo artesanal e escala laboratorial**. 2017. 46 f. TCC (Graduação em Engenharia dos Alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS. 2017.

PENA, T. R.; NÓIA, I. Z.; JESUS, L.; SILVA, N.; PEREIRA, T. L.; GABRIEL, A.; OLIVEIRA, E. Desempenho produtivo de coelhos suplementados com quitosana ou probiótico nas dietas. In: **Anais... 55ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**. Goiânia – Goiás, 2018.

SANTOS, M. J. **Kombucha: caracterização da microbiota e desenvolvimento de novos produtos alimentares para uso em restauração**. Dissertação (Mestrado - Ciências Gastronômicas). Faculdade de Ciências e Tecnologia. Universidade Nova Lisboa, 2016.

SPINELLI, M. O.; GODOY, C. M. S. C.; MOTTA, M. C.; CRUZ, R. J.; JUNQUEIRA, M. S. Parâmetros hematológicos normais em coelhos Nova Zelândia do biotério da Faculdade de Medicina da USP. **Revista da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório**, v. 1, n.3, p. 224-228, 2012.

STATSOFT, Inc. 2014. STATISTICA (Data Analysis Software System), version 12. Disponível em: <http://www.statsoft.com>.

TUMOVÁ, E.; ZITA, L.; SKRIVANOVÁ, V.; FUCÍKOVÁ, A.; SKRIVAN, M.; BUREŠOVÁ, M. Digestibility of nutrients, organ development and blood picture in restricted and *ad libitum* fed broiler rabbits. **Archiv für Geflügelkunde**, v 71, p. 6-12, 2007.

VERGA, M.; LUZI, F.; CARENZI, C. Effects of husbandry and management systems on physiology and behaviour of farmed and laboratory rabbits. **Hormones and Behavior**, v. 52, p. 122-129, 2007.



Desenvolvimento de um controlador de ventilação para instalações em cunicultura

Development of a ventilation controller for rabbit production facilities

RESUMO

Instalações adequadas são de extrema importância para a produção de coelhos. Nos climas tropicais, a temperatura ambiente e a umidade relativa são bastante elevadas, por isso, o controle destas variáveis ambientais, permitindo boa ventilação, se faz necessário, a fim de obter conforto térmico. O estudo desenvolveu um equipamento de medição e controle da ventilação de instalações voltadas à cunicultura. O equipamento foi desenvolvido por meio da plataforma Arduino, com a utilização de um módulo sensor DHT22 que fornece a leitura da temperatura e umidade. Além de um display de cristal líquido 16 x 2 utilizado para exibição das informações e um módulo relê para acionamento dos ventiladores. Os dispositivos foram ligados via jumper a placa Arduino UNO e uma programação em linguagem C foi desenvolvida com o intuito de ligar e desligar os ventiladores a fim de garantir o conforto térmico dos animais. Em conclusão, o controlador de ventilação proposto para instalações em cunicultura foi desenvolvido. Apesar dos testes ainda não terem sido realizados em ambientes zootécnicos específicos para cunicultura, por se tratar de um equipamento eletrônico, a simulação comprova seu funcionamento.

Palavras-chave: Bem-Estar; Coelho; Conforto térmico; Temperatura.

ABSTRACT

Proper facilities are extremely important for rabbit production. In tropical climates, the ambient temperature and the relative humidity are quite high, therefore, the control of these environmental variables, allowing good ventilation, is necessary in order to obtain thermal comfort. The study developed the equipment for measuring and controlling the ventilation of rabbit facilities. The equipment was developed through the Arduino platform, using a DHT22 sensor module that provides temperature and humidity readings. In addition to a 16 x 2 liquid crystal display used to display information and a relay module for activating the fans. The devices were connected via a jumper to the Arduino UNO board and programming in C language was developed in order to turn the fans on and off in order to guarantee the thermal comfort of the animals. In conclusion, the proposed ventilation controller for rabbit facilities was developed. Although the tests have not yet been carried out in specific environments for rabbit facilities, as it is an electronic equipment, the simulation proves its operation.

Keywords: Wellbeing; Rabbit; Thermal comfort; Temperature.

L. A. M. Pereira*

<https://orcid.org/0000-0002-0287-1323>
Programa de Mestrado em Produção Animal,
Universidade Brasil, Descalvado, SP, Brasil

B. B. Pereira

<https://orcid.org/0009-0005-7540-9710>
EMEF Profa Edna Maria do Amaral Marin,
Descalvado, SP, Brasil

C. P. Zeferino

<https://orcid.org/0000-0003-0873-1740>
Programa de Mestrado em Produção Animal,
Universidade Brasil, Descalvado, SP, Brasil

K. Brennecke

<https://orcid.org/0000-0001-6758-9532>
Programa de Mestrado em Produção Animal,
Universidade Brasil, Descalvado, SP, Brasil

C. M. B. Orlandi

<https://orcid.org/0000-0001-7627-9202>
Programa de Mestrado em Produção Animal,
Universidade Brasil, Descalvado, SP, Brasil

A. S. França

<https://orcid.org/0009-0007-8350-3170>
Programa de Mestrado em Produção Animal,
Universidade Brasil, Descalvado, SP, Brasil

*Autor correspondente



1 Introdução

A interação entre fatores genéticos, nutricionais e principalmente ambientais, é fundamental na determinação da produção eficiente de coelhos. Fatores ambientais representados pela temperatura, umidade, ventilação e fotoperíodo são os que mais influenciam a saúde, a produção e a reprodução. Por isso, as instalações devem ser adequadas a ponto de amenizar o efeito do ambiente sobre o desempenho dos animais e propiciar maior produtividade por área de instalação construída.

Na cunicultura, os coelhos são impactados com alterações bruscas no manejo, assim, as instalações devem ser construídas para facilitar as trocas de calor. O desconforto térmico causa estresse no animal, com queda da produção, transtornos reprodutivos e aumento de doenças (FERREIRA et al., 2012). Este ocorre, principalmente, quando os animais são expostos a altas temperaturas ambientes, alta umidade, baixa velocidade do vento e alta radiação solar direta e indireta (WILLMER et al., 2000).

Instalações adequadas são de extrema importância para a produção de coelhos, especialmente nas localidades de climas tropicais, nas quais a temperatura ambiente e a umidade relativa do ar são bastante elevadas. Portanto, o controle destas variáveis ambientais permite boa ventilação para o conforto térmico. Cabe ressaltar, que o coelho não tem glândulas sudoríparas, tendo dificuldade de perder calor, o que reforça a importância de controlar a ventilação da instalação (MACHADO; FERREIRA, 2020).

Os coelhos, sendo animais homeotérmicos, podem regular a entrada e a saída de calor de seus corpos por meio de processos físicos, fisiológicos, morfológicos e bioquímicos, além do comportamento para manutenção da temperatura corporal constante (MARAI; HABEEB, 1994). Assim, para aumentar a dissipação de calor e restaurar o equilíbrio se utilizam de posição variável do corpo, temperatura periférica de determinadas áreas e frequência respiratória. Como a maioria das glândulas sudoríparas não são funcionais e a transpiração da pele é limitada pelo, os coelhos são capazes de dissipar o calor principalmente por meio dos pavilhões auriculares e da respiração (BORSO et al., 2006).

A zona de conforto térmico constitui-se na faixa de temperatura ambiente efetiva em que o organismo despende o mínimo de esforço a fim de manter estável a temperatura corporal. É nesta faixa que o animal consegue expressar ao máximo seu potencial genético, devido à maximização da eficiência na utilização da energia dos alimentos. A temperatura ideal para a criação de coelhos, segundo o autor, varia de 15 a 20°C e a umidade relativa de 60 a 70% (OLIVEIRA, 1999).

Além da temperatura e da umidade, também devem ser consideradas na produção animal as condições de ventilação, o conteúdo de oxigênio, a pressão e a iluminação, pois suas variações alteram



a estabilidade do meio, refletindo no conforto dos animais e, conseqüentemente, na rentabilidade da produção (HOY; VERGA, 2006).

A escolha e o design de um sistema de climatização devem garantir requisitos tanto para condições de inverno, como de verão. Sua complexidade é aumentada, ainda, pela presença de diferentes categorias de animais, cada um com exigências climáticas extremamente diferentes (reprodutores, coelhos jovens, coelhos de engorda), e por ciclos de produção próximos. Em condições de verão, além da necessidade de remover gases e vapor de água, também é fundamental remover o excesso de calor produzido pelos animais e transmitido no galpão, principalmente pelo telhado (BORSO et al., 2006).

Os fluxos de ventilação, portanto, precisam ser variáveis, em função da temperatura ambiente, densidade animal e umidade relativa: em uma faixa entre 12 e 25 °C, o fluxo de ar normalmente fica entre 1,0 e 4,0 m³/h/kg de peso vivo (MORISSE, 1981). Em condições críticas de verão e principalmente com coelhos de maior peso, o fluxo de ar deve ser aumentado pelo menos para 6-7 m³/h/kg de peso vivo (RÚSTICO, 1998).

Neste contexto, o estudo visa o desenvolvimento de um controlador de ventilação para instalações em cunicultura, que ao detectar a elevação da temperatura aciona automaticamente a ventilação artificial, garantindo o conforto térmico mediante informações precisas.

2 Materiais e Métodos

O equipamento foi desenvolvido por meio da plataforma Arduino, com a finalidade de elaborar um equipamento funcional, barato e de fácil programação, destinado a estudantes e projetistas amadores. O sistema adota o conceito de hardware livre, o que significa que qualquer pessoa pode montar, modificar, melhorar ou até personalizar esta plataforma.

É composta por microcontrolador da marca Atmel, circuitos eletrônicos de entrada e saída de dados, além de outros componentes que facilitam o desenvolvimento de aplicações eletrônicas. Possui uma porta USB que permite conexão fácil a um computador, o que possibilita programá-lo de acordo com o projeto a ser desenvolvido, utilizando uma IDE (*Integrated Development Environment*, ou Ambiente de Desenvolvimento Integrado) gratuita, que utiliza linguagem baseada em C/C++.

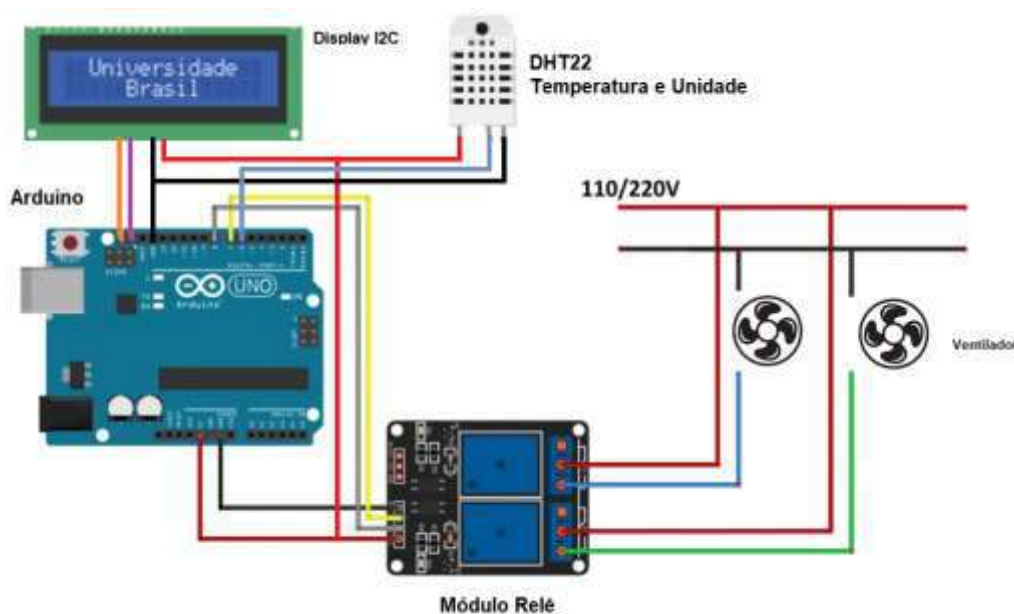
O sensor de temperatura utilizado é o DHT22, trata-se de um módulo sensor que fornece temperatura e umidade, com precisão de 0,5 graus Celsius, para mais ou para menos, além de fornecer dados da umidade relativa do ar.

O dispositivo possui um display 16 x 2 de cristal líquido, ou seja, duas linhas e dezesseis caracteres cada linha, permitindo a exibição da temperatura atual e da umidade relativa do ar.

Para acionamento dos ventiladores, foi utilizado um módulo relê, o qual consiste em dispositivo eletromecânico para controlar a abertura e o fechamento de circuitos elétricos. O dispositivo funciona como um interruptor controlado por um sinal elétrico, assim quando o equipamento envia o sinal para o relê, o mesmo fecha contato entre o pino central e o pino NA (normalmente aberto), no qual irá circular a energia para ligar o ventilador.

Todo o sistema é protegido e condicionado em uma caixa de projetos desenhada com a utilização de softwares 3D e impressa em impressora (Figura 1).

Figura 1- Circuito eletrônico proposto.



3 Resultados e Discussão

Para o funcionamento do dispositivo desenvolvido, o sensor DHT22 foi ligado à placa Arduino UNO, na qual as portas deste módulo sensor, - (GND), + (5V) e OUT foram ligadas respectivamente às portas GND, 5V e porta digital 7 da placa Arduino.

Para a leitura da temperatura e umidade, foi adquirido o módulo sensor DHT22 (Figura 2).

Figura 2 - Módulo sensor DHT22



O display foi ligado pelas portas GND, 5V, SDA e SCL à placa arduino, nas respectivas portas. Trata-se de display I2C, o qual utiliza o protocolo de comunicação I2C, no qual é instalada uma placa microcontrolada que converte as mensagens enviadas ao display (Figura 3).

Figura 3 - Display 16 x 2 e Placa I2C



A placa Arduino UNO foi, então, ligada ao módulo relé 4 portas (Figura 4). As portas DC + e DC- foram ligadas nas portas 5V e GND e as portas IN1, IN2, IN3, IN4 foram ligadas às portas digitais do arduino 3, 4, 5 e 6.

Figura 4 - Módulo relé 4 canais





Após a montagem do equipamento foi desenvolvida em linguagem C, dentro da IDE Arduino (Ambiente de Desenvolvimento Integrado), neste ambiente o usuário encontra tudo o que é preciso para programar a placa Arduino, além disso, possui um layout completo e de fácil navegação, no qual todas as opções são separadas de acordo com suas funções, possibilitando a escrita de códigos e realização de procedimentos de maneira simples e direta.

O programa desenvolvido foi responsável por receber a temperatura e umidade do módulo sensor, processá-los e determinar se o sistema de ventilação deve ficar ligado ou desligado para garantir o conforto térmico.

A programação foi carregada na memória do Arduino, permitindo que este controle o ventilador de acordo com a temperatura. Desta forma, foi definido dentro da programação uma constante denominada Temperatura, para que o usuário possa de forma simplificada, selecionar a temperatura ideal do ambiente, ou seja, caso a temperatura do ambiente seja superior ou igual a constante o relê será acionado para ligar os ventiladores.

Abaixo é apresentada a programação, seguida por cada comando com comentário, no entanto este não faz parte da programação.

```
#include <Wire.h>           //Carrega a biblioteca Wire
#include <LiquidCrystal_I2C.h> //Carrega a biblioteca LiquidCrystal_I2C
#include <DHT.h>           //Carrega a biblioteca DHT

#define Temperatura 22      //Define que Temperatura vale 22

DHT dht(7, DHT22);        //Configura o sensor para trabalhar na porta 7
LiquidCrystal_I2C lcd(0x3F,16,2); //Configura o endereço e o tamanho do display

void setup()
{ pinMode(3, OUTPUT);      //Configura a porta 3 como saída
  pinMode(4, OUTPUT);      //Configura a porta 4 como saída
  pinMode(5, OUTPUT);
  pinMode(6, OUTPUT);
  lcd.init();              //Inicializa o display
  lcd.backlight();        //Acende a luz de fundo do display
  lcd.setCursor(0,0);     //Coloca o cursor do display na coluna e linha 0
  lcd.print(" Projeto IC"); //Escreve no display Projeto IC
  lcd.print("Universidade Brasil"); //Escreve no display Universidade Brasil
  delay(2000);            //Aguarda 2 segundo
  dht.begin();            //Inicializa o sensor}

void loop()
{ float t = dht.readTemperature(); //Carrega a temperatura do sensor na variável t
  float h = dht.readHumidity();    //Carrega a umidade do sensor na variável h
  lcd.clear();                     //Limpa o display
  lcd.setCursor(0,0);
  lcd.print ("Temperatura:");
  lcd.print(t);                   //Escreve no display o valor da variável t
```

```

lcd.setCursor(0,1);
lcd.print ("Umidade:");
lcd.print(h);           //Escreve no display o valor da variável h
delay(4000);
lcd.clear();
lcd.setCursor(0,0);
lcd.print ("Ventiladores:");
lcd.setCursor(0,1);

if (t >= Temperatura) //Se a variável t for maior igual a 22
{lcd.print ("Acionados");
digitalWrite(3, HIGH); //Coloca nível lógico alto na porta 3, acionando o relê
digitalWrite(4, HIGH);
digitalWrite(5, HIGH);
digitalWrite(6, HIGH);
}
else //Se não
{ lcd.print ("Desligados");
digitalWrite(3, LOW); //Coloca nível lógico baixo na porta 3, desacionando o relê
digitalWrite(4, LOW);
digitalWrite(5, LOW);
digitalWrite(6, LOW);
}
delay(10000); //Aguarda 10 segundos
}

```

A primeira vez que o programa for executado pela placa Arduino, todos os comandos serão executados na sequência, ao término, os comandos que estão dentro da função *void loop* (), serão executados continuamente, até que o equipamento seja desligado. O protótipo desenvolvido é apresentado nas Figuras 5 e 6.

Figura 5 - Protótipo desenvolvido



Figura 6 – Protótipo desenvolvido em fase de inicialização.



O equipamento foi testado em laboratório, com a utilização de um ar-condicionado frio e um aquecedor. Para os testes, a temperatura foi configurada para 22°C, várias temperaturas foram simuladas, e em todas, o equipamento mostrou-se preciso em sua informação para ligar ou desligar os ventiladores.

4 Conclusão

A proposta de um controlador de ventilação para instalações em cunicultura foi atingida com o desenvolvimento e testes do equipamento apresentado. Apesar dos testes ainda não terem sido realizados em ambientes zootécnicos específicos para cunicultura, por se tratar de um equipamento eletrônico, a simulação comprova seu funcionamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BORSO, F.; LANDA, A.; CHIUMENTI, A.; CHIUMENTI, R. Ventilation and Cooling Systems in Intensive Rabbit Houses of Northern Italy. American Society of Agricultural and Biological Engineers (ASABE), **Annual International Meeting**, n. 064087, Portland, Oregon, 2006.
- FERREIRA, W. M.; MACHADO, L. C.; JARUCHE, Y. G.; CARVALHO, G. G.; OLIVEIRA, C. E. A.; SOUZA, J. D. S.; CARÍSSIMO, A. P. G. **Manual Prático de Cunicultura**. Bambuí, Minas Gerais. Brasil. 75p., 2012.
- HOY, S.; VERGA, M. Welfare indicators. In: MAERTENS, L.; COUDERT, P. (Eds.). **Recent advances in rabbit sciences**. Belgium, p. 71-72, 2006.
- MACHADO, L. C.; FERREIRA, W. M. **Fundamentos de conforto ambiente aplicados à cunicultura**. Escola de Veterinária, UFMG, Minas Gerais, Brasil, 2020.
- MARAI, I. F. M.; HABEEB, A. A. M: Thermoregulation in rabbits. **Options Mediterraneennes** v. 8, p. 33-41, 1994.



MORISSE. Ventilation standards in France for enclosed rabbitries. In: LEBAS F., COUDERT P., DE ROCHAMBEAU H., THEBAULT R.G. (1997) *The Rabbit - Husbandry, Health and Production*. FAO, **Animal Production and Health Series** n. 21, Roma, Italy, 1981.

OLIVEIRA, E. M. Ambiência e produtividade na cunicultura. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA E TECNOLOGIA EM CUNICULTURA, 3. 1999, Jaboticabal. **Anais... Jaboticabal**, p. 15, 1999.

RUSTICO, M. **Il benessere del coniglio**, 1998. Disponível em: <http://www.coniglionline.it>. Acesso em: 15 abr. 2023.

WILLMER, P.; STONE, G.; JOHNSTON, J. **Environmental physiology of animals**. 1st ed. Blackwell Scientific Publications, Oxford. 672 pp., 2000.

Recebido: 28/05/2023

Aprovado: 21/06/2023

DOI: <https://doi.org/10.63021/issn.2965-8861.v1n1a2023.134>

Como citar: PEREIRA, Luiz Arthur Malta *et al.* Desenvolvimento de um controlador de ventilação para instalações em cunicultura. **Revista Vida: Exatas e Ciências da Terra (VIECIT)**, São Paulo, v. 1, n. 1, p. 49-57, 3 jul. 2023. Anual. Universidade Brasil. <http://dx.doi.org/10.63021/issn.2965-8861.v1n1a2023.134>. Disponível em: <https://periodicos.universidadebrasil.edu.br/index.php/viecit/article/view/134>. Acesso em: 04 jul. 2023

Correspondência do autor responsável: luiz.pereira@ub.edu.br

Direito autoral: Este artigo está licenciado sob os termos da Licença creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0 Internacional.





Efeitos da complementação foliar de diferentes fontes de potássio na cultura da berinjela

Effects of foliar supplementation of different potassium sources on eggplant crop

RESUMO

O experimento foi conduzido utilizando-se delineamento experimental de blocos ao acaso, com quatro tratamentos, sendo um testemunha e três com fontes de potássio via foliar (carbonato, óxido e cloreto), em quatro repetições. Foram utilizadas mudas de berinjela (*Solanum melongena*), híbrido Napoli, como planta teste. A primeira aplicação foliar de K foi realizada aos 35 dias após o transplântio (DAT), repetindo-se a cada 15 dias, totalizando 5 aplicações. As quantidades dos produtos testados foram calculadas para fornecer a mesma dose de potássio em todos os tratamentos. A coleta dos frutos teve início aos 62 DAT, seguindo-se semanalmente, quando os mesmos já estavam em seu padrão comercial, sendo realizadas, ao total, 10 colheitas. Obteve-se o peso, comprimento, diâmetro e número de frutos. Para acompanhamento do estado nutricional das plantas e avaliação da eficácia da absorção dos produtos aplicados, foi realizada coleta de folhas para determinação do K foliar. Após a realização das análises estatísticas dos dados obtidos, observou-se que as fontes testadas não diferiram quanto aos parâmetros peso, diâmetro e tamanho do fruto. O potássio aplicado na fonte carbonato, devido ao seu baixo ponto de deliquescência (44%), foi a única com absorção foliar significativa quando comparada ao tratamento testemunha (sem aplicação de K foliar). Foi observado resultado significativo para quantidade de frutos produzidos e, conseqüentemente, para produtividade quando se aplicou a fonte carbonato. Recomenda-se a aplicação de K via foliar na cultura da berinjela com fonte carbonato, desde que a umidade relativa do ar esteja acima de 44% no momento da aplicação.

Palavras-chave: Adubação foliar; Carbonato de potássio; Ponto de deliquescência; *Solanum Melongena*.

ABSTRACT

The experiment was carried out in Descalvado, SP, using a randomized block experimental design, with four treatments, one control and three sources of potassium on foliar application (carbonate, oxide and chloride), in four replications, using seedlings of eggplant (*Solanum melongena*), Napoli hybrid, as a test plant. The first foliar application of K was performed 35 days after transplanting (DAT), repeating every 15 days, totaling 5 applications. The amounts of tested products were calculated to provide the same dose of potassium in all treatments. The harvest of fruits began at 62 DAT, followed weekly, when they were already at their commercial standard, with a total of 10 harvests being carried out, obtaining weight, length, diameter and number of fruits. To monitor the nutritional status of the plants and evaluate the absorption efficiency of the applied products, leaves were collected to determine K leaf. After carrying out the statistical analysis of the data obtained, it was observed that the sources tested did not differ in terms of weight, diameter and size of the fruit. Potassium applied in the carbonate source, due to its low deliquescence point (44%), was the only one with significant foliar absorption when compared to the control treatment (without foliar K application). A significant result was observed for the amount of fruit produced and, consequently, for productivity when the carbonate source was applied. It is recommended the K foliar application in the eggplant culture with carbonate source, since the relative humidity of the air is above 44% at the moment of the application.

Keywords: Foliar fertilization; Potassium carbonate; Deliquescence point; *Solanum melongena*.

V.P. Melo *

<https://orcid.org/0000-0002-5375-723X>

Universidade Brasil, Descalvado, São Paulo, Brasil

C. A. Moraes

<https://orcid.org/0009-0009-3343-6410>

Omnia Brasil, Leme, São Paulo, Brasil

F. Mazzonetto

<https://orcid.org/0009-0007-2272-8296>

Universidade Brasil, Descalvado, São Paulo, Brasil

L. Toffano

<https://orcid.org/0000-0002-7591-0530>

Universidade Brasil, Descalvado, São Paulo, Brasil

*Autor correspondente



1 Introdução

Pertencente à família das Solanáceas, a berinjela (*Solanum melongena* L) tem como centro de origem a Ásia e regiões tropicais do Oriente, sendo classificada como uma hortaliça anual semiarbusciva (FILGUEIRA, 2013). O considerável aumento no seu consumo em diversas partes do mundo deve-se ao fato de apresentar importantes propriedades medicinais, portando-se como grande aliado na dieta humana, levando ao crescimento no número de consumidores que buscam adquirir produtos mais benéficos para a saúde (CARVALHO; LINO, 2014; MANTOVANI; JACYNTHO; GROSSI, 2019).

De acordo com os últimos dados divulgados pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), a produção mundial de berinjela foi de 52,31 milhões de toneladas cultivadas em 1,86 milhões de hectares, com China e Índia representando os maiores produtores mundiais desta hortaliça (FAOSTAT, 2019). O Brasil produz 71,2 mil toneladas de berinjela, sendo as regiões Sudeste e Sul as maiores produtoras, destacando-se os Estados de São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Paraná, Santa Catarina, Espírito Santo e Rio Grande do Sul (IBGE, 2019). Grande parte da produção (aproximadamente 90%) é comercializada em centros de abastecimento em todo o país.

É uma cultura altamente exigente em nutrientes durante todo o seu ciclo e, desta forma, para atender sua elevada capacidade produtiva, seu cultivo requer planejamento e adubação farta, sendo o potássio um dos elementos de destaque, já que é absorvido em maior quantidade (FILGUEIRA, 2013). Dentre as várias funções bioquímicas nas plantas, Marques et al. (2010), Fageria et al. (2011) e Marschner (2012) ressaltam sua participação nos processos fotossintéticos, no transporte e armazenamento de assimilados, no controle da abertura e fechamento dos estômatos (fator importante no aproveitamento eficiência de água), além de inúmeras enzimas que dependem completamente ou são estimuladas por íons de potássio.

Em termos de quantidade, o potássio é o segundo nutriente mineral mais requisitado pelas plantas, e o mais extraído pela maioria delas (MARSCHNER, 2012). Porém, quando os nutrientes são aplicados no solo, podem ocorrer muitos fatores que limitam sua absorção, sendo importante conhecer as interações desses fatores com a planta, podendo determinar os benefícios ao se utilizar a adubação foliar complementar com potássio (SNYDER, 1998). Para obter resultado satisfatório quando realizada a adubação foliar complementar, é importante conhecer as características da fonte a ser aplicada, uma vez que a facilidade com que uma solução nutritiva penetra no interior da planta depende das características da superfície da mesma, as quais podem variar com o órgão, espécie,



variedade, condições de crescimento e com as propriedades da formulação foliar aplicada (FERNÁNDEZ; SOTIROPOULOS; BROWN, 2015).

2 Materiais e Métodos

O experimento foi conduzido no município de Descalvado-SP, sob as coordenadas 21°54'14" S, 47°37'12" W e 685 m de altitude, com clima subtropical úmido (Cfa), de acordo com a classificação climática de Köppen-Geiger.

O solo foi classificado como Latossolo Vermelho Amarelo, textura franco arenosa, e apresentou as características físicas e químicas, na profundidade 0-20 cm, apresentadas nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1. Resultado da análise física (granulométrica) do solo na área experimental (0-20 cm).

Argila	Silte	Areia			Classe textural
		Total	Grossa	Fina	
----- g kg ⁻¹ -----					
170	40	790	220	570	Franco arenoso

Tabela 2. Resultado da análise química do solo na área experimental (0-20 cm).

pH	M.O.	P _{resina}	Ca	Mg	K	H+Al	SB	CTC	V
CaCl ₂	g dm ⁻³	mg dm ⁻³	----- mmol _c dm ⁻³ -----						
5,3	20	107	35	08	2,8	28	45,8	73,8	62

O experimento foi instalado em blocos ao acaso com quatro tratamentos (fontes de potássio em aplicação foliar complementar) e quatro repetições. Cada parcela foi composta por 4 linhas de 7,0 m de comprimento, com espaçamento de 0,9 m entre plantas e 1,0 m entre linhas.

Os tratamentos testados foram: T1 - sem aplicação de K foliar (Testemunha), T2 - aplicação de K foliar na fonte carbonato (34% de K), T3 - aplicação de K foliar na fonte cloreto (15% de K) e T4 - aplicação de K foliar na fonte óxido (24% de K). As quantidades de cada fonte de K foram calculadas de forma a fornecer a mesma quantidade do nutriente para todos os tratamentos.

A área recebeu 1,9 t de calcário dolomítico.ha⁻¹ para elevar a saturação por bases (V%) a 80%, conforme recomendado para a cultura, segundo Trani et al. (2022). Decorridos 90 dias da calagem, foram aplicados 15 t de esterco bovino curtido.ha⁻¹ (1,93 kg.cova⁻¹), 40 kg de N.ha⁻¹, (fonte ureia - 45% de N) (9,6 g.cova⁻¹), 160 kg de P₂O₅.ha⁻¹ (fonte superfosfato simples - 18% de P₂O₅) (95,4 g.cova⁻¹) e 120 kg de K₂O.ha⁻¹ (fonte cloreto de potássio - 58% de K₂O) (22 g.cova⁻¹).

