



Revista Agrária Acadêmica

Agrarian Academic Journal

Volume 1 – Número 1 - Mai/Jun (2018)

Publicação técnico-científica bimensal eletrônica

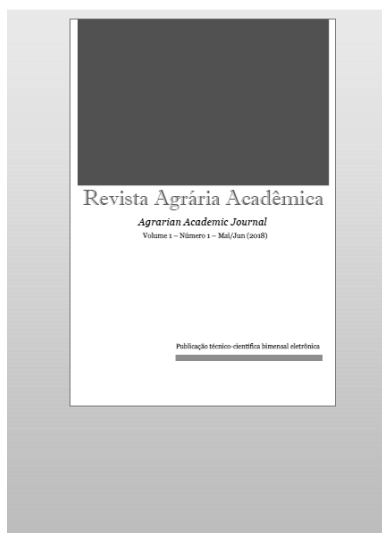
Revista Agrária Acadêmica

Agrarian Academic Journal

Volume 1 – Número 1 – Mai/Jun (2018)

SUMÁRIO

- Viabilidade econômica e produtiva da suplementação de bovinos a pasto na época da seca.** Eduardo Gabriel Galavotti, André da Cruz França Lema 6 - 18
- Especificidade de *Disonycha glabrata* (Coleoptera: Chrysomelidae) em plantas de caruru e genótipos de batata-doce.** Mychelle Pires Barbosa, Elias Correa de Freitas Neto, Alexandre IA Pereira, Carmen RS Curvêlo, Gilberto S Andrade, Luiz Leonardo Ferreira 19 - 27
- As certificações compulsórias de inspeção sanitária para produtos de origem animal: valorização dos atributos de qualidade dos alimentos.** Silvia Cristina Vieira, Fabiana Liar Agudo, Daniel de Sá Freire Lamarca 28 - 34
- Aplicação de fertilizantes foliares potássicos na produção e qualidade de pêssego.** Igor Bertolini, Marco Aurélio de Freitas Fogaça, Lucas Dal Magro 35 - 46
- Salmonella spp.*, bactérias heterotróficas, coliformes e *Escherichia coli* em fubá de milho e derivados após estocagem doméstica.** Camila Maria Coutinho Moura, Lígia Calina Rocha Pires Ferreira, Rafael Gomes Abreu Bacelar, Maria Christina Sanches Muratori 47 - 57
- Ectima Contagioso dos Ovinos e Caprinos: a doença e sua vacina.** Jailson Honorato, Raimundo Vicente de Sousa, Roberto Soares de Castro 58 - 83
- Natriuresis does not account for urinary concentration inability in the chronically undernourished rat.** Edinéia Goedert, Ana Durce Oliveira da Paixão, Carmem de Castro Chaves 84 - 91



A Revista Agrária Acadêmica é um periódico científico publicado bimensalmente destinada a divulgação de trabalhos técnico-científicos nas áreas de Agronomia, Medicina Veterinária, Zootecnia, Engenharia Florestal, Ambiental, Pesca e áreas afins.

Poderão ser submetidos trabalhos regionais, nacionais e internacionais (Artigos de Revisão, Artigos Científicos, Educação Continuada, Relatos de Caso, Nota Prévia e Comunicação) ainda não publicados, nem encaminhados a outras revistas para o mesmo fim. Os manuscritos devem ser enviados para o e-mail agrariacad@gmail.com.

A iniciativa visa contribuir na atualização técnico-científica dos profissionais nas universidades, instituições de pesquisa, agências de fomento e extensão, bem como na iniciativa privada. Objetiva também tornar a informação mais acessível aos profissionais de campo.

O título abreviado da Revista é **Rev. Agr. Acad.**, forma que deve ser usada em bibliografias, notas de rodapé, referências e legendas bibliográficas. O endereço para correspondência da Revista é Rua Rio Grande do Norte, 1342, Sala 3, Mercado, Imperatriz – MA, Brasil, CEP 65901-280.

Todos os artigos e relatos dessa publicação são de inteira responsabilidade de seus autores não cabendo nenhuma responsabilidade legal sobre o conteúdo à Revista ou à Editora.

Qualquer parte desta publicação pode ser reproduzida, desde que citada a fonte.

EDITORIAL

A Revista Agrária Acadêmica iniciou suas atividades em 2017 com a criação do portal, registros numéricos e indexação nas bases de dados.

A filosofia editorial da revista tem como fundamento a publicação científica revisada por pares. A edição da revista não discrimina, de forma alguma, as atividades dos interessados em publicar na revista. Os trabalhos em tramitação serão remetidos aos revisores da área e a decisão de aceitação para publicação cabe aos editores, mas é baseada nas recomendações do Conselho Editorial e/ou revisores AD-HOC. O sigilo de identidade dos autores e revisores será mantido durante todo o processo por um sistema duplo cego de avaliação. O Conselho Editorial do periódico adotará os devidos cuidados para que os revisores de cada artigo sejam, obrigatoriamente, de instituições distintas daquelas da origem dos autores e que não haja quaisquer conflitos de interesse.

A revista permite acesso livre a todo seu conteúdo, para que a pesquisa seja acessível ao público e para um melhor intercâmbio de conhecimento. Assim, acredita no maior número de leitores e maior citação de trabalhos dos autores.

Foi adotada a formatação em coluna única, o que facilita a leitura on-line.

A Revista agradece o apoio permanente dos membros do Conselho Editorial e do Comitê Científico. Agradece também aos autores pelo envio dos trabalhos.

Os editores

CORPO EDITORIAL

EDITORES

Jailson Honorato – Doutorado em Ciência Animal – UI / USA

Luiz André Rodrigues de Lima – Doutorado em Biociência Animal – UFRPE

CONSELHO EDITORIAL

André da Cruz França Lema (IFSULDEMINAS) – Doutorado em Zootecnia (Produção Animal) – UNESP

Cícero Soares dos Santos (SENAR) – Doutorado em Ciência Animal – UFPI

Claudia Marinovic (FESAR) – Doutorado em Anatomia Animal – USP / Pós-Doc em Patologia Animal – UFT

Claudio Belmino Maia (UEMA) – Doutorado em Fitopatologia – UFV

Cristy Handson Pereira dos Santos (UNISULMA) – Mestrado em Tecnologia Ambiental – UFLA

Deyse Naira Mascarenhas Costa (UNITINS) – Doutorado em Ciência Animal – UFPI

Edinéia Goedert (UFPE) – Mestrado em Bioquímica e Fisiologia – UFPE

Florisval Protásio da Silva Filho (IFMA) – Doutorado em Zootecnia (Produção Animal) – UFRPE

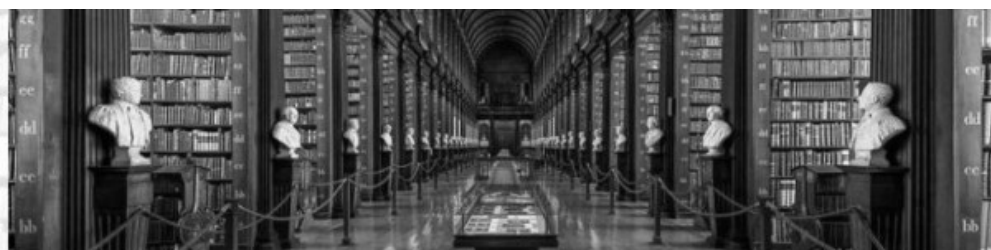
Gabriela Braga de Sá (UFMG) – Mestranda em Ciências Florestais – UFGG

Itamara Gomes de França (UFMA) – Doutoranda em Biotecnologia – BIONORTE – UFMA

Luzimary de Jesus Ferreira Godinho Rocha (IFMA) – Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos – UNESP

Rosana Léo de Santana (UFRPE) – Doutorado em Ciência Veterinária – UFRPE

Yamê Fabres Robaina Sancler da Silva (UFV) – Doutorado em Ciência Veterinária – UK / USA



CHAMADA PÚBLICA 02/2018 – SUBMISSÃO DE ARTIGOS

Artigos para a edição de Julho/Agosto 2018. O prazo para
submissão de trabalhos é até a data de 25 de Junho de 2018.

Revista Agrária Acadêmica

Agrarian Academic Journal

Volume 1 – Número 1 – Mai/Jun (2018)

Viabilidade econômica e produtiva da suplementação de bovinos a pasto na época da seca

Economic and productive feasibility of pasture cattle supplementation in the dry season

Eduardo Gabriel Galavotti¹, André da Cruz França Lema²

¹ Universidade Brasil – UNIVBRASIL – Fernandópolis/SP – Brasil – E-mail: eduardogalavotti@gmail.com

² Instituto Federal Sul de Minas Gerais – IFSULDEMINAS – Inconfidentes/MG – Brasil – E-mail: andre.lema@ifsuldeminas.edu.br – Rua Cláudio Manoel da Costa, 71 – Centro – Inconfidentes, MG – Cep: 37576-000

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar técnica e economicamente o desempenho de bovinos machos, não-castrados, suplementados com sal mineral proteinado, em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu durante o período da seca, na região noroeste do Estado de São Paulo. O ganho de peso médio foi de 25,78 kg animal⁻¹. Os custos médios foram de R\$124,10 animal⁻¹, o que propiciou lucratividade de R\$0,45 animal⁻¹. Apesar do pequeno lucro, a suplementação permitiu acelerar o ciclo produtivo, uma vez que os animais ganharam peso e foram abatidos logo após o término da suplementação, reduzindo a idade de abate, o tempo e o custo de permanência dos animais na propriedade.

Palavras-chave: ganho de peso, nutrição, proteinado.

Abstract

The aim of this paper was to evaluate technically and economically non-castrated male cattle performance, supplemented with proteic salt grazing *Brachiaria brizantha* cv. Marandu in the dry season, in the northwest region of São Paulo State. The average weight gain was 25.78 kg animal⁻¹. The average costs were R\$124.10 animal⁻¹, which had a profitability of R\$0.45 animal⁻¹. Despite small profits, the supplementation allowed to accelerate the productive cycle, since the animals gained weight and were slaughtered right after the end of supplementation intake, thereby lowering the slaughtering age, time and the animal cost in the property.

Key-words: weight gain, nutrition, proteic salt.

Introdução

A base para a criação de bovinos de corte no Brasil são as pastagens em função do nosso país apresentar clima favorável e abundância territorial (FIGUEIREDO *et al.*, 2007, p.1444), com a produção concentrada em sistemas extensivos e, portanto, dependente das condições climáticas e ambientais que contribuirão na produção de forragem (SILVA *et al.*, 2014, p.3483). Essa informação está de acordo com Koscheck *et al.* (2011, p.377), os quais afirmaram que a maior parte dos animais abatidos no Brasil são produzidos em sistema de pastejo.

Por outro lado, as pastagens apresentam sazonalidade de produção, além de deficiências nutricionais em determinadas épocas do ano, com excesso de produção na época das águas e escassez na seca. Além disso, no período do inverno a forragem perde qualidade nutricional, afetando diretamente o aproveitamento da dieta pelos animais (HOFFMANN *et al.*, 2014, p.123). Segundo Costa *et al.* (2005, p.191), na época da seca ocorre aumento no teor de fibra indigerível e queda nos níveis de proteína bruta, cujos valores se tornam inferiores a 7%. Segundo Medeiros; Marino (2015, p.40), as exigências mínimas de proteína bruta na dieta dos bovinos é de 7% e, valores inferiores a esse não atendem as exigências mínimas de manutenção dos animais, o que culminaria com a perda de peso dos mesmos. Isso se deve ao fato de que forragens com teores baixos em proteína prejudicam o consumo de matéria seca e os animais acabam sofrendo carências múltiplas (HOFFMANN *et al.*, 2014, p.123), uma vez que o consumo real de matéria seca pelo animal acaba sendo menor do que o consumo exigido para atender as suas necessidades (KOSCHECK *et al.*, 2011, p.379).

Castro *et al.* (2014, p.1), afirmam que o maior problema do período da seca é o baixo desempenho dos bovinos em pastejo, que acaba causando um grande transtorno para os pecuaristas, devido a perda de peso dos animais, que leva a diminuição da rentabilidade do negócio. Para minimizar esse problema é fundamental a adoção de tecnologias que otimizem o desempenho animal, garantindo, com isso, a conquista do mercado de forma sustentável e competitiva (FIGUEIREDO *et al.*, 2007, p.1444).

Se não forem adotadas medidas de manejo para compensar a queda da produção forrageira no período da seca o resultado será um decréscimo no desempenho animal, com conseqüente aumento na idade de abate, queda na taxa de desfrute do rebanho e na lucratividade final da propriedade, além do comprometimento da qualidade das carcaças produzidas (SOUZA, 2008, p.1).

A suplementação a pasto pode amenizar possíveis fases negativas gerando um desenvolvimento linear crescente dos animais. A suplementação no período da seca tem por objetivo adequar os baixos níveis de proteína presentes nas pastagens, melhorando a eficiência de degradação da fração fibrosa, e o consumo de matéria seca da forragem, elevando o desempenho animal (REIS *et al.*, 2009, p.151).

Detmann *et al.* (2004, p.173-174), afirmam que a suplementação irá propiciar aumento no consumo de forragem, gerando maior disponibilidade de energia dietética e, conseqüentemente, no desempenho animal. Isso se deve ao fato de que a suplementação aumenta a taxa de degradação ruminal e a síntese de proteína microbiana, resultando em maior aporte de nutrientes para o intestino e de ácidos graxos voláteis para o metabolismo energético.

Patino; Medeiros (2003, p.1), citam que, se corretamente utilizada, a suplementação proteica pode gerar em torno de 15 a 45% de aumento no consumo de matéria seca e 2 a 5 % na digestibilidade, propiciando ganhos de peso diário de 200 a 300 gramas por animal. Silva *et al.* (2014, p.3486) complementam que a suplementação pode, também, ser utilizada para a manutenção, evitando a perda de peso e de escore corporal dos animais.

Segundo Moreira *et al.* (2008, p.204), vários trabalhos confirmam este melhor desempenho animal com uso de suplementação proteica a pasto, enquanto outros não verificaram efeito positivo sobre o desempenho animal. Isso pode ser justificado devido ao uso de diferentes forragens, épocas do ano, níveis de consumo de suplemento ou categoria animal.

Para ser recomendado efetivamente, a suplementação alimentar de bovinos mantidos em sistema de pastejo deve, antes de qualquer coisa, tornar a exploração mais lucrativa, além de apresentar algumas vantagens produtivas, tais como, redução no tempo necessário para a terminação dos animais para o abate, aumento na taxa de lotação, desocupação de áreas para entradas de animais mais jovens, e normalmente mais eficientes, aumento de taxa de desfrute e planejamento para venda em momentos mais oportunos, estão entre as de maior impacto (HOFFMANN *et al.*, 2014, p.124).

A eficácia da suplementação depende da disponibilidade de oferta de forragem, para que não haja limitação no consumo. Quando da disponibilidade de forragem uma das opções para suplementação de animais mantidos em sistema de pastejo, no período da seca, é o uso de sal mineral proteinado. Vários estudos já demonstraram que tal prática apresenta viabilidade técnica, no

entanto ocorrem questionamentos em relação a sua viabilidade econômica devido ao acréscimo de custos relacionados à adoção desta tecnologia (PILAU; ROCHA; SANTOS, 2003, p.967).

Deste modo, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o desempenho e a viabilidade econômica de bovinos machos não-castrados, na fase de terminação, suplementados com sal mineral proteinado durante o período da seca na região noroeste paulista.

Material e Métodos

Este trabalho foi desenvolvido na Fazenda São Jorge, localizada no Município de Macedônia, Estado de São Paulo, no período de junho a setembro de 2015, totalizando 122 dias de período experimental.

A pastagem utilizada durante a fase experimental era formada de braquiário (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu), utilizada em sistema extensivo, com área de 11,6 ha. A pastagem havia sido formada a cerca de 10 anos e apresentava boa cobertura do solo e prévio ao início do experimento a mesma estava vedada a aproximadamente 30 dias.

Foram retiradas amostras da área de pastejo, no início e término do período experimental, para estimar a disponibilidade de matéria seca para os animais, utilizando-se a técnica de amostragem direta, conforme metodologia proposta por Salman; Soares; Canesin (2006, p.2-3).

Foram utilizados 37 bovinos machos mestiços, inteiros, com idade média de 30 meses e peso médio de 408 kg. Os bovinos foram identificados individualmente com uso de brinco numerado e alocados na pastagem, perfazendo uma taxa de lotação de aproximadamente 2,9 UA ha¹ (Unidade Animal por hectare). A área de pastejo continha cocho para suplementação mineral, cocho para suplementação proteico-energética, bebedouro e área de sombreamento natural, respeitando as condições de bem estar dos animais. O fornecimento de água e suplemento mineral permitiam consumo *ad libitum*.

Na véspera da entrada dos animais na área experimental os mesmos foram desverminados com uso de solução injetável a base de Doramectin 1%, administrado por via subcutânea e aplicação tópica (pour-on) de carrapaticida a base de cipermetrina, clorpirifós, butóxido de piperonila e citronelal, ambos utilizados segundo dose recomendada pelo fabricante. Os animais permaneceram fechados no curral, recebendo água e suplementação volumosa, com o objetivo de evitar a contaminação da pastagem experimental com ovos de parasitas, sendo liberados no dia subsequente a aplicação do vermífugo.

Os animais foram suplementados com uso de um suplemento protéico-energético, misturado na própria propriedade, cuja composição e valor bromatológico são expressos na Tabela 1.

Foi realizada adaptação dos animais a suplementação como medida preventiva de intoxicações, por um período de 23 dias. A adaptação foi realizada adicionando maiores quantidades de cloreto de sódio (sal comum) ao suplemento, a qual foi sendo reduzida gradativamente, no referido período, conforme recomendação de Gomes *et al.* (2015). Inicialmente adicionou-se 50% de cloreto de sódio a mistura, sendo que ao término do período adaptativo a quantidade de cloreto de sódio era de 13,5% do suplemento. A adição do cloreto de sódio tinha por objetivo limitar o consumo do suplemento na fase de adaptação.

Após o período de adaptação o suplemento foi oferecido *ad libitum*, com reposições diárias, sempre que se fizesse necessário. O consumo do suplemento foi quantificado semanalmente com base nos dados de pesagem da quantidade colocada e das possíveis sobras.

Tabela 1: Composição percentual e valor nutricional do suplemento utilizado durante a fase experimental

Ingrediente	Proporção (%MS)	
Milho moído	42,9	
Calcário	2,7	
Ureia	9,7	
Sal Mineral	10,5	
Farelo de Algodão 38%PB	9,8	
Farelo de Soja 46%PB	9,8	
Sulfato de amônia	1,1	
Cloreto de Sódio (NaCl)	13,5	
Níveis Nutricionais		
Macrominerais	Unidade	
Cálcio	%	3,61
Fósforo	%	2,11
Magnésio	%	0,15
Sódio	%	5,35
Enxofre	%	0,64
Microminerais		
Cobalto	Ppm	10,84
Cobre	Ppm	135,57
Manganês	Ppm	216,91
Selênio	Ppm	1,63
Zinco	Ppm	571,52
NDT	%	52,06
Proteína Bruta	%	41,49

Mensalmente foram realizadas pesagens nos animais após os mesmos terem sido submetidos a um jejum sólido de 12 horas, utilizando balança eletrônica com capacidade de 3.000 kg e precisão de 500 g.

No terceiro mês experimental foi realizada vacinação contra clostridiose, com uso de vacina polivalente, em todos os animais, em função da ocorrência de um caso suspeito de botulismo em um animal que permanecia em pasto adjacente aquele que estava sendo utilizado experimentalmente, com reforço da vacina 30 dias após a primeira aplicação. Esse protocolo foi utilizado em função de desconhecer o histórico sanitário dos animais experimentais, optando pelo reforço da vacina.

Para determinação do custo de produção foram calculados os gastos com os cuidados sanitários do rebanho (vermífugos e vacinas), brincos para identificação, combustível, mão de obra e o suplemento propriamente dito. Não foi levado em consideração o custo oportunidade e a depreciação da pastagem pelo fato dela já ter sido formada a mais de 10 anos.

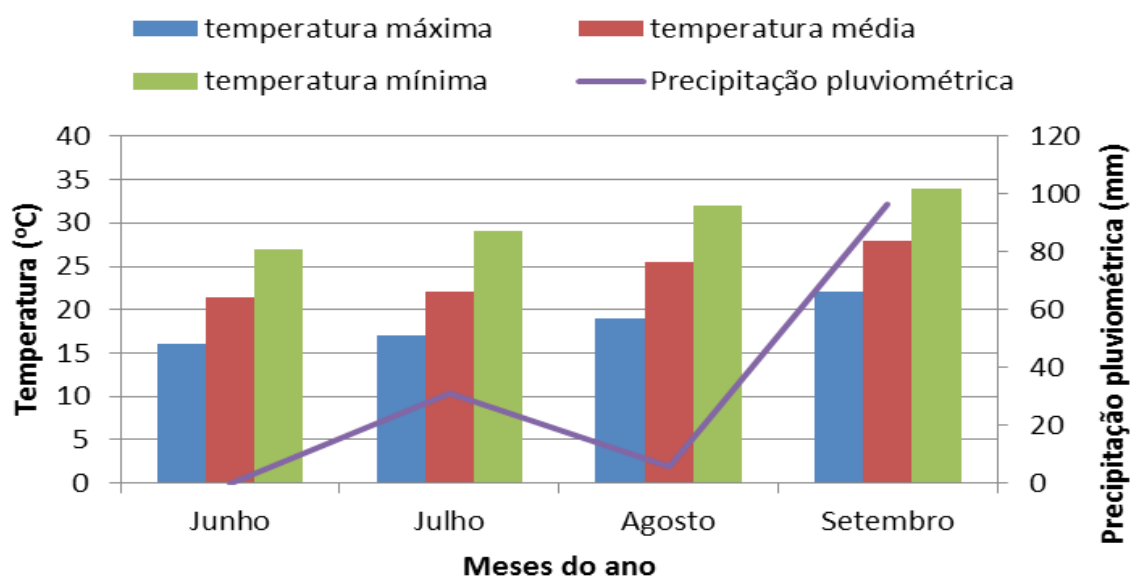
Foram obtidos, diariamente, os dados meteorológicos do município de Macedônia/SP, através de informações retiradas do site Climatempo (<https://www.climatempo.com.br/previsao-do-tempo/cidade/2380/macedonia-sp>). A partir dessas informações calcularam-se as temperaturas médias de cada mês do período experimental, bem como o total mensal da precipitação pluviométrica.

Os parâmetros avaliados foram ganho de peso e custo de produção dos bovinos. Foram realizadas comparações entre o ganho de peso médio mensal para o período experimental utilizando Delineamento Inteiramente Casualizado, através do Software Assistat 7.7 (SILVA, 2016).

Resultados e Discussão

Os dados referentes a precipitação pluviométrica e temperatura média durante a fase experimental são apresentados no Gráfico 1.

Gráfico 1: Temperaturas mínima, média e máxima e índice de precipitação pluviométrica obtidos, durante a fase experimental, no Município de Macedônia/SP segundo dados obtidos no site Climatempo

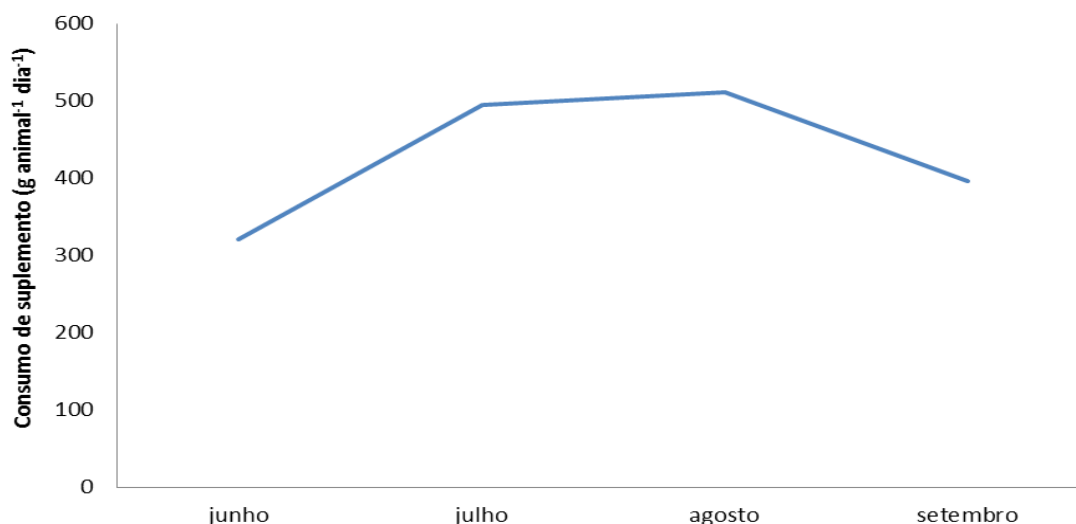


As temperaturas médias oscilaram entre 21,5°C e 28,0°C, respectivamente nos meses de junho e setembro de 2015. Essas temperaturas seriam suficientes para promover o crescimento da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, cuja temperatura mínima requerida é de 15°C (SHERMAN; RIVEROS, citado por SANTOS *et al.*, 2008, p.628), porém o que se verificou é que ao longo do período experimental ocorreu uma redução na quantidade de forragem disponível para consumo, que passou de 6.620 kg MS ha⁻¹ para 2510 kg MS ha⁻¹.

Esse resultado era esperado, comprovando que o crescimento de gramíneas forrageiras tropicais depende, além da temperatura, de outros fatores ambientais, tais como a radiação solar e o regime hídrico para expressar seu crescimento. Segundo Pedro Junior (1995, p.430), a maior limitação ao crescimento da forrageira na região Noroeste do Estado de São Paulo é o regime hídrico, tendo menor influência a radiação solar. Esse resultado difere parcialmente daquele obtido neste experimento, uma vez que em setembro se verificou aumento nos índices pluviométricos, que chegaram a 96,5 mm de chuva, contra 5,8 mm registrados no mês de agosto e a produção de matéria seca continuou em declínio, evidenciando a necessidade de aumento também na radiação solar.

O consumo de suplemento estimado por animal dia, durante a fase experimental, é apresentado no Gráfico 2.

Gráfico 2: Consumo estimado de suplemento (g animal⁻¹ dia⁻¹) para os animais ao longo do período experimental



O consumo médio de suplemento obtido, respectivamente para os meses de junho a setembro, foi de 320g, 495g, 511g e 396g. Em relação ao peso corporal o consumo de junho equivaleu a 0,08%, enquanto que julho e agosto 0,12% e setembro 0,09%.

Segundo Andrade *et al.* (2015, p.99), a oferta de suplementos no período da seca em quantidades abaixo de 0,5% do peso corporal não é suficiente em promover ganhos de peso satisfatórios. Isso foi confirmado neste experimento, onde o ganho médio de peso obtido foi 25,78 kg por animal durante toda a fase experimental, o que resultou em baixo ganho de peso diário, conforme pode ser verificado na Tabela 2.

Tabela 2: Ganho médio de peso (g dia⁻¹) obtido para os bovinos durante a fase experimental

Mês	Ganho de peso (g/animal/dia)
Junho	480a*
Julho	150b
Agosto	120b
Setembro	112b
CV (%)	22,69

* Letras iguais na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade

A suplementação propiciou ganho de peso durante toda a fase experimental, porém, se verificou que o ganho de peso médio diário obtido no mês de junho foi maior ($P < 0,05$) em relação aos demais meses experimentais, com superioridade média de 282,9% (variação entre 220 a 328,6%). Essa variação pode ter ocorrido em função da redução na quantidade de matéria seca de forragem disponível, que foi da ordem de 62%, quando comparado a produção inicial com a final, passando de 6.620 kg MS ha⁻¹ para 2510 kg MS ha⁻¹, respectivamente para os meses de junho e

setembro de 2015. Essa diferença pode ser explicada, conforme relatado por Knorr *et al.* (2005, p.785), pelo consumo constante de pastagem e pelo aumento da carga animal, no período de avaliação, associados a um período de latência no crescimento da pastagem.

No trabalho desenvolvido por Knorr *et al.* (2005, p.786), também ocorreu redução na produção de matéria seca durante o período de inverno, em áreas de pastagens nativas no Rio Grande do Sul, porém a diminuição foi da ordem de 42,4%. Essa diferença pode estar associada a maior taxa de lotação utilizada neste experimento em relação ao do referido autor (2,9 UA ha⁻¹ x 0,62 UA ha⁻¹), o que acabou levando a maior consumo pelos animais e, conseqüentemente, redução na oferta de matéria seca por se tratar de uma época de baixo crescimento forrageiro em função das condições climáticas do local. Esses resultados também são corroborados por Reis *et al.* (2009, p.147), os quais afirmam que o consumo de forragem parece ser o fator que mais explica as variações no desempenho animal em relação a qualidade da forragem.

Considerando o ganho de peso médio diário durante a fase experimental, o qual foi da ordem de 215,5 g por animal, verifica-se que esse resultado está dentro da faixa de ganho de peso relatada por diversos autores quando do uso de suplementos proteicos para bovinos na época da seca, onde são relatados ganhos menores (MOREIRA *et al.*, 2003, p.452; FIGUEIREDO *et al.*, 2007, p.1445) e maiores (DETMANN *et al.*, 2004, p.173; MOREIRA *et al.*, 2008, p.203; BARONI *et al.*, 2010, p.179) ANDRADE *et al.*, 2015, p.96; BACHLER; BECKER; UNDI, 2017, p.7) aquele obtido neste experimento. Essa variação do ganho de peso dos animais recebendo suplemento na época da seca se dá em função da composição do suplemento, nível de consumo, valor nutricional da planta forrageira e genética dos animais, não sendo possível estabelecer comparações efetivas.

Os componentes dos custos totais obtidos com a suplementação e cuidados sanitários dos animais experimentais são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Custos obtidos com a suplementação dos bovinos durante o período experimental

Itens	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Total
Suplemento	511,95	658,30	653,98	568,50	2.392,73
Brincos	81,40	-----	-----	-----	81,40
Vermífugo	111,00	-----	-----	111,00	222,00
Carrapaticida	6,29	-----	-----	24,05	30,34
Vacina	-----	-----	54,00	50,00	104,00
Mão de obra	213,20	213,20	341,12	213,20	980,72
Combustível	191,94	191,94	191,94	191,94	767,76
Total	1.115,78	1.063,44	1.241,04	1.158,69	4.578,95

Conforme apresentado na Tabela 3, o custo total para a suplementação dos 37 bovinos foi de R\$4.578,95, dando um custo médio de aproximadamente R\$123,76 por animal. O componente que mais influenciou o custo de produção dos bovinos foi o suplemento, responsável por 52,25% dos gastos envolvidos na produção desses animais. Normalmente os gastos com os suplementos/alimentos são aqueles que mais pesam no custo final de produção, semelhante ao ocorrido neste experimento, e, de acordo com outros autores, como Souza e Melz (2014, p.104), que avaliando o custo de produção de bovinos de corte concluíram que os gastos com alimentação oneram mais a atividade em relação a outros gastos, como vacinas, medicamentos, entre outros.

Considerando apenas os gastos com o suplemento utilizado, o valor obtido neste experimento foi de aproximadamente R\$0,53 animal⁻¹ dia⁻¹, valor semelhante ao obtido por Carvalho *et al.* (2009, p.770), quando do uso de suplemento para bovinos na época da seca com uso de milho e ureia. Por outro lado foi inferior ao obtido por Quadros *et al.* (2016, p.470), os quais gastaram R\$0,66 animal⁻¹ dia⁻¹, com uso de suplemento contendo 10% de ureia, com composição nutricional próxima aquele deste experimento.

O ganho de peso médio obtido neste trabalho, que foi de 25,78 kg animal⁻¹, se transformado em equivalente carcaça, equivale o valor de 0,859 arrobas, considerando rendimento de carcaça da ordem de 50%. Desse modo, o custo para produção de uma arroba de carcaça neste experimento seria estimado em R\$144,07. Segundo consulta realizada no site do CEPEA (2016), o valor médio da arroba do boi comercializada em outubro de 2015 foi de R\$147,51. Caso os animais fossem comercializados nesse período, o lucro obtido seria de R\$3,44 animal⁻¹, perfazendo um lucro total de R\$127,28, o que não seria vantajoso economicamente para o produtor. Por outro lado, a suplementação permitiu aos animais passar o período seco do ano mantidos em sistema de pastejo sem perdas de peso, resultado que corrobora com aquele obtido por Quadros *et al.* (2016, p.469), que citou que o sal proteinado beneficiou o gado, evitando a diminuição do peso corporal durante o período da seca, levando os animais a reduzirem a idade de abate num período subsequente a seca.

Segundo Quadros *et al.* (2016, p.469), a manutenção de animais em sistema de pastejo na época da seca, sem suplementação, propicia perdas de peso de, no mínimo, 0,1 kg animal⁻¹ dia⁻¹. Nesse sentido, caso não tivesse sido realizada a suplementação proteica/energética dos animais deste experimento é bem provável que os mesmos perdessem peso, da ordem de 12,3 kg. Assim, ao término do período experimental o peso médio dos bovinos seria de aproximadamente 395,7 kg, contra os 433,78 kg obtidos. A recuperação desse peso levaria, pelo menos, 48 dias, se considerar que no período das águas o ganho de peso pode atingir até 0,800 kg animal⁻¹ dia⁻¹ (KNORR *et al.*, 2005, p.787).

A suplementação proteico/energética na seca não deve ser realizada unicamente com o intuito de ganhar peso, mas com um contexto mais abrangente, pensando na cadeia produtiva como um todo, uma vez que, conforme Lima *et al.* (2012, p. 950), animais suplementados são mais precoces, reduzindo o tempo e o custo de permanência na propriedade, o que antecipa a liberação da área para entrada de nova categoria animal e aumenta o giro de capital.

Considerando-se a necessidade atual de se optar por uma pecuária moderna e com ciclos mais curtos, a suplementação, ao aumentar a média da taxa de ganho diário anual, traz outro benefício importante à pecuária, que é a redução do tempo de abate, que, por sua vez, entre outras vantagens, proporciona o maior retorno econômico e a obtenção de carcaças de melhor qualidade (QUADROS *et al.*, 2016, p.469).

Segundo Figueiredo *et al.* (2007, p.1444), a tecnologia da suplementação permite corrigir dietas desequilibradas, aumentar a eficiência de conversão das pastagens, melhorar o ganho de peso dos animais, encurtar os ciclos reprodutivos, de crescimento e engorda dos bovinos e aumentar a capacidade de suporte dos sistemas produtivos, justificando, desse modo, seu uso.

Conclusão

A suplementação com mistura proteico/energética para bovinos de corte em pastejo, no período da seca, propiciou ganho de peso, mesmo ocorrendo diminuição da disponibilidade de forragem.

Apesar de pequena margem de lucro, a grande vantagem econômica que se obteve foi evitar a perda de peso, permitindo realizar a terminação dos animais de maneira mais precoce.

Referências bibliográficas

ANDRADE, A.T.; ROSSI, R.C.; STIVAL, V.P.; OLIVEIRA, E.A.; SAMPAIO, A.A.; ROSA, B.L. Diferentes suplementos na terminação de bovinos nelore em pastagem diferida de *Brachiaria decumbens* no período da seca. **Boletim da Indústria Animal**, v.72, n.2, p.91-101, 2015.

BACHLER, J.; BECKER, S.; UNDI, M. Performance of beef cows bale grazing poor-quality grass hay in winter with and without supplementation. **North Dakota Beef Report**, p. 5-7, 2017.

BARONI, C.E.S.; LANA, R.P.; MANCIO, A.B.; QUEIROZ, A.C.; LEÃO, M.I.; SVERZUT, C.B. Níveis de suplemento à base de fubá de milho para novilhos Nelore terminados a pasto na seca: desempenho, características de carcaça e avaliação do pasto. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.1, p.175-182, 2010.

CARVALHO, D.M.G.; ZERVOUDAKIS, J.T.; CABAL, L.S.; PAULA, N.F.; MORAES, E.H.B.K.; OLIVEIRA, A.A.; KOSCHECK, J.F.W. Fontes de energia em suplementos múltiplos para recria de bovinos em pastejo no período da seca: desempenho e análise econômica. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.10, n.3, p 760-773, 2009.

CEPEA. Consulta ao banco de dados do site. 2016. Disponível em: <https://www.cepea.esalq.usp.br/br/consultas-ao-banco-de-dados-do-site.aspx>. Acesso em: 10 fev. 2016.

CLIMATOLOGIA – MACEDÔNIA – SP. Disponível na Internet <https://www.climatempo.com.br/climatologia/2380/macedonia-sp>. Acesso em 20 set. 2017.

CASTRO, W.J.; CASTRO, M.C.R.de; FERNANDES, G.A.; FERNANDES, F.F.D.; BORGES, V.T.O.; MOUSQUER, C.J.; SIMIONI, T.A.; NEGRÃO, F.M. Suplementação de bovinos na seca. **PUBVET**, v. 8, n. 5, Ed. 254, Art. 1685, 2014. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/309446410_Suplementacao_de_bovinos_na_seca. Acesso em: 20 mar. 2018.

COSTA, K.A.P.; ROSA, B.; OLIVEIRA, I.P. de; CUSTÓDIO, D.P.; SILVA, D.C. Efeito da estacionalidade na produção de matéria seca e composição bromatológica da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. **Ciência Animal Brasileira**, v.6, n.3, p.187-193, 2005.

DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; ZERVOUDAKIS, J.T.; CECON, P.R.; VALADARES FILHO, S.C.; GONÇALVES, L.C.; CABRAL, L.S.; MELO, A.J.N. Níveis de proteína bruta em suplementos múltiplos para terminação de novilhos mestiços em pastejo durante a época seca: desempenho produtivo e características de carcaça. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.1, p.169-180, 2004

FIGUEIREDO, D.M. de; OLIVEIRA, A.S. de; SALES, M.F.L.; PAULINO, M.F.; VALE, S.M.L.R. Análise econômica de quatro estratégias de suplementação para recria e engorda de bovinos em sistema pasto-suplemento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.5, p.1443-1453, 2007.

HOFFMANN, A.; MORAES, E.H.B.K. de; MOUSQUER, C.J.; SIMIONI, T.A.; JUNIOR GOMES, F.; FERREIRA, V.B.; SILVA, H.M. da. Produção de bovinos de corte no sistema de pasto-suplemento no período seco. **Nativa**, v.2, n.2, p.119-130, 2014.

KOSCHECK, J.F.W.; ZERVOUDAKIS, J.T.; CARVALHO, D.M.G. de; CABRAL, L.S.; AMORIM, K.P.; SILVA, R.G.F. da; SILVA, R.P. da. Suplementação de bovinos de corte em sistema de pastejo. **Uniciências**, v.15, n.1, p.377-412, 2011.

KNORR, M.; PATINO, H.O.; SILVEIRA, A.L.F.; MÜHLBACH, P.R.F.; MALLMANN, G.M.; MEDEIROS, F.S. Desempenho de novilhos suplementados com sais proteinados em pastagem nativa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.8, p.783-788, 2005.

LIMA, J.B.M.P.; RODRÍGUEZ, N.M.; MARTHA JÚNIOR, G.B.; GUIMARÃES JÚNIOR, R.; VILELA, L.; GRAÇA, D.S.; SALIBA, E.O.S. Suplementação de novilhos Nelore sob pastejo, no período de transição águas-seca. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, n.4, p.943-952, 2012.

MEDEIROS, S.R.; MARINO, C.T. Proteínas na nutrição de bovinos de corte. In: MEDEIROS, S.R.; GOMES, R.C.; BUNGENSTAB, D.J. **Nutrição de bovinos de corte: fundamentos e aplicações**. Brasília, DF: Embrapa, 2015. p. 27-44.

MOREIRA, F.B.; PRADO, I.N.; CECATO, U.; WADA, F.W.; NASCIMENTO, W.G.; SOUZA, N.E. Suplementação com Sal Mineral Proteinado para Bovinos de Corte, em Crescimento e Terminação, Mantidos em Pastagem de Grama Estrela Roxa (*Cynodon plectostachyus* Pilger), no Inverno. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.2, p.449-455, 2003.

MOREIRA, F.B.; MIZUBUTI, I.Y.; PRADO, I.N.; MATSUSHITA, M.; MATSUBARA, M.T.; DOGNANI, R. Suplementação com sal mineral proteinado para bezerros mantidos em pastagem de capim Mombaça, no inverno. **Semina: Ciências Agrárias**, v.29, n.1, p. 203-210, 2008.

PATINO, H.O., MEDEIROS, F.S. **Suplementação a pasto: uma alternativa para produção de novilho precoce**. 2003. Disponível na internet <http://www.beefpoint.com.br/cadeia-produtiva/especiais/suplementacao-a-pasto-uma-alternativa-na-producao-de-novilho-precoce-6430/>. Acesso em: 07 fevereiro de 2018.

PEDRO JUNIOR, M.J. Índice climático de crescimento para gramíneas forrageiras no Estado de São Paulo. **Bragantia**, v.54, n.2, p.427-435, 1995.

PILAU, A.; ROCHA, M.G.; SANTOS, D.T. Análise econômica de sistemas de produção para recria de bezerras de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.4, p.966-976, 2003.

QUADROS, D.G.; SOUZA, H.N.; ANDRADE, A.P.; BEZERRA, A.R.G.; ALMEIDA, R.G.; SÁ, A.M.; OLIVEIRA, D.N.; FRANCO, G.L. Avaliação bioeconômica de estratégias de suplementação de novilhos zebuínos mantidos em pastagens diferidas de capim-marandu no período seco. **Revista Brasileira de Saúde Produção Animal**, v.17, n.3, p.461-473, 2016.

REIS, R.A.; RUGGIERI, A.C.; CASAGRANDE, D.R.; PÁSCOA, A.G. Suplementação da dieta de bovinos de corte como estratégia do manejo das pastagens. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.147-159, 2009 (suplemento especial).

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

SANTOS, F.G. dos; CHAVES, M.A.; SILVA, M.W.R. da; SOARES, R.D.; FRANCO, I.L; PINHO, B.D. Índice climático de crescimento para os capins *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, *Cynodon dactylon* cv. Tifton 85 e *Panicum maximum* cv. Tanzânia e relação com a produção de massa seca. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 3, p. 627-637, 2008.

SILVA, A.L. da; SANTANA JÚNIOR, H.A. de; BARBOSA JÚNIOR, M.A.; FIGUEIREDO, C.B.; FERREIRA, A.H.C.; SANTANA, E.O.C.; MACIEL, M.S. Suplementação de bovinos de corte terminados em pastagens tropicais: revisão. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.11, n.3, p.3482-3493, 2014. Disponível na internet http://www.nutritime.com.br/arquivos_internos/artigos/ARTIGO253.pdf. Acesso em: 22 de março de 2018.

SILVA, F.A.S. ASSISTAT: Versão 7.7 beta. DEAG-CTRN-UFCG – Atualizado em 01 de março de 2016. Disponível na internet <http://www.assistat.com>. Acesso em: 20 de maio de 2016.

SOUZA, A. A. **Suplementação de bovinos durante o período de transição**. Protéico ou energético? Consultor, Campo Grande. MS, 2008. Disponível na internet <http://www.beefpoint.com.br/radares-tecnicos/nutricao/suplementacao-de-bovinos-durante-operiodo-de-transicao-proteico-ou-energetico-49926>. Acesso em: 23 de março de 2018.

SOUZA, R.N.S.; MELZ, L.J. Gestão de custos aplicada à bovinocultura de corte: o caso da Fazenda Paraíso em Juina-MT. **Revista UNEMAT de Contabilidade**, v.3, n.5, p.79-114, 2014.

Submissão: 18/04/2018

Aceito: 03/05/2018

Revista Agrária Acadêmica

Agrarian Academic Journal

Volume 1 – Número 1 – Mai/Jun (2018)

Especificidade de *Disonycha glabrata* (Coleoptera: Chrysomelidae) em plantas de caruru e genótipos de batata-doce

Specificity of *Disonycha glabrata* (Coleoptera: Chrysomelidae) in caruru and sweet potato genotypes

Mychelle Pires Barbosa¹, Elias Correa de Freitas Neto¹, Alexandre IA Pereira^{*1}, Carmen RS Curvêlo¹, Gilberto S Andrade², Luiz Leonardo Ferreira³

¹ Instituto Federal Goiano, Campus Urutaí. Rodovia Geraldo Silva Nascimento, km 2,5, CEP 75.790-000, Urutaí, GO, Brasil. * Corresponding author: Alexandre IA Pereira. E-mail: aiapereira@yahoo.com.br

² Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Pato Branco, Via do Conhecimento, Km 1, CEP 85.503-390, Pato Branco, PR, Brasil.

³ Centro Universitário de Mineiros, Rua 22, Setor Aeroporto, UNIFIMES, CEP 75.830-000, Mineiros, GO, Brasil.

Resumo

O presente trabalho teve como objetivo testar a preferência alimentar de *Disonycha glabrata* (Fabr.) (Coleoptera: Chrysomelidae) entre plantas de caruru-roxo e diferentes genótipos de batata-doce, em condições de campo e laboratório. *Disonycha glabrata* demonstrou especificidade ao caruru-roxo em testes com escolha, ganhou peso com essa dieta em testes sem escolha e foi considerado, sob condições de campo, de presença constante nesse hospedeiro em comparação com os dez genótipos de batata-doce avaliados. Os resultados apontam que esse crisomelídeo pode vir a ser um futuro candidato em programas de controle biológico do caruru-roxo em plantios de batata-doce, porém, mais pesquisas devem ser conduzidas para avaliar o real potencial desse inseto como agente de controle biológico de ervas daninhas.

Palavras-chave: Herbivoria, Dieta, Preferência.

Abstract

This study aimed to test the feeding preference of *Disonycha glabrata* (Fabr.) (Coleoptera: Chrysomelidae) between amaranth plants and different genotypes of sweet potato in field and laboratory. *Disonycha glabrata* demonstrated specificity to the amaranth plant in multiple-choice tests, gained weight with this diet in non-choice tests and it was found, under field conditions, constantly on this weed host compared with the ten genotypes of sweet potato evaluated. The results indicate that this chrysomelid might be a future candidate for biological control programs of amaranth plants, although further research should be conducted to assess the real potential of this insect as a biological control agent of weeds.

Keywords: Herbivory, Diet, Preference.

Introdução

No mundo, existem cerca de 60 espécies de plantas do gênero *Amaranthus* (Amaranthaceae) (popularmente conhecidas como carurus) e, aproximadamente, 10 destas têm importância como plantas daninhas (Kissmann & Groth, 2006). A grande produção de massa fresca, alto potencial germinativo e o rápido crescimento são características inerentes ao gênero *Amaranthus* classificando-o como um grupo de plantas invasoras de difícil controle.

O principal método de controle de plantas daninhas, atualmente, é o químico por meio de aplicação de herbicidas de pré ou pós-emergência (Guo & Al-Khatib, 2006) o que aumenta a presença de xenobióticos no meio ambiente e o risco de contaminação em diversos compartimentos ambientais como água, solo e ar. Dessa forma, esforços devem ser realizados para descobrir, testar e aplicar biotecnologias potencialmente capazes de manter os invasores sob níveis reduzidos, tanto na agricultura e pecuária como em ambientes naturais.

Além de sua ampla distribuição e fácil manipulação, os insetos vêm sendo testados quanto à sua aplicabilidade em programas de controle biológico de plantas daninhas exóticas e nativas, principalmente, pelo seu reconhecido grau de especificidade hospedeira. O controle biológico de plantas com insetos é uma alternativa mais duradoura que outros métodos de controle e que preenche vários requisitos, como ambientais e econômicos (Vitorino & Pedrosa-Macedo 2007).

Besouros da família Chrysomelidae possuem potencial como agentes de controle biológico de plantas daninhas (Caxamba & Almeida, 2007). Segundo esses autores, além de apresentarem determinada especificidade alimentar, os crisomelídeos produzem diversos tipos de danos às suas plantas daninhas hospedeiras como abertura de orifícios e entradas para fungos e outros patógenos no tecido vegetal e redução de área fotossintética, o que provoca por consequência estresse e diminuição da produção. O gênero *Disonycha* (Coleoptera: Chrysomelidae: Alticinae), de origem Neotropical, possui relação de herbivoria com diversas espécies de *Amaranthus* (Tisler, 2000). Porém, poucos estudos relacionam o grau de especificidade desses herbívoros em sistemas agrícolas onde o caruru é considerado planta daninha.

Em plantios de batata-doce, *Ipomoea batatas* L. (Convolvulaceae), o caruru pode interferir de forma negativa no desenvolvimento dessa hortaliça, principalmente entre os 45 a 60 dias após o plantio. Após esse período, as plantas de batata-doce passam a cobrir superficialmente o solo o que impede o crescimento de competidoras. Dessa forma, a janela temporal de coexistência entre o caruru e a batata-doce é crucial ao seu desenvolvimento, o que exige a investigação de medidas de

controle eficientes e menos poluidoras ao meio ambiente. Segundo Vitorino & Pedrosa-Macedo (2007) a investigação da especificidade ao hospedeiro é uma das operações mais cruciais em projetos de controle biológico de plantas indesejáveis.

Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo testar o grau de preferência alimentar de *Disonycha glabrata* entre plantas de caruru-roxo e diferentes genótipos de batata-doce, em condições de campo e laboratório.

Material e Métodos

Local de execução da pesquisa

O experimento foi conduzido no laboratório de Entomologia e na área de produção de hortaliças do Instituto Federal Goiano (IF Goiano), Campus Urutaí, Urutaí (GO), cujas coordenadas geográficas são 17°29'10" S de latitude e 48°12'38" O de longitude a 697m de altitude. O clima da região é classificado como tropical de altitude com inverno seco e verão chuvoso, do tipo Cwb pela classificação de Köppen. A temperatura média anual é de 23°C no período de setembro a outubro, podendo chegar até a máxima de 30°C e, entre os meses de junho e julho, com mínima inferior a 15°C. A precipitação média anual é de 1000 a 1500 mm, com umidade relativa média do ar de 60%.

Experimentos

Dez genótipos de batata-doce, com diferentes teores de carotenóides, oriundos do CNPH (Centro Nacional de Pesquisas de Hortaliças) da Embrapa, Gama (DF), foram plantados, em uma área útil de 600m², através de ramas-semente com seis a oito entrenós (cerca de 30 cm) que foram retiradas das partes mais novas dos caules originais. Os genótipos de batata-doce utilizados diferenciam-se entre si, também, pela cor da casca, cor da polpa e morfologia foliar. Esses materiais são provenientes do programa Biofort (programa de biofortificação brasileiro) que está ligado ao HaverstPlus e AgroSalud, dois programas internacionais de biofortificação de alimentos. Na Tabela 1 encontram-se as principais características de diferenciação visual entre os materiais testados. As folhas de *A. hybridus* foram provenientes de plantas sadias mantidas no entorno da área plantada com batata-doce e, também, entre os dois blocos plantados com batata-doce.

O delineamento utilizado no experimento foi de blocos casualizados com duas repetições e cinco leiras, para cada genótipo, de quatro metros de comprimento cada e um metro entre cada

parcela. O espaçamento entre leiras utilizado foi de 80 cm e 33 cm entre plantas (aproximadamente três plantas por metro linear). Os adultos de *D. glabrata* foram coletados por varredura aos 112 DAT (dias após o transplântio) da batata-doce e em plantas de caruru dispostas na bordadura e entre os blocos onde o plantio dos dez materiais de batata-doce foram instalados. A coleta de adultos, realizada através de aspiradores entomológicos, durou duas horas ao longo da área de 600m² e a partir das 15 horas (horário onde foi observada a maior presença do crisomelídeo ao longo do dia). Todos os indivíduos de *D. glabrata* coletados vivos foram trazidos ao laboratório de Entomologia do IF Goiano, Campus Urutaí, e mantidos isoladamente em placas de Petri (9 cm de diâmetro) sem alimentação por um intervalo de 24 horas até o início dos testes de preferência alimentar.

Tabela 1. Características dos 10 genótipos de batata-doce, *Ipomoea batatas* L. (Convolvulaceae), utilizados no plantio e para os testes com e sem escolha. Urutaí, Instituto Federal Goiano, Campus Urutaí, 2011.

Genótipos	Coloração		Formato (folha madura)		
	Película(casca)	Polpa	Geral	Tipo de lóbulos	Lóbulo central
1304	Roxa avermelhada	Laranja escuro	Triangular	Muito suave	Dentado
1195	Rosada	Laranja intermediário	Lanceolada	Profundo	Lanceolado
1205	Roxa avermelhada	Laranja intermediário	Lobulada	Suave	Triangular
1190	Roxa avermelhada	Branca	Triangular	Muito suave	Dentado
1210	Creme	Laranja escuro	Cordiforme	Muito suave	Dentado
1362	Rosada	Laranja escuro	Cordiforme	Muito suave	Dentado
1206	Creme	Branca	Lanceolada	Profundo	Lanceolado
1338	Roxa escura	Laranja escuro	Cordiforme	Muito suave	Dentado
1310	Rosada	Laranja escuro	Triangular	Suave	Dentado
1340	Roxa avermelhada	Laranja escuro	Triangular	Muito suave	Dentado

O índice de constância de *D. glabrata* em plantas de caruru e nos diferentes genótipos de batata-doce foi determinado pela fórmula $C = P \times 100/N$, onde C= índice de constância; P= número total de coletas realizadas e N= número total de insetos coletados. Dessa forma, a espécie de herbívoro em questão foi classificada de acordo com metodologia proposta por Bodenheimer (1955): constante (presente em mais de 50% das coletas), acessória (presente em 25 a 50% das coletas) ou acidental (presente em menos de 25% das coletas).

Folhas frescas de cada genótipo de batata-doce aos 112 DAT e do caruru-roxo foram retiradas do campo no final do dia, com seus pecíolos embebidos em água, dentro de copos descartáveis de 200ml para manter a turgescência das folhas até o laboratório. Discos de tecido

foliar oriundos da batata-doce foram extraídos das folhas trazidas tenras e sem danos prévios ao laboratório, com o auxílio de um vazador metálico de 25mm de diâmetro e colocados alternados em placas de Petri (16cm de diâmetro) sobre papel filtro umedecido para manter a turgidez do vegetal. Dez discos pertencentes aos materiais de batata-doce e um disco relativo ao caruru foram acondicionados por placa, totalizando 11 discos por placa, mais um inseto adulto, representando uma unidade experimental para os testes com escolha. Os tratamentos seguiram a sequência: Tratamento 1 (caruru-roxo), T2 (genótipo 1304 de batata-doce), T3 (genótipo 1195), T4 (1205), T5 (1190), T6 (1210), T7 (1362), T8 (1206), T9 (1338), T10 (1310) e T11 (1340).

Adultos de *D. glabrata* coletados em campo e sem distinção sexual foram liberados individualmente no centro de cada placa de Petri. Cada material vegetal constituiu um tratamento experimental e foi distribuído de forma inteiramente casualizada dentro da placa de Petri. Cada conjunto de placas, com todos os tratamentos, dispostos ao acaso, foi colocado em uma bandeja. As bandejas foram mantidas em B.O.D. regulada a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, $70\pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 12h.

Para os testes de múltipla escolha, a preferência alimentar de *D. glabrata* foi quantificada em função dos sintomas de alimentação (furos nas folhas) nos diferentes materiais testados. No ensaio sem chance de escolha, 50 discos de cada tratamento (conforme descrito no ensaio anterior) foram cortados de plantas de batata-doce aos 112 DAT e dispostos individualmente em placas de Petri (9 cm de diâmetro). Um adulto do crisomelídeo, submetido a jejum por 24h, foi disponibilizado em cada placa e ali mantidos por 96 h ou até sua morte. As folhas foram substituídas diariamente, mantendo-se a integridade de cada tratamento. O ganho de peso dos adultos para o intervalo de 96 horas e o seu peso corpóreo médio foram quantificados.