O transplante foi realizado 10 dias após a aplicação do esterco e dos fertilizantes minerais, utilizando-se mudas do híbrido de berinjela Napoli, cujo ciclo é de 90-120 dias.



Para a adubação de cobertura foram aplicados 120 kg de N.ha⁻¹ e 100 kg de K₂O.ha⁻¹, sendo essas quantidades divididas em 5 aplicações, tendo início aos 35 dias após o transplante (DAT) e repetindo-se a cada 15 dias. Desta forma, cada aplicação continha 24 kg de N.ha⁻¹ (fonte ureia - 45% de N) (6,0 g.planta⁻¹) e 20 kg de K₂O.ha⁻¹ (fonte cloreto de potássio - 58% de K₂O) (4,0 g.planta⁻¹).

Aos 35 DAT também foi realizada a primeira complementação com potássio via foliar, com pulverizador manual, no período da manhã devido a influência da umidade relativa (UR) do ar na absorção dos produtos. Os volumes de cada fonte de potássio foram diluídos em 2,0 L de água, com volume de calda suficiente para permitir uma boa cobertura foliar, utilizando-se 8,0 mL de carbonato (34% K, d = 1,52 g.cm⁻³), 12,8 mL de óxido (24% K, d = 1,34 g.cm⁻³) e 24 mL de cloreto (15% K, d = 1,15 g.cm⁻³). As aplicações foram repetidas a cada 15 dias, totalizando 5 aplicações.

A absorção do K nas diferentes fontes testadas foi determinada através da coleta de amostras de folhas, as quais foram encaminhadas para laboratório para determinação do K através da metodologia ESALQ/USP em extrato de digestão nitroperclórico.

A coleta dos frutos teve início aos 62 DAT, quando os mesmos já estavam em seu padrão comercial, seguindo-se semanalmente, totalizando 10 coletas, nas quais foram determinados número de frutos produzidos, comprimento, diâmetro e peso dos frutos.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade com o auxílio do Software ASSISTAT Versão 7.7 beta (SILVA; AZEVEDO, 2016). Para a construção de gráficos utilizou-se o software Microsoft Excel 2007.

3 Resultados e Discussão

A partir dos dados apresentados na Tabela 3, observou-se a ausência de diferença significativa entre as fontes de potássio aplicadas via foliar para os parâmetros peso, diâmetro e tamanho dos frutos. Este comportamento era esperado, uma vez que o potássio na planta não age de forma direta nas características físicas da planta, tal como comprimento, diâmetro e peso. Sua função está mais ligada à indução da floração, como relataram Albuquerque; Medina (1991), para os quais é comum o uso do nitrato de potássio (KNO₃) para induzir a floração e antecipar a colheita da manga. Este fato foi comprovado por Barros et al. (1996) e Santana et al. (1997), os quais conseguiram induzir, com sucesso, o florescimento da mangueira com aplicações de nitrato de potássio (KNO₃) em seus respectivos estudos.



Tabela 3. Resultado da análise estatística dos dados para comprimento (cm), diâmetro (cm) e peso dos frutos (g) de plantas de berinjela em função das diferentes fontes de potássio aplicadas via foliar.

Tratamentos	Comprimento	Diâmetro	Peso
	----- cm -----	----- cm -----	----- g -----
Testemunha	19,79	7,94	346,75
Carbonato	19,43	7,90	334,73
Cloreto	18,44	7,45	315,02
Óxido	20,08	7,60	323,09
Teste F	1,7320 ^{ns}	1,3623 ^{ns}	1,9252 ^{ns}
CV (%)	5,60	5,23	6,05

^{ns} não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Por outro lado, observando-se os resultados apresentados na Tabela 4, notou-se efeito significativo na absorção via foliar entre as fontes testadas. As plantas tratadas com carbonato de potássio apresentaram teor de foliar deste nutriente superior aos teores observados nos demais tratamentos e na testemunha, sendo este valor da ordem de 25,3% em relação à testemunha, 18% em relação à fonte cloreto de potássio e 24,5% em relação à fonte óxido de potássio, o que pode estar relacionado ao ponto de deliquescência (PD) das fontes testadas.

Tabela 4. Resultado da análise estatística dos dados para K foliar (g.kg⁻¹), número de frutos e produtividade (t.ha⁻¹) de plantas de berinjela em função das diferentes fontes de potássio aplicadas via foliar.

Tratamentos	Potássio foliar	Nº de frutos	Produtividade
	----- g kg ⁻¹ -----		----- t ha ⁻¹ -----
Testemunha	33,75 b	178 b	17,09 b
Carbonato	42,29 a	225 a	20,92 a
Cloreto	35,83 b	170 b	14,86 b
Óxido	33,96 b	160 b	14,35 b
Teste F	12,9610 **	14,9065 **	15,9142 **
CV (%)	6,10	8,15	8,92

** significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Fernández; Eichert (2009) definiram PD como o valor da umidade relativa no qual o sal se torna um soluto e, desta forma, quanto menor seu valor, mais rapidamente um sal se dissolverá sob exposição à umidade relativa do ambiente e maior sua disponibilidade para ser absorvido pela folha.

As plantas tratadas com carbonato de potássio apresentaram teor de foliar deste nutriente superior aos teores observados nos demais tratamentos, sendo este valor da ordem de 25,3% em relação à testemunha, 18% em relação à fonte cloreto de potássio e 24,5% em relação à fonte óxido de potássio.

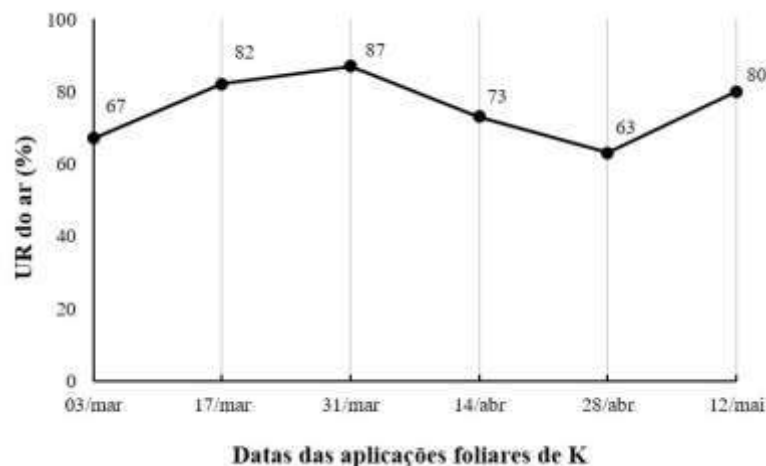
Dentre as fontes de fertilizantes potássicos utilizados em aplicação foliar, o carbonato de potássio é o que possui o menor PD (44%), enquanto os demais sais apresentam PD que variam de 86% (cloreto de potássio) a 98% (sulfato de potássio) (SCHÖNHERR, 2002). Para Chamel (1988), a



absorção de sais de potássio obedece à seguinte ordem decrescente $KCO_3 > KCl - KNO_3 - KH_2PO_4 - K_2SO_4$.

Nos dias em que foram realizadas as aplicações foliares, a UR do ar esteve sempre acima dos 44%, mas raramente atingiu 86% (Figura 1), fato que corresponde ao que foi observado nas quantidades de K absorvidas pelas folhas das plantas de berinjela, sendo a única fonte absorvida de forma significativa pela planta em aplicação foliar, fato que se repetiu para os parâmetros número de frutos e produtividade. Desta forma, a maior absorção de K na fonte de carbonato induziu maior floração e, portanto, um maior número de frutos e maior produção.

Figura 1. Dados de UR do ar (%) nas datas em que foram realizadas as aplicações foliares das diferentes fontes de potássio e os pontos de deliquescência (PD) das fontes cloreto e carbonato utilizadas no experimento.



Fonte: INMET

Carvalho et al. (2001), avaliando o efeito da aplicação foliar com nitrogênio (fonte ureia) e/ou potássio (fonte cloreto de potássio) em complementação à adubação de plantio em algodão, observaram que as aplicações com K, isoladamente ou em associação com N, não afetaram altura de plantas, número médio de entrenós, número médio de ramos produtivos por planta, número médio de capulhos por planta, massa média de capulhos e produtividade de algodão em caroço. Não foi realizada a determinação da UR do ar no momento das aplicações.

Os primeiros sintomas de deficiência de potássio após o pico do florescimento ocorrem nas folhas maduras do terço superior da planta (THOMPSON, 1999) e, à medida que se torna mais severa, ocorre redução na retenção dos frutos localizados nas últimas posições dos ramos (CASSMAN et al., 1989). Rosolem; Bastos (1997) afirmaram que a diferenciação e o aparecimento das estruturas ocorrem mesmo em situações de deficiência do nutriente, mas os botões florais não são retidos.

Nachtigall; Nava (2010) lembraram que a adubação foliar deve ser empregada como técnica complementar à adubação realizadas via solo e não em substituição, destacando que é uma prática



muito eficiente quando utilizada em etapas mais tardias de crescimento, sendo sua absorção mais rápida quando comparada à assimilação radicular, a qual é limitada em tempo e forma.

Rosolem; Withacker (2007) afirmaram que, em determinadas ocasiões, as quantidades de K disponíveis no solo são suficientes no suprimento das necessidades das plantas apenas até o pico do florescimento, quando o acúmulo de matéria seca nos frutos fica mais intenso, não atendendo ao aumento da demanda, a qual pode ser suprida com a adubação foliar.

O número de frutos colhidos (total de 10 coletas) nas parcelas que receberam o K na forma de carbonato foi 40,6% superior ao menor número de frutos colhidos, representado pelo tratamento com óxido de potássio. Esse aumento no número de frutos produzidos resultou em acréscimo da produtividade da ordem de $6,57 \text{ t ha}^{-1}$, ou seja, 45,8% em relação à menor produtividade observada (tratamento com óxido de potássio).

4 Conclusão

A aplicação de potássio via foliar, em quaisquer das fontes utilizadas, não influencia no comprimento, diâmetro e peso dos frutos de berinjela. No entanto, o carbonato de potássio é mais facilmente absorvido pelas plantas, com aumento no número de frutos produzidos e consequente aumento da produtividade.

É recomendado que, ao realizar a adubação foliar complementar com potássio, seja utilizada a fonte carbonato em função de seu baixo PD.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, J. A. S.; MEDINA, V. A. D. Indução de floração em mangueira cv. Tommy Atkins com nitrato de amônio. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 13, n. 3, p. 93-95, 1991. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/131457/1/6607.pdf>. Acesso em: 20 mai. 2023.
- BARROS, P. G.; CUNHA, G. A. P.; REINHARDT, D. H.; FONSECA, N.; BARBOSA, N. M. L. Efeito do nitrato de potássio na floração e frutificação de mangueira (*Mangifera indica* L.) cv. Tommy Atkins no Sudeste da Bahia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 20, n. 2, p. 188-194, 1998.
- CARVALHO, M. A. C.; PAULINO, H. B.; FURLANI-JÚNIOR, E.; BUZETTI, S.; SÁ, M. E.; ATHAYDE, M. L. F. Uso da adubação foliar nitrogenada e potássica no algodoeiro. **Bragantia**, v. 60, n. 3, p. 239-244, 2001. Disponível em: https://www.academia.edu/13927086/USO_DA_ADUBA%C3%87%C3%83O_FOLIAR_NITROGENADA_E_POT%C3%81SSICA_NO_ALGODOEIRO. Acesso em: 22 mai. 2023.



- CARVALHO, M. M. S. D.; LINO, L. L. A. Avaliação dos fatores que caracterizam a berinjela como um alimento funcional. **Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, v. 39, n. 1, p. 130-143, 2014. Disponível em: http://sban.cloudpanel.com.br/files/revistas_publicacoes/417.pdf. Acesso em: 20 mai. 2023.
- CASSMAN, K. G.; KERBY, T. A.; ROBERTS, B. A.; BRYANT, D. C.; BROUDER, S. M. Differential response o two cotton cultivars to fertilizer and soil potassium. **Agronomy Journal**, v. 81, n. 6, p. 870-876, 1989. <https://doi.org/10.2134/agronj1989.00021962008100060006x>
- CHAMEL, A. Foliar uptake of chemicals studied with whole plants and isolated cuticles. In: NEUMANN, P. M. (ed.). **Plant growth and leaf-applied chemicals**. Boca Raton: CRC Press, 1988. p. 27-50.
- FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C.; JONES, C. A. **Growth and mineral nutrition of field crops**. 3. rd. ed. Boca Raton: CRC Press, 2011.
- FAOSTAT Statistical Database. **Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO]**. 2019. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/>
- FERNÁNDEZ, V.; EICHERT, T. Uptake of hydrophilic solutes through plant leaves: Current state of knowledge and perspectives of foliar fertilization. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 28, n. 1-2, p. 36-68, 2009. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/215604352_Uptake_of_Hydrophilic_Solutes_Through_Plant_Leaves_Current_State_of_Knowledge_and_Perspectives_of_Foliar_Fertilization. Acesso em 05 mai. 2023.
- FERNÁNDEZ, V.; SOTIROPOULOS, T.; BROWN, P. **Adubação foliar: fundamentos científicos e técnicas de campo**. São Paulo: Abisolo, 2015.
- FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3. ed. rev. e ampl. Viçosa: UFV, 2013.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Produção Agrícola municipal, Tabelas das Área destinada à colheita, área colhida, quantidade produzida, rendimento e valor da produção do Brasil**. Produção Agrícola Municipal, 2019. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2019/default_sidra.shtm. Acesso em: 18 mai. 2023.
- MANTOVANI, L.; JACYNTHO, I. J.; GROSSI, S. F. Viabilidade econômica do cultivo de berinjela. **Revista Interface Tecnológica**, v. 16, n. 2, p. 193-202, 2019. Disponível em: <https://revista.fatectq.edu.br/interfacetecnologica/article/download/679/424>. Acesso em: 18 mai. 2023.
- MARQUES, D. J.; BROETTO, F.; SILVA, E. C. Efeito do estresse mineral induzido por fontes e doses de potássio na produção de raízes em plantas de berinjela (*Solanum melongena* L.). **Revista Caatinga**, v. 23, n. 3, p. 7-12, 2010.
- NACHTIGALL, G. R.; NAVA, G. Adubação foliar: fatos e mitos. **Agropecuária Catarinense**, v. 23, n. 2, p. 87-97, 2010. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/858552/1/124352010p.8797.pdf>. Acesso em: 20 mai. 2023.



ROSOLEM, C. A.; BASTOS, G. B. **Deficiências minerais no cultivar de algodão IAC 22.**

Bragantia, v. 56, n. 2, p. 377-387, 1997. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/brag/a/5vstrjzyhkWsdjXRzpnxHBD/?lang=pt>. Acesso em: 25 abr. 2023.

ROSOLEM, C. A.; WITHACKER, J. P. T. **Adubação foliar com nitrato de potássio em**

algodoeiro. Bragantia, v. 66, n. 1, p. 147-155, 2007. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/brag/a/TvssXgn7RqwLZLCFHBf9dTN/?format=pdf>. Acesso em: 22 mai. 2023.

SANTANA, J. R. F.; CUNHA, G. A. P.; FONSECA, N.; SOUTO, R. F. Efeito de indutores florais sobre o florescimento, frutificação e rendimento das cvs. de manga Van Dyke, Haden e Tommy Atkins no Norte de Minas Gerais II: nitrato de potássio. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 19, n. 2, p. 159-167, 1997.

SCHÖNHERR, J. Foliar nutrition using inorganic salts: laws of cuticular penetration. **Acta Horticulturae**, v. 594, p. 77-84, 2002. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2002.594.5>

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 39, p. 3733-3740, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.5897/AJAR2016.11522>.

SNYDER, C. S. Adubação foliar nitrogenada e potássica em algodão. *Informações Agronômicas*, **Potafós**, v. 83, p. 1-4, 1998.

THOMPSON, W. R. Fertilization of cotton for yields and quality. In: CIA, E.; FREIRE, E. C.; SANTOS, W. J. (ed.). **Cultura do algodoeiro**. Piracicaba: Potafos, 1999. p. 93-99.

TRANI; LEITE; BELLINASSO. Berinjela e jiló. In: CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; MATTOS JR., D.; BOARETTO, R. M.; RAIJ, B. (ed.). **Boletim 100: Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. Campinas: Instituto Agronômico, 2022. p. 373-376.



Biologia do desenvolvimento cartilaginoso e ósseo de frangos de corte

Biology of cartilaginous and bone development in broilers

RESUMO

Na avicultura comercial o desenvolvimento dos sistemas ósseo e cartilaginoso de frangos de corte é fator importante para o sucesso financeiro da atividade, pois possui correlação direta com o desenvolvimento de problemas locomotores, que resultam em queda no desempenho das aves. Devido a vasta importância do tema para a avicultura, o objetivo deste trabalho foi desenvolver uma revisão de literatura sobre o tema, com informações relevantes e atualizadas sobre o desenvolvimento ósseo e cartilaginoso das aves. A avicultura industrial é um dos mais relevantes e sólidos setores da produção animal, caracterizada por uma evolução contínua em seus diversos segmentos. Entre os fatores que contribuem para a eficiência da produção avícola, o desenvolvimento ósseo e cartilaginoso das aves tem desempenhado importante papel, com intensa busca para que as aves não sofram de problemas locomotores durante sua criação. Conclui-se que o conhecimento dos processos anabólicos da cartilagem e dos ossos, que envolvem a síntese de proteoglicanos, colágeno e proliferação de condrócitos, é imprescindível para compreender a biologia do desenvolvimento destes sistemas e evitar o surgimento de problemas locomotores.

Palavras-chave: Cartilagem; Deformidades; Enfermidade; Osso.

ABSTRACT

In commercial poultry, the development of bone and cartilaginous systems in broilers are important factors for the financial success of the activity, as they have a direct correlation with the development of locomotor problems, which result in a drop in bird performance. Due to the vast importance of the subject for poultry farming, the objective of this work was to develop a literature review on the subject, with relevant and up-to-date information on the bone and cartilaginous development of birds. Industrial poultry is one of the most relevant and solid sectors of animal production, characterized by continuous evolution in its various segments. Among the factors that contribute to the efficiency of poultry production, the bone and cartilaginous development of the birds has played an important role, with an intense search for the birds not to suffer from locomotor problems during their creation. It is concluded that knowledge of the anabolic processes of cartilage and bones, which involve the synthesis of proteoglycans, collagen and proliferation of chondrocytes, is essential to understand the biology of the development of these systems and to avoid the appearance of locomotor problems.

Keywords: Cartilage; Deformities; Illness; Bone.

J. M. S. Martins

<https://orcid.org/0000-0002-3360-9491>
Departamento de Agricultura e Ciências Naturais,
Universidade do Estado de Minas Gerais, Ituiutaba,
MG, Brasil

S. Sgavioli*

<https://orcid.org/0000-0003-1156-2386>
Programa de Mestrado em Produção Animal,
Universidade Brasil, Descalvado, SP, Brasil

L. S. B. Adorno

<https://orcid.org/0000-0002-3927-3298>
Graduação em Medicina Veterinária, Universidade
Brasil, Descalvado, SP, Brasil

M. B. Café

<https://orcid.org/0000-0002-1478-8009>
Departamento de Ciência Animal, Universidade
Federal de Goiás, Goiânia, GO, Brasil

*Autor correspondente



1 Introdução

Os avanços tecnológicos em nutrição e melhoramento genético que implicaram no incremento da velocidade de crescimento corporal e de deposição de carne dos frangos de corte, deram origem a distúrbios metabólicos relacionados ao desenvolvimento dos sistemas das aves. São parte desses distúrbios as enfermidades de locomoção (NÄÄS et al., 2012), que resultam em queda no desempenho e bem-estar das aves e prejuízos no sistema de produção.

As enfermidades de locomoção afetam não somente o desempenho e a eficiência econômica, mas também o bem-estar. Aves com problemas locomotores são privadas totalmente, ou parcialmente, das liberdades comportamental, sanitária, ambiental, psicológica e fisiológica, descritas nas regras do bem-estar animal. Assim sendo, sentem dores e desconforto físico, não conseguem expressar padrões de comportamento normais e por apresentarem dificuldade de locomoção, reduzem o deslocamento em direção ao comedouro e bebedouro, e, conseqüentemente, passam fome e sede (NÄÄS et al., 2009; WEEKS et al., 2000).

Tanto a cartilagem articular, como a epifisária são de extrema importância para o desenvolvimento do sistema cartilaginoso das aves. A cartilagem articular reveste as superfícies articulares dos ossos, protegendo-os contra atritos e lesões. Além disso, absorve, distribui e transmite as forças compressivas incidentes sobre ela (GOFF, 2017), ela persistirá por toda a vida do animal e não contribui para a formação do tecido ósseo (ABRAHAMSOHN, 2017). Já a cartilagem epifisária, também chamada de placa (disco) de crescimento, é responsável pelo crescimento longitudinal dos ossos longos e está localizada entre a epífise e a diáfise (DELGADO-MARTOS et al., 2013; GOFF, 2017; ABRAHAMSOHN, 2017; PIZAURO JUNIOR; CIANCAGLINI; MACARI, 2002). A cartilagem hialina é constituída por condrócitos dispersos em uma matriz extracelular abundante, de aspecto homogêneo e translúcido, formada por matriz orgânica e fluido intersticial (EURELL; SICKLE; SICKLE, 2012; PIZAURO JUNIOR; CIANCAGLINI; MACARI, 2002).

O crescimento da cartilagem é particularmente importante no embrião, no qual existem modelos de cartilagem para todos os tecidos que finalmente irão se transformar em osso no animal. O crescimento também continua no animal adulto, embora em um ritmo mais lento (GOFF, 2017). O crescimento da cartilagem deve-se a dois processos: o crescimento intersticial, por divisão mitótica dos condrócitos preexistentes; e o crescimento aposicional, que se faz a partir das células do pericôndrio (EURELL; SICKLE; SICKLE, 2012; GOFF, 2017; ABRAHAMSOHN, 2017). Em ambos, os novos condrócitos formados produzem fibrilas colágenas, proteoglicanos e glicoproteínas e à medida que a matriz se torna mais rígida, o crescimento intersticial deixa de ser viável e a cartilagem passa a crescer somente por aposição (ABRAHAMSOHN, 2017).

Outro sistema importante para o desenvolvimento das aves é o ósseo, pois é responsável pela



proteção mecânica de tecidos, órgãos e sustentação da musculatura, já que seu crescimento e desenvolvimento estão intrinsecamente associados ao crescimento corporal (ABRAHAMSOHN, 2017; PIZAURO JUNIOR; SANTOS; GONÇALVES, 2017). Segundo Pizauro Junior; Santos; Gonçalves (2017), o aumento da taxa de crescimento de componentes do corpo, sem que aconteça um aumento compensatório do tecido ósseo, pode levar ao desenvolvimento de doenças esqueléticas em frangos de corte.

Portanto, o conhecimento e a atualização dos processos envolvidos no desenvolvimento cartilaginoso e ósseo de frangos de corte é uma estratégia promissora para a prevenção de enfermidades locomotoras e deve ser revisto sempre que necessário.

2 Estado da Arte do Assunto

Morfofisiologia da cartilagem articular e epifisária

O tecido cartilaginoso é um tipo especializado de tecido conjuntivo, aneural, avascular, alinfático e de resistência rígida. Conforme as diversas necessidades funcionais do organismo, as cartilagens se diferenciam pela constituição da matriz em três tipos: hialina, elástica e fibrosa (EURELL; SICKLE, 2012; GOFF, 2017; ABRAHAMSOHN, 2017).

A cartilagem hialina forma a maior parte da cartilagem nos animais e está envolvida em grande parte das patologias, além disso, forma o primeiro esqueleto do embrião, por meio da ossificação endocondral. No animal adulto é encontrada nas extremidades ventrais das costelas, dentro dos anéis da traqueia, na laringe e nas superfícies articulares dos ossos longos (EURELL; SICKLE, 2012; GOFF, 2017). Os ossos longos das aves em crescimento contêm dois tipos de cartilagem hialina, incluindo a cartilagem articular e a placa de crescimento ou disco epifisário (NAKANO; OZIMEK; BETTI, 2012).

Apesar da sua concentração relativamente baixa, os condrócitos são responsáveis pela secreção dos constituintes da matriz extracelular, que conferem à cartilagem as suas propriedades mecânicas únicas e permitem-lhe o desempenho da sua função (GOFF, 2017; ABRAHAMSOHN, 2017). Os condrócitos são originados de células condroblásticas, estão localizados dentro de lacunas da matriz extracelular e variam de tamanho na cartilagem hialina madura. Aqueles que se situam próximos à superfície da cartilagem são pequenos e suas lacunas são elípticas, com eixos longitudinais paralelos à superfície. Profundamente na cartilagem, as células são maiores e mais poliédricas. As lacunas apresentam números distintos de condrócitos, que quando multicelulares são denominadas de grupos isógenos (EURELL; SICKLE, 2012). Achados recentes indicam que a cartilagem hialina ainda apresenta condroclastos, que são células multinucleadas, semelhantes aos osteoclastos nos ossos e



são capazes de reabsorver a matriz cartilaginosa (KNOWLES et al., 2012).

Os condrócitos sofrem a ação reguladora de mediadores pró-catabólicos (citocinas) e pró-anabólicos (fatores de crescimento) que, por meio de liberação parácrina e/ou autócrina, podem promover junto ao condrócito a ativação de mecanismos para a degradação tecidual, mediada por enzimas e seus inibidores, e para regeneração da cartilagem, via multiplicação celular e síntese dos elementos da matriz, que garantem adequada homeostase tecidual às necessidades biomecânicas (VELOSA; TEODORO; YOSHINARI, 2003). Young et al. (2017) demonstraram que nos condrócitos, a compressão cíclica moderada pode promover a síntese de componentes da matriz. No entanto, condrócitos submetidos a grandes cargas estáticas reduzem o anabolismo e aumentam a degradação da matriz e o estresse oxidativo.

A matriz extracelular da cartilagem hialina é formada, em 40% do seu peso, por fibrilas de colágeno, associadas ao ácido hialurônico, proteoglicanos e glicoproteínas (EURELL; SICKLE, 2012; ABRAHAMSOHN, 2017), que proporcionam um arcabouço físico para a sustentação da estrutura tecidual, determinando a hidratação e, conseqüentemente, o volume do tecido, criando espaços para o transporte de moléculas, a organização dinâmica e a resistência às forças de compressão (ABRAHAMSOHN, 2017). Quanto ao fluido intersticial, a água é o seu principal constituinte, correspondendo de 60 a 80% do peso total, sendo que a maior parte desta está ligada aos glicosaminoglicanos, o que dá consistência de gel rígido à matriz (ESPANHA, 2010).

O colágeno é a macromolécula mais abundante da matriz da cartilagem hialina, sendo predominante o colágeno do tipo II (EURELL; SICKLE, 2012; GOFF, 2017; ABRAHAMSOHN, 2017), cujas moléculas se associam para formar fibrilas juntamente com outros tipos de colágeno. As fibrilas de colágeno do tipo II são originalmente secretadas na matriz pelos condrócitos, na forma de tropocolágeno. As fibrilas de colágeno formam um arcabouço que confere força, elasticidade e resistência, sobretudo às forças de tensão, que se exercem paralelamente à superfície cartilágnea (GOFF, 2017).

Estudo de Eyre; Brickley-Parsons; Gilmcher (1978) identificou que, com a idade, ocorrem mudanças na composição do tipo de colágeno na cartilagem articular de frangos. Diferentemente dos mamíferos, a quantidade de colágeno do tipo I nas aves, aumenta com a idade. O colágeno do tipo II é gradualmente substituído pelo tipo I, tornando-se o principal colágeno na maturidade (20 semanas de idade). Em todas as idades, o colágeno do tipo I, foi o único na zona superficial da cartilagem articular, que com o aumento da profundidade se misturou ao tipo II, e que foi predominantemente maior na cartilagem articular profunda.

Os proteoglicanos consistem em macromoléculas com uma parte central proteica, onde se ligam numerosas moléculas não ramificadas e relativamente curtas de glicosaminoglicanos sulfatados



(GOFF, 2017; ABRAHAMSOHN, 2017; SOUZA; PINHAL, 2011). Os proteoglicanos podem estabelecer ligações não covalentes com uma única molécula de ácido hialurônico para formar agregados moleculares, para manter a rigidez da matriz cartilaginosa. Esses agregados de proteoglicanos ligam-se às fibrilas colágenas, formando o arcabouço macromolecular da matriz. Um dos agregados moleculares mais comuns da cartilagem hialina é o agrecano, proteoglicano formado pela associação de proteína com sulfato de condroitina e sulfato de queratano (ABRAHAMSOHN, 2017).

Como o colágeno é flexível, a consistência firme da cartilagem deve-se, principalmente, às ligações eletrostáticas entre os glicosaminoglicanos sulfatados, ao colágeno e à grande quantidade de água de solvatação das moléculas de glicosaminoglicanos que confere turbidez à matriz. O alto conteúdo de água de solvatação das moléculas de glicosaminoglicanos atua como um sistema de absorção de choques mecânicos, ou mola biomecânica, de grande significado funcional, principalmente nas cartilagens articulares (ABRAHAMSOHN, 2017).

Além dos proteoglicanos atuarem para manterem a hidratação da cartilagem e proporcionarem resiliência e resistência compressiva à cartilagem, também apresentam grande afinidade com uma variedade de ligantes, incluindo fatores de crescimento, moléculas de adesão, componentes da matriz, enzimas e inibidores de enzima (WU et al., 2005). A especificidade de ligação de tais macromoléculas depende da interação com o esqueleto proteico, porém, na grande maioria, as interações são dependentes das cadeias laterais de glicosaminoglicanos (SOUZA; PINHAL, 2011).

Dentre as glicoproteínas da matriz cartilaginosa, destacam-se a condronectina, a ancorina CII e a fibronectina, macromoléculas estruturais com sítios de ligação para condrócitos, colágeno e glicosaminoglicanos (EURELL; SICKLE, 2012). Graf et al. (1993) verificaram diferenças na estrutura da cartilagem articular de frangos quando comparada à de mamíferos, além da presença de vasos sanguíneos; observaram com base na morfologia, composição e disposição dos condrócitos e das fibras de colágenos, que a cartilagem articular dos frangos não apresenta as quatro diferentes zonas estratificadas, frequentemente descritas na cartilagem dos mamíferos.