Análise estatística

Os dados referentes ao ganho de peso e peso corpóreo médio de todos os ensaios foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Os resultados do teste de escolha foram avaliados pela análise de variância não-paramétrica com o teste de Kruskal-Wallis ($P < 0,05$) para comparação entre médias através do programa Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas (SAEG) (Ribeiro Júnior 2001).

Resultados e Discussão

Adultos de *D. glabrata* foram considerados como constantes em plantas de caruru (C= 93,80%) e acidentais nos dez materiais de batata-doce mantidos sob condições de campo (C< 6,20%). Além disso, a presença acidental desse inseto em plantas de batata-doce não necessariamente indicou presença de danos nas plantas, por que outros insetos herbívoros que provocam danos similares foram observados simultaneamente na ocasião da varredura, inclusive, em maior abundância como *Diabrotica speciosa* Germar (Coleoptera: Chrysomelidae) e *Charidotella* sp. (Chrysomelidae).

O caruru (Tratamento 1), com $75,00 \pm 0,05\%$ das escolhas, foi mais atrativo ao crisomelídeo nos testes de múltipla escolha do que qualquer um dos dez genótipos de batata-doce disponíveis (Figura 1). Entre os materiais de batata-doce avaliados, o 1304 (T2), 1205 (T4), 1210 (T6), 1206 (T8) e 1338 (T9) variaram o número total de escolhas pelo inseto em 4, 4, 4, 1 e 4%, respectivamente. Segundo Heard (1997) o agente de controle biológico deve ser seguro para a liberação em campo e alimentar-se apenas da planta alvo de controle. Dessa forma, o fato de se observar sinais de alimentação de *Disonycha glabrata* em folhas de batata-doce já descartaria uma possível utilização desse inseto como agente de controle biológico do caruru, pois, incorreria no risco de disseminação de uma nova praga junto à plantações comerciais de batata-doce.

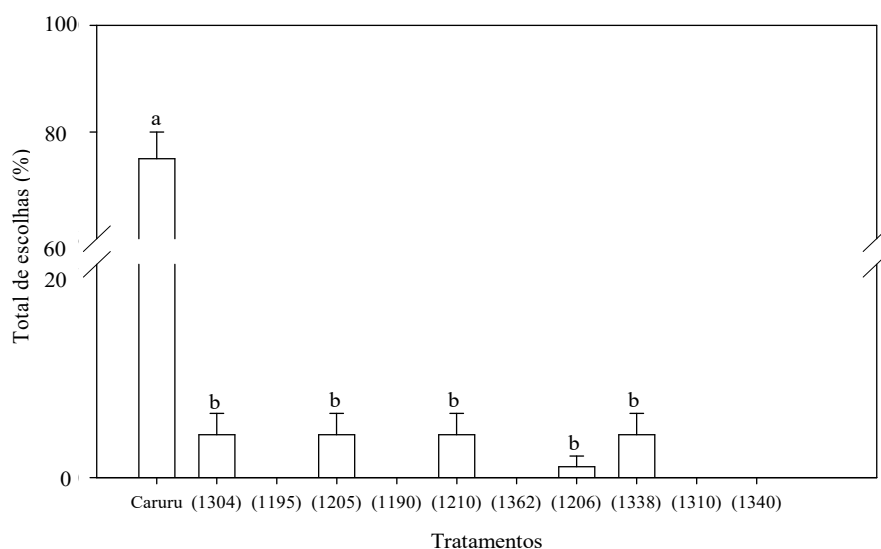


Figura 1. Preferência alimentar (%), através de teste de escolha, de adultos de *Disonycha glabrata*(Coleoptera: Chrysomelidae) por *Amaranthus hybridus* (Amaranthaceae) (caruru) ou diferentes genótipos de batata-doce. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ($P>0,05$) (Teste de Kruskal-Wallis).

Porém, o resultado apresentado no teste de múltipla escolha deve ser analisado com cautela, pois alguns insetos em condições de laboratório comumente ovipositam, alimentam e sobrevivem em muitas plantas que normalmente não atacariam na natureza (Harris & Zwölfer 1968). Assim, muitos insetos selecionados como agentes de biocontrole para as plantas daninhas, quando testados em condições controladas, por meio de exposição a um grupo de plantas selecionadas, geralmente são rejeitados para a liberação, sendo considerados inseguros por atacarem outras plantas nessas condições, as quais não atacariam na natureza, constituindo num “falso positivo” segundo conceito proposto por Wapshere (1989).

Os genótipos 1195 (T3), 1190 (T5), 1362 (T7), 1310 (T10) e 1340 (T11) não foram escolhidos para alimentação em nenhuma oportunidade por adultos de *D. glabrata* nos testes de múltipla escolha. Esse resultado indica que o tipo de resistência envolvido entre os materiais estudados pode ter sido o de não-preferência.

Nos testes sem escolha, adultos de *D. glabrata* ganharam peso, apenas, quando alimentados com folhas de caruru-roxo e não houve diferença significativa entre o peso corpóreo médio desses insetos entre os diferentes tratamentos (Tabela 2). O peso corpóreo em insetos é um importante indicativo de fecundidade (Wiedenmann & O’Neil 1990), sugerindo que a dieta caruru-roxo é capaz de manter o *fitness* reprodutivo desse inseto em detrimento das diferentes variedades de batata-doce avaliados. Todavia, mais pesquisas devem ser conduzidas para se observar a amplitude de especificidade desse inseto, inclusive, em outras plantas de importância econômica e com parentesco botânico mais próximo ao caruru.

Disonycha glabrata demonstrou especificidade ao caruru-roxo em testes de múltipla escolha, ganhou peso com essa dieta e foi considerado, sob condições de campo, de presença constante nesse hospedeiro em comparação com os dez genótipos de batata-doce avaliados. Tais resultados indicam que esse crisomelídeo pode vir a ser um candidato ao controle biológico da erva daninha em questão em plantios de batata-doce.

Tabela 2. Valores médios (\pm EP) do ganho de peso e peso corpóreo médio (em 96h) de *Disonycha glabrata* (Coleoptera: Chrysomelidae) adultos submetidos a *Amaranthus hybridus* (Amaranthaceae) (caruru) ou diferentes genótipos de batata-doce, *Ipomoea batatas* L. (Convolvulaceae).

Tratamentos (genótipos de batata-doce)	Ganho de peso (mg/96 horas)	Peso corpóreo (mg)
Caruru	0,94±1,10 a	16,31±0,75 a
(1304)	-4,10±0,90 ab	14,64±0,73 a
(1195)	-7,18±1,60 b	17,39±1,03 a
(1205)	0,00±3,00 a	15,94±0,24 a
(1190)	-3,64±0,97 ab	15,52±1,28 a
(1210)	-2,52±0,64 ab	15,29±1,31 a
(1362)	-1,56±0,59 ab	15,47±0,59 a
(1206)	-2,56±0,35 ab	14,86±0,65 a
(1338)	-3,35±0,05 ab	17,50±0,28 a
(1310)	-3,77±0,51 ab	14,69±1,35 a
(1340)	-2,35±0,71 ab	14,90±1,19 a
F	3,87	0,798
P	0,001	>0,05

Médias seguidas pela mesma letra dentro de cada coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P= 0,05) (Means followed by the same letter within each column do not differ by Tukey test (P = 0.05)).

Referências bibliográficas

BODENHEIMER, FS. **Precis d'écologie animal**. Paris, Payot, 1955, 315p.

CAXAMBA, MG; ALMEIDA, LM. Aspectos bioecológicos de *Lamprosoma azureum* Germar (Coleoptera: Chrysomelidae) associado a *Psidium cattleianum* Sabine (Myrtaceae). In: **O araçazeiro: ecologia e controle biológico**. Pedrosa MJH; DALMOLIN A; SMITH CW. (Orgs) FUPEF, Curitiba, p.99-106, 2007.

GUO, P; AL-KHATIB, K. Temperature effects on germination and growth of redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*), Palmer amaranth (*A. palmeri*), and common waterhemp (*A. rudis*). **Weed Science**, 51: 869-875, 2003.

HARRIS, P; ZWÖLFER, H. Screening of phytophagous insects for biological control of weeds. **The Canadian Entomologist**, 100: 295-303, 1968.

HEARD, T. Host range testing of insects. In: JULIEN, M; GRAHAM, W. (Eds.). **Biological control of weeds: theory and practical application**, Camberra. Monograph, 49: 77-82, 1997.

KISSMANN, KG; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**. 2ªed. São Paulo: BASF 2, 1999, 978p.

RIBEIRO JÚNIOR, JI. **Análises estatísticas no SAEG**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2001, 301p.

TISLER, AM. Feeding of the pigweed flea beetle, *Dysonycha glabrata* Fab. (Coleoptera: Chrysomelidae), on *Amaranthus retroflexus*. **Virginia Journal of Science**, 41: 243-245, 1990.

VITORINO, MD; PEDROSA, MJH. Controle biológico – uma alternativa para o controle de invasões biológicas. In: PEDROSA, MJH; DALMOLIN, A; SMITH, CW. (Orgs). **O araçazeiro: ecologia e controle biológico**. FUPEF, Curitiba, p.55-69, 2007.

WAPSHERE, AJ. A testing sequence for reducing rejection of potential biological control agents for weeds. **Annual Applied Biology**, 114: 515-526, 1989.

WIEDENMANN, RN; NEIL, RJO. Effects of low rates of predation on selected life-history characteristics of *Podisus maculiventris* (Heteroptera: Pentatomidae). **The Canadian Entomologist**, 122: 271-283, 1990.

Submissão: 19/04/2018

Aceito: 30/04/2018

Revista Agrária Acadêmica

Agrarian Academic Journal

Volume 1 – Número 1 – Mai/Jun (2018)

As certificações compulsórias de inspeção sanitária para produtos de origem animal: valorização dos atributos de qualidade dos alimentos

The certificates compulsory health inspection of animal products:
development of food quality attributes

Silvia Cristina Vieira ^{*1}, Fabiana Liar Agudo², Daniel de Sá Freire Lamarca³

^{*1}- Centro Universitário de Adamantina – Rua Nove de Julho, 730, Adamantina/SP, Brasil.
tinavieiragomes@hotmail.com.br

²- Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo – Rua Othon Guedes Júnior, 175, Tupã/SP, Brasil. fabiana.liar@ifsp.edu.br

³- Universidade de São Paulo – Avenida Pádua Dias, 11, Piracicaba/SP, Brasil.
lamarca@tupa.unesp.br

Resumo

Produzir e fornecer alimentos seguros são fatores que desafiam os diversos agentes envolvidos na cadeia de suprimento alimentar, que possuem a árdua missão de garantir aos consumidores acesso a informações claras e de fácil entendimento sobre a qualidade do produto, por meio de recursos apropriados, como os selos de inspeção sanitária. Para os produtos de origem animal, os selos de inspeção sanitária refletem certificações compulsórias e o objetivo deste ensaio consiste na identificação e descrição circunstanciada destes distintivos, proveniente da tríade nas diferentes esferas: municipal, estadual e federal. Especificamente foram identificados por meio de pesquisa qualitativa o Selo de Inspeção Municipal; o Selo de Inspeção do Estado de São Paulo; o Selo de Inspeção Federal e o Selo do Sistema Brasileiro de Inspeção de Produtos de Origem Animal que está inserido no Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária. Ambos valorizam os atributos de qualidade dos alimentos.

Palavras-chave: Segurança do alimento, Inspeção sanitária, Certificação, Selos, Qualidade.

Abstract

Produce and provide safe food are factors that challenge the various actors involved in the food supply chain, that have the arduous task of ensuring consumers access to clear and easy understanding of product quality through appropriate resources, as the seals sanitary inspection. For animal products, the sanitary inspection stamps reflect compulsory certification and the purpose of this test is the identification and detailed description of these badges, from the Triad in different spheres: municipal, state and federal. Specifically identified through qualitative research the seal of Municipal Inspection; the State Inspection Stamp of São Paulo; the Federal Inspection Seal and the Seal of the Brazilian System of Animal Products Inspection that is inserted into the Unified System for the Agricultural Health. Both value the quality of food.

Keywords: Food safety, Sanitary inspection, Certification, Stamp, Quality.

Introdução

A questão da segurança dos alimentos é um requisito a ser observado, tendo em vista as consequências danosas a que o consumidor está exposto, como possíveis enfermidades veiculadas por alimentos, além dos prejuízos econômicos em que incorrem os estabelecimentos pela perda de clientes para a concorrência. Vários episódios sanitários, fizeram com que os consumidores alterassem radicalmente sua percepção sobre a segurança sanitária dos alimentos. A necessidade de se obter informações mais claras a respeito de mecanismos organizacionais que garantam a segurança dos alimentos justifica este resumo (VIEIRA, BUAINAIN; SPERS, 2010).

Diante deste cenário, observa-se a necessidade da identificação dos produtos alimentícios por selos, distintivos ou insígnias que transmitam informação da valorização da qualidade destes alimentos. Para os produtos de origem animal, os selos de inspeção sanitária refletem certificações compulsórias e o objetivo deste ensaio consiste na identificação e descrição circunstanciada destes selos, proveniente da tríade nas diferentes esferas: municipal, estadual e federal.

É direito dos consumidores terem acesso a alimentos que sejam seguros e adequados para alimentação humana. Os hábitos alimentares têm passado por mudanças, reverberando no desenvolvimento de novas técnicas de produção, preparação, controle e distribuição de alimentos (CODEX ALIMENTARIUS, 2006). Tais controles, visam a promoção de soluções sanitárias e a prevenção de doenças e danos provocados pelos alimentos à saúde humana e à economia.

Para Vaz (2006), as informações disponibilizadas por meio desses mecanismos de rastreabilidade, dos selos de qualidade e da notoriedade da marca, servem para assegurar aos consumidores, no ato de compra e no consumo dos alimentos, um padrão mínimo de qualidade, o que reduz o grau de incerteza de um possível evento. Essa demanda gerou um grande número de informações fundamentadas em legislações e normas de comércio, as quais são repassadas aos consumidores, informando sobre a composição, as técnicas de produção e a origem dos alimentos. Mesmo quando o consumidor está limitado em sua capacidade de avaliação dos fundamentos e da pertinência dessas informações, o simples fato de a informação existir acaba gerando a sensação de que existe um controle, decorrendo daí o sentimento de que o alimento é seguro.

Os consumidores vêm exigindo alimentos com maiores índices de qualidade, e os selos de inspeção sanitária apresentam-se como uma garantia para este mercado demandante, no tocante aos produtos de origem animal. Tais selos não são excludentes e sim complementares para a obrigatoriedade dos demais requisitos legais como a rotulagem adequada, seguindo os padrões da ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

Material e Métodos

Com relação à abordagem, adotou-se metodologia qualitativa. Trata-se de uma pesquisa descritiva e exploratória. Caracterizou-se como exploratória, pois tem por objetivo familiarizar-se com o fenômeno, obtendo uma nova percepção do mesmo. É descritiva, por realizar narrativas das situações e buscar descobrir as relações existentes entre os elementos que compõem a pesquisa. Além disso, flexibiliza o planejamento para possibilitar a consideração dos mais diversos aspectos do problema (CERVO; BERVIAN, 2003).

Para tanto, a revisão de literatura permitiu compreender que há uma amplitude no enfoque da tecnologia com a qualidade dos alimentos tomando como base diretrizes que norteiam o assunto nos princípios da segurança do alimento.

Resultados e Discussão

Aspectos antes pouco valorizados no consumo, como segurança do alimento, higiene, qualidade e confiabilidade dos produtos, especialmente no setor de alimentos para consumo humano, cada vez mais passaram a ser fatores de grande relevância para a tomada de decisão no momento da compra. Hoje o consumidor está preocupado em saber de onde vem o alimento consumido e como é produzido. E, sendo o consumidor final o objetivo último e primordial de qualquer sistema produtivo, as mudanças pelas quais passam, afetam em maior ou menor escala, todos os setores do sistema de qualidade alimentar (VIEIRA, 2004).

Embora a preocupação dos consumidores, a assimetria de informações é uma constante no setor de alimentos no Brasil. Visando correção deste sistema, a valorização dos atributos de qualidade, depende de comunicação e identificação dos produtos por meio de insígnias.

As insígnias distintivas além de atestarem a qualidade e identidade dos produtos de origem animal, garantem rotulagem padronizada, dentro das bases legais da ANVISA e agrega valor ao produto, baseado em Vieira *et al.*, (2015) aspectos institucionais permeiam as legislações que normatizam as certificações compulsórias de inspeção sanitária para produtos de origem animal desde a criação do RIISPOA – Regulamento da inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal no ano de 1950, com última revisão em 2015.

Segundo a Lei Federal, Nº 1283, de 18 de Dezembro de 1950, Artigo 1º “É estabelecida à obrigatoriedade da prévia fiscalização, sob o ponto de vista industrial e sanitário, de todos dos produtos de origem animal, comestíveis e não comestíveis sejam ou não adicionados de produtos vegetais, preparados, transformados, manipulados, recebidos, acondicionados, depositados e em trânsito” (BRASIL, 1950, p. 1).

De acordo com a Lei Federal Nº 7889, de 23 de Novembro de 1989, em seu Artigo. 1º “A prévia inspeção sanitária e industrial dos produtos de origem animal, de que trata a Lei nº. 1.283, de 18 de dezembro de 1950, é da competência da União, dos Estados, do Distrito Federal e dos Municípios, nos termos do artigo 23, inciso II, da Constituição” (BRASIL, 1989, p. 1).

O SIM – Serviço de Inspeção Municipal da Estância Turística de Tupã foi formatado por meio da Lei municipal nº 3.686 de 1º de julho de 1997, regulamentada pelo Decreto nº4. 729 de 20 de outubro de 1998 que possui a função de nortear a inspeção de produtos de origem animal comercializados na delimitação geográfica de âmbito municipal (permite comercialização exclusiva dentro do perímetro do município). Tal decreto definiu o brasão oficial da prefeitura municipal, seguido pela sigla (SIM) e o número de registro do estabelecimento, como o selo oficial do serviço de inspeção municipal da Estância Turística de Tupã (PM.TUPÃ, 1997).



Figura 1 - Brasão oficial da Prefeitura Municipal de Tupã estampa o selo do SIM. Fonte: PM Tupã (2016)

Já na legislação do SISP – Sistema de Inspeção do Estado de São Paulo norteia que produtos provenientes de origem animal comercializados legalmente deverão ser identificados por um rótulo quanto à sua origem e composição. O Serviço de Inspeção de Produtos de Origem Animal do Estado de São Paulo (SISP) foi implantado em 1992 em decorrência da Lei Federal nº 7889 de 1989, através da Lei Estadual nº 8208 de 1992 e regulamentado pelo Decreto Estadual nº 36964 de 1994, estando estruturado na Secretaria da Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo (SAA), na Coordenadoria de Defesa Agropecuária (CDA), vinculado ao Grupo de Defesa Sanitária Animal (GDSA) sendo designado Centro de Inspeção de Produtos de Origem Animal (CIPOA). Na

estrutura da CDA existem 40 (quarenta) Escritórios de Defesa Agropecuária (EDA) Regionais, sendo que o SISP atende nas regionais e no nível central no CIPOA.

O SISP permite comercialização intraestadual dos produtos de origem animal (somente dentro dos limites geográficos do estado de São Paulo) e seu selo de identificação pode ser observado na Figura 2.



Figura 2 - Selo de inspeção que defini a Inspeção Estadual – SP. Fonte: CDA (2016)

Em complemento, o SIF – Serviço de Inspeção Federal possui o selo mais reconhecido pelos consumidores entre todos os distintivos de inspeção sanitária para produtos de origem animal (PEREIRA *et al.*, 2015).

Por meio da Lei Federal nº 7889 de 1989, parâmetros foram delimitados e o distintivo do SIF possui permeabilidade nacional. Permite comercialização dos produtos de origem animal inspecionados por ele para todo o Brasil e os para produtos voltados à exportação.



Figura 3 – Selo de identificação do Serviço de Inspeção Federal. Fonte: MAPA (2016)

Ainda na esfera Federal, contamos com o SUASA – Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária. O sistema foi criado por meio da Lei nº 9.712, de 20 de novembro de 1998, atualmente regulamentado pelo Decreto nº 5.741, de 30/03/2006 que aprova o regulamento dos artigos 27-A, 28-A E 29-A da Lei 8.171/1991 (MAPA, 2015).

O SUASA e os Sistemas Brasileiros de Inspeção de Produtos e Insumos, possui a competência de abranger tanto a sanidade de produtos de origem animal, quanto vegetal e ainda inspeciona insumos.

Dentro do Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária está locado o SISBI – Sistema Brasileiro de Inspeção de Produtos de Origem Animal que está inserido no SUASA e normatiza todos os produtos de origem animal. O Sistema unificado só é válido nos estados da

federação que são signatários ao programa. O estado de São Paulo ainda não é adepto deste tipo de inspeção sanitária.

O SISBI permite ampla comercialização dos produtos de origem animal para todo o território nacional e para exportação e ainda possui normas diferenciadas para os pequenos produtores.



Figura 4 - Selo de inspeção SISBI – SUASA. Fonte: MAPA (2016)

Considerações Finais

Produzir e fornecer alimentos seguros são fatores que desafiam os diversos agentes envolvidos na cadeia de suprimentos alimentar. O esforço de oferecer produtos inócuos para o consumo humano, deve ser comunicado aos consumidores por meio de indicação visual (selos) de inspeção sanitária que atestem a qualidade dos alimentos de origem animal. Tal identificação é prevista na legislação, tratando-se de uma certificação compulsória que valoriza os atributos de qualidade destes alimentos.

As certificações sanitárias estão presentes nas três esferas: municipal, estadual e federal e a comercialização dos produtos inspecionados, ficam restritas as mesmas áreas de atuação do selo.

Referências bibliográficas

BRASIL. **Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950.** Inspeção industrial e sanitária dos produtos de origem animal. Disponível em < http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L1283.htm>. Acesso em 04 set. 2017.

BRASIL. **Lei Federal nº 7889, de 23 de Novembro de 1989.** Dispõe sobre inspeção sanitária e industrial dos produtos de origem animal, e dá outras providências. Disponível em < http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/LEIS/L7889.htm>. Acesso em 04 set. 2017.

CODEX ALIMENTARIUS. **Higiene dos alimentos,** Termo de cooperação nº 37. 2006. Disponível em < http://www.anvisa.gov.br/divulga/public/alimentos/codex_alimentarius.pdf>. Acesso em 03. Out. 2017.

MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária.** Disponível em < http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Aniamal/Sisbi/Legisla%C3%A7%C3%A3o%20SISBI/Manual%20de%20Identidade%20Visual%20da%20Marca%20SISBI.pdf>. Acesso em 21 set. 2017.

PEREIRA, M. E. B. G.; VIEIRA, S. C.; MORANDI, L. U.; LOURENZANI, A. E. B. S.; MACHADO, J. G. C. F. Agricultura familiar e o selo de identificação da participação da agricultura familiar (SIPAF): percepções do consumidor. **53º Congresso SOBER.** João Pessoa: 2015. Disponível em < <http://icongresso.itarget.com.br/useradm/anais/?clt=ser.5&lng=P>>. Acesso em 22 set. 2017.

PM TUPÃ. **Lei 3.686 de 1º de julho de 1997**. Serviço de Inspeção Municipal. Disponível em <<http://www.camaratupa.sp.gov.br/camver/leimun/03686.html>>. Acesso em 18 set. 2017.

VIEIRA, A.C. P.; BUAINAIN, A. M.; SPERS, E. E. A segurança do alimento e a necessidade da informação aos consumidores. **Cadernos de Direito**. Piracicaba, v. 10 (19), p. 21 a 31. Jul /dez 2010. Disponível em <<https://www.metodista.br/revistas/revistasunimep/index.php/cd/article/download/189/392>>. Acesso em 03 out. 2017.

VIEIRA, S. C.; LAMARCA, D. S. F.; BERNARDES, J. C.; FLOZI, C. N. B. Mel: estreito vínculo com as certificações compulsórias de inspeção sanitária. **Revista Omnia CPC**, v.19, n.1, p.27. 2017.

Submissão: 24/04/2018

Aceito: 03/05/2018

Revista Agrária Acadêmica

Agrarian Academic Journal

Volume 1 – Número 1 – Mai/Jun (2018)

Aplicação de fertilizantes foliares potássicos na produção e qualidade de pêssego

Application of potassium foliar fertilizers in peach production and quality

Igor Bertolini¹, Marco Aurélio de Freitas Fogaça², Lucas Dal Magro³

¹ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul – IFRS – Bento Gonçalves, RS, Brasil. igor-bertolini@hotmail.com

² Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul – IFRS – Bento Gonçalves, RS, Brasil. marco.fogaca@bento.ifrs.edu.br

³ Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS – Porto Alegre, RS, Brasil. lucas.dalmagro@yahoo.com.br

Resumo

O trabalho tem como objetivo avaliar o efeito de dois produtos à base de potássio aplicados via foliar sobre a produção e qualidade de frutos da variedade Marli cultivada em Nova Pádua na Serra Gaúcha. Os tratamentos utilizados foram: T1 (testemunha, pulverização com água), T2 (pulverização com Ubyfol K 50 +S) e T3 (pulverização com Amino Quelant - K). Em relação aos resultados, as adubações foliares potássicas não influenciaram significativamente os parâmetros analisados, como sólidos solúveis, acidez, coloração, firmeza da polpa, produtividade, tamanho e massa de frutos. Entretanto, obteve-se um efeito negativo sobre o número de frutos por planta.

Palavras-chaves: Adução potássica, nutrição foliar, Amino Quelant K, Ubyfol K 50 + S, Prunus pérsica.

Abstract

The objective of this work was to evaluate the effect of two potassium products applied via leaf on the production and quality of fruits of the Marli variety cultivated in Nova Pádua, Serra Gaúcha. The treatments used were: T1 (control, spray with water), T2 (spray with Ubyfol K 50 + S) and T3 (spray with Amino Quelant - K). Regarding the results, the potassic leaf fertilizations did not significantly influence the analyzed parameters, such as soluble solids, acidity, color, pulp firmness, productivity, fruit size and mass. However, a negative effect on the number of fruits per plant was obtained.

Keywords: Potassium fertilization, leaf nutrition, Amino quelant K, Ubyfol K 50 + S, Prunus persica.

Introdução

O pessegueiro é uma frutífera de clima temperado nativo da China, sendo este o maior produtor mundial. A região sul do Brasil, composta por Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, apresenta as melhores condições de cultivo dessa fruta, sendo o Rio Grande do Sul o maior produtor do país (MENEGOTTO, 2011).

Esta frutífera pertence à família *Rosaceae*, espécie *Prunus persicas*, que tem por características bastante aroma e sabor. A fruta é rica em vitaminas A, C e do complexo B, contém fósforo, magnésio, manganês, cobre, iodo e ferro. Apreciada tanto in natura, como em sucos, geleias e bolos. O seu consumo no mundo é favorecido pelo sabor, aparência e valor econômico (ROSSATO, 2009).

Dentre as diversas cultivares de pêsego plantado no sul do país, a cultivar Marli é uma das mais importantes. Possui como características boa produtividade, atingindo cerca de 40 Kg/planta, crescimento aberto e vigoroso, necessita de 300 horas de frio, apresentando floração tardia comparado com a maioria das outras cultivares. Os frutos são de forma cônica, com sutura desenvolvida e uma pequena ponta, a película do fruto é esverdeada com até 40 % de vermelho-escuro, a polpa é semi-aderente possuindo coloração esverdeada com manchas rosadas e vermelha ao redor do caroço. O fruto tem um calibre médio superior a 100 g, de sabor levemente adstringente, o teor de sólidos solúveis totais varia entre 12 a 14° Brix (HOFFMANN *et al.*, 2003).