Nakano; Slim (1995) ao avaliarem a composição da matriz extracelular da cartilagem articular e da placa de crescimento proximal da tíbia de frangos de corte, observaram maiores valores de colágeno e de sulfato de queratano na cartilagem articular e menores valores de sulfato de condroitina, de ácido urônico, de ácido hialurônico e de ácido siálico na placa de crescimento. O sulfato de condroitina foi o glicosaminoglicano predominante nos proteoglicanos, representando uma média de 96% em ambas as cartilagens. Enquanto o sulfato de dermatano apresentou baixa concentração.

Morfofisiologia óssea



O tecido ósseo pode ser definido como tecido conjuntivo especializado, dinâmico, vascular, constituído por matriz orgânica mineralizada (EURELL; SICKLE, 2012; ABRAHAMSOHN, 2017) e por população heterogênea de células, em diversos estágios de diferenciação celular que, por meio de uma coordenada sequência de eventos, regula a mobilização e a deposição mineral durante a vida do animal, esses dois processos podem levar ao ganho ou redução na massa óssea, e, possivelmente, no tamanho do esqueleto (PIZAURO JUNIOR; SANTOS; GONÇALVES, 2017).

A formação e remodelação do tecido ósseo ocorrem por meio da atividade sincronizada de osteoblastos, osteócitos, osteoclastos e de células osteogênicas ou osteoprogenitoras (CLARKE, 2008; EURELL; SICKLE, 2012; GOFF, 2017; ABRAHAMSOHN, 2017; PIZAURO JUNIOR; SANTOS; GONÇALVES, 2017).

As células osteoprogenitoras são células não especializadas, derivadas do mesênquima, que podem se dividir mitoticamente, originando outras células, dentre elas, os fibroblastos, os condroblastos, os osteoblastos, os adipócitos e os mioblastos. Nos mamíferos e nas aves, a ossificação dos ossos longos ocorre pela diferenciação de células osteoprogenitoras, em condrócitos ou osteoblastos (PIZAURO JUNIOR; SANTOS; GONÇALVES, 2017).

Os osteoblastos são células responsáveis pela síntese e secreção dos constituintes da matriz orgânica do tecido ósseo (CLARKE, 2008; DUNCAN BASSETT; WILLIAMS, 2016; ABRAHAMSOHN, 2017), se dispõem ao longo das superfícies ósseas, lado a lado, num arranjo que se assemelha a um epitélio simples (CAPULLI; PAONE; RUCCI, 2014). Participam do processo de mineralização óssea por meio da secreção de vesículas ricas em fosfatase alcalina, que atuam na clivagem do pirofosfato. De forma simultânea, aumentam a concentração local de fosfato, por meio da atuação sobre a hexose monofosfato, produto derivado da quebra do glicogênio, promovendo a mineralização (PIZAURO JUNIOR; CIANCAGLINI; MACARI, 2002). Possuem participação indireta no processo de reabsorção óssea por secretar citocinas, que estimulam os osteoclastos (DUPLOMB et al., 2006). Essas células podem sofrer apoptose, se diferenciarem em osteócitos ou se tornarem células de revestimento ósseo (CAPULLI; PAONE; RUCCI, 2014).

Os osteócitos são os osteoblastos maduros, encontrados no interior da matriz óssea, são as células mais abundantes do osso (DALLAS; PRIDEAUX; BONEWALD, 2013). São responsáveis pela manutenção da matriz óssea, pois possuem a capacidade de sintetizar e reabsorver a matriz óssea de acordo com as necessidades fisiológicas do animal, mas em uma extensão limitada (PIZAURO JUNIOR; SANTOS; GONÇALVES, 2017). Recentemente, o interesse pelo papel fisiológico dos osteócitos tem aumentado, devido principalmente, à suposição de que eles estão envolvidos na regulação estrutural e biomecânica da massa do tecido ósseo (FLORENCIO-SILVA et al., 2015).

Os osteoclastos são células polinucleadas móveis, gigantes e ramificadas, formados pela fusão



de monócitos da superfície óssea, oriundos da medula óssea (EURELL; SICKLE, 2012; FLORENCIO-SILVA et al., 2015; ABRAHAMSOHN, 2017). Quando ativos, os osteoclastos se encontram na parte periférica da superfície óssea, em depressões da matriz, chamadas de lacunas de Howship (EURELL; SICKLE, 2012; ABRAHAMSOHN, 2017; PIZAURO JUNIOR; SANTOS; GONÇALVES, 2017). Responsáveis pela reabsorção óssea, essas células liberam ácidos e enzimas colagenases e hidrolases que atuam digerindo a matriz orgânica e dissolvendo os sais de cálcio (ABRAHAMSOHN, 2017). No animal adulto, são responsáveis pela remodelação e, se necessário, mantêm as exigências de cálcio necessário para a homeostase (DUNCAN BASSETT; WILLIAMS, 2016; KINI; NANDEESH, 2012).

Prisby et al. (2014) constataram que, em frangos de corte, o metabolismo ósseo é acentuado aos sete dias de idade, com aumento da atividade dos osteoblastos, e aos 14 dias de idade ocorre diminuição da mineralização óssea.

A matriz extracelular óssea é constituída por compostos orgânicos (22%), minerais (69%) e água (9%) (PIZAURO JUNIOR; SANTOS; GONÇALVES, 2017). Segundo Eastell; Lambert (2002), cerca de 70 a 80% da massa óssea é determinada geneticamente, enquanto, os 20 a 30% restantes são atribuídos a fatores externos, com destaque para a nutrição, que possui influência direta sobre a composição e as características ósseas em frangos de corte (MUSZYŃSKI et al., 2018; SGAVIOLI et al., 2017).

A matriz orgânica é responsável pela elasticidade do osso e exerce papel essencial na homeostase, sendo formada por fibras colágenas, cerca de 95%, e os outros 5% correspondem aos proteoglicanos e às proteínas não colagenosas (GOFF, 2017; ABRAHAMSOHN, 2017; PIZAURO JUNIOR; CIANCAGLINI; MACARI, 2002). Se toda a matriz orgânica óssea fosse removida, os minerais inorgânicos manteriam a forma visível do osso, contudo, o osso perderia sua resistência tênsil e ficaria quebradiço. Por outro lado, se os minerais fossem removidos, a matriz orgânica ficaria muito flexível e perderia sua dureza (GOFF, 2017).

O colágeno é o principal constituinte da matriz orgânica do osso, é sintetizado pelos osteoblastos, e em menor extensão, pelos osteócitos (GOFF, 2017). Contribui para a força tensional do osso, fornecendo suporte e orientação para a matriz mineral. Por representar a maior parte orgânica do osso, o colágeno também afeta sua propriedade mecânica (RATH et al., 2000). De acordo com (MYLLYHARJU; KIVIRIKKO, 2001), foram identificados 20 tipos diferentes de colágenos que possuem diferentes especificidades entre os diversos tecidos animais. Na cartilagem há o predomínio do colágeno fibrilar tipo II, enquanto o osso é composto de colágeno fibrilar tipo I, podendo os dois serem encontrados em tecidos sujeitos ao estresse de compressão e tensão (VELLEMAN, 2000; EURELL; SICKLE, 2012; GOFF, 2017).



Os proteoglicanos são macromoléculas caracterizadas por apresentarem em sua estrutura proteica principal, ligações covalentes com moléculas de glicosaminoglicanos. Os glicosaminoglicanos são polímeros de dissacarídeos sulfurados que possuem carga negativa, responsável pela interação iônica com a água, são importantes na estrutura, formação e função do tecido (VELLEMAN, 2000; ARAÚJO; VIEITES; SOUZA, 2012).

Dentre as proteínas totais, as proteínas não colagenosas ou glicoproteínas têm múltiplas funções nas células do osso, na estabilização da matriz e na mineralização (EURELL; SICKLE, 2012; ABRAHAMSOHN, 2017). Dentre essas proteínas, é possível destacar algumas plasmáticas que foram sequestradas da matriz mineral e outras proteínas específicas do osso, sendo que as principais são a osteocalcina e a osteonectina (DE OLIVEIRA et al., 2006).

As mudanças na concentração das proteínas não colagenosas podem contribuir para a fragilidade do osso, por interferirem na completa mineralização e/ou na arquitetura normal do osso. Moraes et al. (2010) descreveram que os frangos com alta incidência de problemas de pernas apresentaram maiores teores de proteínas não colagenosas, de modo que mudanças nas concentrações dessas proteínas podem resultar em perda de resistência óssea, por interferirem na completa mineralização (ARAÚJO et al., 2011).

Íons de cálcio e fósforo (fosfato), na forma de cristais de hidroxiapatita, compõem os ossos de forma predominante e em menores quantidades estão o bicarbonato, magnésio, potássio, sódio, citrato, cloreto e fluoreto (GOFF, 2017; ABRAHAMSOHN, 2017). Juntamente com o colágeno, as proteínas não colágenas da matriz formam um suporte para a deposição de hidroxiapatita e essa associação é responsável pela rigidez e resistência típicas do osso (ABRAHAMSOHN, 2017).

A osteogênese ocorre inicialmente pela formação da matriz não mineralizada (osteóide) por meio dos osteoblastos, seguido pela mineralização (EURELL; SICKLE, 2012). A formação do osso ou ossificação é classificada como endocondral, no caso do modelo de cartilagem servir de precursor do tecido ósseo que será formado, ou intramembranoso, se o osso for formado sem a intervenção de um precursor cartilaginoso (EURELL; SICKLE, 2012; LONG; ORNITZ, 2013, ABRAHAMSOHN, 2017). Em ambas, o primeiro tecido ósseo formado é o primário, o qual, lentamente, é substituído pelo tecido secundário (ABRAHAMSOHN, 2017).

Nas aves e nos mamíferos, os ossos longos são formados por ossificação intramembranosa e endocondral. O primeiro tecido ósseo a aparecer é formado por ossificação intramembranosa do pericôndrio, que recobre a parte média da diáfise, formando um cilindro, o colar ósseo (PIZAURO JUNIOR; CIANCAGLINI; MACARI, 2002; LONG; ORNITZ, 2013, ABRAHAMSOHN, 2017). Enquanto se forma o colar ósseo, células cartilaginosas envolvidas pelo mesmo se hipertrofiam, morrem por apoptose e a matriz da cartilagem se mineraliza. Vasos sanguíneos, partindo do periosteio,



atravessam o cilindro ósseo e penetram na cartilagem calcificada, levando consigo células osteoprogenitoras originárias do periósteo, que proliferam e diferenciam-se em osteoblastos (LONG; ORNITZ, 2013; ABRAHAMSOHN, 2017). Estes formam camadas contínuas nas superfícies cartilaginosas calcificadas e iniciam a síntese da matriz óssea, que logo se mineraliza (FLORENCIO-SILVA et al., 2015; ABRAHAMSOHN, 2017). Forma-se assim, o tecido ósseo primário, sobre os resíduos da cartilagem calcificada. A seguir, a diáfise é calcificada e posteriormente, a cavidade da medula óssea é formada e o centro secundário de ossificação, denominado disco de crescimento, aparece nas epífises do tecido ósseo (LONG; ORNITZ, 2013).

Quando o tecido ósseo formado nos centros secundários ocupa as epífises, o tecido cartilaginoso fica reduzido a dois locais: à cartilagem articular, que persistirá por toda a vida e não contribui para a formação de tecido ósseo, e à cartilagem epifisária, que é constituída por um disco cartilaginoso que não foi penetrado pelo osso em expansão e que será responsável, de agora em diante, pelo crescimento longitudinal do osso (ABRAHAMSOHN, 2017). No interior da cartilagem epifisária, os condrócitos se encontram em diferentes estágios de diferenciação, dependendo, principalmente, da sua localização no interior do disco de crescimento, em que se distinguem as cinco zonas (PIZAURO JUNIOR; CIANCAGLINI; MACARI, 2002; ABRAHAMSOHN, 2017):

Zona de repouso ou reserva: contém condrócitos aparentemente dispersos e inativos e não há nenhuma alteração morfológica na cartilagem;

Zona de cartilagem seriada ou de proliferação: os condrócitos, oriundos de células progenitoras, dividem-se rapidamente e formam fileiras ou colunas paralelas de células achatadas e empilhadas no sentido longitudinal do osso;

Zona de cartilagem hipertrófica: apresenta condrócitos volumosos, com depósitos citoplasmáticos de glicogênio e lipídios. A matriz fica reduzida a tabiques delgados entre as células hipertróficas. Os condrócitos entram em apoptose. O tempo de vida de um condrócito, entre o seu nascimento na zona proliferativa e morte na zona hipertrófica, é de aproximadamente três dias em aves de crescimento rápido;

Zona de cartilagem calcificada: ocorre a mineralização dos delgados tabiques de matriz cartilaginosa e termina a apoptose dos condrócitos. É nessa região que ocorre o depósito de fosfato de cálcio no interior das vesículas, que posteriormente se extravasa infiltrando nos interstícios do septo longitudinal;

Zona de ossificação: é a zona em que aparece tecido ósseo. Capilares sanguíneos e células osteoprogenitoras originadas do periósteo invadem as cavidades deixadas pelos condrócitos mortos. As células osteoprogenitoras se diferenciam em osteoblastos, que formam uma camada contínua sobre os restos da matriz cartilaginosa calcificada. Sobre esses resíduos de matriz cartilaginosa, os



osteoblastos depositam a matriz óssea.

O papel dos condrócitos no disco de crescimento é fascinante, devido principalmente, ao fato de que seu período de vida é sincronizado no tempo e no local onde sua atividade é requerida. A hipertrofia dos condrócitos é etapa essencial para invasão vascular e, subsequente, substituição da matriz calcificada por osso, sugerindo que a vascularização da região inferior do disco de crescimento representa uma etapa crucial na interação entre os processos de condrogênese e osteogênese, principalmente, durante o período de crescimento rápido dos ossos longos ou reparo de fraturas. Ademais, mudanças nesse equilíbrio podem levar ao desenvolvimento de doenças esqueléticas, tais como osteoartrite e discondroplasia (PIZAURO JUNIOR; CIANCAGLINI; MACARI, 2002, 2002).

O fim do crescimento longitudinal do osso é variável conforme a espécie e ocorre quando a cartilagem se torna cada vez mais delgada e a epífise e metáfise se fundem. Rath et al. (2000) evidenciaram o crescimento longitudinal de tíbias de frangos de corte até 25 semanas de idade.

Estudos de Wen et al. (2016) revelaram que os condrócitos, além da regulação da condrogênese, também desempenham um papel importante na formação óssea e remodelação óssea por um mecanismo parácrino, o que também apoia o conceito de que a condrogênese regula a formação óssea.

No período embrionário, o esqueleto das aves é pobremente mineralizado, pois a mineralização ocorre mais rapidamente nas primeiras duas semanas de vida, portanto, uma alta proporção dos minerais consumidos e disponíveis nos primeiros dias após a eclosão é necessária para a mineralização e crescimento ósseo (ANGEL, 2007).

O mecanismo no qual se inicia a formação de cálcio e fosfato inorgânico, bem como seu acúmulo na matriz orgânica do tecido ósseo, ainda não está bem elucidado. A principal causa de controvérsia é o mecanismo pelo qual a barreira termodinâmica é vencida para a conversão dos íons cálcio e fosfato inorgânico, presentes no sangue e fluidos intersticiais de tecidos em calcificação, em uma fase mineral sólida (PIZAURO JUNIOR; SANTOS; GONÇALVES, 2017).

Na tentativa de explicar esse mecanismo, várias teorias têm sido propostas. Dentre todas, a mais antiga e persistente é aquela proposta por Robson (1923), em que se admite que os íons, fosfato e cálcio estejam presentes nos fluidos do corpo em uma forma metaestável, e que, nos líquidos da cartilagem, a fosfatase alcalina atuaria sobre a hexose monofosfato, derivada da quebra do glicogênio, liberando o fosfato inorgânico. O aumento localizado do fosfato inorgânico, acrescido à concentração normal já existente no líquido tissular, provocaria a mineralização dos tecidos.

Já em outra proposta, Anderson (1989) explica que a calcificação ocorre em duas etapas. Na primeira fase, o cálcio e o fosfato são transportados para o interior da vesícula por um canal de cálcio através da membrana. No interior da vesícula extracelular, o cálcio liga-se aos lipídeos da membrana e às proteínas ligadoras de cálcio, localizadas no interior das vesículas da matriz. Concomitantemente,



a fosfatase alcalina fornece o fosfato por meio da sua ação sobre seu substrato fisiológico e no interior da vesícula, o aumento do cálcio iônico em relação ao fosfato provoca a precipitação do fosfato de cálcio e a formação de cristais. O primeiro cristal que se forma no interior da vesícula não é cristalino, ele é formado como um intermediário e depois convertido em hidroxiapatita. Na segunda fase, denominada fase de crescimento do mineral, os cristais de hidroxiapatita rompem a membrana da vesícula e extravasam para o meio extracelular, provocando o crescimento dos cristais.

Segundo ABRAHAMSOHN (2017), a calcificação começa pela deposição de sais de cálcio sobre as fibrilas colágenas, um processo que parece ser induzido por proteoglicanos e glicoproteínas da matriz. A deposição dos sais de cálcio é também influenciada pela concentração desses minerais do citoplasma dos osteoblastos. Além disso, existe ainda a participação da enzima fosfatase alcalina, sintetizada pelos osteoblastos.

O papel exato da fosfatase alcalina no processo de mineralização ainda precisa de elucidação, porém acredita-se que as ações catalíticas da fosfatase alcalina resultam em hidrólise do pirofosfato e fornecem fosfato inorgânico para promover a mineralização (ANDERSON, 1995). Ainda segundo Clarke (2008), a fosfatase alcalina óssea pode aumentar as concentrações locais de fósforo, remover os inibidores contendo fosfato do crescimento das hidroxiapatitas ou modificar as fosfoproteínas para controlar sua capacidade de atuar como nucleadores.

Oliveira et al. (2014) observaram um padrão de desenvolvimento ósseo para frangos, onde o teor de minerais dos ossos mostrou-se crescente nas três primeiras semanas, decrescendo no final do período experimental. Além disso, o volume ósseo apresentou-se crescente com a idade da ave; já a resistência à quebra e a densidade óptica radiográfica decresceram dos 28 aos 35 dias.

De acordo com Müller et al. (2012), a composição dos minerais dos ossos não é fixa, entretanto, reflete o estado de equilíbrio químico do organismo animal. Portanto, em casos de distúrbios severos, haverá mobilização dos minerais. Rath et al. (1999) demonstraram a existência de correlações positivas entre a resistência óssea e o conteúdo de cinzas, a densidade mineral, as ligações cruzadas de piridinolina e a fluorescência da matriz orgânica em frangos de corte. Contudo, os maiores valores foram obtidos para as ligações cruzadas de piridinolina e a fluorescência da matriz, sugerindo alta correlação com a quantidade de ligações cruzadas entre as fibras de colágeno. Esses resultados evidenciam que não apenas o conteúdo mineral, mas também fatores ligados à matriz orgânica do osso são responsáveis pela resistência óssea.

3 Considerações finais

Conhecer e atualizar os conceitos dos processos anabólicos da cartilagem e dos ossos, que envolvem a síntese de proteoglicanos, colágeno e proliferação de condrócitos, são imprescindíveis



para compreender a biologia do desenvolvimento destes sistemas e evitar o surgimento de problemas locomotores. Existem ainda mecanismos envolvidos que não estão elucidados de forma clara na literatura pesquisada, portanto, é necessário que este conteúdo seja revisto e atualizado periodicamente. Por meio do conhecimento do desenvolvimento destes sistemas, os pesquisadores puderam compreender melhor e propor alternativas embasadas cientificamente para a prevenção das enfermidades locomotoras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAHAMSOHN, P. Tecido ósseo. In: JUNQUEIRA L. C., CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 13 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. p. 133-154.
- ANDERSON, H. C. Mechanism of mineral formation in bone. **Lab Invest**, v. 60, n. 3, p. 320-330, 1989.
- ANDERSON, H.C. Molecular biology of matrix vesicles. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v. 314, p. 266-280.
- ARAÚJO, G.; VIEITES, F.; SOUZA, C. Importância do desenvolvimento ósseo na avicultura. **Archivos de Zootecnia**, v. 61, p. 79-89, 2012.
- ARAÚJO, G.M.; VIEITES, F.M.; BARBOSA, A.A.; CARAMORI JUNIOR, J.G.; SANTOS, A.L.; MORAES, G.H.K.; ABREU, J.G.; MULLER, E.S. Variação aniônica da dieta sobre características ósseas de frangos de corte: resistência à quebra, composição orgânica e mineral. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 4, p. 954-961, 2011.
- CAPULLI, M; PAONE, R.; RUCCI, N. Osteoblast and osteocyte games without frontiers. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 561, p. 3-12. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2014.05.003>.
- CLARKE, B. Normal bone anatomy and physiology. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, p. 131-139, 2008.
- DALLAS, S. L; PRIDEAUX, M.; BONEWALD, L. F. The osteocyte: an endocrine cell... and more. **Endocrine Reviews**, v. 34, n. 4, p. 658-690, 2013. <https://doi.org/10.1210/er.2012-1026>
- De OLIVEIRA, N. A.; FERREIRA, A. S.; De MORAES, G. H. K.; ROSTAGNO, H. S.; De ABREU, M. L. T. Deposição de proteínas no fêmur de frangos de corte em função do balanço eletrolítico das dietas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 4, p. 1758-1764, 2006. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982006000600025>
- DELGADO-MARTOS, M. J.; TOUZA FERNÁNDEZ, A.; CANILLAS, F.; QUINTANA-VILLAMANDOS, B.; SANTOS DEL RIEGO, S.; DELGADO-MARTOS, E.; MARTOS-RODRIGUEZ, A.; DELGADO-BAEZA, E. Does the epiphyseal cartilage of the long bones have one or two ossification fronts? **Med Hypotheses**, v. 81, n. 4, p. 695-700, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2013.07.029>
- DUNCAN BASSET, J. H.; WILLIAMS, G. R. Role of thyroid hormones in skeletal development and bone maintenance. **Endocrine Reviews**, v. 37, n. 2, p. 135-187, 2016.



<https://doi.org/10.1210/er.2015-1106>

DUPLOMB, L.; DAGOUASSAT, M.; JOURDON, P.; HEYMANN, D. Concise review: embryonic stem cells: a new tool to study osteoblast and osteoclast differentiation. **StemCells**, v. 25, n.3, p. 544-552, 2006. <https://doi.org/10.1634/stemcells.2006-0395>

ESPANHA, M. M. Articular cartilagem: Structure and histochemical composition. **Acta Reumatologica Portuguesa**, v. 35, n. 5, p. 424-433, 2010.

EURELL; SICKLE, J. A.; SICKLE, D. C. V. Tecidos conjuntivos e de sustentação. In: EURELL; SICKLE J. A.; FRAPPIER B. L. **Histologia veterinária de Dellmann**. 6. ed. Barueri: Manole; 2012. p. 31-60.

EYRE, D. R.; BRICKLEY-PARSONS, D. M.; GLIMCHE, R, M. J. Predominance of type I collagen at the surface of avian articular cartilage. **FEBS Letters**, v. 85, n. 2, p. 259-263, 1978. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(78\)80468-2](https://doi.org/10.1016/0014-5793(78)80468-2)

FLORENCIO-SILVA, R.; SASSO, G. R. S.; SASSO-CERRI, E.; SIMÕES, M. J.; CERRI, P. S. Biology of bone tissue: structure, function, and factors the influence bone cells. **BioMed Research International**, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/421746>

GOFF, J. P. Cartilagem, ossos e articulações. In: REECE, W. O. **Dukes fisiologia dos animais domésticos**. 13 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2017. p.575-595.

GRAF, J.; STOFF, E.; FREESE, U.; NIETHARD, F. U. The ultrastructure of articular cartilage of the chicken's knee joint. **International Orthopaedics**, v. 17, n. 2, p. 113-119, 1993. <https://doi.org/10.1007/BF00183553>

KINI, U.; NANDEESH, B. N. Physiology of bone formation, remodeling, and metabolism. In: FOGEMAN, I.; GNANASEGARAN, G.; VAN DER WALL, H. **Radionuclide and hybrid bone imaging**. Berlin: Springer, 2012. Ebook. Disponível em: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-642-02400-9>

KNOWLES, H. J.; MOSKOVSKY, L.; THOMPSON, M. S.; GRUNHEN, J.; CHENG, X.; KASHMA, T. G.; ATHANASOU, N. A. Chondroclasts are mature osteoclasts which are capable of cartilage matrix resorption. **Virchows Archiv**, v. 461, n. 2, p. 205-210, 2012. <https://doi.org/10.1007/s00428-012-1274-3>

LONG, F.; ORNITZ, D. M. Development of the endochondral skeleton. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 5, n. 1, p. 1-20, 2013.

MORAES, G. H. K.; de RODRIGUES, A. C. P.; SILVA, F. A.; ROSSTAGNO, H. S.; MINAFRA, C. S.; BIGONHA, S. M. Efeitos do ácido L-glutâmico e da vitamina K na composição bioquímica parcial de fêmures de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 4, o. 796-800, 2010. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010000400014>

MÜLLER, E. S.; BARBOSA, A. D. A.; HENRIQUE, G.; MORAES, K.; VIEITES, F. M.; ARAÚJO G. M. Parâmetros químicos, bioquímicos e mecânicos de fêmures de frangos de corte submetidos a diferentes balanços eletrolíticos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, n. 6, p. 1454-1462, 2012. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982012000600020>

MUSZYŃSKI, S.; TOMASZEWSKA, E.; KWIECIEŃ, M.; DOBROWOLSKI, P.; TOMCZYK, A.



- Effect of dietary phytase supplementation on bone and hyaline cartilage development of broilers fed with organically complexed copper in a cu-deficient diet. **Biological Trace Element Research**, v. 182, n. 2, p. 339-353, 2018. <https://doi.org/10.1007/s12011-017-1092-1>
- MYLLYHARJU, J.; KIVIRIKKO, K. Collagens and collagen-related diseases. **Annals of Medicine**, v. 33, n. 1, p. 7-21, 2001. <https://doi.org/10.3109/07853890109002055>
- NÄÄS, I. A.; BARACHO, M. S.; BUENO, L. G. F.; de MOURA, D. J.; VERCELINO, R. A.; SALGADO, D. D. Use of vitamin D to reduce lameness in broilers reared in harsh environments. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 14, n. 3, p. 165-172, 2012. <https://doi.org/10.1590/S1516-635X2012000300002>
- NÄÄS, I. A.; PAZ, I. C. L. A.; BARACHO, M. S.; MENEZES, A. G.; BUENO, L. G. F.; ALMEIDA, I. C. L.; MOURA, D. J. Impact of lameness on broiler well-being. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 18, n.3, p. 432-439, 2009. <https://doi.org/10.3382/japr.2008-00061>
- NAKANO, T.; OZIMEK, L.; BETTI, M. Deboning broiler chicken legs and wings by dislocation of articular cartilage followed by stripping periosteum. **Poultry Science**, v. 91, n. 11, p. 2938-2941, 2012. <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02329>
- NAKANO, T.; SLIM, J. S. A study of the chemical composition of the proximal tibial articular cartilage and growth plate of broiler chickens. **Poultry Science**, v. 74, n. 3, p. 538-550, 1995. <https://doi.org/10.3382/ps.0740538>
- OLIVEIRA, A. F. G.; BRUNO, L. D. G.; MARTINS, E. N.; GARCIA, E. R. M.; MONTEIRO, A. C.; LEITE, M. C. P.; POZZA, P. C.; SANGALI, C. P. Effect of stocking density and genetic group on mineral composition and development of long bones of broilers. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 2, p.1023-1034, 2014. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2014v35n2p1023>
- PIZAURO JUNIOR, J. M.; CIANCAGLINI, P.; MACARI, M. Discondroplasia tibial: mecanismos de lesão e controle. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 4, n. 3, p.169-186, 2002. <https://doi.org/10.1590/S1516-635X2002000300001>
- PIZAURO JUNIOR, J. M.; SANTOS, L. F. J.; GONÇALVES, A. M. **Estrutura e função do tecido ósseo**. In: MACARI, M.; MAIORKA, A. Fisiologia das aves comerciais. Jaboticabal: Funep; 2017. p. 491-513.
- PRISBY, R.; MENEZES, T.; CAMPBELL, J.; BENSON, T.; SAMRAJ, E.; PEVZNER, I.; WIDEMAN, R. F. Kinetic examination of femoral bone modeling in broilers. **Poultry Science**, v. 93, n. 5, p. 1122-1129, 2014. <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03778>
- RATH, N. C.; BALONG, J. M.; HUFF, W. E.; HUFF, G. R.; KULKARNI, G. B.; TIERCE, J. F. Comparative differences in the composition and biomechanical properties of tibiae of seven-and seventy-two-week-old male and female broiler breeder chickens. **Poultry Science**, v. 78, n. 8, p. 1232-1239. <https://doi.org/10.1093/ps/78.8.1232>
- RATH, N. C.; HUFF, G. R.; HUFF, W. E.; BALOG, J. M. Factors regulating bone maturity and strength in poultry. **Poultry Science**, v. 79, n. 7, p. 1024-1032, 2000. <https://doi.org/10.1093/ps/79.7.1024>
- ROBSON, R. The possible significance of hexosephosphoric esters in ossification. **Biochemical**



Journal, v. 17, n. 2, p. 286-293, 1923.

SGAVIOLI, S.; SANTOS, E. T.; BORGES, L. L.; ANDRADE-GARCIA, G. M.; CASTIBLANCO, D. M. C.; ALMEIDA, V. R.; GARCIA, R. G.; SHIMANO, A. C.; NÄÄS, I. A.; BARALDI-ARTONI S. M. Effect of the addition of glycosaminoglycans on bone and cartilaginous development of broiler chickens. **Poultry Science**, v. 96, n. 11, p. 4017-4025, 2017.

<https://doi.org/10.3382/ps/pex228>

SOUZA, R. S. de; PINHAL, M. A. D. S. Interações em processos fisiológicos: a importância da dinâmica entre matriz extracelular e proteoglicanos. **Arquivos Brasileiros de Ciências da Saúde**, v. 36, n. 1, p. 48-54, 2011. <https://doi.org/10.7322/abcs.v36i1.75>

VELLEMAN, S. G. The role of the extracellular matrix in skeletal development. **Poultry Science**, v. 79, n. 7, p. 985-989, 2000. <https://doi.org/10.1093/ps/79.7.985>

VELOSA, A. P. P.; TEODORO, W. R.; YOSHINARI, N. H. Colágeno na cartilagem osteoartrótica. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 43, n. 3, p. 160-166, 2003.

WEEKS, C. A.; DANBURY, T. D.; DAVIES, H. C.; HUNT, P.; KESTIN, S. C. The behaviour of broiler chickens and its modification by lameness. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 67, n. 1-2, p. 111-125, 2000. [https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(99\)00102-1](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(99)00102-1)

WEN, X.; LI, X.; TANG, Y.; TANG, J.; ZHOU, S.; XIE, Y.; GUO, J.; YANG, J.; DU X.; SU, N.; CHEN, L. Chondrocyte FGFR3 regulates bone mass by inhibiting osteogenesis. **Journal of Biological Chemistry**, v. 291, n. 48, p. 24912-24921, 2016.

<https://doi.org/10.1074/jbc.M116.730093>

WU, Y. J.; LA PIERRE, D. P.; WU, J.; YEE, A. J.; YANG, B. B. The interaction of versican with its binding partners. **Cell Research**, v. 15, n. 7, p. 483-494, 2005.

<https://doi.org/10.1038/sj.cr.7290318>

YOUNG, I. C.; CHUANG, S. T.; GEFEN, A.; KUO, W. T.; YANG, C. T.; HSU, C. H.; LIN, F. H. A novel compressive stress-based osteoarthritis-like chondrocyte system. **Experimental Biology and Medicine**, v. 242, n. 10, p. 1062-1071, 2017. <https://doi.org/10.1177/1535370217699534>



Importância da chuva de sementes na restauração florestal

Importance of seed rain in forest restoration

RESUMO

Tendo em vista a intensa degradação de florestas no cenário atual, é importante conhecer as possíveis formas de facilitar e acelerar os processos de recuperação de áreas parcialmente ou totalmente degradadas. O trabalho busca evidenciar a importância da potencialização da chuva de sementes na regeneração de uma floresta, exemplificando quais são os diversos fatores que atuam no funcionamento da chuva, fatores esses que envolvem condições ambientais, formas de dispersão e a interferências de animais e humanos. A chuva de sementes atua diretamente na formação do banco de sementes de uma floresta, que quando formado e conservado de forma correta, acarreta grande sucesso na formação de novas plântulas, que germinam naturalmente.

Palavras-chave: Banco de semente; Degradação; Regeneração.

ABSTRACT

In view of the intense degradation of forests in the current scenario, it is important to have knowledge of possible ways to facilitate and accelerate the processes of recovery of partially or totally degraded areas. The work seeks to highlight the importance of potentiation of seed rain in the regeneration of a forest, exemplifying what are the various factors that act in the functioning of rain, factors that involve environmental conditions, forms of dispersion, interferences of animals and humans. The seed rain acts directly in the formation of the seed bank of a forest, which when formed and conserved correctly leads to great success in the formation of new seedlings in a forest, germinating naturally.

Keywords: Seed bank; Degradation; Regeneration.

A. Z. Carta

<https://orcid.org/0009-0006-6218-2980>

Universidade Brasil, Fernandópolis, São Paulo, Brasil

R. Andreani Junior *

<https://orcid.org/0000-0002-0290-3356>

Programa de Mestrado em Ciências Ambientais,
Universidade Brasil, Descalvado, SP, Brasil

**Autor correspondente*



1 Introdução

As difíceis situações das florestas resultantes da utilização descontrolada das suas riquezas naturais, devido às destruições intensas, desintegram os mais variados habitats naturais (ESCOBAR, 2018).

A floresta é um vasto bioma capaz de oferecer condições adequadas para o desenvolvimento da comunidade, relacionadas ao cultivo de lavouras, disponibilização de recursos hídricos, fontes de eletricidade, obtenção de pescados e, também, ao fornecimento de áreas de lazer para visitantes (SOS MATA ATLÂNTICA, 2021).

Ainda assim, tradicionalmente, a maneira atrasada de exploração das florestas para o crescimento de vários setores do país ocasionou sua destruição constante, e resulta hoje, como no caso da Mata Atlântica, em apenas 12,4% de áreas remanescentes (SOS MATA ATLÂNTICA, 2021). Essas porções de floresta que ficaram, como também suas espécies, estão sujeitas ao desaparecimento total (FERNANDES, 2006).

Intencionalmente, a restauração ecológica começa ou agiliza o restabelecimento de um ecossistema, sem prejudicar ou esgotar seus recursos atuais e futuros. A área a ser recuperada pode ter sido prejudicada tanto por ações do homem, ou então por causas naturais como tempestades, erosões, entre outros (SER, 2004).

Encontrar maneiras proveitosas de recuperar o ecossistema possibilita decifrar, concluir e verificar a exatidão das etapas de restauração orgânica secundária (BRANCO, 2018).

Um parâmetro reconhecido por ser simples de se trabalhar, compreender e examinar, assim como confrontar diferenças e semelhanças com outras regiões que estão em outro grau de desenvolvimento sucessional, é a chuva de sementes (FERNANDES, 2006).

A chuva de sementes age diretamente por meio de variadas manifestações de dispersão, sempre em uma sequência adequada e de boa qualidade numérica (BRANCO, 2018). Ela é tida como uma ferramenta segura para estabelecer determinantes de todo o ecossistema a ser restaurado, porque apresenta detalhes sobre suas partes distintas, aspecto, síndrome de dispersão, capacidade produtiva e abundante, além da descrição sucessional (FRÓES et al., 2020).

Deve-se levar em conta que a constituição da chuva de sementes e as particularidades das espécies vegetais da área influenciam nos resultados de recomposição e seus estádios (FERNANDES, 2006).

Dar ênfase em pesquisar acerca da dispersão elucidada novos saberes em relação de como ocorrem as mudanças na floresta e no que diz respeito a maneira como os seres lá se espalham (ZORZANELLI, 2014).



Devido a grandes questões levantadas atualmente sobre a necessidade de se preservar a natureza, deve-se conhecer como funcionam os processos que podem facilitar essa preservação, e é visto na chuva de sementes, um potencial para subsidiar a regeneração natural. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi o de descrever a importância da atuação da chuva de sementes na regeneração de florestas parcialmente ou totalmente degradadas.

2 Estado da arte do assunto

2.1. Chuva de sementes

Zorzanelli (2014, p.8) explica:

“A chuva de sementes é o processo pelo qual as sementes chegam ao solo através dos diversos agentes de dispersão, formando bancos de sementes e de plântulas e se caracteriza como um dos mais importantes processos ecológicos dentro das florestas tropicais, atuando na regeneração das espécies dentro dos ecossistemas, além de ser fundamental na recuperação de áreas degradadas”.

A chuva de sementes não necessariamente contém apenas sementes, podendo conter outras estruturas como frutos e diásporos, além de não influenciar a área em questão, podendo ter influência de outras áreas (CARVALHO, 2018; PIOTO et al., 2019). A sucessão ecológica depende da chuva de sementes. Embora a simples chegada de sementes não garanta o estabelecimento, conhecer a chuva de sementes é o primeiro passo para avaliar o processo sucessional em sítios sob restauração florestal (VINDICA et al., 2020).

Quando se sabe que mais diásporos estão presentes na chuva de sementes do que no solo, fica evidente a superioridade deste processo. Assim, ela será o meio para se restabelecer a vegetação também em locais de pequenas clareiras (GUARATINI, 1999).

Para se consolidar a chuva de sementes em razão de se firmar um meio capaz de interagir com as plântulas, permanecendo as espécies habituais daquela floresta, é essencialmente necessário a presença de agentes dispersores. A maneira como a planta se desenvolve, o seu comprimento e espessura estão associados ao tipo de dispersão, o que pode alterar o avanço e aspectos desse evento (RUDGE, 2008; SILVA et al., 2015).

As sementes de determinadas plantas são disseminadas e liberadas por elas mesmas, e esse evento é conhecido por autocoria. Já outras precisam de certos fatores para serem levadas, como a água (hidrocoria), alguns animais (zoocoria), o vento (anemocoria), e a antropocoria, quando a dispersão é realizada pelo homem. Há ainda outras subclassificações dentre as acima citadas (PEREIRA et al., 2010; DE LA PEÑA-DOMENE et al., 2016).



Sobre as síndromes de dispersão e particularidades dos seus frutos e sementes, na zoocoria, diásporos sem qualidades para os animais no que se refere a cor, odor e alimentação, são transportados quando se prendem a eles devido a sua textura. Frutos secos com aroma que origina óleo e principalmente frutos suculentos e carnosos, de cores intensas e de compensação para alimentação animal são carregados pela boca ou os que tem sua cápsula ingerida e, após, a semente é enterrada ou liberada pelas fezes (PERES, 2016; HSIEH et al., 2016).

Sementes pequeninas e que não pesam são levadas pelo vento e frutos com alas ou plumas que ficam suspensas no ar, também, são dispersas por anemocoria. Na autocoria, diásporos maduros são soltos pela planta- mãe passivamente, assim como frutos secos lançam as suas sementes por explosão a consideráveis distâncias (PERES, 2016).

Depois de ocorrer a dispersão, muitos propágulos chegam ao solo florestal, porém, pouquíssimos brotam e chegam a fase de plântulas. A seguir, cada uma das espécies que surgiram há pouco no dossel da floresta antiga, preenchem brevemente o sub-bosque (GUARATINI, 1999).

Ao falar da relevância de se adquirir conhecimento sobre as chuvas de sementes, Freire (2006, p.73) aponta: “torna-se importante mecanismo para o conhecimento da dinâmica florestal, por avaliar quais os possíveis indivíduos que estariam propensos a emergir no campo e em que condições climáticas poderiam ocorrer” e completa com a seguinte opinião:

“... o estudo da chuva de sementes e do banco de sementes do solo, são fatores que possibilitam acompanhar o recrutamento de novos indivíduos no campo quanto à produção de propágulos e se estes estão sendo recrutados e em que condições os indivíduos estão se estabelecendo no solo”.

Para Araújo et al. (2004, p.137) “A chuva de sementes tem potencial para contribuir efetivamente na conservação e reabilitação de áreas próximas a fragmentos florestais.”

Silva et al (2018, p.1487) corrobora outros autores:

“A chuva de sementes apresenta potencial para manutenção da dinâmica florestal por apresentar alta riqueza de espécies que compõem a atual vegetação, sendo composta, predominantemente, por espécies que produzem frutos abundantes com dispersão zoocórica que servem de alimento para fauna. Enquanto poucas sementes germinam para formar o banco de plântulas, a maioria está contribuindo para formação do banco de sementes”.

Em estudo da Universidade de Viçosa-MG, foram adicionados coletores em uma reserva biológica na respectiva cidade e se obteve os seguintes resultados: foram identificados 43 táxons dentre os diásporos coletados, 30 ao nível específico, cinco ao nível genérico, três ao nível de família e cinco permaneceram indeterminados. No total, foram identificadas 17 famílias, e nos dois anos de estudo



foram contabilizadas 16.986 sementes, sendo 712 no primeiro ano e 16.274 no segundo (CAMPOS et al., 2018).

Já em trabalhos realizados em diferentes municípios do Mato Grosso do Sul, se apresentaram um total de 47.124 sementes, em três áreas avaliadas durante nove meses (FROES et al., 2020).

Tanto na investigação de Campos et al (2018), realizada em MG, como na pesquisa de Campelleso et al., (2015), estudada no Sul do país, se obteve uma superioridade da família *Fabaceae* na chuva de sementes.

Em estudo realizado na região nordeste do Brasil, Silva et al., (2018, p.1481), apresentou os seguintes resultados:

“...na chuva de sementes foram contadas de 124.878 sementes (10.619 ± 4.488 sementes/m² de espécies arbóreas), pertencentes a 60 morfoespécies e 20 famílias botânicas. Do total de morfoespécies, 27 foram identificadas em nível específico, 11 em nível genérico, cinco em família e 17 permaneceram como morfoespécies”.

Quando utilizado coletores para obter informações no estudo da chuva de sementes, fica evidente que com o passar de alguns meses, a diversificação no total de sementes em cada recorte de amostragem estudado, apresenta contrastes possivelmente relacionados a elementos como intervenção de espécies nos coletores, volume, periodicidade de fornecimento e síndromes de dispersão, presença de agentes dispersores e características dos ventos refletindo em diferenças no tempo e espaço (ARAÚJO, et al., 2004).

A forma de representação da chuva sementes, a dispersão de diásporos, e o tempo levado para se depositar certa quantidade de sementes em determinada área, se refere a fisionomia da mesma (SCCOTTI et al., 2016). Segundo Santos et al., (2022), diferenças na chuva de sementes sugerem que ela é influenciada pela heterogeneidade espacial e pela sazonalidade do clima, e que as áreas com diferentes tipos de relevo são importantes para a conservação da biodiversidade.

2.2. Banco de sementes

Para que se tenha um banco de sementes com conservação viável, é essencial a atividade de chegada e saída de sementes através da chuva. Ela irá influenciar diretamente tanto na densidade do banco, quanto na sua diversidade de espécies (VIEIRA; REIS, 2003).

Carvalho (2018, p.25), levando em conta definições de outros autores, discorre em sua obra que “o banco de sementes engloba sementes e outras estruturas de reprodução vegetativa”.

Capelleso et al., (2015) relatam em sua pesquisa que no banco de sementes de uma floresta, podemos encontrar domínio das espécies pioneiras em relação às secundárias iniciais e tardias.



É sabido que o banco de sementes é formado, em sua maioria, por espécies que se desenvolvem em condições pouco favoráveis, mas que necessitam de muita luz para germinar e se reproduzirem rapidamente (SIQUEIRA, 2002).

Pereira et al., (2010, p.728), mencionam que:

“a regeneração natural de espécies arbóreas em áreas abertas parece ser mais dependente da disseminação de sementes que iniciam a germinação logo após a disseminação do que propriamente do banco de sementes, uma vez que a germinação da maioria das espécies pioneiras é estimulada pela presença de luz, e na área de pasto, assim que a semente chega, ela já tem condições de iniciar o processo de germinação”.

Em experimento no interior de São Paulo, verificou-se que foi no primeiro mês que parte das sementes germinaram, justificado pela incidência de luz sobre elas. A maior quantidade de espécies presentes era de porte herbáceo (SIQUEIRA, 2002).

Para Santos et al., (2017), as condições topográficas da área são determinantes na composição do banco de sementes, completando da seguinte forma: “a composição florística do banco de sementes é influenciada pelo tipo de pedofoma, sendo os maiores valores de riqueza verificados na pedofoma convexa, e os maiores valores de diversidade, na pedofoma côncava”.

O não aproveitamento de algumas sementes que compõem o banco é atribuído a épocas de seca que as levam a morte, assim como, pela atividade de predadores, sua estrutura genética ou ainda com a possibilidade de serem enterradas pelas formigas profundamente ou de se extraviar quando levadas pela água e pelo vento (SIQUEIRA, 2002).

Os bancos de sementes de áreas que são constantemente prejudicadas vão se adequando à natureza da agressão. Por exemplo, o cerrado onde as queimadas são comuns, tem sementes enterradas com habilidades de germinar quando o fogo cessar. Já nas margens dos rios, as sementes conseguem germinar e crescer com muita velocidade, impedindo a erosão dessas áreas (VIEIRA; REIS, 2003).

Para Capellesso et al., (2015), as sementes que ficam conservadas no solo, são para a ocasião que surgirem espaços na mata, assim o banco pode ter êxito na reconstituição vegetal do local.

Os modos de proceder com objetivo de recuperação de áreas não se aplicam apenas ao banco de sementes, porque inúmeras espécies, essencialmente aquelas de estádios finais de sucessão, não estão presentes no banco (SIQUEIRA, 2002).

Algumas formas acessíveis para se reconstituir o banco de sementes de sítios perturbados, é por meio de fomentar a chuva de sementes daquele local, pelo posicionamento de poleiros artificiais, ou também pela transposição do solo de áreas não agredidas para áreas agredidas (VIEIRA; REIS, 2003).



2.3. Condições que interferem na dinâmica florestal

Ser (2004, p.3) leva em conta que “a restauração de um ecossistema está ligada a três fatores principais: recuperação da resiliência, da integridade e da sustentabilidade”.

Informações importantes obtidas através de estudo apontam que áreas fragmentadas e intensamente destruídas resultam em produção reduzida de sementes. Isso é explicado por consequência de borda, pouca diversidade biológica, desaparecimento de polinizadores e dispersores (RUDGE, 2008).

Ainda que a chuva de sementes produza melhores efeitos nas bordas, a densidade de plântulas é inferior devido aos propágulos serem transportados através da água sem dificuldades (ARAÚJO et al., 2004).

É válido ratificar a necessidade de se manter a produção de propágulos perto das áreas que precisam se recuperar, assim como daquelas que não devem ser agredidas (GUARATINI, 1999).

Sementes vindas de regiões mais afastadas por consequência da dispersão de longa distância, tornam as populações mais abundantes, heterogênicas também geneticamente e pequeno volume ou oscilação no fornecimento de sementes pode ser atribuído à carência de indivíduos que proporcionem diásporos e pela limitação na dispersão (CAMPOS et al., 2018).

Sem levar em conta o número de sementes originadas, a restrição na dispersão está relacionada aos costumes dos agentes dispersores, como deixar de ir até as plantas que têm frutos, deslocamentos que não tornam possíveis a dispersão e alimentação, que não contribui para o transporte ou liberação das sementes (COLMANETTI, 2013).

Na investigação de uma floresta estacional semidecídua, foi constatado que diversas síndromes de dispersão estão vinculadas a distintas localidades. Nos estratos baixos dominou a dispersão por zooecoria, no meio e locais mais abertos apareceram mais espécies por autocoria e anemocoria (YAMAMOTO et al., 2007).

Em sua pesquisa, com a contribuição de informações de outros autores, Rudge (2008, p.16) explica que:

“...se fontes externas de propágulos estiverem disponíveis, os restauradores devem contar com elas para garantir a restauração de alguns processos ecológicos, como a dispersão, colonização de fauna e regeneração. Essas áreas demonstraram serem vitais para manutenção e aumento da diversidade da floresta em restauração através dos anos”.

Com base em definições de outros autores, Araújo et al. (2004), apresentaram um resultado em seu trabalho onde se chega a um acordo em que a chuva de sementes é aumentada na borda da floresta e diminuída quando se adentra, onde é menos provida de luminosidade, o que faz com que os indivíduos apresentem maior floração e frutificação.



De acordo com Pietre et al., (2007), uma floresta que se regenera satisfatoriamente tem menor densidade na chuva e no banco de sementes porque sofre interferência de índices pluviométricos abundantes e duradouros, levando assim a erosão do solo por escoamento das águas e conseqüentemente, eliminação de sementes.

Importantes dados encontrados na literatura no que se refere à diversidade e equabilidade, mostram que em virtude da colonização inicial de pioneiras, alta diversidade prevalece em áreas degradadas e em áreas menos degradadas, uma menor equabilidade por consequência de espécies difíceis de se encontrar (FERNANDES, 2006).

Ao considerar a estação climática do ano onde houve maior deposição de sementes em uma floresta Atlântica conservada, ficou notório se tratar do verão, o que se justifica pela incidência elevada de precipitação. Por outro lado, em um fragmento de floresta degradado, originou-se menos sementes e foi durante a primavera que a maior parcela de sementes foi aportada (FERNANDES, 2006).

No rastreamento de Capellesso et al., (2015), em área de transição florestal, no Sul do país, também foi constatado que a diversidade mais elevada de espécies estava presente no mês de janeiro. Entretanto, ao falar sobre o mês em que a quantidade de propágulos dispersos foi superior, o resultado referiu-se a maio.

Tão relevante quanto a síndrome de dispersão das espécies, são as características da vegetação dos seus arredores (COLMANETTI, 2013).

A quantidade propícia de material orgânico a se deteriorar, a umidade e a temperatura do solo também têm potencial para que se verifique seus elementos vegetativos (FREIRE, 2006),

Para exercer sua função satisfatoriamente, o ecossistema florestal também utiliza a serapilheira. Por meio dela, os nutrientes das plantas são levados até o solo, propiciando condições ideais de fertilidade. A serapilheira é formada pelo material orgânico depositado no chão da mata: frutos, folhas, ramos e fragmentos de plantas. Em áreas mais degradadas sua produção e decomposição é menor. Em período de clima seco, produz mais galhos e folhas, e flores e frutos nas épocas com maior incidência de chuvas (SILVA, 2022).

Em relação ao volume da serapilheira no solo, as áreas novas têm volume maior e com o passar dos anos a quantidade vai se mantendo. Isso retrata parcialmente o estágio de sucessão que a floresta está (FREIRE, 2006).

3 Considerações finais

O processo da chuva de sementes é um dos mais significativos e valiosos na recuperação daquelas florestas já degradadas, na regeneração de suas espécies e também na manutenção das vegetações existentes.



Para que esse fenômeno aconteça é essencial a existência e participação de agentes dispersores como certos animais, o vento e até mesmo a ação humana.

O clima, a incidência de luz, tempo de reprodução das sementes, intensidade de destruição da floresta, carência e costumes dos agentes dispersores, pluviosidade e erosão do solo são fatores que influenciam na chuva e no banco de sementes.

O estudo mais detalhado desses mecanismos, possibilita compreender a dinâmica florestal e observar com mais atenção em relação a quais espécies estão presentes, em que quantidades, e em quais condições tem facilidade de se desenvolver.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, M.M; LONGHI, S.J; BARROS, P.L.C.de; BRENA, D.A. Caracterização da chuva de sementes, banco de sementes do solo e banco de plântulas em Floresta Estacional Decidual ripária Cachoeira do Sul, RS, Brasil. **Scientia Florestalis**, n. 66, p. 128-141, dez. 2004.

BRANCO, A. J. K. **A chuva de sementes e o processo de recuperação de áreas degradadas pela mineração de rocha basáltica no oeste do Paraná**. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina. 27p. 2018.

CAMPOS, E.P. de; VIEIRA, M.F; SILVA, A.F. da; MARTINS, S.V; CARMO, F. M.; MOURA, V.M; RIBEIRO, A. S.de. S; Chuva de sementes em Floresta Estacional Semidecidual em Viçosa, MG, Brasil, **Acta Botânica Brasilica**, v. 23, n.2, Jun 2018.

CAPELLESSO, E.S; SANTOLIN, S. F; ZANIN, E.M; Banco e chuva de sementes em área de transição florestal no sul do Brasil. **Revista Árvore**, v.39, n.5, p.821-829, 2015.

CARVALHO, C da S. **Variação fenotípica, genética e dispersão de sementes de uma palmeira da mata atlântica**. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro. 133p. 2018.

COLMANETTI, M. A. A. **Estrutura da vegetação e características edáficas de um reflorestamento com espécies nativas**. Dissertação (Mestrado) -- Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente- São Paulo, 165 p. 2013.



DE LA PEÑA-DOMENE, M; HOWE, H. F; CRUZ-LEON, E; JIMÉNEZ-ROLLAND, R; LOZANO-HUERTA, C; MARTÍNEZ-GARÇA, C. Seed to seedling transitions in successional habitats across a tropical landscape. *Oikos*, v.126, n.3, p.410–19, 2016.

ESCOBAR, L. O. C. **Chuva de sementes ornitocóricas e o uso de poleiros artificiais em área em recuperação sob o domínio da Mata Atlântica.** Dissertação (Mestrado). Universidade LaSalle – Unilasalle - Canoas, 2018. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11690/1115>.

FERNANDES, A. A. **Chuva de sementes em trechos de diferentes estádios sucessionais da Mata Atlântica no município de Miguel Pereira - RJ.** Monografia Curso Engenharia Florestal, Instituto de Florestas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.23p, 2006.

FREIRE, M. **Chuva de Sementes, Banco de Sementes do Solo e deposição de serapilheira como bioindicadores ambientais no bioma Mata Atlântica.** Teresópolis, RJ. Dissertação. Institutos de Florestas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. /Seropédica,69p. 2006.

FRÓES, C. Q; COSTA, P. F; FERNANDES, S. S. L; SILVA, A. P. V; JESUS, R.M; PEREIRA, Z. V. Chuva de sementes como indicador ambiental de áreas em processo de restauração ecológica do Mato Grosso do Sul. *Ciência Florestal*, v. 30, n. 4, p. 1032-1047, out./dez. 2020.

GUARATINI, M.T.G. **Dinâmica de uma floresta estacional semidecidual: o banco, a chuva de sementes e o estrato de regeneração.** Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. Campinas – SP, 150p.1999.

HSIEH, T.C; MA, K.H; CHAO, A. INEXT: an R package for rarefaction and extrapolation of species diversity (Hill Numbers). *Methods in Ecology and Evolution*, v. 7, n.12, p. 1451–56, 2016.

PEREIRA, I.M; ALVARENGA, A.P; BOTELHO, S.A. Banco de sementes do solo, como subsídio à recomposição de mata ciliar. *Floresta*, v. 40, n. 4, p. 721-730, out./dez. 2010.

PERES, M.K. **Estratégias de dispersão de sementes no bioma Cerrado: considerações ecológicas e filogenéticas.** Tese (Doutorado em Botânica) -Universidade de Brasília, Brasília, 353p. 2016.

PIETRE, D. S; TREGNAGO, J; CARVALHO, S.K; HEBLING, S.A. **Densidade do banco de sementes do solo e da chuva de sementes em um fragmento da Floresta Atlântica situado no Parque Municipal do Goiapaba-açu,** Fundão, ES, 2007. *Natureza*, v.5, n.1, p. 30-36.



PIOTTO, D; CRAVEN, D; MONTAGNINI, F; ASHTON, M; OLIVER, C; THOMAS, W.W. Sucessional, spatial and seasonal changes in seed rain in the Atlantic forest of Southern Bahia, Brazil. **PLoS ONE**, v.14, n.12, 2019.

RUDGE, A. C. Contribuição da chuva de sementes na recuperação de áreas e do uso de poleiros como técnica catalisadora da sucessão natural. Dissertação. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, 2008. Disponível em <https://pt.slideshare.net/CarlosAlbertoMonteir2/dissertao-sobre-chuva-de-sementes-na-recuperao-de-reas> . Acesso em: 19 set. 2022.

SANTOS, P. S. dos; SILVA, K. A. da; ARAÚJO, E. de L; FERRAZ, E. M. N. Seed rain in two areas with different relief types in a tropical rainforest. **Research, Society and Development**, v. 11, n.7, 2022.

SANTOS, G. L. dos; PEREIRA, M.G; CONTO, T. de; CARVALHO, D. C; AMORIM, T.A. de; MENDONÇA, V. M.M; MORAES, L.F.D.de. Influência da pedofoma na composição do banco de sementes em floresta secundária na região de Mar de Morros Pinheiral- RJ. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. **Artigos Ciência Florestal**, v.27, n.4, Dez 2017.

SCCOTTI, M. S. V; ARAUJO, M. M; TONETTO, T. da. S; LONGHI, S.J. Dinâmica da chuva de sementes em remanescente de floresta estacional subtropical. **Ciência Florestal**, v. 26, n. 4, 2016.

SER. Society for Ecological Restoration. International, Grupo de Trabalho sobre Ciência e Política. 2004. Princípios da SER International sobre a restauração ecológica. www.ser.org y Tucson: Society for Ecological Restoration International. Disponível em: https://cdn.ymaws.com/www.ser.org/resource/resmgr/custompages/publications/SER_Primer/ser-primer-portuguese.pdf Acesso em: 19 set. 2022.

SILVA, F.R.D; MONTOYA, D; FURTADO, R; MEMMOTT, M.A; PIZZO, M.A; RODRIGUES R.R. The restoration of tropical seed dispersal networks. **Restoration Ecology**, v.23, n.6, p. 852–860, 2015.

SILVA, J. P. G; MARANGON, L.C; FELICIANO, A.L.P; FERREIRA, R.L.C. Chuva de sementes e estabelecimento de plântulas em floresta tropical na região nordeste do Brasil. **Ciência Florestal**, v. 28, n. 4, p. 1478-1490, out.- dez., 2018.

SILVA, W.B. **Uso da serapilheira como indicadora de recuperação ambiental em uma cronosequência de florestas nos neotrópicos**: um estudo de caso na amazônia brasileira. Disponível



em: <https://www.univates.br/bduserver/api/core/bitstreams/ceb10bd1-b948-4d61-8317-fdd90ab935b7/content>. Acesso em 15 out. 2022.

SIQUEIRA, L.P. **Monitoramento de áreas restauradas no interior do estado de São Paulo, Brasil**. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP, 116 p., Acesso em: 01 abr. 2002.

SOS-Mata Atlântica. Amazônia têm áreas de cobertura florestal em situação tão crítica quanto a mata atlântica, bioma mais devastado do país. Notícias-2021. Disponível em: <https://www.sosma.org.br/noticias/amazonia-tem-areas-de-cobertura-florestal-em-situacao-cao-critica-quanto-a-mata-atlantica-bioma-mais-devastado-do-pais/>

VIEIRA, N. K.; REIS, A. **O papel do banco de sementes na restauração de áreas degradadas**. Departamento de Botânica, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC, 9p. 2003.

VINDICA, V. F; BARGOENA, L. R; SANTANA, P. C; PIMENTA, J. A; CAVALHEIRO, A. L; TOREZAN, J.M.D; BIANCHINI, E. Seed rain in a restoration site and in na adjacente remnant of Seasonal Atlantic Forest. **Ciência Florestal**, n.30, v.4, 2020.

YAMAMOTO, L.F., KINOSHITA, L.S. & MARTINS, F R. Síndromes de polinização e de dispersão em fragmentos da Floresta Estacional Semidecídua Montana, SP, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v.21, n.3, p. 553-573, 2007.

ZORZANELLI, R. F. **Chuva de sementes de um trecho de floresta estacional semidecidual no sul do Espírito Santo**. Monografia Curso de Engenharia Florestal, Departamento de Ciências Florestais e da Madeira, Universidade Federal do Espírito Santo. 2014.