O pêsego, por ser um produto perecível, é muito afetado pelas condições de manejo da cultura, principalmente no momento da colheita, onde a qualidade da fruta é essencial para uma sobrevida maior no armazenamento. No Brasil, a tecnologia de conservação do pêsego em câmara fria não avançou muito quando comparado com a cultura da maçã, que pode ficar armazenada durante vários meses, para o pêsego esse período varia de 7 a 40 dias. A temperatura de 0 °C proporciona melhores condições de conservação e durabilidade, já temperaturas acima de 2 °C apresenta rápido escurecimento e lanosidade (MITCHELL *et al.*, 1974).

No período de armazenamento, as principais causas de perdas são distúrbios fisiológicos, podridões e escurecimento da polpa, os quais são influenciados pelos teores de nutrientes que compõe o fruto no momento da colheita (HOFFMANN *et al.*, 2003). Por isso torna-se importante aplicação de fertilizantes à base de potássio e cálcio para que a fruta saia da lavoura com níveis adequados de nutrientes em seus tecidos.

O potássio e o cálcio são essenciais para maior firmeza do fruto e maiores resistências as doenças e pragas, estes elementos devem estar em equilíbrio no solo, pois, os dois nutrientes competem pelos mesmos sítios de absorção, por isso excesso de um causa deficiência de outro, sendo comprovado por Bernardi *et al.* (2000), onde testou adubação de nitrogênio, fósforo e potássio (NPK) em mudas de citros cultivadas em vasos.

Na planta, o potássio é um dos mais importantes nutrientes, sendo responsável pela abertura e fechamento dos estômatos, transporte do floema, osmorregulação, extensão celular, grande mobilidade, equilíbrio de cátions e ânions e regula absorção de água (MORAES, 2006). É absorvido na forma K^+ , possui funções essenciais no metabolismo vegetal, atuando como ativador de diversas enzimas durante a fotossíntese e a respiração, síntese proteica, turgidez das células, além de tornar as plantas mais tolerantes às secas, geadas, salinidade, doenças, pragas (TAIZ & ZEIGER, 2013).

Os principais adubos potássicos que são aplicados em coberturas são: cloreto de potássio (60 % K_2O); sulfato de potássio (48 % K_2O , 2 % de cloro, e 17 % de enxofre); nitrato de potássio (13% NO_3^- e 46% K_2O). Os produtos utilizados no experimento enquadram-se com sulfato de potássio que possui rápida assimilação pela planta e alta solubilidade em água (BISSANI *et al.*, 2004).

O potássio move-se das folhas para órgãos de armazenamento de reservas e crescimento, essa movimentação ocorre de tecidos velhos para tecidos mais jovens. A deficiência de potássio causa necrose e morte das gemas laterais. Nas folhas, os sintomas de deficiência são manchas necróticas, curvadas e secas, ocasionando pouco crescimento. As plantas tornam-se suscetíveis às doenças e pragas, ocasionando perda de rendimento (peso), qualidade e o tempo de conservação dos frutos são menores (TAIZ & ZEIGER, 2013).

Analisando este contexto, o presente trabalho busca avaliar o efeito de dois fertilizantes à base de potássio aplicados via foliar na variedade Marli cultivada na região de Nova Pádua na Serra Gaúcha, avaliando a produção e a qualidade dos frutos.

Materiais e Métodos

O experimento foi conduzido de julho a dezembro de 2015, na região da Serra Gaúcha, na cidade de Nova Pádua, Rio Grande do Sul, Brasil. Localizado nas coordenadas geográficas 29°1'31" Sul e 51°19'25" Oeste, a 569 m de altitude. O pomar conduzido em taça no espaçamento de 5 m (entrelinha) x 4 m (entre planta) com a cultivar Marli enxertado sob Capdeboscq, contendo aproximadamente 15 anos de idade.

O solo no local do experimento é classificado como Nitossolos NBd 5 e apresenta, na camada de 0-20 cm, os seguintes atributos: argila 24 %, matéria orgânica 2,8 %, pH em água 6, índice SMP 6,3, K trocável 233 mg.L⁻¹, Ca trocável 9 cmol(c).L⁻¹, Mg 4,4 cmol(c).L⁻¹, Al 0,0 cmol(c).L⁻¹, P disponível 99,6 mg.L⁻¹ (Mehlich) CQFS-RS/SC (2004).

O delineamento experimental utilizado foi blocos ao acaso com três tratamentos e seis repetições, sendo considerada uma planta como unidade experimental em um total de 18 plantas no experimento. Distribuídas em 3 blocos, considerando 3 plantas como bordadura e 2 plantas entre os tratamentos dentro de cada bloco. O T1 foi o tratamento testemunha pulverizado apenas com água, o T2 foi o tratamento utilizando o produto comercial Ubyfol K 50 +S (50% K e 16% S) e o T3 foi o tratamento que utilizou o produto comercial Amino Quelant - K (25% K e 1% N). Os produtos foram aplicados via foliar, sendo realizadas quatro aplicações espaçadas em 15 dias logo após a fixação de fruto. As aplicações dos fertilizantes foram feitas entre 10 e 12 horas da manhã, com direcionamento do produto para os frutos e folhas em volta destes, utilizando-se um pulverizador manual calibrado para 2,5 litros por planta na concentração de 1,5 g e 3 mL de fertilizante por litro para o T2 e T3, respectivamente. Todas as demais práticas de manejo foram realizadas da mesma forma para todas as plantas.

A colheita dos frutos foi no dia 01/12 pela manhã, sendo colhidos 10 frutos de cada repetição, totalizando 60 frutos em cada tratamento nos blocos avaliados e, posteriormente, os frutos foram encaminhados ao laboratório de tecnologia de alimentos do Instituto Federal do Rio Grande do Sul (IFRS), campus Bento Gonçalves, onde foram realizadas análises físico-químicas dos frutos.

Na planta, foi avaliada a produção através do número de frutos por planta, feita na colheita pela contagem individual das repetições, utilizado o resultado para o cálculo da produção por hectare. Nos frutos, foram avaliados os sólidos solúveis totais (teor de açúcar medido em °Brix através do refratômetro); acidez (titulação com hidróxido de sódio (NaOH)); massa média de frutos (pesou-se em uma balança digital a produção de cada repetição e dividiu-se pelo número de frutos por planta); tamanho de fruto (medido o calibre dos frutos com um paquímetro); textura (analisada com o penetrômetro realizando três leituras em cada fruta) e a intensidade da cor vermelha (os frutos foram avaliadas conforme sua maturação, sendo distribuídos em quatro classes).

Essas classes variaram de um fruto verde inapto para consumo (verde), fruto iniciando o estágio de maturação, fruto com maturação fisiológica visando armazenamento em câmara fria e fruto com maturação comercial, destinando-o direto ao consumidor após a colheita, respectivamente as classes I, II, III e IV.

Para determinação da acidez titulável e o teor de sólidos solúveis cortaram-se os frutos em diversos pedaços e para obtenção do suco utilizou-se uma centrífuga. Com o auxílio do refratômetro e um pouco de suco determinou-se o teor de sólidos solúveis, expresso em °Brix. A acidez foi realizada pelo processo eletrométrico, através do pHmetro, onde foi misturado 10 mL de suco e 90 mL de água destilada em um Becker, titulando a mistura com 0,1 M de NaOH até alcançar pH 8,1 com auxílio de um pHmetro (AOAC, 2011). Os valores de NaOH gastos em cada amostra foram convertidos em gramas por litro de ácido cítrico, utilizando a equação abaixo:

$$\text{Acidez (ácido cítrico)} = \frac{V \times f \times 100}{P \times c} \times 0,064$$

Onde:

V = volume gasto de NaOH (mL)

f = molaridade da solução de NaOH (mol.L⁻¹)

P = volume de amostra (mL ou g)

c = correção da solução de 0,1 M de NaOH

As avaliações fenológicas, para obtenção da estimativa da quantidade de frutos fixados baseado na floração das plantas, foram realizadas conforme descrito por Segantini (2010). Início da brotação quando houver 5 % de pontas verdes; Início, plena e fim da floração quando houver 5 %, acima de 50 % e quando não houver mais flores, respectivamente; Início do amadurecimento quando 5 % dos frutos estiverem trocando de cor; Início da colheita, primeira colheita, e fim da colheita, última colheita.

As variáveis de produção quantitativa e qualitativa foram submetidas à análise de variância e ao teste de Tukey ao nível de significância de 5 % de probabilidade.

Resultados e Discussões

Em relação aos resultados de produtividade, como pode ser observado na tabela 1, a testemunha apresentou um maior número de frutos, diferenciando-se estatisticamente dos demais tratamentos. Porém, a produtividade por planta não foi afetada, devido à pequena superioridade da massa de frutos para os tratamentos com os adubos foliares, os quais obtiveram 149 g (Amino Quelant K), 147 g (Ubyfol K 50 + S) e 141 g para a testemunha, compensando assim, o menor número de frutos, não tendo diferença significativa em relação à produção por hectare.

Essa maior fixação de fruto para a testemunha pode ser explicado pelas condições climáticas de excesso de chuva e pouca luminosidade ocorridas na semana de 16/08, onde a testemunha

apresentava 80 % das flores abertas, enquanto as plantas com os tratamentos Ubyfol K 50 e Amino Quelant K apresentavam cerca de 70 % da floração. Nos dias subsequentes, o excesso de chuva ocasionou abortamento floral, o que pode ter afetado de modo diferente cada tratamento em termos de fixação de frutos, pois, um dos principais fatores responsáveis pela fixação de frutos está relacionado com a disponibilidade de carboidratos no período da queda de pétalas, dias com pouca luminosidade e baixas temperaturas limitam o fluxo de carboidratos reduzindo a fixação de frutos (ROBINSON & LAKSO, 2011).

Outro parâmetro analisado foi o calibre do fruto, característica importante para a comercialização, visto a grande preferência dos consumidores por uma fruta de calibre médio a grande com boa coloração. Em relação aos resultados, foi constatado um calibre superior para os tratamentos que receberam aplicação foliar, destacando o tratamento com Amino Quelant K, entretanto os resultados não diferenciaram estatisticamente entre os tratamentos (Tabela 1).

Tabela 1. Aspectos produtivos avaliados nos pessegueiros da variedade Marli, submetidos a diferentes adubações foliares em Nova Pádua, Serra Gaúcha, na safra 2015.

Tratamentos	Massa de Fruto (g)	Calibre (mm)	Número de frutos	Produtividade (t/ha)
Testemunha	141 ^{a1}	60,70 ^a	323,5 ^a	45,33 ^a
Ubyfol K 50 + S	147 ^a	60,93 ^a	303,5 ^b	44,33 ^a
Amino Quelant K	149 ^a	61,97 ^a	301,0 ^b	44,83 ^a
CV (%)	4,99	2,94	1,63	3,84

⁽¹⁾Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey 5 %.

Os resultados de produtividade obtidos no trabalho corroboram com Francisconi *et al.* (1996) e Trevisan *et al.* (2008), onde também não observaram resultados significativos, ao utilizarem aplicação foliar potássica em macieira e pessegueiro. No entanto, Hunsche et al (2003), trabalhando com macieiras, encontraram resultados positivos para essas variáveis através da adubação foliar potássica. Segundo esses autores a maior disponibilidade de potássio para as plantas tendem a propiciar maior peso e calibre dos frutos, enquanto que a deficiência desse nutriente diminui a síntese de carboidratos nas folhas, limitando assim um desenvolvimento adequado dos órgãos vegetativos e frutíferos.

Em relação aos aspectos qualitativos, os frutos obtidos pelos tratamentos com potássio não diferenciaram estatisticamente da testemunha (Tabela 2). Resultado similares também foram

encontrados por Francisconi et al (1996) e Trevisan et al (2006) ao testarem poda verde e adubação potássica no pêsego.

Muito desses resultados, também podem estar ligado às condições climáticas no período de maturação. O pêsego para atingir excelente qualidade necessita de grande luminosidade solar ao longo do dia e temperaturas mais amenas à noite, durante o período de maturação. Segundo Bernadi *et al.* (2000), essas condições favorecem aumento nos teores de açúcares e coloração mais intensa, tendo assim frutos com ótima coloração e boa relação sólidos solúveis/acidez total, ou seja, frutos com excelente aceitação pelo consumidor.

A relação entre sólidos solúveis e acidez é importante para estabelecer um padrão de qualidade das frutas, buscando uma fruta relativamente doce e com baixa acidez. Meredith *et al.* (1989) relatam que a relação SS/AC deve ser igual ou maior que 15 para ser uma fruta de alta qualidade. Os resultados do experimento não mostraram diferenças significativas para os tratamentos com adubação foliar (Tabela 2), situando-se dentro dos padrões de comercialização, o que indica que os níveis de potássio disponibilizados as plantas via solo foram suficientes.

O potássio tem por característica aumentar os níveis de acidez das frutas quando disponibilizados as plantas por aplicações foliares (ANDRIOLO *et al.*, 2010), entretanto, não foi observado diferenças significativas para os tratamentos (Tabela 2). Além disso, acidez pode aumentar ou diminuir de safra para safra influenciado pelas condições climáticas (TREVISAN *et al.*, 2006). Estes autores também não observaram variação nos teores de acidez ao testarem três dosagem de adubação potássica com cloreto de potássio (KCl) tanto no solo como foliar, comparando com testemunha, corroborando com os dados obtidos no experimento.

Para o parâmetro firmeza da polpa, os tratamentos com adubação foliar potássica não apresentaram melhorias quando comparados à testemunha (Tabela 2). Como o ponto de colheita foi definido como aquele que seria o ideal para o armazenamento em câmara fria, este fator influenciou diretamente aos resultados, conferindo maior firmeza as frutas. Esse nível de maturação propicia uma menor ação dos hormônios ligados à maturação, como o etileno, que ativa as enzimas degradadoras de parede celular, resultando assim, em frutos mais firmes (JOHNSTON *et al.*, 2002). Lysiak & Pacholak (1999) e Hunsche (2003) encontraram resultados semelhantes ao testaram influência da adubação potássica no solo visando maior qualidade da macieira.

A coloração da fruta é uma característica importante para atrair o consumidor, possibilitando aos frutos de boa coloração facilidade de comercialização, principalmente no período de safra. Os pigmentos que conferem a coloração dependem das características intrínsecas da cultivar, das condições ambientais e de cultivo, como luminosidade no interior da copa das plantas, poda, raleio,

porta-enxerto, densidade de plantio e manejo do solo (BYRNE *et al.*, 1991). Como o pêssego é uma fruta climatérica, apresenta-se bastante sensibilidade aos danos pós-colheita, o qual requer que as frutas sejam colhidas em um ponto de maturação fisiológica mais cedo quando comparado com as frutas destinadas diretamente ao mercado consumidor, pensando assim, em armazenamento do fruto.

Tabela 2. Aspectos qualitativos avaliados nos pêssegos da variedade Marli, submetidos a diferentes adubações foliares em Nova Pádua, Serra Gaúcha, na safra 2015.

Tratamentos	Firmeza de polpa (Kg/F)	Sólidos Solúveis (°Brix)	Acidez (g.ml ⁻¹)	Relação SST/AT
Testemunha	8,02 ^{a1}	10,29 ^a	0,41 ^a	25,09 ^a
Ubyfol K 50 + S	8,63 ^a	10,45 ^a	0,44 ^a	23,75 ^a
Amino Quelant K	7,93 ^a	10,42 ^a	0,40 ^a	26,05 ^a
CV (%)	10,58	3,92	7,47	8,90

⁽¹⁾Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey 5 %.

De acordo com Girardi *et al.* (2000), a porcentagem de coloração vermelha, é definido pela genética de cada cultivar, porém, a maior influência na coloração está relacionada a quantidade de luminosidade que a fruta recebe. Para os resultados do experimento, a coloração dos pêssegos apresentou uma tendência à cor vermelha mais intensa nos tratamentos com aplicação de potássio (Tabela 3), concordando Hunsche (2003) e Trevisan (2008,) quando comparados à testemunha. Porém, estatisticamente não se constatou diferença significativa, concordando com Gazolla-Neto *et al.* (2007) que pulverizou Kristasol[®] na folha e não observou diferenças da testemunha.

Tabela 3. Classes de intensidade de cor (Classificação dos pêssegos pela coloração) dos pêssegos da variedade Marli, submetido a diferentes adubações foliares em Nova Pádua, Serra Gaúcha, na safra 2015.

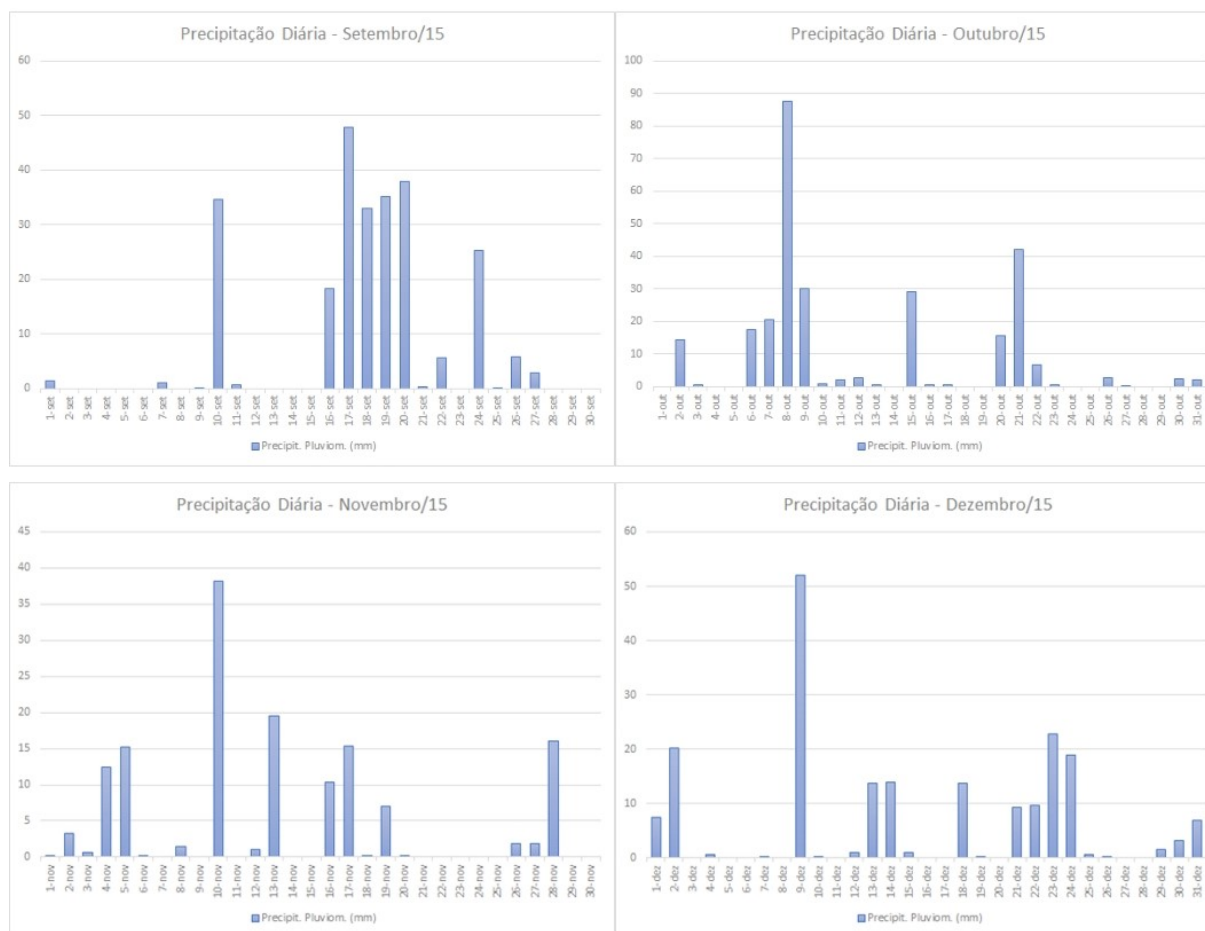
Tratamentos	Classes de coloração			
	I	II	III	IV
Testemunha	3,00 ^{a1}	3,16 ^a	2,50 ^a	1,33 ^a
Ubyfol K 50 + S	2,33 ^a	2,66 ^a	3,00 ^a	2,00 ^a
Amino Quelant K	2,16 ^a	2,50 ^a	2,83 ^a	2,50 ^a
CV (%)	31,83	22,45	34,57	57,33

⁽¹⁾Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey 5 %.

As adubações foliares potássicas ocorreram nos dia 18/10, 01/11, 15/11, 29/11. A primeira e a última aplicação foram beneficiadas com dois dias de boa luminosidade, já a segunda e a terceira aplicação foram prejudicadas por precipitação e nebulosidade nos dias subsequentes a pulverização (Figura 1). Os fertilizantes foliares são de rápida assimilação pela planta, porém esse efeito varia em função da disponibilidade de luz (OLIVEIRA JUNIOR *et al.*, 1995), o que pode ter afetado a eficiência dos tratamentos. Através da figura 1, pode-se notar que nos meses de setembro, outubro, novembro e dezembro as condições climáticas não foram ideais para o desenvolvimento das plantas, devido ao excesso de chuvas.

Outro fator que explicaria a falta de resposta às adubações foliares, pode ser o fato de o potássio atuar no transporte de nutrientes, água, açúcares, formação de amido, proteínas e fotossíntese, portanto, altas taxas fotossintéticas são importantes para utilização da adubação fornecida (TAIZ & ZEIGER, 2013). Assim, como houve restrição da luminosidade pelo excesso de chuva, também houve menores taxas fotossintéticas e menor crescimento, culminando na ausência de resposta as adubações foliares aplicadas quando comparado com a testemunha.

Figura 1. Precipitações diárias no período de floração, frutificação e maturação. Fonte: Embrapa, 2016.



Além disso, os solos da Serra Gaúcha apresentam elevados índices de potássio, exigindo menores adubações desse nutriente. No caso da área estudada os níveis de potássio, segundo análise estão elevados, atingindo 233 mg.L^{-1} , teores que não recomendariam adubação via solo. Segundo a CQFS-RS/SC (2004), estas elevadas concentrações de potássio no solo restringem possíveis respostas as adubações foliares.

Conclusões

Adubação foliar potássica influenciou negativamente o número de frutos por planta, resultados que esta diretamente ligada às condições climáticas do período de floração. Entretanto, esse aspecto não afetou na produtividade final.

As demais variáveis respostas, coloração, acidez, teor de sólidos solúveis, firmeza de polpa, produtividade, peso e calibre do fruto não diferiram estatisticamente da testemunha.

Os níveis de potássio encontrados no solo do experimento parecem ser suficientes para manter os níveis de produtividade e qualidade dos pêssegos.

Para a obtenção de resultados mais sólidos, mais estudos fazem-se necessários, visto a grande influência do clima da região sobre os aspectos produtivos e qualitativos analisados.

Referencias bibliográficas

ANDRIOLO, J.L.; JANISCH, D.I.; SCHMITT, O.J.; PICLO, M.D.; CARDOSO, F.L.; ERPEN, L. Doses de potássio e cálcio no crescimento da planta, na produção e na qualidade de frutas do morangueiro em cultivo sem solo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 2, p. 267-272, 2010.

AOAC – Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 18. Ed. Maryland: AOAC International, 2011.

BERNARDI, A.C.C.; CARMELLO, Q.A.C.; CARVALHO, S.A. Macronutrientes em mudas de citros cultivadas em vasos em resposta à adubação NPK. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 4, p. 761-767, 2000.

BISSANI, C.A.; GIANELLO, C.; TEDESCO, M.J.; CAMARGO, F.A. O. **Fertilidade dos solos e manejo da adubação das culturas**. Porto Alegre, Gênese, 2004. 328p.

BYRNE, D.H.; NIKOLIC, A.N.; BURNS, E.E. Variability in sugars, acids, firmness, and color characteristics of peach genotypes. **Journal American Society Horticultural Science**, Alexandria, v. 116, p.1004-1006, 1991.

CQFS-RS/SC - COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO RS/SC. **Manual de adubação e de calagem para Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina**. 10. ed. Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo - Núcleo Regional Sul, 2004. 400p.

Embrapa Uva e Vinho. **Boletim meteorológico**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/uva-e-vinho/dados-meteorologicos/bento-goncalves>>. Acesso em: 04 de março de 2016.

FRANCISCONI, A.H.D.; BARRADAS, C.I.N.; MARODIN, G.A.B. Efeito da poda verde na qualidade do fruto e na produção de pessegueiro cv. Marli. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.31, n.1, p.51-54, 1996.

GAZOLLA-NETO, A.; GIACOBBO, C.L.; PAZZIN, D.; FACHINELLO, J.C. Qualidade do pêssego, cv. Maciel, em função de adubação de base mais foliar. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 8, n. 3, p. 233-237, 2007.

GIRARDI, C.L.; ROMBALDI, C.V.; PARUSSOLO, A.; DANIELI, R. **Manejo pós-colheita de pêssegos cultivar Chiripá**. Circular Técnica, 28. Bento Gonçalves: EMBRAPA, 2000. 36 p.

HOFFMANN, A; BERNARDI, J.; RASEIRA, M. C. B.; SIMONETTO, P. R. **Sistema de produção de pêssego de mesa na região da Serra Gaúcha**. Sistema de Produção n. 3, Embrapa Uva e Vinho, 2003.

HUNSCHE, M.; BRACKMANN, A.; ERNANI, P.R. **Efeito da adubação potássica na qualidade pós-colheita de maçãs Fuji**. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 4, p. 489-496, 2003.

JOHNSTON, J.W.; HEWETT, E.W.; HERTOOG, M.L.A.T.; HARKER, F.R. Temperature and ethylene affect induction of rapid softening in 'Granny Smith' and 'Pacific RoseTM' apple cultivars. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 25, n. 3, p. 257-267, 2002.

LYSIAK, P.G.; PACHOLAK, E. Effects of 13 years soil fertilisation on storage quality of 'Cortland' apples. **Acta Horticulturae**. v. 485, p. 265-272, 1999.

MENEGOTTO, G. **Melhoramento Genético do Pêssego**. 2011. 31f. Trabalho de conclusão (Tecnologia em Horticultura) - Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul, Bento Gonçalves, 2011.

MEREDITH, F.I.; ROBERTSON, J.A.; HOVART, R.J. Changes in physical and chemical parameters associated with quality and postharvest ripening of Harvester peaches. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 37, n. 5, p. 1.210-1.214, 1989.

MITCHELL, F.G.; MAYER, G.; MAXIE, E.C.; COATES, W.W. Cold storage effects on fresh market peaches, nectarines e plums. **California Agriculture**, Oakland, v.28, n.10, p.12-14, 1974.

MORAES, I.V.M. **Cultivo de hortaliças**. Dossiê Técnico. Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro, Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas – SBRT, 2006, 27p.

OLIVEIRA JUNIOR, J.A. de; RÊGO, I.C.; SCIVITTARO, W.B.; LIMA FILHO, O.F.; STEFANUTTI, R.; GONZÁLES, G.R.; BOARETO, A.E. **Efeito de fontes e de aditivos na absorção de ³⁵S via foliar pelo feijoeiro**. **Scientia Agrícola**. Piracicaba, v. 52, n. 3, p.452-457, 1995.

ROBINSON, T.L.; LAKSO, A.N. Predicting Chemical Thinner Response with a Carbohydrate Model. **Acta Horticulturae**, v. 903, p. 743-750, 2011.

ROSSATO, S.B. **Potencial antioxidante e compostos fenólicos de pêssegos (Prunus pérsica L.Batsch)**. 2009. 98f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio Grando do Sul, Porto Alegre, 2009.

SEGANTINI, D.M. **Fenologia, produção e qualidade dos frutos de cultivares de pessegueiro (Prunus pérsica L. Bastch) em São Manuel – SP**. 2010. 99f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954 p.