O impacto da tuberculose bovina na produção animal no estado de Rondônia

Bovine tuberculosis impact on animal production in the state of Rondônia

RESUMO

A tuberculose bovina é uma zoonose infectocontagiosa de controle oficial e faz parte do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT). Causada pelo *Mycobacterium bovis* (MB), agente pertencente ao complexo *Mycobacterium tuberculosis* (MT) que afeta tanto animais domésticos quanto silvestres e, nesse complexo, encontra-se também o agente da tuberculose humana, o *M. tuberculosis* ou Bacilo de Koch, portanto, é possível afirmar que as duas doenças têm relação entre si, uma vez que o ser humano pode adoecer pelo *M. bovis*. Lesões sugestivas de tuberculose bovina são frequentemente encontradas nas linhas de inspeção durante o abate de bovinos nos frigoríficos que possuem Serviço de Inspeção oficial em Rondônia. Em 2009 foi realizado pela IDARON o único inquérito alérgico-epidemiológico para avaliar a prevalência da doença no estado, e, ao comparar os resultados com os testes realizados por médicos veterinários da iniciativa privada, notou-se uma importante diferença. Portanto é imprescindível conhecer a evolução da doença e sua prevalência em determinada população para que ações eficientes sejam tomadas para o controle e possível erradicação da doença.

Palavras-chave: Tuberculose bovina; Produção animal; Saúde única.

ABSTRACT

Bovine tuberculosis is an infectious and contagious zoonosis under official control and is part of the National Program for the Control and Eradication of Brucellosis and Tuberculosis (PNCEBT). Caused by *Mycobacterium bovis* (MB), an agent belonging to the *Mycobacterium tuberculosis* (MT) complex that affects both domestic and wild animals and, in this complex, the agent of human tuberculosis, *M. tuberculosis* or Koch's Bacillus, is also found. It is possible to state that the two diseases are related to each other, since human beings can become ill with *M. bovis*. Lesions suggestive of bovine tuberculosis are frequently found on the inspection lines during the slaughter of cattle by the official Inspection Service in Rondônia. In 2009, IDARON carried out the only allergy-epidemiological survey to assess the prevalence of the disease in the state, and, when comparing the results with tests carried out by private initiative veterinarians, an important difference is noted. Therefore, it is essential to know the evolution of the disease and its prevalence in a given population so that efficient actions are taken for the control and possible eradication of the disease.

Keywords: Bovine tuberculosis; Animal production; Single health.

J. O. Abujamra

<https://orcid.org/0000-0003-0182-2930>
Programa de Mestrado Profissional em Produção Animal, Universidade Brasil, Descalvado, SP, Brasil

R. S. Ambrósio

<https://orcid.org/0000-0002-1799-2945>
Programa de Mestrado Profissional em Produção Animal, Universidade Brasil, Descalvado, SP, Brasil

C. M. B. Orlandi *

<https://orcid.org/0000-0001-7627-9202>
Programa de Mestrado Profissional em Produção Animal, Universidade Brasil, Descalvado, SP, Brasil

*Autor correspondente



1 Introdução

A produção de alimentos tem sido uma importante aliada na geração de renda e, conseqüentemente, no giro da economia brasileira. Destacam-se, nessa produção, as bovinoculturas de corte e leite, já que o Brasil possui o segundo maior rebanho do mundo sendo o maior exportador de carne e figura entre os cinco maiores produtores mundiais de leite.

Segundo IBGE (2021), no último censo agropecuário realizado, Rondônia possuía o sexto maior rebanho brasileiro tendo ao redor de 15.110.301 cabeças, já os dados da declaração de rebanho 2022.1 realizada pelos produtores junto a Agência de Defesa Sanitária Agrosilvopastoril do estado de Rondônia aponta um crescimento no total de reses, atingindo 16.240.416 cabeças divididas em 13.313.752 bovinos de corte e 2.920.543 bovinos de leite além de 6.121 bubalinos. Rondônia é também o sexto maior exportador de carne bovina do Brasil conforme o Caderno Setorial Etene (2022) do Banco do Nordeste e o 11º maior produtor de leite de acordo com IBGE (2021), portanto, há grande relevância da pecuária em relação ao PIB de Rondônia.

Em face do exposto, o conhecimento epidemiológico das enfermidades que influenciam negativamente a produção animal, torna-se essencial para o melhoramento dessa atividade, sendo a tuberculose uma importante doença que causa grandes prejuízos aos produtores, especialmente os de leite. Considerando as três principais características para a produção animal, como genética, nutrição e sanidade, toda e qualquer enfermidade tem um relevante impacto econômico. Devem-se considerar ainda algumas doenças que têm perfil zoonótico e eminente risco à saúde pública.

Além da importância relacionada à saúde pública, a tuberculose bovina tem relevância política, econômica e social, já que alguns países importadores impõem restrições à aquisição de carne originária de propriedades suspeitas ou focos de tuberculose bovina, como é o caso da União Aduaneira (Rússia, Bielorrússia e Cazaquistão).

Programas de controle e erradicação de enfermidades com importância relacionada às descritas acima são desenvolvidos pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), dentre eles há o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose (PNCEBT) em bovinos. O responsável pela implantação e desenvolvimento das atividades relacionadas ao programa nos estados é o órgão de defesa agropecuária estadual, que tem por objetivo prevenir, controlar e erradicar essas doenças, garantindo a sanidade do rebanho e conseqüentemente o aumento da sua produtividade.

Convém dizer que por ser uma zoonose de caráter ocupacional, a tuberculose bovina tem grande importância, visto que essa enfermidade tem acometido muitas pessoas ao redor do mundo e que os diagnósticos positivos não distinguem qual bacilo causou o problema, *Mycobacterium bovis* (MB) ou *Mycobacterium tuberculosis* (MT).



O teste diagnóstico para tuberculose é de grande relevância para o controle da doença, uma vez que é a única alternativa de encontrar bovinos positivos e consequentemente eliminá-los do rebanho, evitando a propagação da doença entre os bovinos, diminuindo assim, as chances de infecção humana, direta, através do contato de profissionais que trabalham com esses animais ou indiretamente, pelo consumo de produtos obtidos dos enfermos.

Portanto, para que as ações determinadas no PNCEBT relacionadas à tuberculose bovina tenham a eficiência desejada, é primordial o saber se há e quais são as divergências entre os inquéritos epidemiológicos e as lesões sugestivas encontradas em frigoríficos e testes diagnósticos realizados a campo da tuberculose bovina no estado de Rondônia.

2 Estado da Arte do Assunto

Histórico

Embora a tuberculose bovina tenha distribuição cosmopolita, ela ocorre especialmente em países em desenvolvimento. Normalmente tem uma evolução crônica com efeito debilitante, ainda que em alguns casos, possa ter caráter agudo e curso rápido (CENTRO PANAMERICANO DE ZOONOSIS, 1988; HAAGSMA, 1995; KANTOR; RITACCO, 1994)

Nos E.U.A., Europa e Canadá houve importante diminuição na incidência da infecção devido à realização do teste diagnóstico através da tuberculina e ao descarte de animais positivos para a tuberculose (JONES et al., 2000).

A tuberculose bovina (TB) aparece como uma das zoonoses mais encontradas nas linhas de inspeção durante o exame *post mortem* nas carcaças bovinas, gerando assim um importante prejuízo para a pecuária, podendo reduzir até 25% da eficiência produtiva. Além disso, acarreta riscos à saúde pública, pois, estima-se que ao redor de 1 a 2% de casos de tuberculose humana nos países desenvolvidos são causados pelo *Mycobacterium bovis* e 10 a 20% nos países subdesenvolvidos (SMANIOTTO et al., 2019).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a tuberculose é a doença infecciosa que mais causa mortes. Conforme estimativa da organização, em 2020, cerca de 9,9 milhões de pessoas adoeceram de tuberculose em todo o mundo e dessas 1,3 milhão morreram.

Em vários países desenvolvidos, devido à aplicação de rigorosas medidas de controle e posterior redução da prevalência da tuberculose bovina e também de infecções em outras espécies pelo *M. bovis*, um decréscimo dos níveis de ocorrência desta patologia foi observado e, portanto, o tema passou a ser considerado de menor importância. Contudo, nos países em desenvolvimento, a infecção



por *M. bovis* ainda exprime um considerável risco para a saúde pública, pois vem sendo observada nos animais domésticos, silvestres e em seres humanos (ROCHA et al., 2012).

A tuberculose bovina leva a importantes perdas econômicas na bovinocultura causando aumento da mortalidade animal, redução de produtividade de carne e leite, além da condenação de carcaças em frigoríficos e restrições nas exportações (ROCHA et al., 2012; FAO; OMS; OIE, 2020).

Etiologia

A tuberculose bovina tem como agente causador a bactéria *Mycobacterium bovis* do gênero *Mycobacterium* e família *Mycobacteriaceae*, classificada como cocobacilar pleomórfica, bacilo Gram positivo, aeróbica estrita, imóvel, não filamentosa, não segmentada e sem cápsula (SILVA; MOURA; REIS, 2011). Considerada também como intracelular obrigatória e de alta concentração lipídica na parede celular com característica de álcool-ácido resistência (RIBEIRO et al., 2017). Demais respectivos gênero e espécies estão citadas no Quadro 1, com seu potencial grau de patogenicidade

Quadro 1 Classificação da patogenicidade das espécies de micobactérias.

Patogênicas				
<i>M. leprae</i>	<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. bovis</i>	<i>M. africanum</i>	<i>M. microti</i>
<i>M. caprae</i>				
Potencialmente patogênicas				
<i>M. avium</i>	<i>M. branderi</i>	<i>M. genavense</i>	<i>M. malmoense</i>	<i>M. simiae</i>
<i>M. avium subsp paratuberculosis</i>	<i>M. celatum</i>	<i>M. haemophilum</i>	<i>M. marinum</i>	<i>M. szulgai</i>
<i>M. abscessus</i>	<i>M. chelonae</i>	<i>M. intracellulare</i>	<i>M. peregrinum</i>	<i>M. ulcerans</i>
<i>M. asiaticum</i>	<i>M. fortuitum</i>	<i>M. kansasii</i>	<i>M. scrofulaceum</i>	<i>M. xenopi</i>
Raramente patogênicas				
<i>M. agri</i>	<i>M. cooki</i>	<i>M. gordonae</i>	<i>M. phlei</i>	<i>M. terrae</i>
<i>M. alchiense</i>	<i>M. diernhoferi</i>	<i>M. hassiacum</i>	<i>M. porcinum</i>	<i>M. thermoresistibile</i>
<i>M. alvei</i>	<i>M. duvalii</i>	<i>M. homossenze</i>	<i>M. pulveris</i>	<i>M. tokaiense</i>
<i>M. brumae</i>	<i>M. fallax</i>	<i>M. lepraemurium</i>	<i>M. rhodesiae</i>	<i>M. triviale</i>
<i>M. austroafricanum</i>	<i>M. farcinogenes</i>	<i>M. mucogenicum</i>	<i>M. senegalense</i>	<i>M. vaccae</i>
<i>M. chitae</i>	<i>M. flavescens</i>	<i>M. nonchromogenicum</i>	<i>M. shimoidei</i>	<i>M. gilvum</i>
<i>M. chubuense</i>	<i>M. gadium</i>	<i>M. neoaurum</i>	<i>M. smegmatis</i>	<i>M. aurum</i>
<i>M. confluentis</i>	<i>M. gastris</i>	<i>M. obuense</i>	<i>M. sphagni</i>	

Fonte: BRASIL, 2008.

Há diferentes espólotipos identificados da *M. bovis* identificados em diversos estudos. Costa et al. (2010), após análise de pulmões e linfonodos mediastínicos de 43 carcaças de bovinos, identificaram os espólotipos SB1055 (mais frequente), SB0268 e SB0120, os quais são encontrados



no Brasil, assim como em outras partes do mundo. Alzamora Filho et al. (2014) analisaram 180 lesões sugestivas encontradas em matadouros-frigoríficos inspecionados e constataram a presença dos espoligotipos SB0121, SB295, SB1055, SB1145, SB1648 e SB140 em 14 isolados.

Esta bactéria possui preferência pela espécie bovina, mas também pode afetar outras espécies como: bubalinos, caprinos e inclusive a humana (SMANIOTTO et al., 2019). Dentre as espécies domésticas, os bovinos e suínos são os principais hospedeiros (ALMEIDA; SOARES; ARAÚJO, 2004).

Epidemiologia

A tuberculose bovina tem distribuição mundial, e nos últimos anos vem aparecendo novamente em rebanhos de vários países, seja por contato direto entre bovinos infectados, bovinos com animais silvestres e até mesmo com o homem. A doença tem importante prevalência em países da África, Ásia, América Latina, México, Reino Unido e República da Irlanda. Já na América do Norte e Europa Continental, mesmo com os esforços para o controle e erradicação, ainda existem casos (PAES et al., 2016).

Apesar de estar presente em todo o mundo, aparece com maior frequência em países onde há sistema de confinamento no período do inverno, já em regiões que trabalham com criação extensiva de bovinos, aparece com menor intensidade (COELHO, 1998).

Mesmo com número elevado de casos, a tuberculose é considerada doença negligenciada, e estima-se que em alguns países 10% dos casos de tuberculose humana são originados de tuberculose bovina (OIE, 2020).

Os bovinos afetados, mesmo antes de desenvolver lesões teciduais, podem disseminar o patógeno, por descarga nasal, leite, fezes, urina, secreções nasal, vaginal, uterina e sêmen (ALMEIDA; SOARES; ARAÚJO, 2004).

Após a criação do PNCEBT em 2000 e adesão dos estados da federação ao programa, estudos epidemiológicos relacionados à Tuberculose vêm sendo realizados no Brasil (IDARON 2022).

Grisi Filho et al. (2011), ao conduzirem estudo estatístico de 587 lesões sugestivas de tuberculose obtidas nas linhas de inspeção em frigoríficos no estado de São Paulo, das quais 253 resultaram em isolamento de *M. bovis*, observaram que os casos de tuberculose bovina no estado de São Paulo estão associados a fêmeas de aptidão leiteira com idade superior a 36 meses, de raças europeias e de propriedades com certo grau de tecnificação. Afirmam ainda que as propriedades foco facilitam a disseminação da doença, pois aparentemente praticam a compra e venda de animais sem o devido teste diagnóstico.



Franco et al. (2012) encontraram 15 diferentes espécies do gênero *Mycobacterium*, incluindo o *M. bovis*, ao investigarem a ocorrência de micobactérias em amostras de leite cru bovino provenientes do comércio informal, tanques de expansão individuais e coletivos no sudoeste do estado de São Paulo.

Em abatedouros com Serviço de Inspeção Federal na região nordeste do estado de São Paulo, Silva et al. (2014) presenciaram a inspeção de 38.172 carcaças bovinas e puderam observar 0,16% de carcaças com lesões caseosas e 0,11% com lesões calcificadas, as quais em sua maioria, encontradas nos pulmões. Relatam ainda que a procedência mais comum de bovinos tuberculosos foi o próprio estado de São Paulo.

No estado do Mato Grosso do Sul, Filho et al. (2017) realizaram um estudo onde visitaram 42 propriedades rurais entre os anos de 2012 e 2013 aplicando questionários aos produtores relacionados ao conhecimento de riscos da ocorrência da tuberculose bovina em humanos. Além de relatarem o pouco conhecimento desses produtores aos fatores de risco da doença, encontraram uma prevalência de focos de 2,38%.

Patogenia

A via respiratória é a forma mais frequente de infecção pelo *M. bovis* que ganham as vias aéreas através de aerossóis contaminados com os bacilos e, por sua vez, são transmitidos por hospedeiros como os ovinos, caprinos e equinos que convivem com bovinos. Uma vez presentes nos pulmões, os bacilos colonizam os alvéolos e são fagocitados por neutrófilos e macrófagos onde se multiplicam até a destruição da célula hospedeira. (COLLINS, 2002; PAES et al., 2016).

Outra vez livres nos alvéolos pulmonares e, após serem fagocitados por macrófagos que são reconhecidos pelos linfócitos T, dá-se o início da resposta imune celular e reação de hipersensibilidade tardia, sintetizando citocinas que estimulam macrófagos induzindo sua modificação em células epitelióides gigantes que envolvem as *M. bovis* formando o granuloma com necrose caseosa (COLLINS, 2002; PAES et al., 2016).

Após a formação do granuloma inicial, os linfonodos mediastínicos podem ser alcançados pelos bacilos que formarão outra lesão granulomatosa gerando o complexo primário. Dependendo da resposta imunológica e de condições de estresse, pode ocorrer generalização precoce da doença, com formação de nódulos em outros órgãos podendo levar o animal a óbito. (COLLINS, 2002; PAES et al., 2016). Porém, apesar da propagação dos bacilos pelo sistema respiratório e seus linfonodos, a doença tem evolução crônica e progressão tardia na maioria dos casos clínicos e aqueles que são



infectados por via oral, desenvolvem a maioria das lesões granulomatosas em linfonodos orofaríngeos, mesentéricos e fígado.

Diagnóstico

Os sinais clínicos da tuberculose nos bovinos podem não ser observados, já que a doença apresenta caráter de evolução crônica, facilitando a transmissão do *M. bovis* aos animais em convivência. Dessa maneira, cerca de 70% dos bovinos podem estar acometidos quando se diagnostica a doença em determinado rebanho (LILENBAUM, 2000).

Os testes realizados a partir da tuberculinização intradérmica são recomendados em rebanhos de todo o mundo, e utilizados para o diagnóstico, controle sanitário e saneamento de focos de tuberculose bovina. No Brasil, o PNCEBT orienta e regra esses métodos indiretos para a detecção da infecção por *M. bovis* em bovinos e bubalinos acima de seis semanas de idade por meio dos testes cervical simples e da prega caudal, sendo permitidos para pecuária de corte quando os animais não tenham finalidade de reprodução.

Já o teste duplo comparativo é utilizado como teste confirmatório em bovinos reagentes aos testes simples, assim como em propriedades onde há ocorrência de reações inespecíficas. Neste sentido, em propriedades certificadas como livres de tuberculose e com criação de bubalinos o teste comparativo é o recomendado (BRASIL 2017; PAES 2016). Ainda assim, existe a possibilidade de ocorrerem situações durante os testes a campo que levam a diminuição da eficiência e consequentes erros no diagnóstico. A baixa sensibilidade do teste da prega caudal pode levar a resultados falsos negativos, ao passo que o teste cervical simples pode levar a resultados falsos positivos por ser, ligeiramente mais sensível, ambos em bovinos recentemente infectados pelo *M. bovis*, portanto, são utilizados como teste de triagem ou rotina. Já o teste cervical comparativo é utilizado como teste confirmatório pois tem altas sensibilidade e especificidade, permitindo que seja feita a diferenciação das espécies de *Micobacterium* que porventura tenham infectado o bovino, especialmente o *M. avium*. Contudo, em condições específicas como: pré ou pós-parto, desnutrição, terapia com anti-inflamatórios esteroidais, doença terminal e testes realizados com intervalos inferiores há sessenta dias, a sensibilidades dos testes é perdida (BRASIL 2017; PAES 2016).

Profilaxia e Controle

A tuberculose bovina é uma doença de notificação e investigação obrigatória quando há um caso confirmado (MAPA, 2013). Há programas com o intuito de erradicar a doença em vários países. Esses programas são fundamentados em testes tuberculínicos e do abate sanitário dos animais



positivos com respectiva indenização aos produtores (ALMEIDA et al., 2017; MEDEIROS et al., 2016).

Para que haja possibilidade de controle da tuberculose bovina deve se considerar os meios de transmissão e a sobrevivência do patógeno no meio ambiente. As propriedades que apresentarem bovinos com testes positivos são consideradas propriedade foco, desse modo, devem ser eliminados do plantel todos os bovinos com resultados positivos ou inconclusivos, além de outros animais de produção infectados. Deve-se realizar, ainda, o manejo sanitário das instalações para promover redução da carga de micobactérias (BRASIL, 2006).

Produtos à base de Fenol orgânico (3%) são os mais indicados para a higienização de baias, estábulos e salas de ordenha, deixando o produto em contato com as superfícies por, pelo menos, duas horas antes da remoção com água, porém, soluções à base de hipoclorito de sódio (5%), formaldeído (3%) e cresol (5%) também podem ser utilizadas. A reforma de pisos e paredes irregulares deve ser considerada, assim como a troca dos cochos de alimentação por aqueles feitos de plástico e de fácil higienização. A boa ventilação e exposição à luz solar nos locais de trabalho também devem ser consideradas (DOMINGUES e LANGONI, 2001; BRASIL, 2006; PAES et al., 2016).

Importância para Saúde Pública

Corrêa e Corrêa (1992) citaram estudos de tuberculose humana de origem bovina, onde mencionavam que 5% a 10% das infecções ocorriam pelo *M. bovis* em países onde não havia rigor no controle da tuberculose bovina e, os principais acometidos eram crianças, devido ao consumo de leite *in natura*. Relataram ainda, que 40 % dos pacientes acometidos pelo bacilo bovino eram do meio rural e apenas 3% a 5% viviam em centros urbanos.

Corrêa e Corrêa (1992); Abrahão et al. (2005) consideram que, da população adulta, a parte mais susceptível são aqueles que trabalham diretamente com bovinos, ou seja, produtores rurais, médicos veterinários, magarefes e outros que trabalham em frigoríficos de abate bovino, além de açougueiros, já que tem contato diário com bovinos, vísceras e carcaças que podem estar contaminadas, consomem o leite vez ou outra sem estar fervido ou pasteurizado ou ainda, frequentem currais e piquetes que podem estar contaminados com fezes, urina e outras secreções do bovino.

Segundo registros de literatura nos últimos 20 anos a relação entre a frequência média de casos de tuberculose zoonótica e o total de casos humanos no mundo, separados por continente, foi: 2,8% na África, 0,3% na América, 0,4% na Europa, 2,2% na região do Mediterrâneo Leste (Egito), e de 0,2% a 2,7% no Pacífico Ocidental (Austrália, Nova Zelândia e regiões da China) (MÜLLER et al., 2013).



Segundo o Ministério da Saúde (2021) em 2020 foram registrados 66.819 casos novos de tuberculose no Brasil, o que corresponde ao coeficiente de incidência de 31,6 casos/100 mil habitantes. Apesar do tratamento levar à cura, as falhas e ausências de continuidade dos mesmos são o principal motivo para a tuberculose ainda continuar fazendo vítimas fatais. Em 2019, foram notificados cerca de 4,5 mil óbitos por tuberculose, tendo um coeficiente de mortalidade de 2,2 óbitos/100 mil habitantes.

O aproveitamento condicional de carcaças bovinas com lesões sugestivas de tuberculose localizada é indicado pelo Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) após o tratamento pelo frio (-10°C por 10 dias), pelo calor (76,6°C por 30 minutos), fusão (121°C), aplicação de calor úmido seguido de resfriamento ou salmoura (24°Be por 21 dias em peças de 3,5 cm de espessura) desde que o frigorífico possua infraestrutura para isso e possua Serviço de Inspeção Federal (SIF) (BRASIL, 2020).

3 Considerações finais

Por ser uma doença silenciosa que traz prejuízos aos produtores e ainda ser uma zoonose ocupacional, a tuberculose merece atenção especial no que tange a produção animal e a saúde única.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHÃO, R. M. C. M.; NOGUEIRA, P. A.; MALUCELLI, M. I. C.; O comercio clandestino de carne e leite no Brasil e o risco da transmissão da tuberculose bovina e de outras doenças ao homem: um problema de saúde pública. *Archives of Veterinary Science*, v. 10, n. 2, p. 1-17, 2005.

ALMEIDA, R. F. C.; SOARES, C. O.; ARAÚJO, F. F. **Brucelose e Tuberculose Bovina: Epidemiologia, controle e diagnóstico**. Embrapa, 2004.

ALZAMORA FILHO, F.; VASCONCELLOS, S. E. G.; GOMES, H. M.; CAVALCANTE,

BRASIL, Ministério da Saúde. **Tuberculose 2021. Boletim Epidemiológico**. Mar. 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº50 de 24 de setembro de 2013**. Regulamento do Serviço de Defesa Sanitária Animal Brasília: MAPA/SDA/DSA, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual nacional de vigilância laboratorial da tuberculose e outras micobactérias**. Brasília-DF, 436p, 2008.

CENTRO PANAMERICANO DE ZOONOSIS. **Manual de normas y procedimientos tecnicos para la bacteriologia de la tuberculosis**. Parte I: La muestra. El exame microscopico Buenos Aires: CEPANZO, 1988. 30p.il. (Notas técnicas, 26/ rev 1).



COELHO, H.E. **Patologia Geral Veterinária**. 1 ed. Uberlândia: Impresso e Editora Ltda, 1998.128p.

COLLINS, M. T. **Encyclopedia of dairy science**. 1 ed. Washington: Academic Press, 2002.

CORRÊA, W. M.; CORRÊA, C. M. **Enfermidades Infeciosas dos mamíferos domésticos**. São Paulo: Varela, 1992. 823p.

COSTA, A. C. F.; SILVA, N. S.; ROCHA, V. C. M.; RODRIGUEZ, C. A. R.; ESTRELA-LIMA, A.; MOREIRA, E. L. T.; MADRUGA, C.; ARRUDA, S. M.; FERREIRA NETO, J. S.; SILVA, M. C. A.; OLIVEIRA, E. M. de D. Tipificação genética, através da técnica de spoligotyping, de isolados de *Mycobacterium bovis* em animais abatidos na região metropolitana de Salvador, Bahia, Brasil. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, n. 2, p. 233-237, abr./jun., 2010.

DOMINGUES, P. F.; LANGONI, H. **Manejo Sanitário Animal**. Rio de Janeiro. EPUB, 2001. 210p.

FAO, OMS, OIE. (2021). **Hoja de ruta contra la tuberculosis zoonótica**. Disponível em <https://theunion.org/sites/default/files/2020-08/Hoja-de-ruta-contra-la-tuberculosis-zoonotica.pdf>. Acesso em: 14 out. 2022.

FILHO, G. L. P.; ALVES, A. J. S.; CARVALHO, L. G.; MARINHO, M.; QUEIROZ, L. H. Ocorrência da brucelose e tuberculose bovina e percepção de riscos no Mato Grosso do Sul, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 84, p. 1-5, 2017.

FRANCO, M. M. J. **Ocorrência de micobactérias em amostras de leite bovino provenientes de tanques de expansão individuais e coletivos de propriedades rurais e do comércio informal na região sudeste do estado de São Paulo**. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2012.

GRISI-FILHO, J. H. H.; ROSALES, C. A. R.; FERREIRA, F.; AMAKU, M.; DIAS, R. A.; FERREIRA NETO, J. S. Análise epidemiológica das condenações de bovinos por tuberculose em abatedouros do estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 78, n. 2, p. 175-181, 2011.

HAAGSMA, J. **Bovine tuberculosis Geneva**: Office International des Épizooties, 1995. 11p. (Manual Amendment 2).

Escritório Técnico de Estudos Econômicos do Nordeste – ETENE. Acesso em: <https://www.bnb.gov.br/etene>

IBGE 2021. **Rebanho de Bovinos (Bois e Vacas)**. Mapa - Bovinos (Bois e Vacas) - Tamanho do rebanho (Cabeças). Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/bovinos/br>

IBGE 2021: **Produção de Leite**. Mapa - Leite - Valor da produção (Mil Reais). Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/leite/br>

IDARON - **Agência de Defesa Sanitária Agrosilvopastoril do Estado de Rondônia**. Disponível em: <http://www.idaron.ro.gov.br/>. Acesso: 22 jun. 2023.

JONES, T.C.; HUNT, R.D.; KING, N.W. **Patologia Veterinária**. 6. ed. Manole.2000.



KANTOR, I.N.; RITACCO, V. Bovine tuberculosis in Latin America and Caribbean: current status, control and eradication programs. **Veterinary Microbiology**, v.40, n.1/2, p.5-14, 1994.

LILENBAUM, W. Atualização em tuberculose bovina. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 22, n. 4, p. 145-151, 2000.

FILHO FA, VASCONCELOS SEG, GOMES HM, CAVALCANTE MP, SUFFYS PN, COSTA JN. Múltiplas estirpes de isolados de Mycobacterium bovis identificados por tipagem molecular em bovinos abatidos em matadouros-frigoríficos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 2, p. 103-108, fev. 2014.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Diagnóstico Situacional do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT)**, Brasília, 2020. Disponível em <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/saude-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/pncebt/DSPNCEBT.pdf> Acesso em: 11 nov. 2022.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa SDA 10, de 3 de Março de 2017. **Regulamento Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT)**, Brasília, 2020. Disponível em <https://www.agricultura.rs.gov.br/upload/arquivos/201709/01101230-pncebt-in-10-2017.pdf>. Acesso em 11 nov. 2022.

MÜLLER, B; DÜRR, S.; ALONSO, S.; HATTENDORF, J.; LAISSE, C. J. M.; PARSONS, S.; HELDEN, P. D.; ZINSSTAG, J. Zoonotic Mycobacterium bovis- Induced Tuberculosis in Humans. **Emerging Infectious Diseases**, v. 19, p. 899-908, 2013.

OMS. WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/354089/WHO-UCN-TB-2022.3-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 14 out. 2022.

PAES, A.C.; FRANCO, M.J. Tuberculose em Animais de Produção. In: Megid, J.; Ribeiro, M.G.; Paes, A.C. **Doenças Infecciosas em Animais de Produção e de Companhia**. 1 ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016, cap. 48, p. 512-542.

RIBEIRO, V. L.; SOUZA, S. O.; CASAGRANDE, R. A.; WOUTERS, A. T. B.; ROLIM, V. M.; SANTOS, E. O.; DRIEMEIER, D. Infecção por Mycobacterium sp. em herbívoros selvagens de cativeiro no Rio Grande do Sul: estudo retrospectivo e detecção imuno-histoquímica (2003-2015). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.37, n. 1, p. 58-65, 2017.

ROCHA, V.C.F.; FIGUEIREDO, S.C.; ELIAS, A.O.; LEÃO, D.A.S.; NETO, J.S.F. Mycobacterium bovis como agente causal da tuberculose humana. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.10, n.2, p. 22-31, 2012.

SILVA, D. A. V.; BÜRQUER, K. P.; MARTINS, A. M. C. V.; PROVIDELLO, A. Identificação de lesões macroscópicas sugestivas de tuberculose bovina. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 8, n. 2, p. 149-160, 2014.