TREVISAN, R.; HERTER, F.G.; COUTINHO, E.F.; GONÇALVES, E.D.; SILVEIRA, C.A.P.; FREIRE, C.J.S. Uso de poda verde, plásticos refletivos, antitranspirante e potássio na produção de pêssegos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n. 10, p. 1485-1490, 2006.

TREVISAN, R.; GONÇALVES, E.D.; GONÇALVES, R.S.; ANTUNES, L.E.C.; HERTER, F.G. Influência do plástico branco, poda verde e amino quelant®-K na qualidade de pêssegos 'Santa Áurea'. **Bragantia**, Campinas, v. 67, n. 1, p. 243-247, 2008.

Submissão: 26/02/2018

Aceito: 20/03/2018

Revista Agrária Acadêmica

Agrarian Academic Journal

Volume 1 – Número 1 – Mai/Jun (2018)

***Salmonella* spp., bactérias heterotróficas, coliformes e *Escherichia coli* em fubá milho e derivados após estocagem doméstica**

Salmonella spp., heterotrophic bacteria, coliformes and *Escherichia coli*
in fuba corn and derivatives after domestic storage

Camila Maria Coutinho Moura^{*1}, Lígia Calina Rocha Pires Ferreira², Rafael Gomes Abreu Bacelar³,
Maria Christina Sanches Muratori⁴

^{*1} Departamento de Morfofisiologia Veterinária, Universidade Federal do Piauí – UFPI – Teresina/Piauí – Brasil, cahmila@live.com

² Departamento de Morfofisiologia Veterinária, Universidade Federal do Piauí – UFPI – Teresina/Piauí – Brasil, ligia_calina@hotmail.com

³ Departamento de Morfofisiologia Veterinária, Universidade Federal do Piauí – UFPI – Teresina/Piauí – Brasil, rafael.bacelar@hotmail.com

⁴ Departamento de Morfofisiologia Veterinária, Universidade Federal do Piauí – UFPI – Teresina/Piauí – Brasil, chrismuratori@uol.com.br

Resumo

Objetivou pesquisar *Salmonella* spp., bactérias heterotróficas, enumeração de coliformes e de *Escherichia coli* em fubá de milho comercializado na zona urbana de Teresina e avaliar após armazenamento em condições domésticas. As amostras foram coletadas de quatro grupos de supermercados, escolhidos de forma aleatória e as análises laboratoriais foram realizados no Núcleo de Estudos, Pesquisas e Processamentos de Alimentos da Universidade Federal do Piauí. Em nenhuma das amostras houve identificação de *Salmonella* spp e *Escherichia coli*. As amostras de fubá milho analisadas estavam adequadas para o consumo e que a estocagem doméstica não permitiu a multiplicação de micro-organismos.

Palavras Chaves: Armazenamento. Higiene. Bactérias. *Zea mays* L.

Abstract

The objective of this study was to investigate *Salmonella* spp., Heterotrophic bacteria, enumeration of coliforms and *Escherichia coli* in maize corn meal commercialized in the Teresina urban area and evaluate after storage in domestic conditions. Samples were collected from four randomly selected supermarket groups and Laboratory analyzes were performed at the Nucleus of Studies, Research and Food Processing of the Federal University of Piauí. None of the samples identified *Salmonella* spp and *Escherichia coli*. The samples of maize corn analyzed were adequate for consumption and that domestic storage did not allow the multiplication of microorganisms.

Keywords: Bacteria, Storage, Corn Meal, Hygiene.

Introdução

O fubá é resultado da moagem do milho (*Zea mays* L.) sendo usado na formulação e fabricação de outros gêneros alimentícios (PAES, 2006). Devido ao manuseio, pode ser passível de contaminação microbiana em qualquer etapa do processamento (RIBEIRO, et al 2003).

A presença de bactérias heterotróficas é indicativa de das condições higiênicas, que são significativas para a avaliação da segurança e qualidade microbiológica (MONTE, 2009) que o alimento foi processado, armazenado e distribuído (FAO, 2008). Na análise da qualidade de alimentos o grupo Coliforme também indica as condições higiênicas do processamento. São bactérias em formato de bastonete Gram negativos, anaeróbios facultativos viáveis, fazem parte deste grupo os gêneros: *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* e *Klebsiella* (BETTEGA, 2006). A presença de *Escherichia coli* em alimentos indica contaminação fecal por ser encontrada em grande quantidade no trato gastrointestinal do homem e animais (SILVA; CAVALLI; OLIVEIRA, 2006).

Ocorrências de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) vêm sendo pauta de discussões nos últimos anos principalmente devido a preocupação mundial com estratégias que permitam o controle e seguridade dos produtos no mercado (SILVA; CAVALLI; OLIVEIRA, 2006). A salmonelose é um problema de saúde pública, uma zoonose comum e economicamente importante (WHO, 2010). Considerada como o principal agente envolvidos em surtos de origem alimentar nos Estados Unidos (CDC, 2012) e no Brasil (GARCIA, 2013). *Salmonella spp* são micro-organismos amplamente distribuídos na natureza, sendo o homem e os animais seus principais reservatórios naturais (BORSOI, FRANÇA e GONÇALVES, 2011).

A análise da vida de prateleira do alimento legitima o consumo com suas características sensoriais, físicas, químicas e funcionais do padrão do alimento, (ZUNIGA et al 2011). O condicionamento errôneo dos alimentos é um dos fatores de risco à saúde humana, em virtude da vulnerabilidade de exposição que proporciona contato com veiculadores de micro-organismos causadores de DTA provocando modificações organolépticas e nutricionais nos alimentos (ANDRADE; NASCIMENTO, 2005). Deste modo, este trabalho objetivou avaliar a higiene e sanidade do fubá de milho comercializado em Teresina, PI após a aquisição e após armazenamento em condições domésticas até o prazo de validade.

Material e Métodos

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Controle Microbiológico de Alimentos do Núcleo Estudos, Pesquisas e Processamentos de Alimentos – NUEPPA no Centro de Ciências Agrárias (CCA) na Universidade Federal do Piauí (UFPI).

A aquisição e análise inicial das amostras de fubá de milho relacionadas à quantificação das bactérias heterotróficas e coliformes nas amostras do grupo controle das amostras de fubá de milho, bem como isolamento e identificação de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp., foi realizada da seguinte forma:

Na primeira etapa do projeto foram coletadas 40 amostras de fubá de milho em embalagens de 500 g comercializadas em quatro redes de supermercados de Teresina sorteados aleatoriamente dentro da zona urbana da cidade, denominadas “A”, “B”, “C” e “D”. Em cada supermercado foram compradas duas amostras de marcas aleatórias (MC, MS, MY e MV) que estavam à disposição dos clientes nas prateleiras. No momento da aquisição das amostras foram observadas as condições de vendação.

Em seguida as amostras eram encaminhadas ao Laboratório de Controle Microbiológico de Alimentos do Núcleo Estudos, Pesquisas e Processamentos de Alimentos - NUEPPA da UFPI, para realização das análises. As coletas e as análises laboratoriais do grupo controle foram realizadas de outubro de 2013 a fevereiro de 2014.

Após sementeira das amostras o restante do conteúdo da embalagem foi transferido para um depósito plástico destinado a alimentos de primeiro uso com tampa, que foi armazenado pelo tempo de validade declarada no rótulo. Próximo ao vencimento declarado, as amostras estocadas foram analisadas de forma semelhante ao grupo controle.

No Laboratório foi transferida assepticamente uma porção de 25g da amostra de fubá de milho, para um frasco com 225 mL de água peptonada a 0,1%, formando diluição inicial (10^{-1}). A partir desta, foram preparadas diluições decimais seriadas até 10^{-3} .

Para contagem de bactérias heterotróficas mesófilas, retirou-se alíquotas de 1,0 mL de cada uma das três diluições preparadas anteriormente e transferidas para placas de Petri esterilizadas, acrescentada de ágar padrão para contagem. Após solidificação do ágar as placas foram incubadas invertidas a 35 a 37°C por 48 horas. Posteriormente foi feita a contagem das colônias apresentadas e o resultado foi expresso em unidades formadoras de colônias por grama de amostra (UFC/g) (ELLIOT; RYSER; SCHUMAN; 2013).

Para coliformes totais e termotolerantes foi utilizado o método dos tubos múltiplos e para cada amostra foram transferidas alíquotas de 1,0 mL das diluições previamente preparadas para

tubos contendo caldo lauril triptose que posteriormente foram incubados em estufa a 37°C por 48 horas. Os tubos com resultado positivo foram repicados com alça de platina para tubos com caldo Verde e Brilhante e EC e em seguida incubados em banho-maria a 37° por até 48h e 45,5°C por 24 horas respectivamente. Os tubos de EC positivos foram plaqueados em ágar eosina azul de metileno (EMB) incubado a 37°C por 24 horas. Uma vez que não houve a formação de colônias características nas placas, não foi feito os testes bioquímicos (KORNACKI, GURLER, STAWICK, 2013).

Na pesquisa de *Salmonella* spp. os frascos contendo a diluição 10⁻¹ com água peptonada a 0,1% foram incubados a 37°C por 24 horas. Na sequência, alíquotas com 0,1 mL e 1,0 ml foram transferidas respectivamente para os caldos de enriquecimento seletivo: Rappaport-Vassiliadis e selenito-cistina, para serem incubados a 37°C por 24 horas. Depois da incubação, a partir dos tubos, foram semadas placas de Petri com ágar *Salmonella-Shigella* e ágar Hektoen que foram incubadas por 24 horas a 37°C. A partir das colônias características foi realizada a triagem bioquímica nos meios: ágar TSI e ágar LIA incubados a 37°C por 24 horas. Não houve necessidade de realizar os testes bioquímicos, pois não houve a formação de colônias caraterísticas nas placas (COX, 2013).

As análises microbiológicas: pesquisa de *Salmonella* spp., contagem de bactérias heterotróficas mesófilas e enumeração de coliformes a 37°C e de *Escherichia coli*. foram armazenadas em condições de uso doméstico e próximo ao prazo de validade foram analisadas de forma semelhante a descrita anteriormente para o grupo controle.

Os dados obtidos das contagens foram transformados em $\log_{10}^{(x+1)}$ em seguida analisados segundo os procedimentos do software Sigma Stat 3,5 e submetidos à análise de variância e comparação de médias pelo SNK, a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Todos os supermercados visitados apresentavam características higiênicas adequadas, as mercadorias aparentemente estavam expostas a venda conforme estabelecidos pelos fabricantes das marcas de fubá de milho analisadas. Estes produtos eram dispostos em prateleiras, nas sessões específicas separadas de outros produtos, abrigadas da luz e do calor.

Com base nos resultados para Contagem de Bactérias Heterotróficas Mesófilas (CBH) representado na Tabela 1, pode se observar que houve diferença significativa ($P < 0,05$) na contaminação entre o grupo controle e o grupo estocado, uma vez que houve uma redução na quantidade numérica de micro-organismos. Entre as marcas do grupo controle não houve diferença

significativa ($P < 0,05$), em virtude das médias para CBH apresentam-se estatisticamente iguais. O mesmo resultado foi encontrado para as análises do grupo estocado.

O Ministério da Saúde (BRASIL, 2001) não determina limites de tolerância para contagem padrão de bactérias mesófilas para farinhas, amidos, féculas e fubá, assim os valores encontrados não podem ser comparados a um padrão, Leitão et al (1988) consideram inadmissível valores variando entre 10^4 e 10^6 UFC por g^{-1} , desta forma as amostras de fubá de milho analisadas apresentam boas condições higiênicas para CBH tanto no momento da compra como depois de um período de armazenamento doméstico.

Tabela 1. Média e desvio padrão da contagem de bactérias heterotróficas mesófilas em amostras de fubá de milho comercializado em Teresina, PI após a compra e depois de estocagem doméstica.

Marcas	Análise após compra (Grupo Controle) (UFC/g)	Análise após estocagem doméstica (Grupo estocado) (UFC/g)
MS	2,85 ^{aA} ± 0,43	0,43 ^{bA} ± 0,59
MY	2,43 ^{aA} ± 0,53	1,81 ^{bA} ± 0,49
MC	2,69 ^{aA} ± 0,55	1,79 ^{bA} ± 0,45
MV	3,15 ^{aA} ± 0,39	1,71 ^{bA} ± 0,48

Letras minúsculas representam comparação na mesma linha, letras maiúsculas na mesma coluna Resultados em médias ± Desvio Padrão UFC/g em $\log_{10}^{(x+1)}$ ($P = < 0,05$); UFC/g Unidade Formadora de Colônia por grama

Sabe-se que a secagem decorrente dos processos de desidratação das matérias prima interrompe o desenvolvimento microbiano, porém não é suficiente para eliminar todos os microorganismos presente no alimento (BLACK, 2002). A baixa atividade microbiológica verificada pode ser atribuída à característica dos alimentos desidratados, em que a redução da microbiota viável é acentuada, pela baixa atividade de água encontrada. Tabela 2.

Tabela 2. Média da atividade de água das amostras de fubá de milho comercializadas em Teresina, PI após a compra e depois de estocagem doméstica

Marcas	Análise após compra (Grupo Controle)		Análise após estocagem doméstica (Grupo Estocado)	
	Atividade de água	Temperatura (°C)	Atividade de água	Temperatura(°C)
MS	0,38	23,7	0,44	23,4
MY	0,28	24,1	0,41	22,5
MC	0,32	22,9	0,43	24,1
MV	0,38	23,5	0,38	23,8
Total	0,35	23,5	0,43	23,6

Os resultados deste trabalho diferem dos resultados encontrados por Tsav-Wua et al (2004) na qual encontrou uma quantificação bacteriana com variação de 3,43 a 7,08 UFC/g em log 10 em farinha de mandioca que segundo Lima et al (2007) esta variação nos valores encontrados pode estar relacionada tanto às condições de processamento, manipulação e equipamentos, quanto às de comercialização e distribuição.

Após estudo microbiológico com farinhas de mandioca, Ferreira Neto et al (2004) conclui que as amostras analisadas de farinhas simples e temperadas, apresentaram as mesmas características microbiológicas, tanto no início, como ao longo do armazenamento, se justificando pelo atributo da farinha de mandioca apresentar teor de umidade maior que a do fubá de milho como também sua variação conforme o tipo de embalagem utilizada. Segundo Cereda e Vilpoux (2003), o tipo de embalagem utilizada e às condições de armazenamento são fatores muito importantes que evitam que a farináceos reabsorva umidade.

Balbani e Butugan (2001) em seu experimento encontraram, em 79% das amostras de fubá analisadas, um aumento da contaminação, concluindo que falhas nas condições de armazenamento podem ser constatadas não só pela proliferação de micro-organismo, como também pela presença de insetos e ácaros resultando na deterioração do alimento. Assim, através dos resultados obtidos neste estudo, por não haver aumento na contagem bacteriana, conclui-se que o modo de armazenamento foi eficaz por não permitir a multiplicação bacteriana.

Conforme disposto na Tabela 3, houve diferença significativa ($P < 0,05$) para contagem de coliformes totais entre as marcas do grupo controle, onde a marca MV apresentou-se com maior contaminação em relação às demais marcas, enquanto que a marca MY com menor contaminação. Após o período de estocagem não houve diferença significativa entre as médias das marcas analisadas demonstrando que os níveis de contaminação foram iguais entre elas. Os resultados também indicam que houve diferença estatística entre as médias do grupo controle e do grupo estocado, na qual as marcas do grupo estocado apresentavam uma redução na contaminação, excluindo a marca MS, esta não alterou a contaminação.

Da Silva (1997) afirmou que alimentos livres de contaminação são adequados para o consumo e é um direito de toda pessoa, sendo uma atenção a saúde, tornado-se então uma questão de saúde pública. Apesar de não haver limites máximos para coliformes totais, Delazari (1998) ressalta que a presença de coliformes é utilizada para identificar as condições higiênicas na qual o alimento foi processado e armazenado. Essa contaminação, além de identificar as más condições higiênicas do produto, inutiliza os mesmos para consumo.

Tabela 3. Média e desvio padrão Coliformes totais e termotolerantes. *Escherichia coli* expresso em ausência ou presença em amostras de fubá de milho comercializado em Teresina, PI após a compra e depois de estocagem doméstica

Marcas	Coliformes Totais		Coliformes Termotolerantes (45° C)		Escherichia coli	
	Análise após compra (Grupo Controle) (NMP)	Análise após estocagem doméstica (Grupo Estocado) (NMP)	Análise após compra (Grupo Controle) (NMP)	Análise após estocagem doméstica (Grupo Estocado) (NMP)	Análise após compra (Grupo Controle) (NMP)	Análise após estocagem doméstica (Grupo Estocado) (NMP)
MS	1,74 ^{aAB} ± 0,14	0,87 ^{aA} ± 0,46	0,19 ^{aA} ± 0,41	0,70 ^{aA} ± 0,46	Ausente	Ausente
MY	1,20 ^{aB} ± 0,71	0,39 ^{bA} ± 0,62	0,40 ^{aA} ± 0,52	0,43 ^{aA} ± 0,49	Ausente	Ausente
MC	1,53 ^{aAB} ± 0,53	0,83 ^{bA} ± 0,53	0,56 ^{aA} ± 0,53	0,53 ^{aA} ± 0,57	Ausente	Ausente
MV	2,18 ^{aA} ± 0,67	0,88 ^{bA} ± 0,67	0,75 ^{aA} ± 0,17	0,32 ^{aA} ± 0,37	Ausente	Ausente

Letras minúsculas representam comparação na mesma linha, letras maiúsculas na mesma coluna Resultados em médias ± Desvio Padrão (P= < 0,05); NPM Número mais provável

Para a contagem de coliformes termotolerantes, não houve diferença significativa (P < 005) entre a contagem do grupo controle e do grupo estocado, assim presumi que os níveis de contaminação permaneceram iguais antes e após a estocagem das amostras e nenhuma marca ultrapassou os limites permitidos pela resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 de 10²/g (BRASIL, 2001)

Em estudos realizados por Prado *et al.* (2005) ao analisar diversos farináceos embalados teve os resultados semelhantes ao deste trabalho, aonde somente em marcas de fubás foram encontrados coliformes termotolerantes, entretanto, os valores encontrados excederam os limites estabelecidos pela ANVISA.

O grupo de bactérias coliformes é, sem dúvida, o mais significativo, pelo papel que exercem como indicadores de poluição fecal (CHISTÉ *et al.* 2007). A presença de coliformes termotolerantes nos alimentos pode indicar a presença de uma grande variedade de patógenos entéricos, como contaminação pela manipulação, transporte e acondicionamentos do alimento de forma inadequada e a presença de *Escherichia coli* é um indício de contaminação fecal (WRIGHT, WEBB, HIGHLEY, 2003).

De acordo com os dados expressos para pesquisa *Escherichia coli*, na Tabela 3, todas as amostras analisadas foram ausente para *E. coli*, portanto, as amostras estavam dentro do padrão

recomendado pela Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001, na qual o resultado para *E. coli* deve ser ausente em 25g da amostra (BRASIL, 2001). Essa ausência pode ser explicada pela baixa atividade de água encontrada nas amostras, de acordo com os dados da Tabela 2. uma vez que a atividade de água mínima para crescimento de *Escherichia. coli* é de 0,95 (MITTELSTAED; CARVALHO, 2006), valor este abaixo do encontrado nas amostras analisadas.

Escherichia. coli, indicadora mais representativa de contaminação fecal, é uma bactéria que presume contaminação causada por roedores durante a estocagem dos alimentos (WRIGHT, WEBB, HIGHLEY, 2003), o que presume a boa forma de estocagem doméstica das amostras em recipientes emeticamente fechados como determina o fabricante.

Outro grupo de bactérias importante é a *Salmonella* spp, estas são apontadas como o principal agente etiológico de surtos alimentares (YAMAGUCHI *et al.* 2013) constituindo um dos problemas mais graves de saúde pública no mundo (BORGES; ANDRADE; MACHADO, 2010).

Todas as marcas estavam dentro dos padrões recomendados pela legislação, para pesquisa de *Salmonella* spp (BRASIL, 2001), tabela 4, indicando sua segurança para o consumo.

Tabela 4. Resultado para pesquisa de *Salmonella* spp nas marcas de fubá de milho comercializado em Teresina, PI, após a compra e depois de estocagem doméstica

Marcas	Análise após compra Grupo Controle	Análise após estocagem doméstica Grupo Estocado
MS	Ausente	Ausente
MY	Ausente	Ausente
MC	Ausente	Ausente
MV	Ausente	Ausente

Em estudo feito por Prado *et al.*(2005), 100% das amostras foram negativas para *Salmonella* spp mostrando que os farináceos não são propícios para o desenvolvimento desse grupo de bactérias, principalmente pela baixa atividade de água desse grupo de alimentos como demonstrado na Tabela 2. De acordo com Cardoso e Carvalho (2006) este é um fator que afeta diretamente o desenvolvimento das Salmonelas, pois necessitam de uma atividade água mínima de 0,94 para o seu metabolismo e consequente multiplicação.

A partir da avaliação dos resultados desse estudo, é possível observar que a qualidade microbiológica dos farináceos é de grande importância para se evitar surtos alimentares e problemas de saúde pública.

Conclusões

Os resultados obtidos demonstraram que o fubá de milho comercializado em Teresina tem condições de higiene satisfatórias. O armazenamento doméstico adequado não favorece multiplicação de micro-organismos.

Referências bibliográficas

ANDRADE, R.M.; NASCIMENTO, J.S. Presença de fungos filamentosos em ração para cães comercializados na cidade de Pelotas – RS. **Arquivo do Instituto Biológico de São Paulo**, São Paulo, v. 72, n. 2, p 10-12, 2005.

BALBANI, A. P. S; BUTUGAN, O. Contaminação biológica de alimentos. **Pediatria**, São Paulo, v. 23, n 24 p. 320 – 328, 2001.

BETTEGA, J. M. P. R. *et al.* Métodos analíticos no controle microbiológico de água para consumo humano. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.30, n.5, p.950-954, 2006.

BLACK, J.G. **Microbiologia Fundamentos e Perspectivas**. 4º Ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p 829, 2002.

BORGES, M. F.; ANDRADE, A. P. C. de; MACHADO, T. F. Salmonelose Associada ao Consumo de Leite e Produtos Lácteos. Fortaleza: **Embrapa Agroindústria Tropical**, 2010.

BORSOI, A.; FRANÇA, J. M.; GONÇALVES, C. C. Salmonella na avicultura e sua importância em saúde pública. **Revista Eletrônica Biociências, Biotecnologia e Saúde**, n. 1, Jan-Abr, 2011.

BRASIL. Ministério da saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução – RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001**. Aprova o Regulamento sobre padrões microbiológicos para alimentos e seus anexos I e II. Diário oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, nº7 p. 45-53, de 10 de janeiro de 2001. Seção 1

CARDOSO, R.L.; ERHARD, T.G.; SARAIVA, D.L.; VARGAS, AC. **Salmonella sp. em subprodutos de origem animal e vegetal de diferentes regiões do Brasil**, 2008. Disponível em: <http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R0663-1.pdf> Acesso em: 15 de julho de 2014.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. **Foodborne Illness, Foodborne Disease, (sometimes called “Food Poisoning”) 2012**. Disponível em: <http://www.cdc.gov/foodsafety/facts.html#howmanycases>. Acesso em: 05 de agosto de 2014.

CEREDA, M.P.; VILPOUX, O.F. **Tecnologia, uso e potencialidades de tuberosas amiláceas latino americanas**. Série: Cultura de tuberosas amiláceas latino americanas. São Paulo: Fundação Cargill, v. 3, p.711, 2003.

CHISTÉ, R. C.; COHEN, K. O.; MATHIAS, E. A.; RAMOA JÚNIOR, A. G. A. Estudo das propriedades físico-químicas e microbiológicas no processamento da farinha de mandioca do grupo d’água. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 2, p. 787, 2007.

COX, N.A. Salmonella Updated September 2013. Frances Pouch Downes, and Keith Ito. **In: Compendium of Methods for The Microbiological Examination of Foods**. American Public Health Association, 2013.

DA SILVA JR. E. A., **Manual de Controle Higiênico-Sanitário em Alimentos**, Livraria Varela Ltda, São Paulo – SP, 2ª edição, 385p., 1997.

DELAZARI, I. Aspectos microbiológicos ligados a segurança e qualidade da carcaça de aves. In: Semana Acadêmica Veterinária, 8, **Anais.**, São Paulo, p.71-77, 1998.

ELLIOT, T.; RYSER, E.T.; SCHUMAN, J.D. SHUMAN. Mesophilic aerobic plate count. In: Salfinger, Y.; Tortorello, M.L. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 5 ed. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 5. ed. Washington: American Public Health Association, cap. 8, p. 47-68, 2015.

FAO/WHO [Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization]. **Microbiological hazards in fresh leafy vegetables and herbs: meeting report Microbiological Risk Assessment Series**, n. 14, Rome, 2008.

FERREIRA NETO, C.; NASCIMENTO, E. M.; FIGUEIREIDO, R. M.; QUEIROZ, A. J. M. Microbiologia de farinhas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) durante o armazenamento. **Ciência Rural**, v.34, n.2, p. 551-555. 2004.

GARCIA, M. **Surtos Alimentares no Brasil – dados atualizados em 2013**. **Food Safety Brazil: Segurança de Alimentos**. Disponível em: <<http://foodsafetybrazil.com/surtos-alimentares-no-brasil-dados-atualizados-em-2013>>. Acesso em: 05 de agosto de 2014.

KORNACKI, J.L; GURTLER, J.B; STAWICK, B.A. Enterobacteriaceae, Coliforms and *Escherichia coli* as Quality and Safety Indicators. In: **Compendium of Methods for The Microbiological Examination of Foods**. American Public Health Association, 2013.

LIMA, C. P. de S. *et al.* Presença de Microrganismos Indicadores de Qualidade em Farinha e Goma de Mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz). **Revista de APS**, São Paulo, v. 10, n. 1, p.14-19, 2007.

MITTELSTAEDT, S.; CARVALHO, V. M. *Escherichia coli* entero-hemorrágica (EHEC) O157:H7 – Revisão. **Revista Instituto de Ciências da Saúde**, v. 24, n. 3, p. 175-182, 2006.

MONTE, D. F. M. *et al.* Contagem padrão em placas para mesófilos aeróbios e coliformes a 35° C em leite caprino cru produzido no cariri paraibano. In: Congresso Brasileiro de Zootecnia. 19. 2009. **Anais**. [S.I.]: ABZ, Águas Limpas-SP, 2009.

PAES, M. C. D. **Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, Circular técnica, 75, 2006.

PRADO, S. P. T.; FRANCO, A. R.; SOUZA, L.; OLIVEIRA, M. A.; CORREIRA, M.. Contaminação por matérias estranhas e microrganismos em farináceos comercializados em Ribeirão Preto, SP. **Instituto Adolfo Lutz**, v. 64, n. 2, p.237-244, 2005.

RIBEIRO, A. C.; MARQUES, S. C.; SODRÉ, A. F., ABREU, L. R.; PICCOLI, R. H. Controle microbiológico da vida de prateleira de ricota cremosa. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 1, p.1-10, jan. 2005.

SILVA, M P; CAVALLI, D R; OLIVEIRA, T C R M. Avaliação do padrão coliformes a 45°C e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e Petrifilm EC na detecção de coliformes totais e *Escherichia coli* em alimentos. **Food Science And Technology**, Campinas, v. 26, n. 2, p.1-10, 2006.

TSAV-WUA, J. A.; INYANG, C. U.; AKPAPUNAM, M. A. Microbiological quality of fermented cassava flour ‘kpor umilin’. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 55, p. 317-324, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO guidelines for drinking water quality**. Nottingham, 2003. Chapter 7. Draft. Disponível em: <http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/guidelines/3rd/en/>. Acesso em: 13 de julho 2014.

WRIGHT, E. J., WEBB, M.C.; HIGHLEY, E. Stored grain in Australia. **Proceedings of the Australian Postharvest Technical Conference**, Canberra, p. 25-27, 2003.

YAMAGUCHI, M. U.; ZANQUETA, E. B.; MOARAIS, J. F.; FAUSTO, H. S. G.; SILVÉRIO, K. I. Qualidade Microbiológica de Alimentos e de Ambientes de Trabalho: Pesquisa de Salmonella e Listeria. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 6, n. 3; 2013.

ZUNIGA, A. D. G.; COELHO, A. F. S.; FERREIRA, E. M. S.; RESENDE, E. A.; ALMEIDA, K. N.; Avaliação da vida de prateleira de biscoito de castanha de caju tipo integral. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.13, n.3, p.249-254, 2011.

Submissão: 25/02/2018

Aceito: 20/03/2018

Revista Agrária Acadêmica

Agrarian Academic Journal

Volume 1 – Número 1 – Mai/Jun (2018)

Ectima Contagioso dos Ovinos e Caprinos: a doença e sua vacina

Contagious Ecthyma of Sheep and Goats: the disease and its vaccine

Jailson Honorato¹, Raimundo Vicente de Sousa², Roberto Soares de Castro³

¹ Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão – MA, honorato@uemasul.edu.br

² Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras – MG, rvsousa@dmv.ufla.br

³ Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco – PE, rscastro@dmv.ufrpe.br

Resumo

O Ectima contagioso (EC) é uma virose aguda que acomete caprinos e ovinos, amplamente disseminada em todo mundo, inclusive no Brasil, especialmente na Região Nordeste, onde a caprinovinocultura é amplamente praticada para produção de pele, carne e leite. No estado de Pernambuco, tem sido relatada como uma das principais enfermidades infecciosas de caprinos e ovinos do semi-árido. Apesar do caráter endêmico da enfermidade e da sua importância, poucos trabalhos de pesquisa têm sido realizados no país com relação ao vírus EC, que possam subsidiar o controle da enfermidade, fundamentado, principalmente, na vacinação dos animais. O EC é uma doença que pode ser confundida com as enfermidades vesiculares, como a Febre Aftosa, havendo assim a necessidade de sua diferenciação, sobretudo como suporte às ações do Programa Nacional de Erradicação da Febre Aftosa (PNEFA) do MAPA.

Palavras-chave: Orf, isolamento, diagnóstico

Abstract

Contagious ecthyma (CE) is an acute viral disease that affects sheep and goats, widespread throughout the world, including Brazil, especially in the Northeast, where sheep and goat rearing is practiced for the production of skin, meat and milk. In the state of Pernambuco, has been reported as one of the major infectious diseases of goats and sheep in semi-arid. Despite the endemicity of the disease and its importance, few research studies have been conducted in the country with the virus CE, that can support the control of the disease, grounded mainly on vaccination of animals. CE is a disease that can be confused with the vesicular such as Footh and Mouth Disease, with the need for differentiation, especially to support the actions of the National Program for the Eradication of Footh and Mouth Disease (PNEFA) of the MAPA.

Keywords: Orf, isolation, diagnosis

Introdução

As explorações de caprinos e ovinos no Brasil até recentemente eram vistas como atividades pecuárias secundárias, mas os pequenos ruminantes domésticos tem potencialidades biológicas para contribuir com a produção de produtos de elevado valor biológico, sendo de suma importância que se implementem melhorias substanciais no ambiente, visando ao bem-estar animal; no regime de manejo, independentemente de ser extensivo, semi-intensivo ou intensivo; no estabelecimento de sistemas de exploração compatíveis com a função explorada; na transferência de conhecimentos e tecnologias e na assistência técnica (SIMPLÍCIO, 2011).

O Ectima Contagioso (EC), dermatite pustular cutânea, dermatite labial infecciosa, dermatite pustular contagiosa, dermatite pustular infecciosa, dermatite labial infecciosa, estomatite pustular contagiosa, boqueira, “scabby mouth” ou “soremouth”, foi descrito pela primeira vez em ovinos e caprinos por Steeb em 1787 e 1879, respectivamente (BARRAVIERA, 2005). No Brasil, foi identificado pela primeira vez em São Paulo (GUIMARÃES, 1939), Pernambuco (TORRES, 1943) e no Rio Grande do Sul (GUERREIRO, em 1954). Posteriormente, amostras do vírus de Ectima Contagioso foram isoladas de ovinos no Ceará (ARITA *et al.*, 1986), de caprinos em Minas Gerais e no Rio de Janeiro (MAZUR e MACHADO, 1990) e de caprinos e ovinos em Pernambuco (OLIVEIRA *et al.*, 1998; SANTANA *et al.*, 2008). Há relatos de surtos em rebanhos ovinos no Rio Grande do Sul (SALLES *et al.*, 1992) e em São Paulo (LANGONI *et al.*, 1995; CARTROXO *et al.*, 2002). Surtos de doença epidérmica sugerindo Ectima Contagioso têm sido observados em muitos rebanhos de ovinos e caprinos de diferentes áreas geográficas do Brasil (MAZUR, 2000; PINHEIRO, 2000).

Em estudo retrospectivo sobre doenças diagnosticadas em ovinos e caprinos, no semi-árido dos Estados de Pernambuco, Paraíba e Rio Grande do Norte, foram registrados 980 diagnósticos de doenças, sendo que 80% destes foram de doenças de pele e, por sua vez, o Ectima Contagioso foi a segunda causa mais frequente entre estas (MACÊDO *et al.*, 2006).

A doença é uma condição aguda debilitante da pele dos ovinos e caprinos. O Ectima Contagioso é altamente contagioso para ovinos e caprinos, e também afeta o homem, os bovinos, e raramente, os cães (ROBINSON e BALASSU, 1981; NANDI *et al.*, 2011). A frequência da infecção é provavelmente alta entre fazendeiros e pastores, sendo considerada uma doença ocupacional, embora muitas infecções não sejam notificadas (HAIG *et al.*, 1997). O EC está entre as maiores causas de perda econômica da indústria ovina e todos os rebanhos estão potencialmente

em risco de contrair a doença (REID, 1995), além disso, a doença afeta consideravelmente o bem-estar animal (NANDI *et al.*, 2011).

Apesar do desenvolvimento da caprinovinocultura brasileira e da importância da enfermidade pelo seu caráter endêmico, poucas pesquisas têm sido realizadas com relação ao vírus EC para subsidiar o controle da doença, fundamentado, principalmente, na vacinação de animais apenas em áreas endêmicas (TORRES, 1943; ROBINSON e BALASSU, 1981; HONORATO, 2007). As vacinas empregadas são de vírus vivo, o que implica na introdução do agente no rebanho e apresenta sério risco de disseminação de outras doenças, principalmente virais, já que a vacina não é inativada (HONORATO, 2007).

O vírus EC apresenta dificuldade de replicação em cultivo celular, pois muitas das linhagens de células utilizadas em sua replicação mostraram-se pouco permissíveis a replicação contínua do vírus EC (SANTANA, 2008). Além disso, o Ectima Contagioso pode ser confundido com enfermidades vesiculares e sua diferenciação com base em testes laboratoriais pode servir de suporte para as ações do Programa Nacional de Erradicação de Febre Aftosa do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), no qual os ovinos e caprinos são considerados animais sentinelas. Para tal, é necessário dispor de um teste rápido e eficiente. A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) é reconhecida como um método de diagnóstico molecular estável, rápido e sensível para a detecção de ácidos nucleicos e pode ser utilizada mesmo quando a disponibilidade de amostra é pequena. A PCR identifica animais verdadeiramente infectados e não apenas soropositivos (NITSCHKE *et al.*, 2006). Embora estudos anteriores tenham demonstrado a utilidade da PCR como teste de diagnóstico de EC (TORFASON e GUONADÓTTIR, 2002; GALLINA *et al.*, 2006), poucos estudos foram realizados sobre sua utilização envolvendo amostras brasileiras, que são geneticamente diferentes das estudadas em outros países, conforme descrito em estudos com análises de restrição (MAZUR *et al.*, 2000) e filogenética (ABRAHÃO *et al.*, 2009). Portanto, o desenvolvimento de um método de diagnóstico molecular rápido poderá atender às necessidades para identificação precisa do agente etiológico e diferenciação frente a outras enfermidades.

Etiologia

A etiologia viral do Ectima Contagioso foi apresentada na França e, simultaneamente, foi realizada pela primeira vez a imunização ativa de animais sadios por inoculação na pele da face interna da coxa (AYNAULD, 1923). Posteriormente, houve a primeira multiplicação do vírus em

culturas celulares (GREIG, 1957). O agente é um Parapoxvírus da família *Poxviridae*, subfamília *Chordopoxvirinae*, de dupla fita de DNA (NANDI *et al.*, 2011).

O vírus multiplica-se no citoplasma celular, formando corpúsculos de inclusão, e é altamente epiteliotrópico (ROBINSON e BALASSU, 1981; GREIG *et al.*, 1984). É relacionado ao Parapoxvírus causador da Estomatite Papular Bovina e do Nódulo dos Ordenhadores em bovinos e humanos, respectivamente.

O vírus EC é inativado a 30°C por 30 minutos, a 37°C por 7 dias e pela radiação ultravioleta e desnaturado pela ação do clorofórmio, formalina, fenol, ácidos e lixívia nas concentrações comuns, porém resiste ao dessecamento, ao éter e outros solventes lipídicos (ARRANZ, 2005; LOSOS, 1986). O congelamento não reduz o título viral, entretanto, temperaturas entre 0,5°C e 36°C, por uma semana, reduzem sua infectividade (ROBINSON e BALASSU, 1981). O vírus permanece viável durante meses no meio ambiente e em crostas de animais enfermos durante anos, resistindo a dessecação. As crostas expostas diretamente ao sol mostram infectividade durante meses; quando mantidas à sombra, a infectividade permanece por vários anos (LININGSTON, 1960).

Os Parapoxvírus apresentam forma ovoide e a relação de guanina e citosina no genoma viral é alta, cerca de 64% (DELHON *et al.*, 2004). Os virions têm cerca de 140-170 nm de largura e 200-300 nm de comprimento e uma membrana externa envolvendo um núcleo homogêneo. O sequenciamento do DNA do vírus EC revelou que os genes mais prováveis de induzir virulência e imunidade estão concentrados na região terminal (BARRAVIERA, 2005). O seu genoma está relacionado ao genoma de outros poxvírus e inclui uma região central, que contém genes essencialmente conservados em posição, espaço e orientação, e uma região terminal, que é variável e codifica os fatores que influenciam a virulência, a patogênese e a mudança de hospedeiro (NANDI *et al.*, 2011).

O conhecimento da biologia molecular dos Parapoxvírus ainda é limitado em comparação com os Orthopoxvírus, especialmente o vírus da vaccínia. Embora a seqüência completa de nucleotídeos do parapoxvírus protótipo ainda não ter sido publicada, um esforço considerável tem sido feito na caracterização molecular do seu genoma de DNA de dupla-fita, que tem aproximadamente 140 kpb (139-160 kpb) (BUTTNER e RZIHA, 2002; NANDI, *et al.*, 2011).

O DNA viral e a RNA polimerase são semelhantes aos dos seres eucarióticos. Pelo menos 8 genes codificam o complexo da RNA polimerase (TORFASON e GUONADOTTIR, 2002).

Em comum com outros Poxvírus, o vírus EC se multiplica no citoplasma das células hospedeiras e codifica as próprias enzimas para a transcrição do DNA e replicação. Os genes

responsáveis pela duplicação do DNA e pela produção das partículas virais no citoplasma das células infectadas estão localizados na região central do genoma. O vírus EC possui, pelo menos, 3 classes de genes e 20 kpb do DNA terminal direito contém genes não encontrados no vírus da vaccínia e isso deve contribuir nas diferenças de patologia entre esses vírus (NANDI *et al.*, 2011).

A heterogeneidade do genoma entre espécies de Parapoxvírus e até entre amostras de uma mesma espécie já foi demonstrada, e estudos recentes para análise do genoma e identificação de seus genes, bem como para a geração de vírus EC recombinante têm sido realizados. O conhecimento acerca do genoma do vírus EC e a identificação dos genes de virulência deve facilitar a seleção de componentes virais indutores de reações imunes, que não sofram influência das proteínas virais de neutralização e que são necessários para a proteção vacinal (BUTTNER e RZIHA, 2002).

Até agora, a maior parte de informações sobre a biologia molecular do Parapoxvírus, foi obtida da cepa NZ2, isolada na Nova Zelândia. A principal conclusão sobre seu genoma, apesar do seu conteúdo extraordinariamente alto de G + C, é que a organização e a regulação da dupla-fita de DNA do genoma do Parapoxvírus é estreitamente relacionada com outros poxvírus. A organização genética do vírus EC exhibe o padrão geral de outros poxvírus, consistindo de uma região central, que contém genes essenciais conservados em posição, espaço e orientação. A região terminal contém genes que são dispensáveis para o crescimento *in vitro*. Geralmente, os genes que influenciam a virulência e a patogênese são encontrados na região terminal. Por exemplo, fatores de virulência como os pertencentes a família do fator de crescimento endotelial, o fator inibidor do fator de crescimento de macrófagos, o fator de resistência ao interferon e a interleucina-10, são encontrados na região terminal do genoma viral (BUTTNER e RZIHA, 2002).

Genes da região terminal do genoma também codificam fatores com papel importante na relação entre o vírus e seus hospedeiros, determinando inclusive o espectro de hospedeiros, sendo igualmente dispensáveis para o crescimento *in vitro* (CHAN *et al.*, 2007). Ambos os genes da região central e terminal, apresentam orientação bidirecional (NANDI *et al.*, 2011).

A perspectiva de vetores em potencial e com reduzida capacidade patogênica demanda mais detalhes da organização genômica do vírus EC, o que é um pré-requisito importante para identificar genes potencialmente não-essenciais ou regiões adequadas para inserção e expressão de genes estranhos. Já foi conseguida não só a perda, como também a duplicação de genes da região terminal numa amostra atenuada de vírus EC, como por exemplo genes de virulência e o gene F9L (este de função desconhecida). Até o momento, a duplicação destes genes foi realizada apenas para esta amostra atenuada, não tendo o mesmo sido feito para outras cepas de vírus EC. Outros genes podem

potencialmente intervir entre os genes já existentes do genoma, mesmo que não exibam qualquer homologia poxviral ou outros genes relacionados no GenBank (BUTTNER e RZIHA, 2002).

Comparação entre partes do genoma desta amostra atenuada e partes do genoma da amostra NZ2, notadamente o gene F10L, demonstrou marcante diversidade em suas sequencias, corroborando afirmações sobre heterogeneidade genética de amostras do vírus EC (BUTTNER e RZIHA, 2002).

O gene B2L é um fragmento da cepa NZ2 e codifica uma proteína do envelope viral de 42 kDa. O tamanho do gene B2L compreende cerca de 1206 pb. A região central do seu genoma (Orf 009 a 111) é realmente mais conservada em comparação com as duas regiões terminais (001 a 008 e 112 a 134). O gene B2L está localizado na região 011 e é conservado também cepas diferentes. Esse gene tem sido o mais usado para detecção do vírus EC pela PCR (CHAN *et al.*, 2007).

Para a produção de poxvírus recombinante, o gene da timidina quinase é normalmente usado. Este gene não foi identificado na amostra atenuada, tendo sido em amostra de vírus EC isolada no Brasil. O vírus da vaccínia, como dito anteriormente, estreitamente relacionado aos poxvírus, apresenta o gene que codifica a timidina quinase na região central, região que nos poxvírus não apresenta genes de virulência e o sequenciamento de parte da região central de amostra atenuada do vírus EC, realmente não revelou a existência de tal gene (BUTTNER e RZIHA, 2002).

A alteração do genoma viral do vírus EC pode também ocorrer quando o vírus é adaptado a crescer em diferentes linhagens celulares, o que pode levar a perda de diferentes regiões do genoma, ou seja, a adaptação em cultura celular e a subsequente atenuação viral pode estar associada com a perda de genes não-essenciais (BUTTNER e RZIHA, 2002).

Devido a essa heterogeneidade genética não somente entre os vários Parapoxvírus, mas também entre os vírus EC, a classificação dos Parapoxvírus baseada na caracterização molecular permanece problemática. Como os fragmentos de DNA da região terminal parecem ser análogos para cada espécie de Parapoxvírus, eles podem talvez ser usados como sondas espécie-específicas para a classificação dos Parapoxvírus, mas para isso, o sequenciamento genético de outros Parapoxvírus, que não o vírus EC, é necessário (BUTTNER e RZIHA, 2002).

Epidemiologia

O Ectima Contagioso tem ampla distribuição geográfica, causando queda na produção e perda econômica. Sua incidência é mais alta no final da primavera. Acontece, também, em qualquer

época, sendo mais comum nas estações secas, momento em que os ovinos estão pastando e abrasões causados por alimento seco fornecem uma porta de entrada para a infecção. A disseminação é rápida e a transmissão ocorre por contato com animais infectados ou objetos contaminados (NANDI *et al.*, 2011; ARRANZ, 2005).

O vírus é eliminado pelos exsudatos das pústulas, vesículas e pelas crostas já secas. As crostas são longa e altamente infectantes, mas a persistência da doença pode ser devido a lesões crônicas mantidas em certos indivíduos (McKEEVER e REID, 1986). Devido a sua extraordinária capacidade para ser conservado nas crostas, o vírus pode permanecer virulento nos pastos e estábulos durante anos. Especialmente durante o período seco, a infecção é disseminada rapidamente nas criações.

Os animais jovens estão em maior risco, sendo especialmente susceptíveis os cordeiros e cabritos de 3 a 6 meses, mas podem acometer animais de todas as idades. Em certas situações, cordeiros de 10 a 12 dias de idade, bem como animais adultos, podem adoecer gravemente (HAIG *et al.*, 1997). Na Itália, as infecções proliferativas em ovinos adultos tem aumentado nos últimos anos. Estes casos extremos são frequentemente fatais e dificultam a diferenciação de outras doenças infecciosas de ovinos como, por exemplo, a língua azul (SCAGLIARINI *et al.*, 2006).

A doença é frequentemente severa para criar problemas substanciais nos rebanhos. Quanto a morbidade, geralmente adoecem mais de 50% dos animais do rebanho, podendo incidir em até 90%. Entretanto, a mortalidade usualmente não passa de 10% (SCAGLIARINI *et al.*, 2006). Algumas mortes podem ocorrer devido ao comprometimento do sistema respiratório, infecção secundária por *Fusobacterium necrophorus*, miíase ou raramente invasão sistêmica (ROBINSON e BALASSU, 1981). Alguns animais afetados adquirem outras infecções dermatológicas e a condição predispõe as fêmeas lactentes à mastite (HAIG, 2001).

Animais que se recuperam adquirem forte imunidade durante 2 a 3 anos, com alto título de anticorpos neutralizantes no soro; entretanto, cordeiros recém-nascidos de ovelhas imunes são susceptíveis. Ovelhas infectadas pelo vírus EC podem transmitir a doença aos seus cordeiros que ainda mamam e vice-versa (HAIG, 2001).

Patologia e imunidade

O vírus EC penetra no hospedeiro via pele ferida ou escarificada, pela mucosa, lábios, extremidades dos membros e genitais (McKEEVER, 1986). Os locais mais comuns de infecção são ao redor da boca e narinas (HAIG *et al.*, 1997). O vírus se replica em células epidérmicas

regeneradas (queratinócitos) ocasionando proliferação, degeneração (vacuolização e aparecimento de corpúsculos de inclusão intracitoplasmáticos eosinofílicos) e liquefação, formando vesículas que, devido a afluência de leucócitos, são transformadas em pústulas. O epitélio superficial necrosa-se e é constituído um coágulo de fibrina, formando-se as crostas. Sob estas a pele é regenerada sem formar cicatriz no prazo de duas semanas (HAIG, 2001).

As primeiras lesões são frequentemente proliferativas e graves, com uma progressão clínica de máculas eritematosas, pápulas, vesículas, pústulas, crostas, alopecia temporária, e que podem ser acompanhadas por edema, febre e linfangite, ocorrendo resolução em aproximadamente 4 a 6 semanas. As lesões geralmente são menores do que um centímetro, exceto em indivíduos imunossuprimidos, em que podem se tornar extensas (BARRAVIERA, 2005).

As lesões de reinfecção progridem pelos mesmos estágios clínicos, mas geralmente não são proliferativas, são menores e se resolvem mais rapidamente, usualmente dentro de 2 a 3 semanas. O vírus é despreendido com a crosta, contribuindo para a disseminação ambiental do agente. O vírus pode conservar sua virulência durante anos incluído no material formado pelas crostas e escaras; entretanto, pela ação da luz é inativado em poucas semanas. A observação de que ovinos podem ser reinfecçados repetidamente com o vírus EC é de interesse imunológico. A resposta imune específica é capaz de conter a replicação viral, mas não é eficaz por um período crítico de alguns dias pós-reinfecção durante o qual o vírus pode se replicar e se disseminar no ambiente (HAIG *et al.*, 1997).

A imunohistoquímica baseada no exame histológico de lesões primárias induzidas experimentalmente em ovinos, usando anticorpos monoclonais específicos para o núcleo viral e proteínas do envelope, mostrou a presença de antígenos virais entre 3 e aproximadamente 25 dias pós-infecção. Antígeno viral foi localizado em áreas de hiperproliferação de células epidérmicas, com maior intensidade em células degeneradas, indicando um efeito citopático *in vivo*. A infecção primária foi associada com profunda proliferação epidermal. A análise do acúmulo de células imunes e inflamatórias revelou um fluxo precoce de neutrófilos nas primeiras 48 horas, seguido por um acúmulo de células T CD4+, T CD8+, células B e células dendríticas com picos entre 9 e 15 dias pós-infecção e retorno aos níveis pré-infecção ao redor de 30 dias pós-infecção (HAIG *et al.*, 1997).

As lesões de reinfecção foram de dimensões e tempo menores se comparadas à infecção primária. O antígeno viral foi detectado entre 3 e 9 dias pós-reinfecção, com máximo entre 5 e 7 dias e desaparecendo antes da resolução macroscópica da lesão entre 10 e 15 dias. Houve redução e aumento paralelo no acúmulo de células T, células B e células dendríticas durante o curso da replicação viral. A característica mais interessante das lesões primárias e de reinfecção foi o denso

acúmulo de células dendríticas. A origem e a função do acúmulo dessas células não são conhecidas, todavia um papel na reparação da pele, apresentação do antígeno e contenção direta do vírus são possibilidades. O tempo curto de resolução e o menor tamanho das lesões de reinfecção indicam o envolvimento de uma resposta imune específica no controle da extensão da replicação viral (HAIG *et al.*, 1997).

Uma função para as células T e citocinas na imunidade à reinfecção pelo vírus EC foi deduzida em animais que, tendo recebido 25 mg/kg de ciclosporina A sistemicamente, desenvolveram lesões primárias típicas com pronunciada replicação viral comparados aos controles (HAIG *et al.*, 1997).

Após uma escarificação de controle, não há alterações significantes na produção total de células, transformação linfoblástica ou na proporção de diferentes linhagens celulares das linfas aferente ou eferente. Já após a reinfecção pelo vírus EC, a produção total e linfoblástica é bifásica na linfa aferente e eferente. O primeiro pico de resposta é provavelmente contra um antígeno de memória do vírus EC e o segundo ocorre devido a replicação viral na pele que ocorre entre aproximadamente 3 e 9 dias pós-infecção (BUJDOSO *et al.*, 1989). Subsequente a reinfecção, os títulos de anticorpos aumentam em ambos os compartimentos da linfa, e células T da linfa proliferam em resposta ao antígeno exógeno do vírus. Estas análises revelam uma potente resposta imune a reinfecção pelo vírus (HAIG *et al.*, 1997).

Há várias razões possíveis pelas quais o vírus EC pode reinfestar repetidamente ovinos e se replicar. Primeiramente, a infecção é aguda e aparentemente restrita aos queratinócitos da epiderme *in vivo*. Segundo, a infecção viral pode não estimular uma resposta protetora adequada. Finalmente, o vírus EC pode ter desenvolvido mecanismos para subverter ou interferir com os componentes da resposta imune protetora, como foi demonstrado para outros poxvírus (HAIG, 2001).

As lesões que se desenvolvem na segunda infecção ou em desafios subsequentes, resolvem-se mais rapidamente do que àquelas induzidas pela infecção inicial. A imunidade após a vacinação é de cerca de 2 anos (YIRREL *et al.*, 1989).

Sinais clínicos

O período de incubação é de 3 a 8 dias. Clinicamente são observadas as formas labial, podal e genital, idênticas em ovinos e caprinos (BARRAVIERA, 2005) (Tabela 1).

A principal apresentação é a de localização no ângulo labial, causando hiperplasia acantósica e necrose que com frequência sofrem infestação secundária por larvas de moscas

necrobiontófagas; ocorre ainda nas mamas com grave prejuízo para a saúde do animal (OTT e NELSON, 1978; PIEGAS, 1967).

As lesões de pele apresentam graus variáveis podendo ser imperceptíveis ou graves. No início da doença há formação de pápulas, vesículas e pústulas, seguidas de crostas espessas que recobrem uma área elevada na pele. As primeiras lesões são observadas na junção mucocutânea oral, frequentemente nas comissuras labiais, disseminando-se posteriormente para região periorbital, perinasal e fossas nasais. Nos casos mais graves as lesões penetram nas gengivas, palato, língua e esôfago (NÓBREGA *et al.*, 2008).

As lesões evoluem de pequenas manchas avermelhadas, nódulos, vesículas, pústulas e, uma vez rompidas, crostas grossas e persistentes de coloração marrom avermelhada, que recobrem uma área elevada de ulceração, granulação e inflamação, que podem estar reunidas como uma placa contínua. Ao continuar a exsudação, as crostas aumentam de tamanho, racham-se, ficam dolorosas ao toque, secam-se e desprendem-se depois de duas semanas, aparecendo em seu lugar pele normal. As lesões cutâneas podem se estender às orelhas, pálpebras, narinas, bochechas, etc. As erosões dos lábios dificultam a alimentação, especialmente em cordeiros, com os animais enfraquecendo, podendo até virem a óbito. A evolução da doença pode ser complicada particularmente por infecções secundárias por bactérias produtoras de necrose (BARRAVIERA, 2005).

Na forma podal, que aparece simultânea ou independentemente da forma labial, são observadas lesões cutâneas similares na borda da falange média dos cascos, a nível da articulação do boleto e no espaço interdigital. As partes distais das extremidades ficam quentes e dolorosas, e as vesículas e crostas sofrem infecções bacterianas secundárias, transformando-se em panarícios e pododermatite necrótica (BARRAVIERA, 2005).

Na forma genital aparecem pústulas, erosões e crostas na face interna das coxas, e especialmente na época da lactação pode aparecer mamite gangrenosa. As lesões podem afetar também a pele da região inguinal, vulva, ânus e prepúcio, membros e cauda (NÓBREGA *et al.*, 2008). As lesões no úbere podem resultar no abandono da prole e lesões nos cascos podem causar claudicação transitória (NANDI *et al.*, 2011).

Há uma forma aguda e maligna da doença caracterizada por vesículas orais que se estendem para o trato gastrointestinal, lesões granulomatosas e desprendimento dos cascos. Em carneiros, as lesões no saco escrotal podem estar acompanhadas por acúmulo de líquido (SCAGLIARINI *et al.*, 2006) (Tabela 2).

Lesões difusas ocorreram 48 horas após a inoculação na face interna da coxa de um cabrito com 1 mês de idade, SRD e sem histórico de EC. Macroscopicamente, as lesões consistiram de edema, múltiplos pontos arredondados, salientes e hiperêmicos, além de espessamento da pele. As lesões progrediram dando origem às vesículas no 4º dia p. i., com pontos esbranquiçados na superfície. As pústulas foram observadas no 5º dia p. i., aumentaram de tamanho e romperam-se entre o 9º e o 11º dia p. i., dando origem a exsudação serosa e emaciação da região acometida. No 16º dia p. i., o início da formação de crostas foi observado simultaneamente com o surgimento de novas pústulas. No 23º dia p. i., lesões pustulares e crostas foram observadas na comissura labial. No 35º dia p. i., constatou-se a regressão das lesões na região da inoculação e regeneração do tecido epitelial (OLIVEIRA *et al.*, 1998).