SILVA, M. C.; MOURA, M. S.; REIS, D. O. Tuberculose – revisão de literatura. **PUBVET**, v. 5, n. 17, p. 1106-1111, 2011.



SMANIOTTO, B. D.; ROCA, R. O.; BARBOSA, L. G. B.; FARIAS, I. M. S. C.; BRITO, E. P.; GALLO, C. C.; PONTES, T. C. C.; DELBEM, N. L. C. Bovine tuberculosis: impacts for livestock and risks for public health/tuberculose bovina: impactos para a pecuaria e riscos para a saúde pública/tuberculosis bovina: impactos para el ganado y riesgos para la salud publica. **Veterinaria e Zootecnia**, v. 26, n. SI, p. 45-59, 2019.



Maturação *in vitro* de complexos *cumulus* oócitos caninos e bovinos

Canine and bovine *cumulus* oocyte complex *in vitro* maturation

RESUMO

Maturação oocitária é uma das etapas da produção *in vitro* de embriões (PIVE) nas espécies domésticas, na qual as fêmeas bovinas e caninas são submetidas a diferentes métodos para obtenção de complexos *cumulus* oócitos (CCOs), *in vivo* e ou *in vitro*. Após a aquisição desses CCOs, os mesmos são rastreados e avaliados inicialmente quanto às características morfológicas, podendo ser submetidos à testes mais precisos, principalmente no desenvolvimento de pesquisa. Neste sentido, marcadores de viabilidade no decorrer da maturação e ao término da mesma podem ser utilizados. Esta etapa executada com alto controle de qualidade visa índices de maturação compatíveis e satisfatórios aos processos de fertilização *in vitro* (FIV), os quais consistem no próximo passo para PIVE. A reprodução assistida (RA) nas espécies abordadas apresenta objetivos comuns quanto à maturação oocitária, no entanto, podem ser destinadas a fins diferentes quanto à aplicabilidade das técnicas e preservação do material genético. Nos cães, utilizados como modelo para PIVE de canídeos em extinção, o processo de maturação além de fisiologicamente distinto das demais espécies domésticas, tem um período de 72 horas, o que faz desta espécie um grande desafio nas taxas de maturação oocitária e subsequente PIVE quando comparadas com os bovinos.

Palavras-chave: Cadela; Vaca; Embrião; Ovário; Fertilização.

ABSTRACT

Oocyte maturation is one of the steps for *in vitro* embryo production in domestic species. Canine and feline females are submitted to different methodologies to obtain *Cumulus* Oocyte complex (COCs) *in vivo* and or *in vitro*. After COCs, recovering they are initially evaluated by morphological characteristics, and then submitted to precise tests during research development steps. Viability markers can be set during oocyte maturation and again after ended all process involved. The maturation must be done with maximal quality control, viewing compatible maturation index attending the satisfactory *in vitro* fertilization (IVF) process, which consists in the next step for *in vitro* embryo production. Assisted reproduction techniques (ART) for the referred species presents the same objective as far as maturation issues. However, the end points can be different regards the applicability of those techniques and genetic material preservation. Domestic dogs are used as model for extinction canine species, with a long physiologic process of oocyte maturation (72 hours period) when considering other domestic species. This difference makes the domestic canine oocyte, an enormous challenge as far as oocyte maturation index and subsequent *in vitro* embryo production when compared to cattle.

Keywords: Bitch; Cow; Embryo; Ovary; Fertilization.

J. C. O. S. Petry*

<https://lattes.cnpq.br/8787997389954872>

Embryofiv Laboratório de Fertilização *in vitro* Animal, Vilhena, RO, Brasil

G. H. Crippa

<http://lattes.cnpq.br/8119483052467640>

Universidade Paulista Júlio de Mesquita Filho, Unesp, Jaboticabal, SP, Brasil

W. Boni

<http://lattes.cnpq.br/6691091444614326>

Programa de Mestrado Profissional em Produção Animal, Universidade Brasil, Descalvado, SP, Brasil

L. B. Latorraca

<https://orcid.org/0000-0002-0842-6319>

University College Dublin: Dublin, IE Irlanda

V. L. Scarabel

<http://lattes.cnpq.br/3552185782423793>

Universidade Brasil, Descalvado, SP, Brasil

C. M. B. Orlandi *

<https://orcid.org/0000-0001-7627-9202>

Programa de Mestrado Profissional em Produção Animal, Universidade Brasil, Descalvado, SP, Brasil

*Autor correspondente



1 Introdução

A presente revisão tem como objetivo abordar os aspectos envolvidos na competência dos CCOs das espécies caninas e bovinas, citando fatores determinantes para a eficiência de técnicas de reprodução assistida envolvendo ambas as espécies. Os CCOs possuem características únicas influenciadas pelo ciclo estral, resultando em maior ou menor competência oocitária durante os processos de maturação *in vitro*.

Técnicas desenvolvidas para a obtenção destas estruturas têm sido descritas literatura, envolvendo a abordagem dos ovários (gônadas femininas) e recuperação dos CCOs, inicialmente *in vivo* e *in vitro* na espécie bovina (GONÇALVES et al., 2001).

O uso dos oócitos de espécies domésticas para o entendimento da maturação *in vitro* de gametas contribui para o conhecimento e melhoria das técnicas de reprodução assistida em fêmeas ruminantes (EL-SOKARY et al., 2022; MASTROROCCO et al., 2021), conservação de animais em extinção como as espécies carnívoras, as quais utilizam ovários de fêmeas caninas e felinas domésticas como modelo (YOSHIDA et al., 2022; VIARIS DE LESEGNO, et al., 2008).

No entanto, independente do estágio ou condição reprodutiva dos ovários recuperados para as técnicas assistidas em cães, normalmente, há restrição de oócitos com potencial de desenvolvimento e maturação (RODRIGUES, et al., 2007). Já na espécie bovina, o processamento de ovários obtidos em abatedouro como fonte de recuperação de oócitos (células germinativas) tem sido amplamente utilizado como ferramenta e faz parte das rotinas em laboratório de PIVE (produção *in vitro* de embriões) comerciais e nos centros de pesquisa (GALLEGOS et al., 2022).

Embora os ovários possam ser utilizados como fonte de material biológico, amplamente disponível, uma vez oriundos de abatedouros no caso dos ruminantes e de remoção cirúrgica por meio das castrações (ovário – salpingo histerectomia OSH) de fêmeas caninas domésticas; este material pode sofrer influências de acordo com a raça, idade, nutrição, época do ano e sazonalidade. Tais fatores, sem dúvida, influenciam na competência, maturação oocitária e nos resultados da PIVE.

Inúmeros são os desafios para atingir taxas de maturação oocitária satisfatórias, embora na espécie canina, as dificuldades são ainda maiores, devido à característica natural do processo de maturação *in vivo* nesta espécie, o qual ocorre tardiamente (pelo menos 72 horas) dentro da tuba uterina após a ovulação (PEREIRA et al., 2012).

Ao serem removidos de dentro do folículo ovariano, para posterior processamento, os oócitos sofrem a retomada da meiose de forma espontânea e precoce, ainda que sem os estímulos dos hormônios gonadotróficos (SENGER, 2003).

Assim quando comparada à maturação *in vivo*, o oócito apresenta baixa capacidade de desenvolvimento, que é decorrente da assincronia entre a maturação nuclear e a citoplasmática



(SAKODA, 2018).

Na espécie bovina, o rastreamento e seleção dos CCOs são realizados após obtenção dos mesmos *in vivo*, por meio da punção ovariana com o auxílio de ultrassom (OPU), ou *in vitro* pelos métodos de fatiamento ou aspiração dos folículos ovarianos obtidos em abatedouro (GONÇALVES et al., 2001).

As sessões subsequentes abordarão aspectos únicos de cada espécie, proporcionando ao leitor conhecimento dos pontos críticos, os quais influenciam na competência oocitária das fêmeas caninas e bovinas.

2 Estado da Arte

Maturação *in vitro* dos Complexos *cumulus* oócitos na espécie canina

Estudos conduzidos envolvendo reprodução assistida em canídeos são provenientes de material oriundos de fêmeas em diversos estágios do ciclo estral (OTOI et al., 2001; HOSSEIN et al., 2007), assim como em diferentes condições reprodutivas (RODRIGUES; RODRIGUES 2003). Devido à escassez de material e dificuldade de estudar os processos reprodutivos em carnívoros selvagens e em extinção, o modelo experimental “ovários de fêmeas carnívoras domésticas” tem sido utilizado para o incremento das técnicas de reprodução assistida (COMIZZOLI et al., 2010; PAZ 2013).

A maturação *in vitro*, caracterizada por estabelecimento da meiose é atribuída a vários fatores relacionados às condições *in vivo* das doadoras (caninas) dos CCOs recuperados a partir de abordagens, como videocirurgias experimentais, cirurgias de rotina eletivas ou procedimentos como castrações (YAMADA et al., 1993; LUVONI et al., 2001; KIM et al., 2004).

O aporte de progesterona já presente na fase de estro na cadela e no diestro, com maior predominância, contribui mediando inúmeros eventos fisiológicos para maturação (KIM et al., 2005). A despeito da enorme colaboração e efeito da progesterona, sua queda gradativa durante a longa fase de diestro é acompanhada pela presença de prolactina (PRL), a qual exerce funções mitogênicas e morfogênicas, além de atividade secretória, apresentando funções bimodais, como funções circulatórias e envolvimento de citocinas (BEN-JONATHAN et al., 1996).

Em humanos, a PIVE tem se mostrado eficiente na presença de PRL nos folículos submetidos à aspiração, resultando em sucesso na fertilização e prenhez. Como a fase de diestro na cadela consiste em uma longevidade considerável, similar à gestação, é necessário notar a influência de tal hormônio (PRL) no desenvolvimento oocitário de CCOs obtidos durante esta fase (LAUFER et al., 1984).



Metabolismo, dimensões foliculares e oocitárias na competência dos CCOs de fêmeas caninas

Quanto às dimensões oocitárias, CCOs provenientes de fases do ciclo nas quais há aporte hormonal suficiente para presença de folículos maiores que 2mm (SONGSASEN; WILDT, 2005), com predominância de esteroides como progesterona e estrógeno, e, tais estruturas mostram-se responsivas aos procedimentos *in vitro* chegando à obtenção de embriões na fase de clivagem de 8 células (RODRIGUES et al., 2004; 2007).

Estes achados estão de acordo com os relatos de Songsasen; Wildt (2005), os quais demonstraram maior capacidade de desenvolvimento quando comparados a estruturas provenientes de folículos com antro folicular menores que 1mm.

Outro fator importante seria a capacidade metabólica de tais estruturas como o metabolismo via glicólise (WESSELOWSKI, 2008) e presença natural ou exógena de esteroides, influenciando diretamente na capacidade de maturação de oócitos *in vitro* (KIM et al., 2005).

A presença de folículos poliovulatórios nas cadelas, de certa forma, compoendo uma porcentagem baixa de 14% da população folicular ovariana, dificulta a maturação e desenvolvimento de oócitos oriundos de tais estruturas (MİCLÄUŞ et al., 2007). A mínima possibilidade de ovulação espontânea de tais folículos e a escassez de estudos envolvendo o potencial de desenvolvimento de CCOs oriundos dos mesmos, demonstra apenas a existência deste evento fisiológico embora não justifique as taxas de maturação precárias nesta espécie (WALLNER, 2007).

Oócitos com dimensões inferiores 110µm de diâmetro mostraram fragmentação de DNA antes da maturação (ANGUITA et al., 2006). Desta forma, a idade da cadela, fase de puberdade e dimensões dos CCOs são cruciais para o estabelecimento da reprodução assistida nesta espécie, cujo passo inicial seria a classificação oocitária, baseada na sua origem, como: idade, fase do ciclo estral na fêmea, condições relacionadas às raças e características genéticas.

Sem dúvida, inúmeros fatores envolvendo questões metabólicas, mecanismos oxidativos e outras características como dimensões oocitárias, têm um papel fundamental nas respostas obtidas durante o processo de maturação *in vitro*. Neste sentido, estudos em cadelas demonstraram que a habilidade de maturação de oócitos caninos encontra-se entre dimensões de 61,5µm e 161,5µm (WALLNER, 2007).

Os estágios precoces de dimensões antrais e aqueles provenientes de folículos terciários, os quais contêm oócitos ao redor de 96µm, estão próximos às dimensões ideais atingidas (COMIZZOLI et al., 2010). Assim como nas demais espécies, oócitos >100µm são necessários para estabelecimento da meiose *in vitro*, retomada e completa maturação (HEWITT; ENGLAND, 1998; SRSEN et al., 1998; OTOI et al., 2000; SONGSASEN; WILDT, 2005).



De fato, nem todos os oócitos compatíveis com as características morfológicas são competentes (RODRIGUES; RODRIGUES, 2006), tendo comprometimento molecular e incapacidade de resultar em desenvolvimento embrionário satisfatório.

Questões atribuídas à expressão gênica nas células do *cumulus* e granulosa, assim como funções e disfunções genômicas, trazem explicações para a falta de competência oocitária a despeito da morfologia aparentemente normal em gametas caninos (SIRARD et al., 2007).

Alguns testes mais simples podem elucidar o estágio de maturação, desenvolvimento ou crescimento, assim definindo oócitos obtidos de material *in vivo* ou *in vitro*. Considerando tal possibilidade, tem-se como alternativa o teste *Brilliant cresyl blue* (BCB – azul de Cresil brilhante) (ALM, 2005). O teste é baseado na capacidade da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD), em converter o corante em aparência azul, ao ser absorvido por oócitos competentes, os quais terminaram o processo de crescimento fisiológico ou *in vitro*, resultando em BCB+, exibindo a cor azul, enquanto oócitos que apresentam redução de coloração azul, demonstram estar em crescimento ativo (WU, et al., 2007).

Em síntese, oócitos em crescimento contém G6PD, enquanto oócitos com crescimento finalizado apresentam diminuição de G6PD e não demonstram a coloração. Portanto, oócitos que ainda não completaram seu crescimento são passíveis de desenvolvimento e maturação *in vitro* de forma mais competente, sendo assim mais viáveis para a maturação *in vitro* e programas de reprodução assistida (WU, et al., 2007).

Finalmente, o fator idade é crucial para a competência oocitária na espécie canina, estudos demonstram o efeito da idade e do potencial de maturação de oócitos obtidos de cadelas jovens pré-púberes e deixam claro a menor competência dos mesmos. Tais oócitos são caracterizados por acúmulo de gotas de lipídeos no ooplasma, alto metabolismo energético, baixa síntese proteica e alta atividade transcricional nas células do *cumulus*, assim como deficiência em receptores para hormônios de crescimento (HAENISCH-WOEHL et al., 2003).

Maturação *in vitro* dos Complexos *cumulus* oócitos na espécie bovina

A capacidade de fecundação *in vivo* e desenvolvimento dos oócitos é maior do que a mesma *in vitro* (BLONDIN et al., 2002). Existem fatores que influenciam o crescimento dos oócitos e sua viabilidade, assim como a competência para o desenvolvimento *in vitro*. Tais fatores incluem: o tamanho folicular, pois não respondem adequadamente às condições *in vitro* e folículos com dimensões compatíveis à dominância (LONERGAN et al., 1994).

A morfologia dos CCOs apresenta grande importância na produção embrionária *in vitro*, com influência no processo de maturação. A classificação morfológica utiliza o parâmetro visual da



relação que existe entre a aparência das células do *cumulus* e o citoplasma do oócito (WANG; SUN, 2007).

O oócito pode ter o seu potencial de maturação, fecundação e capacidade de desenvolvimento embrionário estimado pela aparência do CCO. Morfologicamente, os oócitos com maior potencial de viabilidade devem apresentar ooplasma homogêneo, com granulações finas, coloração marrom e completamente envolvidos por várias camadas de células do *cumulus* dispostas de forma compacta (GONÇALVES et al., 2002).

A capacidade de oócitos mamíferos em maturar *in vitro* está correlacionada com a atividade ovariana, o crescimento folicular e a presença ou ausência de células do *cumulus*, as quais formam os CCOs, sendo as mesmas, necessárias para o transporte de energia e a promoção da maturação do oócito bovino. A presença de células do *cumulus* circundando os oócitos parece ser mais importante para a maturação *in vitro* que até mesmo a atividade ovariana ou o tamanho folicular (SATO et al., 1977; FUKUI; SAKUMA, 1980).

As células do *cumulus* apresentam-se em policamadas compactas e, por ocasião da maturação, sob o estímulo dos hormônios LH e FSH entram em processo de expansão, interrompendo as comunicações com o oócito (HYTTEL, 1987, 1988; SZÖLLÖSI, 1991). Essas células, assim como as da granulosa, são essenciais para a nutrição, crescimento, divisão meiótica, maturação citoplasmática e fecundação do oócito (EPPIG, 1980; FUKUI; SAKUMA, 1980).

Nas células somáticas que envolvem o oócito, durante as maturações citoplasmática e nuclear, ocorrem modificações morfológicas específicas. As células do *cumulus* iniciam um arranjo na matriz extracelular, rica em ácido hialurônico, e tal fenômeno é denominado de expansão ou modificação das células do *cumulus* (EPPIG et al., 1982; BUCCIONE et al., 1990). *In vitro*, a expansão das células do *cumulus* é visível a partir das 12 horas de cultivo (SUTOVSKY et al., 1993). A presença considerável de glicosaminoglicanos nas células do *cumulus* impede a ação do estresse oxidativo dos radicais livres sobre os oócitos, evitando a redução na taxa de clivagem (LUVONI et al., 1996) e o choque térmico que bloqueia a síntese de proteínas (EDWARDS; HANSEN, 1997).

Ao final da etapa de maturação, os oócitos precisam ser fecundados para que sejam capazes de se desenvolver até o estágio de blastocisto. Desta forma, deve ser feito o processamento do sêmen realizando-se uma seleção espermática e capacitação espermática. Após a capacitação dos espermatozoides, retira-se da estufa a placa de Petri contendo os ovócitos maturados e depositam-se os espermatozoides, sempre procurando proporcionar um ambiente adequado (GONÇALVES et al., 2002).

Estudos relatam que oócitos recuperados de folículos menores que 6 mm apresentam distribuição irregular de grânulos corticais, sistema defeituoso de exocitose, maiores anormalidades



na fertilização e, portanto, não são capazes de sustentar o desenvolvimento embrionário (CRAN e CHENG, 1986; HYTTEL et al., 1986; SHABANKAREH et al., 2015). No entanto, outros estudos demonstraram a capacidade de expansão das células do *cumulus* aspirados de folículos menores que 6 mm, indicando certo potencial a ser considerado quanto à utilização para FIV (PETRY, 2021; PETRY et al 2020).

Nas avaliações morfológicas dos CCOs, deve-se observar a quantidade e a compactação das células do *cumulus* e a homogeneidade do citoplasma como descrito a seguir. Grau I (GI): os CCOs apresentam citoplasma homogêneo, com granulações finas e múltiplas camadas compactas de células do *cumulus*; Grau II (GII): também apresentam pequenas áreas de pigmentação irregular e *cumulus* compacto; Grau III (GIII): os oócitos apresentam o citoplasma heterogêneo/vacuolizado, com pelo menos três camadas de células do *cumulus* e/ou com pequenas áreas desnudas, e o Grau IV ou Desnudo (GIV): o oócito apresenta citoplasma heterogêneo e pigmentado, com células *cumulus* completamente/parcialmente ausente ou expandido (BLONDIN; SIRARD, 1995; SIRARD et al., 2006).

Considerados os mais competentes para o uso na FIV, os CCOs Grau I apresentam maior taxa de desenvolvimento embrionário pós-fertilização. Em contrapartida os que são menos competentes para a produção *in vitro* de embriões, são os CCOs Grau IV. Os CCOs Grau II e III são também aceitos, embora este último possa ser descartado, dependendo do procedimento e rendimento dos oócitos obtidos. No uso da PIV de embriões bovinos, é recomendado o uso de CCOs Grau I e II (SIRARD et al., 2006). Várias classificações morfológicas têm sido adotadas para selecionar oócitos bovinos, na tentativa de identificar àqueles com maior potencial. De acordo com Leibfried; First (1979), os oócitos podem ser classificados em escala de 1 a 4, considerando as características do *cumulus* e do citoplasma do oócito (ooplasma). A classificação dos autores encontra-se na Tabela 1.

Tabela 1 - Classificação morfológica dos complexos *cumulus* oócitos bovinos.

Oócitos	Descrição
Grau 1	<i>Cumulus</i> compacto presente, contendo mais de três camadas de células, ooplasma com granulações finas e homogêneas, preenchendo o interior da zona pelúcida e de coloração marrom;
Grau 2	<i>Cumulus</i> compacto parcialmente presente em volta do oócito ou rodeando completamente o oócito, com menos de três camadas celulares, ooplasma com granulações distribuídas heterogeneamente, podendo estar mais concentradas no centro e mais claras na periferia ou condensadas em um só local aparentando uma mancha escura, preenchendo o espaço do interior da zona pelúcida;
Grau 3	Espaço entre a membrana celular e a zona pelúcida, preenchendo irregularmente o espaço perivitelino, degenerado, vacuolizado ou fragmentado;
Grau 4	Oócito desnudo ou sem <i>cumulus</i> .



Fonte: Modificado de Leibfried; First (1979).

Outras classificações quanto à morfologia e qualidade dos oócitos foram descritas (LOOS et al, 1991 & TETZNER, 2007) e encontram-se na Tabela 2, a seguir.

Tabela 2 - Classificação do grau de qualidade de acordo com as características dos complexos *cumulus* oócito.

Oócitos	Descrição
Grau I	Revestimento com multicamadas de <i>cumulus</i> compacto, ooplasma homogêneo e complexo <i>cumulus</i> -oócito claro e transparente;
Grau II	Revestimento com 3 a 5 camadas de <i>cumulus</i> compacto, ooplasma homogêneo ou com regiões escuras na periferia;
Grau III	Pouco revestimento de células do <i>cumulus</i> (1 a 3 camadas) e ooplasma irregular com picnose
Grau IV	Ou atrésico: <i>cumulus</i> expandido com células escuras e em grumos, e complexo <i>cumulus</i> -oocitário escuro e irregular
Desnudo	Sem camadas do <i>cumulus</i> e com ooplasma uniforme ou com granulações

Fonte: Modificado de Loos et al. (1991); Tetzner (2007)

O oócito passa por uma série de mudanças nucleares e citoplasmáticas concomitantes ao seu crescimento, durante o período que compreende o início do pico de LH e a ovulação, o que influenciam diretamente na maturação (VAN DEN HURK, 2012).

Os oócitos selecionados devem apresentar competência para sustentar o processo de desenvolvimento embrionário (BREVINI; GANDOLFI, 2001), sendo tal competência meiótica, adquirida durante a foliculogênese, coincidindo com a formação do antro (SÁNCHEZ; SMITZ, 2012).

A competência meiótica está relacionada ao tamanho do oócito, o qual também está relacionado com o tamanho folicular. Para completarem a maturação nuclear até o estágio de metáfase II, os oócitos bovinos precisam ter diâmetro de 110µm (ARMSTRONG, 2001; BLANCO et al., 2011).

A pré-maturação e maturação oocitária envolvem eventos que ocorrem desde o estágio de vesícula germinativa até o término da segunda divisão meiótica, com formação do segundo corpúsculo polar (BLANCO et al., 2011).

Diferente da maturação *in vivo*, os oócitos que são maturados *in vitro* geralmente apresentam o metabolismo alterado, com um reduzido potencial de desenvolvimento, sendo afetado pelos seguintes fatores: deficiências dos meios de maturação, a habilidade intrínseca do oócito, ou ambos, sendo a disponibilidade de nutrientes e enzimas mediados por sistema de homeostase. A regulação da (KRISHER, 2004). Portanto, a seleção dos oócitos para a maturação *in vitro* é importante,

considerando a classificação morfológica e critério para a seleção durante o processo de rastreamento (GONÇALVES et al., 2001).

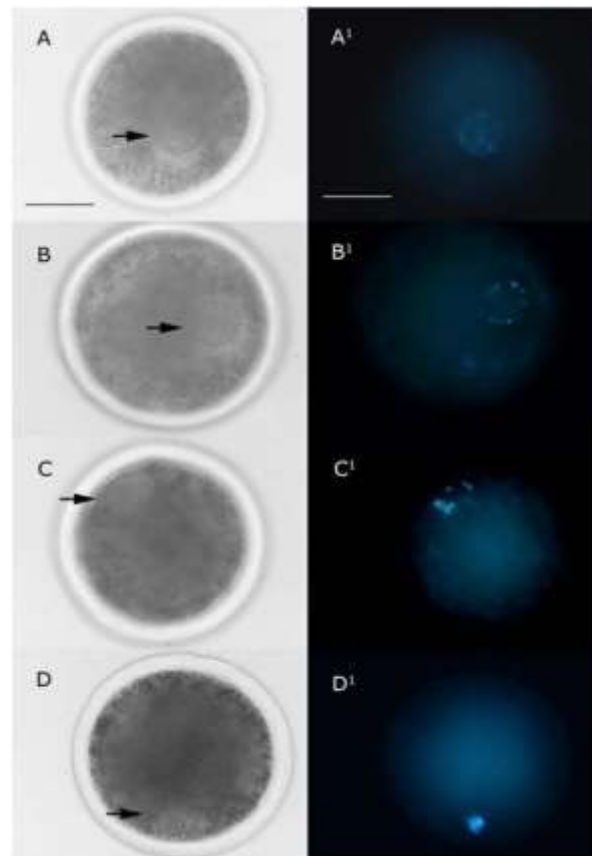
Os oócitos bovinos coletados a partir de folículos antrais médios apresentam quatro padrões de configuração de cromatina na vesícula germinativa, de VG0 a VG3, caracterizada pelo aumento progressivo da condensação, silenciamento transcricional, metilação global do DNA e acetilação progressiva de histona H4.

Dessa forma, o estágio VG0 mostra um padrão filamentosamente difuso de cromatina em toda a área nuclear; o VG1 e o VG2 representam estágios iniciais e intermediários, respectivamente, da remodelação da cromatina, iniciando o aparecimento de poucos focos de condensação em VG1 e prosseguindo com a formação de aglomerados distintos de cromatina condensada em VG2. O VG3 é o estágio no qual o mais alto nível de condensação é alcançado, com a cromatina organizada em um aglomerado único (Figura 1) (LUCIANO et al., 2014).

Baseando-se nas classificações e remodelações, tem-se que os estágios VG2 e VG3 apresentam maior competência para o desenvolvimento, devido à maior carga de transcritos adquiridos durante a maturação nuclear (SAKODA, 2018).

O conhecimento da dinâmica de evolução das fases de vesícula germinativa mediante os intervalos necessários para o processamento dos CCOs e coleta de folículos dos ovários é essencial para o adequado desempenho das técnicas *in vitro*. Tais CCOs podem sofrer perdas de capacidade de desenvolvimento no decorrer do processamento, mesmo a despeito da continuidade de estímulos hormonais durante a próxima fase de maturação.

Figura 1 - Imagens de microscopia de luz e de fluorescência após a marcação de oócitos bovinos com sonda Hoechst 33342.



Fases de vesícula germinativa: VG0 (A, A¹), VG1 (B, B¹), VG2 (C, C¹) e VG3 (D, D¹). Setas indicam o envelope nuclear. Barra de escala: 50 μ m. Fonte: modificado de Luciano et al. (2014).

Mecanismos relacionados à deficiência em transporte de glicose e tradução proteica ineficiente foram sugeridos a partir de estudos envolvendo maturação de oócitos provenientes de fêmeas bovinas pré-púberes (WRENZYCKI et al., 2007).

Quanto a influência de genes H2A, FSHR e GHR na competência oocitária durante a maturação, o tamanho folicular foi associado especificamente ao gene H2A e a histona. Os oócitos recuperados de folículos maiores que 6 mm apresentaram níveis mais baixos de H2A transcritos e histonas específicas de oócitos. Portanto, competência de desenvolvimento de oócitos foram comprometidas (CAIXETA et al., 2009) e apresentam atraso no desenvolvimento celular nos estágios de embriões (LEQUARRE et al., 2005).

Os oócitos recuperados a partir de folículos maiores ou iguais a 6 mm, os folículos apresentaram melhores resultados em termos de qualidade e competência de desenvolvimento *in vitro* (PAVLOK et al., 1992; LONERGAN et al., 1994). As variações nas dimensões foliculares levam às diferentes respostas *in vitro* quanto a competências de maturação e desenvolvimento (HENDRIKSEN et al., 2000). Assim, o tamanho dos folículos dos quais os oócitos são recuperados é um fator chave na PIVE (PAVLOK et al., 1992; LONERGAN et al., 1994; CROZET et al., 1995; CAIXETA et al., 2009).



Acredita-se que o mecanismo pelo qual o rendimento de blastocisto é menor em oócitos maturados submetidos à PIVE e provenientes de folículos pequenos, seria pelo atraso na cavitação embrionária e nos estágios de crescimento, os quais mostram-se retardados dentro do ciclo celular (LEQUARRE et al., 2005).

Outros autores elucidaram mecanismos relacionados às ondas de crescimento folicular, as quais possuem fases distintas (recrutamento, divergência e dominância), sendo a fase de recrutamento e possivelmente o final da fase de regressão de folículos dominantes que não ovulam, correspondentes à presença de folículos maiores que 3mm (GINTHER et al., 2000).

Ainda seguindo esta linha de raciocínio, durante o diestro, com a presença do CL, a progesterona predomina em relação ao estrógeno, o qual é fundamental para os fatores que sinalizam o início da maturação (COUTINHO et al., 2007).

Neste caso, a relação estrógeno: progesterona influencia no processo de regressão e atresia folicular, podendo agir negativamente na maturação, estando esses folículos menores (folículos < 3 mm) quando aspirados, já em processo de atresia e programados para a morte celular, caracterizada por apoptose (COUTINHO et al., 2007).

3 Considerações finais

As espécies caninas e bovinas são amplamente utilizadas no que diz respeito às técnicas de reprodução assistida, seja para fins de produção em escala ou como modelo para preservação de material genético em caso de canídeos em extinção. Portanto, as informações presentes nesta revisão podem auxiliar nas rotinas laboratoriais com o uso de ovários de abatedouro ou mesmo adquiridos *in vivo* em ambas as espécies.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALM, H.; TORNER H.; LOHRKE, B.; VIERGUTZ, T.; GHONEIMB, I.M.; KANITZ, W. Bovine blastocyst development rate *in vitro* is influenced by selection of oocytes by brilliant cresyl blue staining before IVM as indicator for glucose-6-phosphate dehydrogenase activity. **Theriogenology**, v. 63, n. 8, p. 2194-2205, 2005.

ANGUITA, B.; VANDAELE, L.; MATEUSEN, B.; MAES, D.; SOOM, A.V. Developmental competence of bovine oocytes is not related to apoptosis incidence in oocytes, cumulus cells and blastocysts. **Theriogenology**, v. 67, n.3, p. 537-549, 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X06004882?via%3Dihub>. Acesso em: 3 out. 2021. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2006.09.004.

ARMSTRONG, D. T. Effect of maternal age on oocyte developmental competence. **Theriogenology**, v.55, n. 6, p.1303-1322, 2001.



- BEN-JONATHAN, N.; MERSHON, J.L.; ALLEN, D.L.; STEINMETZ, R.W. Extrapituitary prolactin: distribution, regulation, functions, and clinical aspects. **Endocrine Reviews**, v. 17, n.6, p. 639-669, 1996. Disponível em: <https://academic.oup.com/edrv/article/17/6/639/2195005>. Acesso em: 29 set. 2021. DOI: 10.1210/edrv-17-6-639
- BLANCO, M. R.; DEMYDA, S.; MORENO MILLÁN, M.; GENERO, E. Developmental competence of in vivo and in vitro matured oocytes: A review. **Biotechnology and Molecular Biology Review**, v.6, n.7, p.155-165, 2011. Disponível em: <https://academicjournals.org/journal/BMBR/article-full-text-pdf/F83296011816.pdf> . Acesso em: 20 jul. 2017.
- BLONDIN, P.; BOUSQUET, D.; TWAGIRAMUNGO, H. et al. Manipulation of follicular development to produce developmentally competent bovine oocytes. **Biology of Reproduction**, v. 66, p.38-43, 2002.
- BLONDIN, P.; SIRARD, M. A. Oocyte and follicular morphology as determining characteristics for developmental competence in bovine oocytes. **Molecular reproduction and development**, v.41, n.1, p. 54-62, 1995. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/mrd.1080410109>. Acesso em: 15 jul. 2017.
- CAIXETA, E.S.; RIPAMONTE, P.; FRANCO, M.M.; JUNIOR, J.B.; DODE MAN. Effect of follicle size on mRNA expression in cumulus cells and oocytes of *Bos indicus*: an approach to identify marker genes for developmental. competence. **Reproduction Fertility and Development**. 2009;21(5):655-64. <http://dx.doi.org/10.1071/RD08201>. PMID:19486602.
- CARVALHO J. B. P.; CARVALHO, N. A. T.; REIS, E. L. et al. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus x Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. *Theriogenology*. v. 69, p. 167–175, 2008.
- CHACUR, M.G.M.; VALENTIM, N.C.; MARTINEZ, A.I.S. et al. Morfometria de ovários de fêmeas zebu *Bos taurus indicus* coletados em matadouro. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34, n.1, p.65-70, 2006.
- COMIZZOLI, P.; SONGSASEN, N.; WILDT, D.E. Protecting and extending fertility for females of wild and endangered mammals. **Cancer Treatment and Research**, v. 156, p. 87-100, 2010. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3086462/>. Acesso em: 11 set. 2021. DOI:10.1007/978-1-4419-6518-9_7
- COUTINHO, G.T.R.M.; VIANA, J.H.M.; SÁ, W.F. et al. Avaliação ultrassonográfica da dinâmica folicular e lútea em vacas da raça Guzará. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.5, p.1089-1096, 2007.
- CRAN, D.; CHENG, W.T.K. The cortical reaction in pig oocytes during in vivo and in vitro fertilization. **Gamete Research**. 1986;13(3):241-51. <http://dx.doi.org/10.1002/mrd.1120130307>.
- CROZET N, AHMED-ALI, M.; DUBOS, M. Developmental competence of goat oocytes from follicles of different size categories following maturation, fertilization and culture in vitro. **Journal of Reproduction and Fertility** 1995;103(2):293- 8. <http://dx.doi.org/10.1530/jrf.0.1030293>. PMID:7616502



- DAEN, F.P.; SATO, E.; NAITO, K.; TOYODA, Y. The effect of pig follicular fluid fractions on cumulus expansion and male pro nucleus formation in porcine oocytes matured and fertilized in vitro. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.101, p.667–673, 1994.
- EDWARDS, J. L.; HANSEN, P. J. Differential responses of bovine oocytes and preimplantation to heat shock. **Molecular Reproduction and Development**, v.46, p.138-145, 1997.
- EL-SOKARY, M.M.M.; SHEHATA, S.F.; MAHMOUD, K.G.M. Heparin and Progesterone Exert Synergistic Effects to Improve the In-Vitro Fertilization Rate of Bovine Sperm Bound to Oviduct Cell Aggregates from the Isthmus. **Veterinary Sciences**. 2022, 9, 372. <https://doi.org/10.3390/vetsci9070372>.
- EPPIG, J. J. Regulation of cumulus oophorus expansion by gonadotropins *in vivo* and *in vitro*. **Biology of Reproduction**, v.23, p.545-552, 1982.
- ERICKSON, B.H. 1966. Desenvolvimento e senescência do ovário bovino pós-natal. **Journal of Animal Science**, 25:800-805.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA). Scientific opinion. Statement on the use of animal-based parameters to assess the welfare of animals. **European food safety authority FSA Journal**, v.10, p.2767, 2012. [8]. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria.html> . Acesso em: 24 abr.2020
- EVANS, A.C.O.; ADAMS, G.P.; RAWLINGS, N.C. O desenvolvimento folicular e a terapia hormonal em novilhas a partir de 2 a 36 semanas de idade. **Journal of Reproduction and Fertility**.1994.
- FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**.São Paulo: Varela Editora e Livaria Ltda. p. 195-226, 2001.
- GALLEGOS, F.; MANCHENO, A.; MENA, L.; MURILLO, A. Bovine in vitro Embryo Production: State of the Art. **ESPOCH Congresses: The Ecuadorian Journal of S.T.E.A.M.**, v.2, n.1, p.172–185, 2022. DOI 10.18502/epoch.v2i2.11192
- GINTHER, J.O.; WILTBANK, M.C.; FRICKE, P.M.; GIBBONS, J.R.; KOT, K. A seleção do folículo dominante em bovinos. **Biology of Reproduction**, v.55, 2005.
- GONÇALVES, P. B. D.; VISINTIN, J. A.; OLIVEIRA, M. A. L.; MONTAGNER, M.M.; COSTA, L. F. S. Produção in vitro de Embriões. In: GONÇALVES, P. B. D.; GONÇALVES, B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas aplicadas à Reprodução Animal**. São Paulo: Varela, 2002. p. 195-226.
- HAENISCH-WOEHL, A.; KÖLLE, S.; NEUMÜLLER, C.; SINOWATZ, F.; BRAUN, J.; Morphology of Canine Cumulus–Oocyte Complexes in Pre-pubertal Bitches. **Anatomia Histologia Embryologia**, v. 32, n.6, p. 373-377, 2003. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.0340-2096.2003.00514.x>. Acesso em: 2 out. 2021. DOI: 10.1046/j.0340-2096.2003.00514.x
- HENDRIKSEN, P.; VOS, P.; STEENWEG, W.; BEVERS, M.; DIELEMAN, S. Bovine follicular development and its effect on the in vitro competence of oocytes. **Theriogenology**. 2000, v.53, n.1, p.11-20. [http://dx.doi.org/10.1016/S0093-691X\(99\)00236-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0093-691X(99)00236-8). PMID:10735058.



HEWITT, D.A.; ENGLAND, G.C.W. The canine oocyte penetration assay; its use as an indicator of dog spermatozoal performance *in vitro*. **Animal Reproduction Science**, v. 50, p.123-139, 1998. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378432097000833?via%3Dihub>. Acesso em: 4 out. 2021. DOI: 10.1016/s0378-4320(97)00083-3

HOSSEIN, M.S.; KIM, M.K.; JANG, G.; OH, H.J.; KOO, O.; KIM, J.J.; KANG, S.K.; LEE, B.C.; HWANG, W.S. Effects of thiol compounds on *in vitro* maturation of canine oocytes collected from different reproductive stages. **Molecular Reproduction and Development**, v. 74, n.9, p. 1213-1220, 2007. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mrd.20674>. Acesso em: 2 out. 2021. DOI: 10.1002/mrd.20674

HYTTEL, P.; FAIR, T.; CALLESEN H.; GREVE T. Oocyte growth, capacitation and final maturation in cattle. **Theriogenology**, v.47, p.23-32, 1997.

KIM, M. K.; FIBRIANTO, Y. H.; OH, H. J.; JANG, G.; KIM, H. J.; LEE, K. S.; KANG, S. K.; LEE, B. C.; HWANG, W. S. Effects of estradiol-17beta and progesterone supplementation on *in vitro* nuclear maturation of canine oocytes. **Theriogenology**, v. 63, n.5, p. 1342-1353, 2005.

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X04002390?via%3Dihub>. Acesso em: 24 set. 2021. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2004.07.019

KIM, M.K.; FIBRIANTO, Y.H.; OH, H.J.; JANG, G.; KIM, H.J.; LEE, K.S.; KANG, S.K.; LEE, B.C.; HWANG, W.S. Effect of B-mercaptoethanol or epidermal growth factor supplementation on *in vitro* maturation of canine oocytes collected from dogs with different stages of the estrus cycle. **Journal of Veterinary Science**, v. 5, n.3, p. 253-258, 2004. Disponível em:

<https://vetsci.org/DOIx.php?id=10.4142/jvs.2004.5.3.253>. Acesso em: 24 set. 2021.

DOI:10.4142/jvs.2004.5.3.253.

LAUFER, N.; BOTERO-RUIZ, W.; DECHERNEY, A.H.; HASELTINE, F.; POLAN, M.L.; BEHRMAN, H.R. Gonadotropin, and prolactin levels in follicular fluid of human ova successfully fertilized *in vitro*. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 58, n.3, p. 430-434, 1984. Disponível em: <https://academic.oup.com/jcem/article-abstract/58/3/430/2675570?redirectedFrom=fulltext>. Acesso em: 24 set. 2021. DOI: 10.1210/jcem-58-3-430

LEIBFRIED, L.; FIRST, N. L. Characterization of bovine follicular oocytes and their ability to mature *in vitro*. **Journal of Animal Science**, v. 48, p. 76-86, 1979.

LEQUARRE, A.S.; VIGNERON, C.; RIBAUCCOUR, F.; HOLM, P.; DONNAY, I.; DALBIÈS-TRAN, R.; CALLESEN, H.; MERMILLOD, P. Influence of antral follicle size on oocyte characteristics and embryo development in the bovine. **Theriogenology**, n.63, v.3, p.841-59. 2005; <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.05.015>. PMID:15629802

LONERGAN P, MONAGHAN, P.; RIZOS, D.; BOLAND, M.; GORDON, I. Effect of follicle size on bovine oocyte quality and developmental competence following maturation, fertilization, and culture *in vitro*. **Mol Reprod Dev.**, v.37, n.1, p.48-53, 1994.

<http://dx.doi.org/10.1002/mrd.1080370107>. PMID:8129930

LUCIANO, A.M.; F. FRANCIOSI; C. DIECI, I; TESSARO, L; TERZAGHI, S.C.; MODINA, V. LODDE. Large-scale chromatin structure and function changes during oogenesis: the interplay



between oocyte and companion cumulus cells. **Animal Reproduction**, v.11, n.3, p.141-149, Jul./Sept. 2014.

LUVONI, G.C.; LUCIANO, A.M.; MODINA, S.; GANDOLFI, F. Influence of different stages of the oestrous cycle on cumulus-oocyte communications in canine oocytes: effects on the efficiency of *in vitro* maturation. **Journal of Reproduction and Fertility**. Supplement, v. 57, p. 141-146, 2001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11787141/>. Acesso em: 23 set. 2021.

MASTROROCCO, A.; CACOPARDO, L.; LAMANNA, D.; TEMERARIO, L.; BRUNETTI, G.; CARLUCCIO, A.; ROBBE, D.; DELL'AQUILA, M.E. Bioengineering Approaches to Improve In Vitro Performance of Prepubertal Lamb Oocytes. **Cells**, v.10, p.1458, 2021. <https://doi.org/10.3390/cells10061458>

MICLĂUȘ, V.; GROZA, I.; OANA, L. Domestic cat (*Felis catus*) polyovular follicles. Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. **Veterinary Medicine**, v. 64, n.1-2, p. 473-478, 2007. Disponível em: <http://journals.usamvcluj.ro/index.php/veterinary/article/view/2476/2297>. Acesso em: 3 out. 2021.

OTOI, T.; OOKA, A.; MURAKAMI, M.; KARJA, N.W.; SUZUKI, T. Size distribution and meiotic competence of oocytes obtained from bitch ovaries at various stages of the oestrous cycle. **Reproduction, Fertility, and Development**, v. 13, n.2-3, p. 151-155, 2001. Disponível em: <https://www.publish.csiro.au/rd/RD00098>. Acesso em: 2 out. 2021. DOI: 10.1071/rd00098

PAVLOK et al., 1992; LONERGAN et al., 1994). PAVLOCK A, Lucans H, Niemann H. Fertilization and developmental competence of bovine oocytes derived from different categories of antral follicles. **Molecular Reproduction and Development**, v.31, p.63-67, 1992.

PAZ, R.C.R. **Reprodução de Felinos Domésticos e Selvagens**. Cuiabá: Ed. UFMT, 2013.

PEREIRA, L.M.C.; BICUDO, S.D.; LOPES, M.D. Oocyte maturation in bitches. **Animal Reproduction**, v.9, n.3, p.205-209, 2012.

PETRY JC.O.S. **Expansão das células do cumulus e Produção in vitro de embriões em vacas das raças Nelore e Greyman**. Dissertação (Programa de mestrado *stricto sensu* profissional em Produção Animal). 2021. F 91, Universidade Brasil, Descalvado, SP. 2021.

PETRY, JC.O.S; BONI, W.; BIONDO, T.F.; PETRY, I.; ORLANDI, C.M.B.O. Expansão das células do cumulus de oócitos bovinos em folículos com diferentes dimensões na ausência ou presença de corpo lúteo. In: **I CONTECBRASIL – Congresso acadêmico e tecnológico da Universidade Brasil**, VII Encontro de Pós-graduação, 4 a 5 de dezembro de 2020, São Paulo.

RODRIGUES, B.A.; DOS SANTOS, L.C.; RODRIGUES, J.L. Effect of maturation medium on *in vitro* cleavage of canine oocytes fertilized with fresh and cooled homologous semen. **Zygote**, v. 15, p. 43-53, 2007. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/journals/zygote/article/abs/effect-of-maturation-medium-on-in-vitro-cleavage-of-canine-oocytes-fertilized-with-fresh-and-cooled-homologous-semen/7B5859658460CE764CA14D0BD7EEADF5>. Acesso em: 12 set. 2021. DOI: 10.1017/S0967199406003960.

RODRIGUES, B.A.; DOS SANTOS, L.C.; RODRIGUES, J.L. Embryonic development of *in vitro* matured and *in vitro* fertilized dog oocytes. **Molecular Reproduction and Development**, v. 67, n.2, p. 215-223, 2004. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mrd.10394>. Acesso em: 12 set. 2021. DOI: 10.1002/mrd.10394



RODRIGUES, B.A.; RODRIGUES, J.L. Influence of reproductive status on *in vitro* oocyte maturation in dogs. **Theriogenology**, v. 60, n.1, p. 59-66, 2003. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X02013018?via%3Dihub>. Acesso em: 12 set. 2021. DOI:10.1016/s0093-691x(02)01301-8

RODRIGUES, B.A.; RODRIGUES, J.L. Responses of canine oocytes to *in vitro* maturation and *in vitro* fertilization outcome. **Theriogenology**, v. 66, n.6-7, p. 1667-1672, 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X06001130?via%3Dihub>. Acesso em: 12 set. 2021. DOI:10.1016/j.theriogenology.2006.02.017

SAKODA, J. N. **Characterization and control of the oocyte population in Nelore cattle based on chromatin configuration**. 2018. Dissertação - Biotecnologia Animal. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) – Botucatu, SP. 2018. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/165182>, Acesso em: 20 fev.2021.

SATO, A. SARENTONGLAGA, B.; OGATA, K.; YAMAGUCHI, M.; HARA, A.; ATCHALALT, K.; SUGANE, N.; FUKUMORI, R.; NAGAO, Y. Effects of insulin-like growth factor-1 on the *in vitro* maturation of canine oocytes. **Journal of Reproduction and Development**, v. 64, n. 1, p. 83-88, 2018. Disponível em: https://www.jstage.jst.go.jp/article/jrd/64/1/64_2017-145/_article. Acesso em 2 out. 2021. DOI: 10.1262/jrd.2017-145

SIRARD, M.A.; DESROSIER, S.; ASSIDI, M. *In vivo* and *in vitro* effects of FSH on oocyte maturation and developmental competence. **Theriogenology**. Supplement, v. 68, n.1, p. 71-76, 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X07002762?via%3Dihub>. Acesso em: 2 out. 2021. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2007.05.053

SONGSASEN, N.; WILDT, D.E. Oocyte biology and challenges in developing *in vitro* maturation systems in the domestic dog. **Animal Reproduction Science**, v. 98, n.1-2, p. 2-22, 2007. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1868673/#>. Acesso em 11 set. 2021. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2006.10.004

SONGSASEN, N.; WILDT, D.E. Size of the donor follicle, but not stage of reproductive cycle or seasonality, influences meiotic competency of selected domestic dog oocytes. **Molecular Reproduction and Development**, v. 72, n.1, p. 113-119, 2005. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mrd.20330>. Acesso em 11 set. 2021. DOI:10.1002/mrd.20330

TAKUMI YOSHIDA, M.D.; EMTIAJ, A.; KEISUKE, H.; YASUNORI, T.; MASAYA, T.; RYOJI, K.; TOSHIO, I.; KIKUYA, S.; SHINGO, H. Effects of the preservation medium and storage duration of domestic cat ovaries on the maturational and developmental competence of oocytes *in vitro*. **Journal of Reproduction and Development**, v. 68, n. 2, 2022.

VAN DEN HURK, R.; ZHAO, J.; Formation of mammalian oocytes and their growth, differentiation and maturation within ovarian follicles. **Theriogenology**, v.63, p.1717- 1751, 2005.

WALLNER, S.E. **Untersuchungen zur Oozytenreifung beim Hund**. 2007. Thesis Munich, Germany: Tierärztlichen Fakultät der Ludwig Maximilians Universität. 2007. Disponível em: https://edoc.ub.uni-muenchen.de/7323/1/Wallner_Sandra_Elisabeth.pdf. Acesso em: 4 out. 2021.

WANG, Q.; SUN, Q.Y. Evaluation of oocyte quality: morphological, cellular and molecular predictors. **Reproduction Fertility and Development**, v.19, p.1-12, 2007.



WESSELOWSKI, S. **Metabolic analysis of glucose, pyruvate and glutamine in dog oocytes collected from different sized follicles and matured *in vitro***. 2008. Thesis (Master of Science in Veterinary Medicine) – Kansas State University, Manhattan, Kansas, 2008. Disponível em: <https://core.ac.uk/download/pdf/5164837.pdf>. Acesso em: 4 out. 2021.

WRENZYCKI, C.; HERRMANN, D.; NIEMAN, H. Messenger RNA in oocytes and embryos in relation to embryo viability. **Theriogenology**. Supplement, v. 68, p. 77-83, 2007. Disponível em: Acesso em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X07001756?via%3Dihub>. 24 set. 2021. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2007.04.028

WU, Y.G.; LIU, Y.; ZHOU, P.; LAN, G.C.; HAN, D.; MIAO, D.Q., TAN, J.H. Selection of oocytes for *in vitro* maturation by brilliant cresyl blue staining: a study using the mouse model. **Cell Research**, v. 17, p. 722-731, 2007. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/cr200766#citeas>. Acesso em: 2 out. 2021.



Germinação de sementes de *Urochloa* híbrida cv. Mulato II sob diferentes doses de bioestimulante

Seed germination of hybrid *Urochloa* cv. Mulatto II under different doses of biostimulant

RESUMO

Os hormônios vegetais controlam os diversos processos do desenvolvimento vegetal. A aplicação, tanto de bioreguladores quanto de bioestimulantes tem sido utilizada com a finalidade de incrementar a produtividade de culturas. Com o objetivo de avaliar o efeito sobre a germinação de sementes incrustadas e não incrustadas do capim Mulato II (Convert HD364), um bioestimulante líquido contendo ácido giberélico, cinetina e ácido indolbutírico, foi aplicado em concentrações crescentes, via tratamento de sementes. O experimento foi conduzido em condições controladas em estufa de germinação. O teste foi realizado em gerbox, e em cada unidade experimental foram colocadas 50 sementes puras, incrustadas ou sem incrustamento. De acordo com os resultados obtidos, com a aplicação do bioestimulante não houve diferença significativa no vigor de germinação das sementes. Foi possível verificar que, independentemente da dose aplicada, as sementes que receberam o revestimento apresentaram velocidade de emergência inferior em detrimento as que não receberam o revestimento. Concluiu-se que a eficiência do uso do bioestimulante é dependente de fatores intrínsecos à semente, como por exemplo a incrustação.

Palavras-chave: Biorregulador vegetal; Convert; Hormônio vegetal; Semente incrustada

ABSTRACT

Plant hormones control the various processes of plant development. The application of both bioregulators and biostimulants has been used with the aim of increasing crop productivity. With the objective of evaluating the effect on the germination of encrusted and non-encrusted seeds of Mulato II grass (Convert HD364), a liquid biostimulant containing gibberellic acid, kinetin and indolebutyric acid was applied in increasing concentrations via seed treatment. The experiment was conducted under controlled conditions in a germination greenhouse. The test was carried out in a gerbox, and 50 pure, encrusted or non-encrusted seeds were placed in each experimental unit. According to the results obtained, with the application of the biostimulant, there was no significant difference in seed germination vigor. It was possible to verify that, regardless of the applied dose, the seeds that received the coating showed a lower emergence speed than those that did not receive the coating. It was concluded that the efficiency of using the biostimulant is dependent on factors intrinsic to the seed, such as encrustation.

Keywords: Plant bioregulator; Convert; Plant hormone; Encrusted seed

K. Brennecke *

<https://orcid.org/0000-0001-6758-9532>
Programa de Mestrado Profissional em Produção Animal, Universidade Brasil, Descalvado, SP, Brasil

P. H. M. Dian

<https://orcid.org/0000-0002-6949-7831>
Programa de Mestrado Profissional em Produção Animal, Universidade Brasil, Descalvado, SP, Brasil

L. M. A. Bertipaglia

<https://orcid.org/0000-0001-5811-7816>
Programa de Mestrado Profissional em Produção Animal, Universidade Brasil, Descalvado, SP, Brasil

J. V. F. Catânio

<http://lattes.cnpq.br/8579795894806111>
Programa de Mestrado Profissional em Produção Animal, Universidade Brasil, Descalvado, SP, Brasil

A.B. dos Santos

<http://lattes.cnpq.br/0657889533400202>
Programa de Mestrado Profissional em Produção Animal, Universidade Brasil, Descalvado, SP, Brasil

F. A. Narezzi

Universidade Brasil, graduação em Agronomia, Descalvado, SP, Brasil

*Autor correspondente



1 Introdução

No Brasil, os capins do gênero *Urochloa* (Syn. *Brachiaria*) são os mais cultivados, por apresentarem alta produtividade, bom teor nutricional e persistência no pasto ao longo dos anos. O Convert HD364 é um híbrido resultante do cruzamento de três cultivares (*Urochloa ruziziensis*, *Urochloa decumbens*, *Urochloa brizantha*), com potencial produtivo (10 a 27 t.ha⁻¹ ano⁻¹ de massa seca), tolerância à cigarrinha, eficiência no aproveitamento residual dos fertilizantes aplicados e adaptação aos solos ácidos tropicais (ALVES, 2016).

Existem produtos que promovem o melhor desenvolvimento dessas plantas, como os bio reguladores, que são compostos orgânicos e não nutricionais que, quando aplicados exogenamente na planta em baixas concentrações, possuem ações similares as auxinas, citocininas e giberelinas, que atuam no crescimento das plantas, dos quais promove, inibe ou modifica os processos fisiológicos do vegetal (CASTRO; VIEIRA, 2001), podendo também modificar a morfologia e fisiologia, alterando qualitativa e quantitativamente a produção (GUERREIRO, 2008).

De acordo com Klahold et al. (2006), os bioestimulantes podem ser definidos como uma mistura de biorreguladores, podendo até haver a mistura destes com outros compostos químicos, minerais, aminoácidos, entre outros. Os efeitos benéficos consistem na habilidade de atuar nas atividades hormonais da planta (LONG, 2023).

Santos et al. (2023), observaram eficiência deste produto na germinação de *Urochloa brizantha* cv. Marandu e *Urochloa humidicola* cv. Quicuiu sob diferentes doses, não alterou significativamente a germinação dos capins.

No entanto, Lima (2016) ao avaliar diferentes doses de bioestimulante foliar comercial, à base de citocinina, giberilina e auxina, no cultivo de *Urochloa* Convert HD364, observou aumentos no acúmulo de matéria seca, taxa de acúmulo de forragem, folhas e colmos, e reduções no percentual de material morto e na relação folha x colmo. O autor recomendou a dose de 1,25 L ha⁻¹ de bioestimulante para *Urochloa* híbrida Convert HD364.

Diante do exposto, justifica-se este estudo com o objetivo de avaliar a germinação de *Urochloa* híbrida Mulato II (Convert HD364), incrustadas ou não, em função de doses de bioestimulante.

2 Materiais e Métodos

A avaliação da germinação de sementes, incrustadas ou não, de *Urochloa* Mulato II (Convert HD364), sob diferentes doses do bioestimulante, foi conduzida no laboratório de fitotecnia da Universidade Brasil, campus Descalvado, SP. O experimento seguiu o delineamento em blocos casualizados e, os resultados analisados foi por esquema de análise fatorial 6x2 (seis tratamentos com

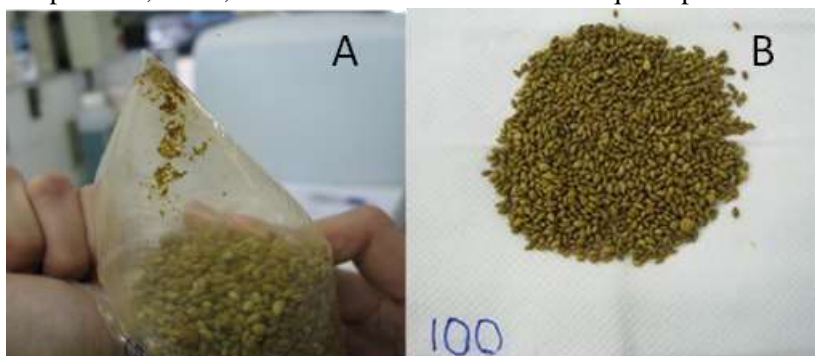
doses de bioestimulante x duas variáveis (sementes incrustadas e não incrustadas)), com seis repetições. As doses de bioestimulante avaliadas foram: 0, 5, 10, 20, 40 e 80 mL/kg de sementes.

Para o experimento foram adquiridas sementes incrustadas e grafitadas, e essa opção se deu pelo motivo de incrementar macro e micronutrientes, fungicidas, inseticidas, finalizando com grafite como material para o revestimento das sementes.

Como regulador vegetal, foi utilizado bioestimulante comercial que apresentou na composição, o ácido indolbutírico (auxina) 0,005%, cinetina (citocinina) 0,009% e ácido giberélico – GA³ (giberelina) 0,005%, todos considerados da classe de reguladores vegetais.

Para embebição das sementes (incrustada e não incrustada), foi utilizada uma dose de solução (água + bioestimulante) de 100 mL/kg de semente, em temperatura ambiente, por 08 horas. A solução e as sementes foram colocadas em um saco plástico para promover a homogeneização dos tratamentos às sementes e, em seguida, dispostas para secar ao ar (Figura 1).

Figura 1. Em A, processo de embebição das sementes de *Urochloa*. Mulato II de acordo com os tratamentos impostos e, em B, sementes secas ao ar. Fonte: Arquivo pessoal.



Fonte: Arquivo pessoal.

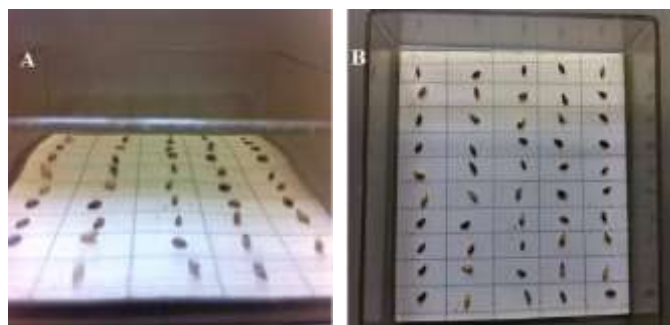
A diluição do bioestimulante de acordo com as doses avaliadas está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1. Descrição da proporção de água e bioestimulante usada nos tratamentos experimentais (doses). A solução (água + bioestimulante) descrita foi para cada kg de semente tratado.

Tratamentos (dose do bioestimulante, mL/kg)	Proporção na solução
0	10 mL de água
5	9,5 mL de água + 0,5 mL de bioestimulante
10	9 mL de água + 1 mL de bioestimulante
20	8 mL de água + 2 mL de bioestimulante
40	6 mL de água + 4 mL de bioestimulante
80	2 mL de água + 8 mL de bioestimulante

O teste de germinação das sementes foi conduzido de acordo como preconizado no manual de Regras de Análise de Sementes – RAS, em BRASIL (2009). Foi realizado em gerbox e, em cada unidade experimental (gerbox), foram colocadas 50 sementes puras, incrustadas ou sem incrustamento (Figura 2).