Tabela 1 – Relação entre formas clínicas e localização lesionais do Ectima Contagioso

Formas clínicas	Localização lesionais
Labial	<i>Borda dos lábios</i> <i>Junção mucocutânea</i> <i>Comissuras bucais</i> <i>Focinho e narinas</i> <i>Gengivas e língua</i> <i>Pálpebras</i>
Podal	<i>Falange média dos cascos</i> <i>Articulação do boleto</i> <i>Espaço interdigital</i>
Genital	<i>Face interna dos coxais</i> <i>Lábios vulvares</i> <i>Prepúcio</i> <i>Glândulas mamárias</i>
Sistêmica	<i>Mucosas oral e nasal</i> <i>Coroas e orelhas</i> <i>Desprendimento dos cascos</i> <i>Panarícios</i> <i>Edema escrotal</i> <i>Gastreenterite e Broncopneumonia</i>

Tabela 2 – Evolução clínica das lesões de Ectima Contagioso

Grau de severidade	Evolução lesional
Leve	<i>Eritema</i>
	<i>Mácula</i>
	<i>Pápula</i>
	<i>Vesícula</i>
	<i>Nódulo</i>
Moderada	<i>Pústula</i>
	<i>Crosta</i>
	<i>Úlcera</i>
Grave	<i>Edema</i>
	<i>Febre</i>
Sistêmica	<i>Linfangite</i>
	<i>Granuloma</i>
	<i>Necrose</i>

Prognóstico e diagnóstico

A doença é benigna e espontaneamente curável, portanto, o prognóstico, geralmente, é favorável, entretanto, há casos graves em que o prognóstico é reservado. O diagnóstico pode ser realizado clinicamente, por histopatologia, por microscopia eletrônica e identificação do agente (método mais rápido e seguro), imunodifusão em ágar gel, fixação de complemento, por inoculação experimental (BARRAVIERA, 2005), em cultivo de células (SANTANA, 2008) e pela Reação em Cadeia da Polimerase (GALLINA *et al.*, 2006).

O Ectima Contagioso pode ser confundido com a língua azul, eczema facial, dermatose ulcerativa, dermatite proliferativa e varíola ovina. A língua azul apresenta alta mortalidade, reação sistêmica grave, lesões no focinho, coroas dos cascos, mucosa oral e uma conjuntivite não purulenta (BHANUPRAKASH *et al.*, 2006). O eczema facial é distinguido por dermatite difusa, edema grave e lesões nas orelhas. A dermatose ulcerativa é uma dermatite micótica da pele coberta de lã. A dermatite proliferativa apresenta úlceras com aspecto de morango confinadas aos membros posteriores. Na varíola ovina, as crostas são duras típicas, ocorre reação sistêmica grave e alta mortalidade (BARRAVIERA, 2005).

Cultivo celular

Apesar de muitos estudos já terem sido realizados sobre o crescimento em cultura de células (Tabela 3), o vírus EC apresenta dificuldade de replicação em cultivo celular (SANTANA, 2008). A dificuldade de cultivo celular permissível à replicação contínua do vírus EC tem levado a comercialização no Brasil de vacina obtida a partir da suspensão de crostas de animais infectados¹⁻², que apresenta sério risco de disseminação de outras doenças, principalmente virais, já que a vacina não é inativada (HONORATO, 2007).

O vírus EC parece ser pouco exigente quando cultivado em células primárias, crescendo com mais dificuldade em linhagens contínuas (NAGINGTON, 1968).

O soro bovino é utilizado para o crescimento celular (OLIVEIRA, 1998; SANTANA, 2008), no entanto, ele pode ser incriminado como prejudicial ao crescimento do vírus EC, no sentido da ausência de efeito citopático (ECP) nos cultivos celulares (TÓRTORA, 1985); sendo assim, pode ser tentada sua substituição pelo soro equino (ZEBROWSKI *et al.*, 1974).

O ECP ocorre geralmente a partir do 3º dia p. i., sendo visível até o 7º ou 8º dias, mas pode ocorrer logo após as primeiras 24 horas p. i., dependendo da linhagem celular utilizada, da adaptação viral ao soro utilizado ou da virulência da amostra coletada (OLIVEIRA, *et al.*, 1998).

O ECP se caracteriza por arredondamento e desprendimento das células da monocamada, formação de vacúolos e corpúsculos de inclusão intracitoplasmáticos, sincícios e células binucleadas (TÓRTORA, 1985; OLIVEIRA *et al.*, 1998; SANTANA, 2008). Os corpúsculos de inclusão intracitoplasmáticos são locais de proliferação viral e acúmulos de restos celulares ricos em glicoproteínas (TÓRTORA, 1985; KLUGE *et al.*, 1972).

A maioria dos estudos *in vitro* do vírus EC utilizou células epiteliais, rim ou testículo de caprinos, ovinos e/ou bovinos, tendo sido um estudo realizado com células de córnea por também se tratar de células epiteliais, porém sem irrigação sanguínea (SANTANA, 2008).

Reação em Cadeia da Polimerase

A Reação em Cadeia da Polimerase, ou reação de polimerização em cadeia – PCR, é uma técnica molecular que permite a amplificação do DNA *in vitro*, através de uma reação enzimática catalizada pela DNA polimerase. Esta enzima cataliza a síntese do polímero de ácido nucléico complementar usando uma cadeia precursora como molde (ANDRADE, 1993).

Tabela 3 – Estudos sobre o crescimento do vírus EC em cultura de células

Linhagem celular	Referência
Epiderme embrionária de ovino	Greig (1957) Webster (1958) Torres <i>et al.</i> (1982) Tórtora e Hernandez (1985)
Rim bovino e/ou ovino	Plowright <i>et al.</i> (1959) Ramyar (1973) Precausta e Stellman (1973) Dobric (1995)
Rim caprino	Oliveira (1998)
Testículo bovino e/ou ovino	Plowright <i>et al.</i> (1959) Sawhney e Toschkov (1972) Robinson, Ellis e Balassu (1982) Balassu e Robinson (1987) Sullivan <i>et al.</i> (1994) Kottaridi <i>et al.</i> (2005)
Testículo caprino	Mazur e Machado (1990) Hosamani (2007)
Anion humano	Nagington e Whittle (1961) MacDonald e Bell (1961)
HeLa	MacDonald e Bell (1961) Sawhney e Toschkov (1971)
Rim de macaco	Nagington e Whittle (1961)
Fibroblasto de embrião de pinto e pato	Rossi (1973)
Baço fetal bovino	Hessami <i>et al.</i> (1979)
Ovos embrionados	Rao e Singh (1981)
BHK	Tórtora <i>et al.</i> (1981) Kottaridi <i>et al.</i> (2005)
Pneumócito bovino	Gassman <i>et al.</i> (1985)
Vero	Hussain e Burger (1989) Vikoren (2008)
Fibroblasto fetal de cordeiro	Onwuka <i>et al.</i> (1995)
MDBK	Oliveira (1998)
MDOK	Guo <i>et al.</i> (2003)
Queratinócitos de prepúcio de cordeiros	Scagliarini (2005)
GBK	Kottaridi <i>et al.</i> (2005)
Córnea fetal caprina	Santana (2008)

A PCR reproduz laboratorialmente o processo de replicação natural de DNA, o que somente é possível devido à descoberta do *Thermus aquaticus*, uma espécie de bactéria que sobrevive em altas temperaturas em termas naturais. Desta bactéria extrai-se uma DNA polimerase, a Taq DNA polimerase, capaz de resistir aos agressivos ciclos térmicos usados durante a realização da PCR (ANDRADE, 1993).

A Reação em Cadeia da Polimerase é reconhecida como um método de diagnóstico molecular estável, rápido e sensível para a detecção de ácidos nucleicos e pode ser utilizada mesmo quando a disponibilidade de amostra é pequena. A PCR identifica animais verdadeiramente infectados e não apenas soropositivos (NITSCHKE *et al.*, 2006).

A PCR ocorre em 3 fases: desnaturação, anelamento ou hibridização e extensão ou polimerização propriamente dita. Na primeira fase ocorre a separação da fita dupla do DNA em duas fitas únicas, promovida por elevação da temperatura em graus variáveis, entre 90° e 95°. Na segunda fase, se dá a demarcação das extremidades do DNA de interesse nas duas fitas resultantes da fase anterior. A polimerase, para desempenhar seu papel de polimerização, necessita de um fragmento de DNA previamente ligado na região escolhida com antecedência, e para isto utiliza-se um iniciador ou *primer*. *Primers* são pequenos fragmentos de DNA de fita simples sintetizados *in vitro* a partir de uma sequência de oligonucleotídeos previamente conhecida, a fim de que uma perfeita hibridização com os pares de base da fita do DNA estudado ocorra. Somente haverá amplificação de DNA se houver hibridização do *primer* com um segmento do DNA da amostra, o que confere especificidade à reação. Esta fase da reação requer uma temperatura em torno de 45° a 60°. A terceira e última etapa é iniciada quando o *primer* já se encontra ligado aos segmentos complementares. A polimerase liga os nucleotídeos entre si, completando a fita simples e transformando-a em dupla, promovendo sua extensão. A partir daí ocorre uma reação em cadeia, sendo que os fragmentos de DNA recém-formados fornecem mais moldes para a montagem de novas fitas nos ciclos subsequentes. Atualmente este procedimento é totalmente automatizado em um aparelho denominado termociclador, programado para ajustar tempo, temperatura e número de ciclos específicos para o objetivo que se pretende alcançar (ANDRADE, 1993; COHEN, 1994).

Os produtos da PCR convencional são detectados pela eletroforese em gel de agarose ou poliacrilamida. Os produtos são corados com azul de bromofenol, submetidos a eletroforese sob voltagem constante e, em seguida, o gel é observado sob luz ultravioleta (UV). A presença de bandas de pares de bases é considerado como resultado positivo (TORFASON e GUONADÓTTIR, 2002).

A PCR em tempo real é uma tecnologia baseada em fluorescência, realizada em um sistema fechado, na qual a amplificação e a detecção de DNA ocorrem em um único tubo ou poço, o qual permanece fechado durante todo o processo, minimizando o risco de contaminação. Além disso, o tempo necessário para a finalização do processo é de aproximadamente 50 minutos inferior à convencional, não necessitando de processamento eletroforético após a amplificação (BANKOWSKI e ANDERSON, 2004).

As condições termo cíclicas consistem de uma incubação inicial a 94° C por 5 ou 12 minutos, seguida por 35 ou 40 ciclos de anelamento a 58° C por 30 segundos ou 68° C por 45 segundos, polimerização a 68° C ou 72° C por 45 segundos e desnaturação a 65° C por 3 minutos ou a 94° C por 30 segundos. Um ciclo final de anelamento a 58° C por 2 minutos, seguido pela extensão a 72° C por 7 minutos e uma imersão final a 4° C (TORFASON e GUONADÓTTIR, 2002; GALLINA *et al.*, 2006).

A PCR convencional utiliza como modelo fragmentos de DNA representados pelos *primers* PPP1/PPP4. Esses *primers* amplificam um fragmento interno do gene do envelope B2L, resultando em um produto de 594 pares de bases. Outro fragmento de DNA que pode ser utilizado é o *primer* PPP3, que é utilizado em conjunto com o PPP4, resultando em produto amplificado com 235 pares de bases (GALLINA *et al.*, 2006). O gene B2L é um fragmento da cepa NZ2 e codifica uma proteína do envelope viral (SULLIVAN *et al.*, 1994).

A extração de DNA para a PCR pode ser realizada pela mistura da amostra com fenol, clorofórmio e álcool isoamílico. Em seguida, a mistura é suspensa em solução de lise celular, composta de 50 mM de KCL e 2,5 mM de MgCl₂ (TORFASON e GUONADÓTTIR, 2002). Outros protocolos de extração de DNA são a termo extração, a lise com proteinase K, lise com isotiocianato de guanidina, lise com DNazol e lise com hexadeciltrimetilamônio brometo (GROFF *et al.*, 2010).

O DNA amostral é misturado com uma solução adicionada de *primers*, d-oxinucleotídeos e da enzima Taq polimerase (TORFASON e GUONADÓTTIR, 2002; GALLINA *et al.*, 2006). Brevemente, a reação é realizada em 50 µl da solução de mistura, que contém 5 µl de solução tamponada 10x, 200 µl de cada dNTP, 2 nmol de cada *primer* oligonucleotídeo, 100 ng de cada amostra de DNA, 2,5 mM de MgCl₂ e 5 unidades de DNA polimerase (CHAN *et al.*, 2007).

A PCR em tempo real é precisa na quantificação do DNA viral e apresenta ainda uma relação entre a quantificação e o título viral. O desenvolvimento de uma PCR como método de diagnóstico molecular para detecção do vírus EC atende à demanda por um teste rápido e sensível para diagnóstico da doença (GALLINA *et al.*, 2006).

A PCR foi realizada para confirmar o diagnóstico de Ectima Contagioso durante uma exposição no estado de Mato Grosso, em que ovinos apresentavam lesões de Ectima Contagioso nos lábios, na língua e ao redor da boca. As crostas secas foram coletadas, processadas e o vírus foi detectado pela PCR sem extração de DNA. A análise filogenética levou a conclusão que distintas amostras de vírus EC circulam no território brasileiro (ABRAHÃO *et al.*, 2009) (Tabela 4).

Tabela 4 – Estudos com diagnóstico do vírus EC através da PCR

Protocolo de PCR	Gene amplificado	Referência
Convencional	B2L e B3L	Sullivan <i>et al.</i> (1994)
	RPA	Torfason e Guonadóttir (2002)
	B2L	Mondal <i>et al.</i> (2006)
	B2L e F1L	Shao-peng <i>et al.</i> (2011)
Tempo Real	VEGF	Scagliarini <i>et al.</i> (2006)
	B2L	Gallina <i>et al.</i> (2006)
	B2L e VIR	Kottaridi <i>et al.</i> (2006)
	B2L	Nitsche <i>et al.</i> (2006)
	B2L	Hosamani <i>et al.</i> (2007)
	B2L	Chan <i>et al.</i> (2007)
	B2L	Abrahão <i>et al.</i> (2009)
	B2L	Zhang <i>et al.</i> (2010)
Semi-Nested	B2L	Inoshima <i>et al.</i> (2000)
	VIR	Guo <i>et al.</i> (2003)
	B2L	Hosamani <i>et al.</i> (2006)
Duplex	B2L	Zhang <i>et al.</i> (2007)

Os diagnósticos de EC realizados pela PCR apresentam protocolos variados. Alterações macroscópicas e sinais clínicos consistentes de Ectima Contagioso também foram observados em caprinos Boer e lesões coletadas. As amostras foram utilizadas para infectar células primárias de testículo de cordeiro e, após a observação de ECP, o vírus EC foi colhido e seu DNA extraído. Os genes B2L e F1L foram amplificados a partir das amostras extraídas das células com efeito citopático positivo (SHAO-PENG *et al.*, 2011).

Durante um surto de Ectima Contagioso de disseminação severa em animais jovens, amostras de crostas foram coletadas e inoculadas em células de rim ovino (MDOK). Quando 50% de ECP foi observado, o DNA foi extraído da cultura de células infectada e a especificidade do ECP foi confirmada pela PCR. As amostras de DNA para a PCR foram preparadas tanto das células

infectadas quanto diretamente das crostas e fragmentos de DNA com 235 e 594 pares de bases foram amplificados pela semi-nested PCR (GUO *et al.*, 2003).

Tratamento e controle

Não há drogas específicas para o tratamento da doença em animais infectados e a excisão das crostas pode acelerar o processo de resolução (SHELLEY e SHELLEY, 1983; SCAGLIARINI, 2006). As erosões podem ser tratadas com glicerina iodada (SHATZMAYR *et al.*, 2006), álcool iodado com 3% de tanino ou outros desinfetantes suaves. Além disso, podem ser feitas aplicações prévias de pomadas com salicilatos para amolecer as crostas.

Em áreas endêmicas, repelentes e larvicidas apropriados devem ser aplicados sobre as lesões (AIELLO, 1998). Se houver complicação secundária, é recomendado tratamento parenteral com antibiótico de amplo espectro. Recomenda-se o fornecimento de alimentos macios e palatáveis. Casos leves não requerem tratamento. Uma vez detectada a doença, os animais infectados devem ser isolados e os demais vacinados (BERRIER, 2001).

Imunoprofilaxia

A vacinação contra EC utiliza microrganismos completamente virulentos (Tabela 5), sendo que esta vacina não previne a doença, mas diminui sua gravidade e a duração, estando indicada na imunização ativa de ovinos e caprinos, para prevenir ou minimizar a gravidade de um surto (HONORATO, 2007).

Tabela 5 – Esquema de vacinação para o Ectima Contagioso em caprinos e ovinos

Categoria animal	Condições	Esquema de vacinação
Cordeiros e Cabritos; Matrizes (terço final da gestação)	Rebanhos onde já surgiu a doença; ou naqueles em que ocorreu introdução de novos animais; ou quando do envio de animais para exposição	Autovacina, dose única, repetindo-se nas matrizes na próxima parição

Fonte: HONORATO (2007) adaptado de Silva *et al.* (2001).

Vacinas comerciais indicadas para caprinos e ovinos estão disponíveis e têm sido de valor em algumas circunstâncias. Estes produtos devem ser sempre utilizados de acordo com a recomendação do fabricante, porque a dose adequada é fundamental para otimizar a imunização. As

vacinas são preparações de vírus vivos atenuados, basicamente de crostas virulentas ou, mais recentemente, culturas celulares (NETTLETON *et al.*, 1996).

As vacinas preparadas a partir de crostas emulsificadas em glicerol salino foram introduzidas em 1930 e foram efetivas na prevenção da doença (BOUGHTON e HARDY, 1935; HART *et al.*, 1949). As vacinas vivas liofilizadas ainda são preparadas pelo procedimento de homogeneização em solução salina de crostas infectadas, que requer a infecção deliberada de uma grande área de criação de ovinos. É produzida a partir de vírus vivos atenuados derivados das crostas de animais afetados pela doença e contém penicilina e estreptomicina como preservativos (PYE, 1990).

A vacina produzida em cultura de células poderia evitar o desconforto ao ovino, em relação ao seu bem estar, e proporcionar um produto melhor definido para ser produzido. Estudos foram conduzidos para examinar o potencial de vacinas contra o vírus produzidas em cultura de células, algumas foram efetivas na proteção (MAYR *et al.*, 1981), enquanto outras não foram efetivas até contra vírus homólogos (BUDDLE *et al.*, 1984).

A vacina é aplicada sobre uma pequena área de pele escarificada na face interna da coxa, sob a orelha com um aplicador previamente imerso na vacina, nas áreas desprovidas de lã das paredes laterais do tórax ou abaixo da cauda. Não é produzida a generalização do processo devido a vacinação (TIZARD, 1996).

As vacinas devem ser aplicadas com cuidado para evitar a contaminação de propriedades não infectadas e os animais vacinados devem ser isolados do lote não protegido, até a queda das crostas (AIELLO, 1998). Para cabras expostas regularmente, a vacinação previne a ocorrência de um surto. São necessárias duas a três semanas para a formação de imunidade adequada após a vacinação. Após a aplicação, ocorre uma reação vacinal local após 1 a 3 dias, caracterizada por formação de crostas que secarão e cairão em cerca de duas a quatro semanas. (NETTLETON *et al.*, 1996).

Os animais vacinados desenvolvem lesões com aproximadamente 2 mm (BUDDLE *et al.*, 1984) características da infecção pelo vírus EC. Inicialmente é observado um intenso eritema ao longo das linhas de escarificação, seguido pelo desenvolvimento de vesículas, pústulas e crostas (NETTLETON *et al.*, 1996).

Há variação entre os cordeiros e cabritos vacinados, mas geralmente, o eritema é mais evidente entre 2 e 8 dias após a vacinação, vesículas e pústulas após 9 a 14 dias e as crostas são mais proeminentes entre 15 e 24 dias (NETTLETON *et al.*, 1996).

A ausência de uma reação local após a vacinação pode significar a existência de imunidade previa, perda da viabilidade da vacina ou falha técnica na aplicação. (LUGINBUHL e ANDERSON, 1914).

Em áreas endêmicas, cordeiros devem ser vacinados entre 6 a 8 semanas. Em áreas livres, a vacina não está recomendada porque pode infectar o rebanho (BERRIER, 2001).

Após a vacinação, as lesões em cordeiros e cabritos expostos são relativamente suaves, em contraste com as lesões severas típicas em animais não vacinados. Adicionalmente, as lesões nos animais vacinados se desenvolvem mais cedo e se resolvem mais rapidamente (NETTLETON *et al.*, 1996), indicando uma resposta imune anamnésica (BUDDLE *et al.*, 1984).

Amostras de soro coletadas após a vacinação apresentam picos de anticorpos 2 a 4 semanas depois da inoculação (BUDDLE *et al.*, 1984).

Não foi relatado aborto devido a utilização da vacina, entretanto, o estresse causado pela reunião de animais para facilitar a aplicação da vacina, pode potencialmente induzir o aborto em algumas fêmeas. A imunidade colostrar é de curta duração e os cordeiros recém-nascidos devem ser vacinados (LUGINBUHL e ANDERSON, 1914).

Ovelhas vacinadas 3 a 4 semanas antes do parto transferem anticorpos aos cordeiros via colostro. Apesar destes cordeiros terem níveis de anticorpos mais altos ao desafio do que cordeiros vacinados com 1 a 4 dias de idade, somente os cordeiros vacinados foram protegidos contra o desafio com vírus de Ectima Contagioso a 1 mês de idade (BUDDLE e PULFORD, 1984).

O risco dos cordeiros pode ser reduzido se for realizada a vacinação das ovelhas entre 6 e 8 semanas antes do parto. Isso tanto permite que a imunidade das ovelhas suba ao máximo durante o período de gestação, como as lesões produzidas pela vacinação caiam do local de escarificação. Se o rebanho for removido para um pasto novo cerca de duas semanas antes do parto, as lesões vacinais poderão ser deixadas no antigo pasto e assim os cordeiros não terão contato com esta fonte de infecção (KERRY e POWELL, 1971).

Surtos da doença podem ocorrer em cordeiros jovens desprotegidos e ainda há o problema adicional da infecção do úbere das ovelhas pelos cordeiros lactentes, quando a injúria a teta a partir dos dentes dos cordeiros e a inoculação simultânea do vírus na lesão causa o desenvolvimento de uma infecção local de Ectima Contagioso até em ovelhas vacinadas (KERRY e POWELL, 1971).

Em um experimento prático, um grupo de 10 cordeiros foi vacinado com 48 horas de idade na base da cauda, enquanto um grupo controle também de 10 cordeiros não foi vacinado. Doze dias depois de um desafio, todo o grupo controle apresentou sintomas, mas nenhum dos animais vacinados desenvolveu a doença. Tendo em mente o maior número de cordeiros que tem sido

vacinado, e o fato de que onde a vacina tem sido mal aplicada, as lesões têm sido observadas, poderia parecer razoável considerar que o programa de vacinação tem obtido sucesso e não produz reações adversas. A vacina não deve ser aplicada até 21 dias antes do abate (KERRY e POWELL, 1971).

Epizootias de Ectima Contagioso em ovinos vacinados foram registradas (PEDDIE, 1950; BECK e TAYLOR, 1974), mas as razões para estas falhas na vacinação permanecem incertas. Falhas resultariam da administração incorreta da vacina e da multiplicidade de linhagens do vírus EC, com virulência aumentada ou antigenicamente diferentes do vírus vacinal, apesar de que os vírus isolados de Ectima Contagioso podem compartilhar alguns antígenos de superfície comuns. Porém, experimentos de proteção cruzada não sustentam a sugestão de que as falhas vacinais devem ser explicadas com base na diferença antigênica entre o vírus vacinal e de campo (BUDDLE *et al.*, 1984).

1- Vacina Leivas Leite – registrada no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, sob o nº 0260/75

2- Vacina Ceva Ectisan – registrada no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, sob o nº 9342/07

Referências bibliográficas

ABRAHÃO, J. S.; CAMPOS, R. K.; TRINDADE, G. S.; GUEDES, M. I. M.; LOBATO, Z. I. P.; MAZUR, C.; FERREIRA, P. C. P.; BONJARDIM, C. A. e KROON, E.G. Detection and phylogenetic analysis of Orf vírus from sheep in Brazil: a case report. **Virology Journal**. v. 6, n. 47, 2009.

ANDRADE, L. E. C. Princípios de biologia molecular e suas aplicações em medicina. **Revista da Associação Médica do Brasil**. v. 39, p. 175 – 186, 1993.

ARITA, G. M. M.; CAPPELLARO, C. E. M. P. M. e DEAK, J. G. Isolamento e identificação de poxvírus causando doença em ovinos no estado do Ceará. **Biológico**. v. 52, n. 1/3, p. 23 – 26, 1986.

AMES, T. R.; ROBINSON, R. A.; O'LEARY, P. e FAHRMANN, J. W. Tail lesions of contagious ecthyma associated with dockin. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v. 184, n. 1, p. 88 – 90, 1984.

ARRANZ, F. R.; ARIAS, C. A. e RUBIO, J. F. P. Infeccion por vírus Orf. **Piel**. v. 15, p. 367 – 371, 2000.

AYNAULD, M. La stomatite pustuleuse contagieuse des ovins (chancre du mouton). **Annals of Institute Pauster**. v. 37, p. 498 – 527, 1923.

BALASSU, T. C. e ROBINSON, A. J. Orf vírus replication in bovine testis cells: kinetics of viral DNA polypeptide, and infectious vírus production and analysis of virion polypeptides. **Archives of Virology**. v. 97, p. 267 – 281, 1987.

BANKOWSKI, M. J. e ANDERSON, S. M. Real-time nucleic acid amplification in clinical microbiology. **Clinical Microbiology Newsletter**. v. 26, p. 9 – 15, 2004.