Figura 2. Em A, gerbox dentro da estufa de germinação e, em B, sementes de *Urochloa* Mulato II, sem incrustamento, organizadas em um gerbox para germinação.



Fonte: Arquivo pessoal.

Os gerbox permaneceram em estufa a 30°C, com 12 horas de luz e 12 horas de escuro por dia, durante 12 dias. A umidade das unidades experimentais foi mantida com a adição diária de água destilada, com o volume de 2,5 vezes o peso do papel de germitest. Foram realizadas contagem das sementes germinadas/gerbox, durante os 12 dias, as 10h00.

Os dados foram submetidos à análise de variância e análise de regressão com os procedimentos MIXED e GLM do programa estatístico SAS (SAS, 1999).

3 Resultados e Discussão

De acordo com a análise de variância, observa-se que na germinação houve interação entre tipo de semente e doses de Stimulate, conforme demonstrado na Tabela 2.

Tabela 2. Análise de variância para os dados finais de germinação em função do tipo de semente (incrustada e não incrustada) e as doses de Stimulate (0, 5, 10, 20, 40 e 80 mL.).

C.V.	G.L.	Erro Tipo III	Q.M.	F	Pr>F
REPM	5	261,8	52,4	0,9	0,5124
Tipo de semente	1	2664,5	2664,5	43,9	0,0001**
Dose	5	606,6	121,3	2,0	0,0933
Tipo*Dose	5	1109,2	221,8	3,7	0,0063**

*** Significativo a 1% de probabilidade segundo teste F.



Observa-se que para o tipo de semente (incrustada e não incrustada) houve diferença significativa ($P < 0,0001$) na germinação, e o mesmo ocorreu com a interação tipo de semente x doses de Stimulate ($P < 0,0063$).

Para todas as doses de bioestimulante não foi observada diferença significativa na germinação das sementes.

Em função da heterogeneidade do processo de germinação, ajustou-se uma curva de 5º Grau para as sementes incrustadas e uma curva de 1º grau e 4º para as sementes não incrustadas, portanto foi considerado sempre o maior grau ajustado.

Na Tabela 3, verifica-se os parâmetros ajustados da equação de 5º grau para a germinação de sementes, incrustadas e na tabela 4 verifica-se os parâmetros ajustados da equação de 4º grau para a germinação de sementes não incrustadas.

Tabela 3. Parâmetros de ajuste da equação de 5º grau para a germinação de sementes incrustadas.

Dose do bioestimulante, mL/kg	Forma	Estimativa	Erro	t Value	Pr> t
0	Incrustada	19	3,16	6,01	<,0001
5	Incrustada	-45,53	12,92	-3,52	0,0008
10	Incrustada	46,16	12,53	3,68	0,0005
20	Incrustada	-14,14	3,84	-3,68	0,1713
40	Incrustada	1,55	0,42	3,66	0,0005
80	Incrustada	-0,05	0,01	-3,64	0,0005

Dose: doses do Bioestimulante. Forma: Sementes incrustadas.

Tabela 4. Parâmetros de ajuste da equação de 4º grau para a germinação de sementes Convert HD 364 não incrustadas.

Dose do bioestimulante, mL/kg	Forma	Estimativa	Erro	t Value	Pr> t
0	Não Incrustada	32,38	3,43	9,44	<,0001
5	Não Incrustada	-9,61	5,87	-1,64	0,1066
10	Não Incrustada	4,74	2,52	1,88	0,0648
20	Não Incrustada	-0,66	0,32	-2,02	0,0482
40	Não Incrustada	0,02	0,012	2,08	0,0421

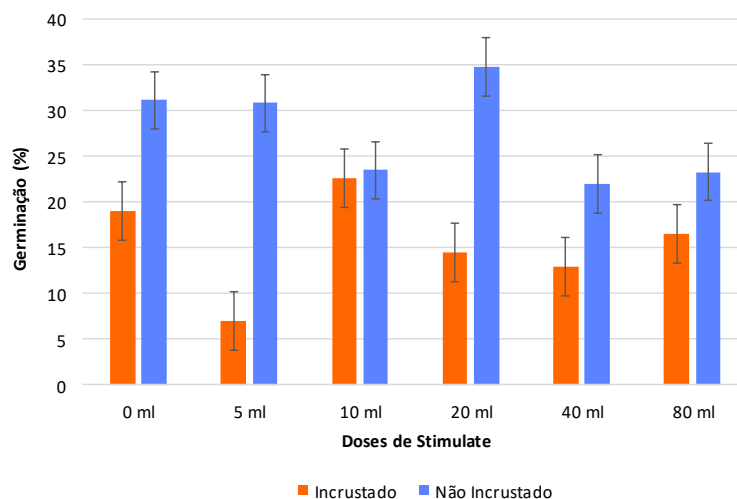
Dose: doses do Bioestimulante. Forma: Sementes não incrustadas.

Os biorreguladores podem ser definidos como substâncias sintetizadas que têm ação análoga aos hormônios vegetais naturais (auxinas, giberelinas e citocinas) e proporcionam o crescimento e desenvolvimento das plantas. Porém, em conjunto com o revestimento das sementes, ele (biorreguladores) não exprime seu papel na germinação de sementes, retardando sua velocidade de germinação inicial.



Entretanto, neste experimento, foi possível verificar que, independentemente da dose administrada, as sementes que receberam o revestimento apresentaram emergência inferior em detrimento das que não receberam o revestimento, dentro do período de avaliação estabelecido pelo Regras de Análise de Sementes - RAS (BRASIL, 2009), conforme Figura 3.

Figura 3: Verificação da porcentagem de germinação de sementes de Convert HD 364 incrustada e não incrustada, dentro de cada tratamento avaliado (doses).



Esta condição demonstra que o revestimento pode causar resistência na germinação das sementes por causar restrição nas trocas gasosas e entrada e saída de água, retardando o processo germinativo.

Trabalhando com *Brachiaria brizantha*, Câmara e Seraphin (2002), também verificaram inibição na germinação de sementes após incrustá-las, corroborando com os dados encontrados neste experimento.

Silveira et al. (2011) trataram sementes de soja com doses de bioestimulante (200; 400; 600; 800; 1000 e 1400 mL do produto para 100 kg de sementes) e não observaram diferenças na porcentagem de germinação.

O revestimento é uma técnica de proteção da semente, além de garantir adição de nutrientes e reguladores de crescimento, além de, segundo Oliveira et al. (2003), facilitar a operação da semeadura em sistemas de plantio direto.

Vários estudos demonstram a contribuição positiva do incrustamento para a germinação de sementes, para controle e absorção de água (BRITES, et al., 2011), questões com fungicidas e inseticidas (FERREIRA et al., 2015; SOUZA et al., 2017), no entanto Ferreira et al. (2015) sinalizam que o revestimento pode prejudicar a porcentagem e velocidade de emergência em plantas.



Neste sentido, Santos et al. (2010) explicam que o incrustamento promove uma barreira física para a ruptura da raiz, e que isso pode prorrogar a germinação e emergência, bem como diminuir as trocas gasosas dificultando, assim, o processo respiratório e absorção de água pelas sementes. Martins Ferreira et al. (2010) comentam que o incrustamento pode prejudicar a germinação e emergência pelo desafio de romper a camada incrustada.

Derré et al. (2016) recomendam mais estudos avaliando sementes incrustadas na velocidade de germinação e na emergência, porém trabalharam com profundidades de plantio.

4 Conclusão

Sementes de Mulato II (Convert) não incrustadas apresentam melhor porcentagem de germinação na presença de bioestimulante.

Devido à variabilidade de resultados para a germinação de sementes com a adição de bioestimulante ou com o tratamento de incrustamento encontrados em demais trabalhos da literatura, justifica-se a realização de mais estudos para melhor definir a eficácia do biorreguladores, em doses e condições de uso adequadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, E. S. G. **Produtividade, composição bromatológica e dinâmica do perfilhamento da *Brachiaria híbrida* Convert HD 364 sob alturas de corte.** 2016, 41p. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Goiás, Goiânia – GO.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes.** Brasília: MAPA, SDA, 2009. 395p

BRITES, F. H. R.; SILVA JUNIOR, C. A.; TORRES, F. E. Germinação de semente comum, escarificada e revestida de diferentes espécies forrageiras tropicais. **Bioscience Journal**, v.27, n.4, p.629-634, 2011.

CAMARA, H. H. L. L.; SERAFHIN, E. S. Germinação de sementes de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu sob diferentes períodos de armazenamento e tratamento hormonal. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 32, n. 1, p. 21-28, 2002.

CASTRO, P. R. C.; VIEIRA, E. L. **Aplicação de reguladores vegetais na agricultura tropical.** Guaíba: Agropecuária, 2001. 132 p.



- DERRÉ, L. D. O.; ABRANTES, F. L.; ARANDA, E. A.; FEITOSA, E. M.; CUSTÓDIO, C. C. Embebição e profundidade de semeadura de sementes não revestidas e revestidas de forrageiras. In: **Colloquium Agrariae**, v. 12, n.2, p. 19-31. 2016.
- FERREIRA, V. F.; FERREIRA, T. F.; CARVALHO, R. A.; MAVAIEIE, D. P. R.; PEREIRA, D. S.; OLIVEIRA, J. A. Qualidade fisiológica de sementes revestidas de braquiária híbrida cv. Mulato II. **Revista Agro@ambiente On-line**, v. 9, n. 2, p. 161-166, 2015.
- GUERREIRO, R. T. **Seleção de *Bacillus* spp. promotores de crescimento de milho**. 2008, 55 p. Dissertação de mestrado, Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente – SP.
- KLAHOLD, C. A.; GUIMARÃES, V. F.; ECHER, M. M.; KLAHOLD, A.; CONTIERO, R. L.; BECKER, A. Resposta da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) à ação de bioestimulante. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 28, n. 2, p. 179-185, 2006.
- LIMA, L. C. **Bioestimulante e fertilizantes foliares no cultivo de *Brachiaria* híbrida**. 2016, 54 p. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia – GO.
- LONG, E. **The importance of biostimulants in turfgrass management**. Disponível em://www.golfenviro.com/article%archive/biostimulants-roots.html. Acesso em 19 mai. 2023.
- MARTINS FERREIRA, R. R.; TAVARES FILHO, J.; MARTINS FERREIRA, V. Efeitos de sistemas de manejo de pastagens nas propriedades físicas do solo. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 4, 2010.
- OLIVEIRA, J. A.; PEREIRA, C. E.; GUIMARÃES, R. M.; VIEIRA, A. R.; SILVA, J. D. Desempenho de sementes de pimentão revestidas com diferentes materiais. **Revista Brasileira de Sementes**, v.25, n.2, p.36-47, 2003.
- SANTOS, F. C.; OLIVEIRA, J. A.; PINHO, E. V. de R. V.; GUIMARÃES, R. M.; VIEIRA, A. R. Tratamento químico, revestimento e armazenamento de sementes de *Brachiaria brizantha* cv. Marandú. **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, n.3 p.69-78, 2010.
- SANTOS, N. C. C.; FERREIRA, A. C.; COELHO, G. J.; SANTOS, J. A.; OLIVEIRA, W. F.; MACIEL, R. P. Influência de bioestimulante na germinação de *Brachiaria brizantha* cv Marandu e *Brachiaria humidicola* cv. Quicuio. In: **IV congresso de Zootecnia da Amazônia**, out 2017, Paragominas, PA. Disponível em



<http://www.sisgeenco.com.br/sistema/zootecnia/zootecnia2017/ARQUIVOS/GT21-53-81-20171007152215.pdf>. Acesso em 19 mai. 2023.

SAS INSTITUTE. SAS/STAT. User s Guide: Version 8. Cary: SAS Institute Inc., 1999. 3.809 p.

SILVEIRA, O.S., VIEIRA, E.L., GONÇALVES, C.A., BARROS T.F. Stimulate® na germinação de sementes, vigor de plântulas, crescimento inicial e produtividade de soja. **Magistra**, V. 23, P: 67-74, 2011.

SOUZA, J. R. D.; LACERDA, J. D. J.; MORAIS, O. M.; SILVA, J. P. Germinative potential of encrusted seed of tropical forage species. **Ciência Rural**, v. 47, n. 2, 2017.



Vacinação de brucelose (RB51) em bovídeos no município de Ouro Preto do Oeste - RO

RB51 Brucelose vaccination in bovine in Ouro Preto do Oeste - RO

RESUMO

A brucelose bovina é uma doença infectocontagiosa que acomete bovinos, ovinos, caprinos, suínos, equinos, inclusive o homem, sendo considerada também uma zoonose de distribuição mundial, infecciosa e crônica, causada por bactérias do gênero *Brucella*, também conhecida como “aborto contagioso”, causadas por duas cepas: lisas e rugosas. As lisas são as bactérias mais agressivas (*Brucella abortus* que atinge bovinos, *B. Suis* de suínos e *B. melitensis*, caprinos) e as rugosas (*B. canis* em caninos e *B. ovis* em ovinos) são menos virulentas. As principais formas de manifestação nos animais evidenciam-se pelo abortamento, esterilidade e baixa produtividade, o que corrobora para uma acentuada queda no potencial produtivo animal, sendo uma zoonose de distribuição universal que acarreta diversos problemas sanitários e prejuízos econômicos onerosos. O presente estudo teve como objetivo levantar a prevalência de vacinação de fêmeas bovinas com a vacina RB51, no município de Ouro Preto do Oeste-RO, com uma análise retrospectiva do período de 01/01/2019 a 01/01/2023, analisando de forma quantitativa e comparativa os animais vacinados contra brucelose bovina.

Palavras-chave: Vacinação; *Brucella abortus*; Saúde Única; Zoonose.

ABSTRACT

Bovine brucellosis is an infect-contagious disease in bovine, ovine, caprine, swine and equine, including humans. The disease is consider zoonotic with world distribution, being infectious and cronic, and caused by bacteria from *Brucella*, known as “contagious abortion”, which is caused by two types: roughness and smooth. This smooth type is aggressive and caused by *Brucella abortus*, which reaches bovine, *B. suis*, reaching swine and *B. mellitensis*, caprine. Indeed, the roughness type (*B. canis*, reaching canine e *B. ovis*, ovine) which are less virulent, respectively. The principal form of manifestation in animals has its evidence in abortion, sterility and low productivity, leading to a decreasing animal production, and expressive potential deficit, which is characterized as a universal distribution zoonotic, leading to sanitary issues and an important economic loss. The present study refers the prevalence of bovine females as far as vaccination, using the RB51 at Ouro Preto do Oeste-RO municipality, presenting a retrospective description of a related period: January of 2018 to January of 2023, which were represented by a quantitative and comparative analysis of brucellosis vaccinated animals.

Keywords: Vaccination; *Brucella abortus*; Single Health; Zoonosis.

R. S. Ambrósio

<https://orcid.org/0000-0002-1799-2945>

Programa de Mestrado Profissional em Produção Animal, Universidade Brasil, Descalvado, SP, Brasil

J. O. Abujamra

<https://orcid.org/0000-0003-0182-2930>

Programa de Mestrado Profissional em Produção Animal, Universidade Brasil, Descalvado, SP, Brasil

M. G. C. Polli

<http://lattes.cnpq.br/2599340303182564>

Programa de Mestrado Profissional em Produção Animal, Universidade Brasil, Descalvado, SP, Brasil

G. M. Melo

<http://lattes.cnpq.br/4652818267633443>

Programa de Mestrado Profissional em Produção Animal, Universidade Brasil, Descalvado, SP, Brasil

C. M. B. Orlandi *

<https://orcid.org/0000-0001-7627-9202>

Programa de Mestrado Profissional em Produção Animal, Universidade Brasil, Descalvado, SP, Brasil

*Autor correspondente



1 Introdução

A bovinocultura brasileira apresenta-se como um dos grandes esteios da economia do país, com rebanho de aproximadamente 225 milhões de cabeças e revela avanços nos índices de produção, com destaque para a produtividade e para a exportação de seus produtos (IBGE, 2021).

A saúde humana e animal está inexoravelmente relacionada uma vez que o homem depende dos animais, para alimentação, desenvolvimento socioeconômico e companhia. Todavia, os animais podem transmitir aos humanos um grande número de doenças. A brucelose bovina é uma enfermidade infectocontagiosa, causada por bactérias do gênero *Brucella*, principalmente pela *Brucella abortus*. Caracteriza-se por ser um problema grave na saúde pública, causando elevados prejuízos econômicos e é uma zoonose de distribuição mundial (BRASIL, 2006).

A ocorrência de brucelose bovina em um país ou região pode resultar em perdas econômicas significativas como a imposição de barreiras sanitárias e tarifárias ao comércio internacional de produtos de origem animal. Este cenário provoca perdas no rendimento industrial com a condenação do leite e da carne oriundos de animais infectados, gastos significativos devidos aos altos custos para a implementação dos programas de controle e erradicação da doença, além de prejuízos envolvendo a produção animal, devido ao elevado número de abortos, nascimento de bezerros fracos, baixa fertilidade nas propriedades rurais e principalmente o declínio na produção de leite e carne.

No entanto, ao mesmo tempo em que o Brasil busca aumentar ainda mais seus índices de produtividade, há necessidade de melhorar a qualidade de seus produtos, principalmente a sanitária. A rastreabilidade e os programas voltados à sanidade animal, envolvendo o controle e erradicação de doenças por meio de vacinações, tratamentos e profilaxia, são requisitos fundamentais para que o país possa manter-se como exportador e, principalmente, expandir a competitividade no mercado.

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) por meio da Instrução Normativa Nº 10, de 03 de março de 2017, Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal - PNCEBT, estabelece que o produtor também deve ter conhecimento sobre as normas, caso não seja feito controle do seu plantel ele será responsável por qualquer contaminação (MAPA, 2017).

Torna-se importante ressaltar que as estratégias de prevenção e combate são bastante conhecidas, sendo elas: campanhas de vacinação, certificação de propriedades livres por rotinas de testes indiretos, controle da movimentação de animais, além do sistema de vigilância específico (POESTER et al., 2009). Para primar as referidas estratégias, criou-se o Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose- PNCEBT em 2001, pelo MAPA, com o objetivo primordial de diminuir o impacto negativo dessas zoonoses na saúde animal e humana, e promover competitividade da pecuária nacional (MAPA, 2006).



O estudo teve como objetivo apresentar uma análise exploratória e descritiva referente às fêmeas bovinas vacinadas com a vacina RB51 e motivos de uso, em comparação à vacina B19 no município de Ouro Preto do Oeste no estado de Rondônia, no período de janeiro de 2019 a janeiro de 2023.


2 Material e Métodos

O estudo foi elaborado por meio de dados obtidos em relatórios de campanhas de declaração de rebanho, fornecidos pelo órgão fiscalizador do Estado de Rondônia, IDARON, do município de Ouro Preto Do Oeste-RO durante o período de 01/01/2019 a 01/01/2023.

O Município é localizado no estado de Rondônia na região Norte do Brasil, ocupando uma área de 1.969,85 km², possuindo uma população estimada de 35.445 habitantes segundo o Censo do IBGE de 2021.

O município de Ouro Preto do Oeste possui um total de 406.601 bovinos, sendo 253.571 bovinos de corte e 153.030 bovinos leiteiros, conforme o relatório Final da Declaração de Rebanho de Novembro de 2022 (2022.2) (Figura 1).

Figura 1 – Relatório final de Declaração de Rebanho 2022.2, Município Ouro Preto D'Oeste, RO.


 GOVERNO DO ESTADO DE RONDÔNIA
 Agência de Defesa Sanitária Agropecuária do Estado de Rondônia - IDARON
 Vinculada à Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Regulação Fundiária - SEAGR
 USUÁRIO: OURO PRETO DO OESTE

Relatório Final da DECLARAÇÃO DE REBANHO 2022.2 - Período: 01/11/2022 a 30/11/2022

MUNICÍPIO: OURO PRETO DO OESTE - OURO PRETO DO OESTE / RO				REGIONAL - JI-PARANÁ		
Produtores Atendidos	Propriedades Existentes	Propriedades Atendidas	Propriedades sem Bovinos	Rebanho Existente		
				BOV. CORTE	BOV. LEITE	BUBALINO
2.821	3.437	2.680	757	253.571	153.030	581
				Total de Bovinos: 406.601		

Rebanho	REBANHO DECLARADO POR FAIXA ETÁRIA												Rebanho não Declarado		% Declarado
	Até 6 meses		7 a 12 meses		13 a 24 meses		25 a 36 meses		Mais de 36 meses		TOTAL				
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	
Bov. Corte	18.112	14.327	13.704	11.296	38.336	27.011	29.199	28.002	4.533	85.950	184.338	184.186			
Bov. Leite	10.742	10.781	7.884	8.900	13.188	19.733	8.914	17.810	2.095	82.974	38.824	109.964	3.248	8.043	
Bov. Total	28.854	25.118	21.588	20.256	51.524	46.744	36.912	45.812	6.628	118.924	141.162	254.150			
Bubalino	15	24	88	85	54	82	18	49	12	159	163	388	10	17	
Bov. à Dec	422	405	448	585	1081	1280	405	925	78	2408	2.410	5.837	Bovinos de corte à dec. no período oficial		
Bov. à Dec	187	194	250	232	250	478	88	447	63	1055	836	2.406	Bovinos de leite à dec. no período oficial		
Bub. à Dec	4	1	5	4	0	1	0	0	1	11	10	17	Bubalinos à dec. no período oficial		
Bov. Abate	—	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bovinos à dec. dest. ao abate		
Bub. Abate	—	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Bubalinos à dec. dest. ao abate		

Propriedades com Bovinos					RESULTADO DA DECLARAÇÃO										
Bov. à Ab.	Somente Bov.	Somente Bub.	Total	Cov. Reg. Dec.	Produtor	População Bovina		População Bubalina		População Bovina		Pop. Totalizantes	Pop. Confecção Fed.		
						Existente	Declarado	Existente	Declarado	Existente	Declarado				
28	2.802	4	2.806	2.801	2.801	406.601	386.310	881	184	407.182	386.888	0	0	0	0

IDARON - Impressão: 13/09/2023 às 10:02:30
 Relatório Rebanho Individual por Propriedade - Município: Ouro Preto do Oeste - 30/11/2022 13:21:01
 1 de 1

Fonte: (IDARON, 2023).



Dados quantitativos da prevalência no uso da vacina RB51 foram registrados, a fim de mensurar o número de animais vacinados contra Brucelose Bovina no município de Ouro Preto do Oeste -RO após o período de 3 a 8 meses de idade ou na vida adulta de fêmeas bovinas. Os dados fornecidos pela IDARON, do município de Ouro Preto do Oeste foram analisados de maneira quantitativa por análise estatística descritiva.

3 Resultados e Discussão

A utilização da vacina RB51 no município estudado, de acordo com IDARON, é realizada com certa frequência, no entanto, os dados do período de 01/01/2019 até 01/01/2023, fazem parte destes resultados, no qual foram vacinadas 2.492 fêmeas com a RB51 (Tabela 1).

Tabela 1 – Vacinação de Brucelose registrada durante o período de 2019 a 2023 no município de Ouro Preto do Oeste – RO.

Vacina	Nº de Fêmeas Bovinas Imunizadas	Idade e período
B19	155.809	De 3 a 8 meses de idade no período de 01/01/2019 a 01/01/2023
RB51	2.492	Acima de 8 meses de idade no período de 01/01/2019 a 01/01/2023

Fonte: IDARON, 2023.

A utilização da vacina B19 como observado na Tabela 1 é maior, no entanto, nota-se que alguns animais não são vacinados durante o período de 3 a 8 meses fazendo-se necessária a utilização da vacina RB51. Conforme a legislação do IDARON PORTARIA Nº 65/GAB/IDARON. Os animais devem ser vacinados, mediante apresentação de Atestados de Vacinação, conforme ilustrado na Figura 2.

De acordo com Art. 3º da lei 1367 de julho de 2004, tem se como obrigatoriedade em todo Estado a vacinação contra Brucelose, com vacinas não indutoras da formação de anticorpos aglutinantes de vacinas RB51, em fêmeas bovinas, com idade acima de 8 (oito) meses, que não foram vacinadas no período de 3 e 8 meses de idade com vacina, B19, de acordo com a artigo 1º. Em caso de detecção de fêmeas bovinas e bubalinas não terem sido vacinadas contra brucelose com a amostra da vacina B19, a ficha de controle sanitário na ULSAV de movimento destas fêmeas é bloqueada automaticamente pelo sistema (SISIDARON) até que a vacinação contra brucelose das respectivas fêmeas bovinas seja realizada com a amostra da vacina RB51, além de outras sanções previstas em



nesta Lei (1367 de julho de 2004).

Figura 2 – Atestado de vacinação contra brucelose, utilizado no estado de Rondônia.


 GOVERNO DO ESTADO DE RONDÔNIA
 AGÊNCIA DE DEFESA SANITÁRIA AGROPECUÁRIA DO ESTADO DE RONDÔNIA - IDARON
INSTITUIÇÃO REGULADORA DE SERVIÇOS DE PRODUÇÃO, INSUMOS E REGULAÇÃO TECNOLÓGICA - IRETEC
ANEXO XI
ATESTADO DE VACINAÇÃO CONTRA BRUCELOSE VACINA NÃO INDUTORA DA
FORMAÇÃO DE ANTICORPOS AGLUTINANTES AMOSTRA RB 51

Atesto que foram vacinadas _____ (_____) fêmeas contra brucelose, de propriedade do(a) Sr(a) _____ na propriedade _____ cadastrada no serviço de defesa oficial estadual sob o nº _____ localizada no município de _____ UF _____ conforme faixas etárias abaixo discriminadas - tabela I.

Foi utilizada vacina não indutora da formação de anticorpos aglutinantes, amostra **RB 51**, do laboratório _____ partida nº _____ fabricada em _____ e com validade até _____.

Nome do Auxiliar de Vacinação responsável pela aplicação da vacina: _____

Quantidades de fêmeas bovinas e bubalinas vacinadas por faixa etária:

9-12 meses		13 a 24 meses		25 a 36 meses		+ 36 meses	
Q. F. Bov.	Q. F. Bub.	Q. F. Bov.	Q. F. Bub.	Q. F. Bov.	Q. F. Bub.	Q. F. Bov.	Q. F. Bub.

Local e data

Médico Veterinário Carimbo - CRMV e nº de cadastro no serviço de defesa oficial estadual

Fonte: IDARON

Quando o produtor não cumpre com o período imposto para a vacinação, o IDARON do município de Ouro Preto do Oeste, lavra um auto de infração (multa) no momento em que o produtor comparece no escritório local para realizar a declaração da vacinação dos animais com a vacina RB51, e, no momento em que é lavrada a declaração, a ficha é desbloqueada automaticamente. O valor da infração é aplicado por unidade de animal (cabeça) não vacinada. O valor aplicado no ano de 2023 foi de R\$ 271,32/animal.

Este cenário ocasiona interdições de fichas de movimentação bovinas e prejuízos econômico/financeiro do valor do auto de infração, do custo, mais elevado, da vacina RB51 (no comércio local do município de Ouro Preto D'Oeste RO, a dose da vacina B19 com valor de R\$ 6,00; sendo a RB51 com valor de R\$ 9,50) Além do exposto, a vacina RB51 só é comercializada em frascos de 25 doses, enquanto a vacina B19 é comercializada em frascos de 10 e 15 doses.

No estado de Rondônia O atestado de vacinação tem os seguintes valores: R\$18,00 para o atestado da B19 e R\$ 35,00 para o atestado da RB51.



4 Conclusão

Conclui-se que os produtores rurais, por motivos de descontrole de data de nascimento dos animais e motivos não justificáveis, falham quanto a identificação da idade dos animais do rebanho (fêmeas) para a vacinação de brucelose, e, em virtude disso geram problemas de saúde animal, humano e econômicos.

Produtores, mesmo com um prazo de 8 meses, após a declaração de vacinação do rebanho nos períodos de campanha (6 em 6 meses), em diversas vezes, não cumprem com prazo previamente estabelecido em Lei. Tais falhas comprometem o *status* da referida zoonose regionalmente e mundialmente, elevando de forma expressiva os riscos às outras espécies animais, assim como à população envolvida na cadeia produtiva.

AGRADECIMENTOS

A IDARON e envolvidos no processo de vacinação e cadastramento das propriedades, proprietários, e demais funcionários colaboradores e responsáveis pela campanha do referido período.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

PESSEGUEIRO P.; BARATA C.; CORREIA, J. Brucelose – uma revisão sistematizada. **RPMI: Revista Medicina Interna**. 30 de junho de 2003. 10(2):91-100. Disponível em: <https://revista.spmi.pt/index.php/rpmi/article/view/1803> Acesso em: 02 mai.2023

AIRES, D. M. P.; COELHO, K. O.; SILVEIRA NETO, O. J. Brucelose bovina: aspectos gerais e contexto nos programas oficiais de controle. **Revista Científica de Medicina Veterinária**. Disponível em http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/oNZhrk8JQ0hsGE5_2018-7-12-17-17-34.pdf/ Acesso em: 2 mai. 2023

SOLA, Marília Cristina *et al.* **Brucelose bovina: revisão**. Jandaia/GO. Centro Científico Conhecer [2014]. Disponível em: <http://conhecer.org.br/enciclop/2014a/AGRARIAS/Brucelose.pdf>/ Acesso em: 06 mai.2023

Decreto N° 9735, de 3 de dezembro de 2001. DOE N° 4875, de 4 de dezembro de 2001. Disponível em http://www.idaron.ro.gov.br/wp-content/uploads/2019/07/Decreto_9735-2001.pdf/ Acesso em: 2 mai. 2023



SOUZA, F. G. **Desenvolvimento e avaliação da virulência residual de uma cepa mutante de *Brucella abortus***. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. UFMS, Campo Grande. Disponível em <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/169569/1/SOUZA-UFMS.pdf>/ Acesso em: 06 mai. 2023

PORTARIA Nº 65/GAB/IDARON. Disponível em http://www.idaron.ro.gov.br/wp-content/uploads/2018/10/Portaria_65-2010.pdf/ Acesso em: 02 mai.2023

PORTARIA Nº10 /GAB/IDARON. Disponível em http://www.idaron.ro.gov.br/wp-content/uploads/2018/12/Portaria_10-2011.pdf/ Acesso em: 02 mai.2023