- BARRAVIERA, S. R. C. S. Diseases caused by poxvirus – Orf and milker’s nodules – a review. **Journal of Venomous Animal and Toxins including Tropical Diseases**. v. 11, n. 2, p. 102 – 108, 2005.
- BARTH, O. M. Estudos sobre a contração negativa de suspensões virais. **Revista Brasileira de Biologia**. v. 44, n. 1, 71 – 80, 1984.
- BECK, C. C. e TAYLOR, W. B. Orf: It’s awful. **Veterinary Medical Small Animal Clinic**. v. 69, p. 1413 – 1417, 1974.
- BERRIER, R. J. Contagious ecthyma. **Cornell Veterinary**. v. 1, n. 5, 2001.
- BHANUPRAKASH, V.; INDRANI, B. K.; HOSAMANI, M. e SINGH, R. K. The current status of sheep pox disease. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**. v. 29, p. 27 – 60, 2006.
- BOUGHTON, I. B. e HARDY, W. T. Contagious ecthyma (*soremouth*) of sheep and goats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v. 85, p. 150 – 179, 1934.
- BUDDLE, B. M.; DELLERS, R. W. e SCHURIG, G. G. Contagious ecthyma virus-vaccination failures. **American Journal of Veterinary Research**. v. 45, n. 2, p. 263 – 266, 1984.
- BUDDLE, B. M. e PULFORD, H. D. Effect of passively-acquired antibodies and vaccination on the immune response to contagious ecthyma virus. **Veterinary Microbiology**. v. 9, n. 6, p. 515 – 552, 1984.
- BUJDOSO, R.; HOPKINS, J.; DUTIA, B. M.; YOUNG, P e McCONNEL I. Characterization of sheep afferent lymph dendritic cells and their role in antigen carriage. **The Journal of Experimental Medicine**. v. 170, p. 1285 – 1302, 1989.
- BUTTNER, M. e RZIHA, H. J. Parapoxviruses: From lesion to the viral genome. **Journal of Veterinary Medicine**. v. 49, p. 7 – 16, 2002.
- CARN, V. M. Control of capripoxvirus infections. **Vaccine**. v. 11, n. 13, p. 1275 – 1279, 1993.
- CARTROXO, M. H. B.; CURI, N. A.; PITUCO, E. M.; GARCIA, M.; OKUDA, L. H.; PORTO, A. C. R. e STEFANO, E. Ocorrência de ectima contagioso em ovinos criados em Itatiba, estado de São Paulo, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**. v. 69, supl. 37, 2002.
- CHAN, K. W.; LIN, J. W.; LEE, S. H.; LIAO, C. J.; TSAI, M. C.; HSU, W. L.; WONG, M. L. e SHIG, H. C. Identification and phylogenetic analysis of Orf virus from goats in Taiwan. **Virus Genes**. v. 35, p. 705 – 712, 2007.
- COHEN, J. Molecular Biology – long PCR leaps into larger DNA sequences. **Science**. v. 263, p. 1564 – 1565, 1994.
- de la CONCHA BERMEJILLO, A.; GUO, A.; ZHANG, D.; WALDRON, D.; Severe persistent orf in young goats. **Journal of Veterinary Diagnosis and Investigate**. v. 15, p. 423 – 431, 2003.
- FENNER, F.; PEREIRA, H. G.; PORTERFIELD, J. S.; JOKLIK, W. K. e DOWNIE, A. W. Family and generic names for viruses approved by the International Committee on Taxonomy of Viruses. **Intervirology**. v. 3, n. 193, 1974.
- GALLINA, L.; DAL POZZO, F.; McINNES, C. J.; CARDETI, G.; GUERCIO, A.; BATTILANI, M.; CIULLI, S. e SCAGLIARINI, A. A real time PCR assay for the detection and quantification of Orf virus. **Journal of Virological Methods**. v. 134, p. 140 – 145, 2006.
- GASSMANN, U.; WYLER, R. e WITTEK, R. Analysis of Parapoxvirus genomes. **Archives of Virology**. v. 83, p. 17 – 31, 1985.
- GREIG, A. S. Contagious ecthyma of sheep. II. *in vitro* cultivation of the virus. **Canadian Journal Compendium Medical**. v. 21, p. 304 – 308, 1957.
- GREIG, A. S.; LINKLATER, K. A.; e CLARK, W. A. Persistent Orf in a ram. **Veterinary Record**. v. 7, n. 115, p. 149, 1984.

- GROFF, A. C. M.; KIRINUS, J. K.; SILVA, M. S. MACHADO, G.; COSTA, M. M. e VARGAS, A. P. C. Polymerase chain reaction for the diagnosis of bovine genital campylobacteriosis. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 30, n. 12, p. 1031 – 1035, 2010.
- GUERREIRO, M. G. Ectima contagioso dos ovinos no estado do Rio Grande do Sul. **Arquivos do Instituto de Pesquisa Veterinária Desidério Finamor**. n. 1, p. 51 – 53, 1954.
- GUIMARAES, L. M. Sobre um caso de ectima contagioso em cabras observado em São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**. n. 23, p. 232 – 234, 1939.
- GUO, J.; ZHANG, Z.; EDWARDS, J. F.; ERMEL, R. W.; TAYLOR, C. e de la CONCHA BERMEJILLO, A. **Virus Research**. v. 93, p. 169 – 179, 2003.
- HAIG, D. M. Subversion and piracy: DNA viruses and immune evasion. **Research in Veterinary Science**. v. 70, p. 205 – 219, 2001.
- HAIG, D. M.; McINNES, C.; DEANE, D.; REID, H. W. e MERCER, A. The immune and inflammatory response to Orf vírus **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**. v. 20, n. 3, p. 197 – 204, 1997.
- HAIG, D. M.; McINNES, C.; HUTCHINSON, G.; SEOW, H. F.; e REID, H. W. Cyclosporin A abrogates the acquired immunity to cutaneous reinfection with Parapoxvirus Orf vírus **Immunology**. v. 89, p. 524 – 539, 1996.
- HART, L.; HAYSTON, J. e KEAST, J. Observations on contagious pustular dermatitis of sheep. **Australian Veterinary Journal**. v. 25, p. 40 – 45, 1949.
- HONORATO, J. **Ectima contagioso dos ovinos e caprinos: A doença e sua vacina**. 2007. 47p. Monografia (Especialização em Farmacologia). Universidade Federal de Lavras, MG.
- HOOSER, S. B.; SCHERBA, G.; MORIN, E. e WHITELEY, H. E. Atypical contagious ecthyma in a sheep after extensive cutaneous thermal injury. **Journal of American Veterinary Medical Association**. v. 195, n. 9, p. 1255 – 1256, 1989.
- HOSAMANI, M.; BHANUPRAKASH, V.; SCAGLIARINI, A. e SINGH, R. K. Comparative sequence analysis of major envelope protein gene (B2L) of Indian Orf viruses isolated from sheep and goats. **Veterinary Microbiology**. v. 10, n. 116, p. 317 – 324, 2006.
- INOSHIMA, K.; MOROOKA, A. e SENTSU, H. Detection and diagnosis of parapoxvirus by the polymerase chain reaction. **Journal of virological Methods**. v. 84, p. 201 – 208, 2000.
- INOSHIMA, K.; MURAKAMI, T. e SENTSU, H. Characterization of parapoxviruses circulating among wild Japanese serows (*Capricornis crispus*). **Microbiology and Immunology**. v. 46, p. 583 – 587, 2002
- KASSAR, T. da C.; LUCENA, J. E. M.; GOMES, A. L. V.; CAMPINHO, D. da S. P.; SANTANA, R. L.; SILVA JÚNIOR, L. C. da; NASCIMENTO, M. C. O. do; GIL, L. H. V. G.; MAIA, R. de C. C. e CASTRO, R. S. Diagnóstico molecular do vírus ectima contagioso utilizando semi-nested PCR. **X Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão: Anais – X JEPEX**, Recife, PE, 2010.
- KERRY, J. B. e POWELL, D. G. The vaccination of young lambs against contagious pustular dermatitis. **Veterinary Record**. v. 88, n. 25, p. 671 – 672, 1971.
- KLUGE, J. P.; CHEVILLE, N. F. e PERRY, T. M. Ultrastructural studies of contagious ecthyma in sheep. **American Journal of Veterinary Research**. v. 33, n. 6, p. 1191 – 1200, 1972.
- KOTTARIDI, C.; NOMIKOU, K.; LELLI, R.; MARKOULATOS, P. e MANGANA, O. Laboratory diagnosis of contagious ecthyma: Comparison of different PCR protocols with vírus isolation in cell culture. **Journal of Virological Methods**. v. 134, p. 119 – 124, 2006.

LANGONI, H.; COELHO, K. I. R.; PIMENTEL, M. P.; SIQUEIRA, E. R. e SPAGO, E. N. Ectima contagioso em ovinos na região de Botucatu. **A Hora Veterinária**. v. 14, p. 60 – 62, 1995.

LININGSTON, C. W. Longevity of Contagious Ecthyma Vírus **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v. 137, n. 11, p. 651, 1960.

LOSOS, J. G. Infectious Tropical Disease of Domestic Animals. **International Development Research Center**. v. 1, p. 559 – 579, 1986.

LUGINBUHL, J-M. e ANDERSON, K. L. Controlling *soremouth* in meat goats. **Animal Science Facts**. Disponível em: http://www.cals.ncsu.edu/an_sci/extension/animal/meatgoat/pdf_factsheets/ANS%2000%20601MG.pdf.

MACÊDO, T. S. A.; RIET-CORRÊA, F.; DANTAS, A. F. M. e SIMÕES, S. V. D. Doenças de pele em caprinos e ovinos no semi-árido brasileiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 28, n. 12, p. 633 – 642, 2006.

MAYR, A.; HERLYN, M.; MAHNEL, H.; DANCO, A.; ZAC, A. e BOSTETD, H. **Zbl. Vet. Med. B**. v. 28, p. 535, 1981.

MAZUR, C.; FERREIRA, I. I.; RANGEL FILHO, F. B. e GALLER, R. Molecular characterization of Brazilian isolates of Orf vírus **Veterinary Microbiology**. v. 73, n. 4, p. 253 – 259, 2000.

MAZUR, C. e MACHADO, R. D. The isolation and identification of the contagious ecthyma vírus of caprines in cell cultures. **Veterinary Microbiology**. v. 21, n. 1, p. 127 – 130, 1990.

McKEEVER, D. J. e REID, H. W. Survival of Orf virus under british winter conditions. **Veterinary Record**. v. 118, p. 613 - 614, 1986.

MONDAL, B.; BERA, A. K.; HOSAMANI, M.; TEMBHURNE, P. A.; BANDYOPADHYAY, S. K. Detection of Orf virus from an outbreak in goats and its genetic relation with other parapoxviruses. **Veterinary Research Communication**. v. 30, p. 531 – 539, 2006.

MÜLLER-DOBLIES, U.U.; LI, H.; HAUSER, B.; ADLER, H.; ACKERMANN, M. Field validation of laboratory tests for clinical diagnosis of sheep-associated malignant catarrhal fever. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 36, n. 10, p. 2970 – 2972, 1998.

NAGINGTON, J. The growth of paravaccinia viruses in tissue culture. **Veterinary Record**. v. 82, p. 477 – 482, 1968.

NAGINGTON, J.; NEWTON, A. A. e HORNE, R. W. The structure of Orf virus. **Virology**. v. 23, p. 461 – 472, 1964.

NANDI, S.; UJJWAL, K. de; CHOWDHURY, S. Current status of contagious ecthyma or Orf disease in goat and sheep – A global perspective. **Small Ruminant Research**. v. 96, p. 73 – 82, 2011.

NETTLETON, P. F.; BREBNER, J.; POW, I.; GILRAY, J. A.; BELL, G. D. e REID, H. W. Tissue culture-propagated Orf vírus vaccine protects lambs from Orf vírus challenge. **Veterinary Record**. v. 138, p. 184 – 186, 1996.

NITSCHKE, A.; BUTTNER, M.; WILHELM, S.; PAULI, G. e MEYER, H. Real-Time PCR detection of Parapoxvirus DNA. **Clinical Chemistry**. v. 52, n. 2, p. 316 – 319, 2006.

NÓBREGA JR, J. E.; MACÊDO, J. T. S. A.; ARAÚJO, J. A. S.; DANTAS, A. F. M.; SOARES, M. P. e RIET-CORRÊA, F. Ectima contagioso em ovinos e caprinos no semi-árido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 28, n. 1, p. 135 – 139, 2008.

OLIVEIRA, D. S. C.; CASTRO, R. S.; NASCIMENTO, S. A. e MELO, W. T. Isolamento e caracterização preliminar de amostras do vírus ectima contagioso em caprino e ovino no estado de Pernambuco. **Ciência Veterinária nos Trópicos**. v. 1, n. 1, p. 33 – 40, 1998.

OLIVEIRA, D. S. C. Isolamento e identificação de amostras do vírus ectima contagioso em caprinos e ovinos no estado de Pernambuco. 1998. 38p. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária). Universidade Federal Rural de Pernambuco, PE.

- OTT, R. S. e NELSON, D. R. Contagious ecthyma in goats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v. 173, p. 81 – 82, 1978.
- PEDDIE, J. J. G. Vaccination of sheep against *scabby mouth*. **New Zealand Journal of Agriculture**. v. 81, p. 19 – 20, 1950.
- PIEGAS, N. S. Surto de ectima contagioso no Estado de São Paulo. **Biológico**. v. 33, p. 18 – 20, 1967.
- PINHEIRO, R. R.; GOUVEIA, A. M. G.; ALVES, F. S. F. e HADDAD, J. P. A. Aspectos epidemiológicos da caprinocultura cearense. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 52, p. 534 – 543, 2000.
- PYE, D. Vaccination of sheep with cell culture grow Orf vírus **Australian Veterinary Journal**. v. 67, n. 5, p. 182 – 186, 1990.
- RAO, K. N. P. e SINGH, M. Note on some observations on the cultivation of contagious pustular dermatitis virus in one-day-old eggs. **Indian Journal of Animal Science**. v. 51, p. 386 – 387, 1981.
- REID, H. W. The changing face of Orf. In: **Proceedings of Sheep Veterinary Society**. v. 18, p. 173 – 174, 1995.
- RENSHAW, H. W. e DODD, A. G. Serologic and cross-immunity studies with contagious ecthyma and goat pox isolates from the western United States. **Archives of Virology**. v. 56, p. 201 – 210, 1978.
- ROBINSON, A. J. e BALASSU, T. C. Contagious pustular dermatitis (Orf). **Veterinary Bulletin**. v. 51, p. 771 – 781, 1981.
- SALLES, M. W. S.; BARROS, C. S. L.; LEMOS, R. A. A. e WEIBLEN, R. Ectima contagioso (dermatite pustular) dos ovinos. **Ciência Rural**. v. 22, n. 3, p. 319 – 324, 1992.
- SANTANA, R. L. de. **Isolamento e avaliação do comportamento de amostras do vírus ectima contagioso em cultivo de células de córnea fetal caprina**. 2008. 57p. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária). Universidade Federal Rural de Pernambuco, PE.
- SCAGLIARINI, A.; DAL POZZO, F.; GALLINA, L.; GUERCIO, A.; VACCARI, F.; BATTILANI, M.; CIULLI, S. e PROSPERI, S. *in vitro* activity of VEGF-E produced by Orf vírus strains isolated from classical and severe persistent contagious ecthyma. **Veterinary Microbiology**. v. 114, n. 1 – 2, p. 142 – 147, 2006.
- SCAGLIARINI, A.; McINNES, C. J.; GALINA, L.; DAL POZZO, F.; SCAGLIARINI, L.; SNOCK, R.; PROSPERI, S.; SALES, J.; GILRAY, J. A. e NEULETON, P. F. Antiviral activity of HPMPC (cidofovir) against Orf vírus infected lambs. **Antiviral Research**. Article in press.
- SHAO-PENG, G. U.; XIN-TAO, S. H. I.; ZHONG-BING, W. e MING-XUE, Z. Identification and phylogenetic analysis of an Orf virus isolated from an outbreak in boer goat in Shanxi Province. **Agricultural Sciences in China**. v. 10, n. 6, p. 946 – 953, 2011.
- SHATZMAYR, O. M. B.; MAJEROWICZ, S.; ROMIJN, P. C.; SILVA, R. C. F.; COSTA, C. H. C.; RAPOSO, O. J.; PIRES, A. R. e SHATZMAYR, H. G. Ocorrência de Parapoxvírus em rebanho ovino no estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**. v. 28, n. 2, p. 60 – 62, 2006.
- SHELLEY, W. D. e SHELLEY, E. D. Surgical treatment of farmyard pox: Orf, milker's nodule, bovine pustular stomatitis pox. **Cutis**, v. 31, p. 256 – 257, 1983.
- SILVA, E. R. da; VIEIRA, L. da S.; ALVES, F. S. F.; PINHEIRO, R. R.; COSTA, A. L. da; CAVALCANTE, A. C. R. **Caprinos e ovinos: guia de saúde**. Sobral: Embrapa Caprinos, 2001. 66 p.
- SIMPLÍCIO, A. A. Caprinocultura e ovinocultura de corte no Brasil: Pontos para reflexão. **Revista CFMV – Conselho Federal de Medicina Veterinária**. Brasília – DF, n. 52, p. 27 a 36, 2011.

SULLIVAN, J. T.; MERCER, A. A.; FLEMING, S. B. e ROBINSON, A. J. Identification and characterization of an Orf virus homologue of the vaccinia virus gene encoding the major envelope antigen p37k. **Virology**. v. 202, n. 2, p. 968 – 973, 1994.

TIZAR, I. R. **Veterinary Immunology: An introduction**. 5 edition. Texas: W. B. Saunders Company, 1996.

TORFASON, E. G. e GUONADÓTTIR, S. Polymerase chain reaction for laboratory diagnosis of Orf virus infection. **Journal of Clinical Virology**. v. 24, p. 79 – 84, 2002.

TORRES, S. Sugestões para a organização de um plano de profilaxia das moléstias dos caprinos e ovinos no nordeste. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária **Anais do II Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária**. Belo Horizonte, p. 447 – 452, 1943.

VIKOREN, T.; LILLEHAUG, A.; AKERSTEDT, J.; BRETEN, T.; HAUGUM, M. e TRYLAND, M. A severe outbreak of contagious ecthyma (Orf) in a free-ranging musk ox (*Ovibos moschatus*) population in Norway. **Veterinary Microbiology**. v. 5, n. 127, p. 1 – 2, 2008.

YIRRELL, D. L.; REID, H. W.; NORVAL, M e HOWIE, S. E. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v. 22, p. 321 – 322, 1989.

ZHANG, K.; LU, Z.; SHANG, Y.; ZHENG, H.; JIN, Y.; HE, J. e LIU, X. Diagnosis and phylogenetic analysis of Orf virus from goats in China: a case report. **Virology Journal**. v. 7, n. 78, 2010.

Submissão: 27/01/2018

Aceito: 04/04/2018

Revista Agrária Acadêmica

Agrarian Academic Journal

Volume 1 – Número 1 – Mai/Jun (2018)

Natriuresis does not account for urinary concentration inability in the chronically undernourished rat

Varição nos teores de sódio em dieta multicarenciada:
efeitos sobre alguns aspectos da função renal em roedores

Edinéia Goedert¹, Ana Durce Oliveira da Paixão¹, Carmen de Castro-Chaves*¹

Corresponding author: Carmen de Castro-Chaves, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego S/N, 50670-901, Recife, PE, Brazil. E-mail: cchaves@ufpe.br

Abstract

Through different concentrations of sodium in the diet, we investigated whether the natriuresis observed in the DBR rats since weaning resulted from the higher Na + intake or from its lower conservation by the kidney and its effect on the urinary concentration. For this purpose, we used a multicentre diet, locally called the regional basic diet (DBR) and 60 male Wistar rats, treated from weaning with: (i) control diet, by the American Institute of Nutrition (AIN); ii) DBR supplemented with low Na + content (0.06%), the DBR group; (iii) DBR supplemented with normal Na + content (0.3%), the DBRnorm group; iv) DBR supplemented with high Na + content (3.12%), the DBRhiper group. The excretion capacity in relation to sodium intake was similar between these two groups (99.01 ± 0.12 vs $99.02 \pm 0.17\%$). Malnutrition compromised the urinary concentration mechanism.

Keywords: Undernutrition, glomerular filtration rate, sodium balance, urinary concentration.

Resumo

Através de diferentes concentrações de sódio na dieta, investigamos se a natriurese observada nos ratos em DBR desde o desmame decorria do maior aporte de Na⁺ ou da sua menor conservação pelo rim e o seu efeito sobre a concentração urinária. Para isso utilizamos uma dieta multicarenciada, localmente denominada dieta básica regional (DBR) e 60 ratos machos Wistar, tratados a partir do desmame com: i) dieta controle, nos padrões da American Institute of Nutrition (AIN), o grupo controle (C); ii) DBR suplementada com baixo teor de Na⁺ (0,06%), o grupo DBRhipo; iii) DBR suplementada com teor normal de Na⁺ (0,3%), o grupo DBRnormo; iv) DBR suplementada com teor alto de Na⁺ (3,12%), o grupo DBRhiper. A capacidade de excreção em relação a ingestão de sódio apresentou-se similar entre estes dois grupos ($99,01 \pm 0,12$ vs $99,02 \pm 0,17\%$). A desnutrição comprometeu o mecanismo de concentração urinária.

Palavras-chave: Desnutrição, filtração glomerular em ratos, balanço de Na, concentração urinária.

Introduction

Natriuresis, defective water handling, impaired urine concentration, activation of renin-angiotensin-system, hypoproteinemia and metabolic alterations, were described in chronic undernutrition [1, 2]. Epidemiological studies in Pernambuco State, Brazil, found undernutrition mostly in children due to the diet consumed. These studies were the base for an experimental diet normal in carbohydrates but deficient in proteins, lipids, vitamins and minerals, and also in NaCl [3]. The effects of chronic undernutrition by this diet on renal function aspects have been addressed as follow. Adult rats with chronic undernutrition presented hypoproteinemia, renal vasodilatation and natriuresis leading to a negative balance, with unaltered GFR [4].

The intake of such a diet from weaning impaired renal Na⁺ and H₂O conservation, but increased GFR and proximal tubule re-absorption in adult rats with unaltered levels of nitric oxide in blood and urine [5]. Juvenile and adult undernourished rats urinary Na⁺ excretion was higher being twice the Na⁺ intake a in control group) and the adult undernourished showed augmented fractional proximal Na⁺ reabsorption ($61.0 \pm 0.3\%$ vs $81.8 \pm 2.2\%$) with a concomitant decrease in distal delivery (9.5 ± 0.5 l mol/min vs 14.0 ± 0.2 l mol/min per 100 g BW). At the molecular level, the lack angiotensin II sensibility could be due to Na⁺-ATPase hyperactivity and the ATP-dependent Na⁺ transporters were affected in opposite ways: the (Na⁺-K⁺)ATPase activity from undernourished rats fell by 30%, in parallel with a 20% decrease in its immunodetection, whereas the ouabain-insensitive Na⁺-ATPase, which is responsible for the fine-tune control of Na⁺ reabsorption, increased threefold [5].

The present work was designed to verify if the natriuresis seen on rats on chronic undernutrition was due to increased dietary Na⁺ intake or to renal impairment to conserve this electrolyte. Additionally, the effects of variable dietary Na⁺ content and chronic undernutrition on renal concentrating mechanism were assessed. Plasma volume was measured in normal sodium content diets for its effect on effective circulatory volume.

Materials and methods

Materials

All reagents used here were of the highest purity available: creatinin kit Biosystem; Lithium chloride (Cloreto de lítio) P.A. VETEC, Sodium Chloride (Cloreto de sódio) P.A. VETEC.

Animals

Experiments were conducted in accordance with the Guide for the Care and Use for Laboratory Animals – EUA and were approved by the Ethics Committee for Animal Experimentation from the Federal University of Pernambuco, Brazil by report number N 029/06. Wistar rats were maintained in a room at 22 ± 2 °C, with 12-h light–dark cycle, 50% humidity, and reared at four per collective cage with free access to food and water, except when indicated. Only male rats were used in all experiments. All rats were weighed weekly from weaning, and had tail

blood collected at weaning and at three week intervals to measure hematocrit. 40 rats were previously adapted to individual metabolic cages, remaining there only during the experimental procedures [7]. At the completion of the 24h balance studies, renal concentration was assessed. At least 72 h later, the rats were treated with LiCl, as described below, to evaluate GFR and proximal tubule Na⁺ re-absorption.

Diets and experimental groups

Control diet (CD) was AIN 93 M [8], modified by adding NaCl to obtain a Na⁺ 0.3 g/100 g diet. The deficient diet (DD) was prepared according to Teodósio et al, 1990 [3] with the following ingredients (g/100g): manioc flour (64.9), beans (18.5), sweet potatoes (12.9) and cured meat (3.7). All dietary components but manioc, were cooked, dehydrated at 60o C, pulverized, weighed, mixed and had meat fat added (0.3 g/100g). The mixture was hydrated into a paste and dehydrated at 60oC for 24 h to obtain pellets. Dietary modifications: i) the cured meat was repeatedly washed, the diet was prepared as above and the diet final sodium was 0,049 mg/100 g; ii) the diet was prepared as above employing cured meat washed as above, NaCl was added at the end, to obtain diets with low, normal and high Na⁺ levels, respectively: 0.15 (LSDD), 0.3 (NSDD) or 0.6 (HSDD) g/100g [9].

Dietary composition was held at the Federal University of Pernambuco Nutrition Department. At the day 22nd day of life, age-matched rats were weaned and randomly assigned into CD or to one of the deficient diets LSDD, NSDD or HSDD until 18th week of age.

Sodium and water balances

Rats were housed in individual metabolic cages. As being previously adapted to the cages, after 1 day of acclimatization, diet and H₂O intake plus urine volume were measured for two 24 h periods at 8th, 13th and 18th weeks of age. Na⁺ intake was calculated by the product of food intake and Na⁺ dietary content. Data is a mean of the two measurements.

Renal concentration capacity

Renal concentration capacity was assessed by a 12 h overnight H₂O deprivation in rats from all groups but HSDD group, as previously done in humans [1] and in rats [10]. Urine volume, density and Na⁺ concentrations were determined but Na⁺ excretion was calculated. All values were corrected for 100g BW.

GFR and proximal tubule Na⁺ re-absorption

GFR and proximal tubule Na⁺ re-absorption were measured respectively by creatinine (Cl_{cr}) and lithium (Cl_{Li}) clearances while Na⁺ tubular transport was calculated [11, 12]. General clearance formula (C_x) is: $C_x = U_x \times V / P_x$ (1) Where, U_x is x concentration in urine, V is urine volume and P_x is plasma concentration of x. The rats were given LiCl (0.06 mmol/100 g BW) by gavage and were maintained with H₂O but no food overnight (12 h). Then, they received a H₂O overload (5 mL/100 g BW) by gavage in two steps (3 and 2 mL/100 g BW), respectively 90 and 30

min before being housed in metabolic cages. At the end, blood was collected by decapitation in non-heparinized tubes. Then, major organs were removed and weighed. All values were corrected for 100 g of BW. Na tubular transport was assessed by the following formula:

Na⁺ filtered load (FLNa⁺) = Cl_{cr} x [Na⁺]_{plasma}, in μEq/min/100g (2);

Na⁺ distal delivery (DDNa⁺) = Cl_{Li⁺} x [Na⁺]_{plasma}, in μEq/min/100g (3);

Na⁺ proximal tubule fractional reabsorption (PTFrNa⁺R) = [(FLNa⁺ - DDNa⁺)/FLNa⁺] x 100(4);

Na⁺ distal tubule fractional reabsorption (DTFrNa⁺R) = [(DDNa⁺)-(UNa⁺+V)/DDNa⁺] x 100 (5).

Plasma volume measurement

Plasma volume was assessed by Evans Blue dye, after anesthesia with sodium pentobarbital (60 mg/kg BW, i.p.). Briefly, a femoral artery was catheterized one 1 mL basal blood sample was collected in heparinized syringe to obtain plasma, after centrifugation and the catheter was filled with physiological saline. The dye (0.1% in physiological saline) was administered (100 μg/100 g BW) and the catheter was flushed with 200 μL of physiological saline. After 7.5 min, physiological saline in the catheter was discarded and another 1 ml blood sample was collected as above. The plasmatic dye concentration was determined spectrophotometrically at 610 nm and compared to a standard curve constructed with known concentrations of Evans Blue dye and samples of basal plasma [13].

Analytic technique

Urine density was assessed by refractometry (Atago), showing upper limit of 1.050. Na⁺ and creatinine concentrations in serum and urine were determined respectively by a selective ion analyser 9180 (Roche) and colorimetry on a Beckman Coulter, CX9 ALX.

Statistical analysis

Data is presented as mean±SD. The statistical analysis was by Student-Newman-Keuls test. Significance values were set at 95% (p<0.05)

Results

Although at weaning all offspring had similar BW, the weight gain during development was decreased on the DD groups at all Na⁺ levels. The adult LSDD rats weighed less than NSDD rats only at 18th week of age, but the HSDD rats had the lowest weights at all weeks either compared to CD or to NSDD. The hematocrit increased with age similarly among groups: at weaning the value was 34±35 for all; at 8th week (CD: 40±4, LSDD: 45±2, NSDD: 44±2, HSDD: 45 ± 2), at 13th week (CD: 45±3, LSDD: 48±2, NSDD: 47±1, HSDD: 47±2) and at 18th week of age (CD: 47±2, LSDD: 50±2, NSDD: 49±1, HSDD: 49±1). The ratio liver/body weight was higher only at HSDD compared to NSDD, while the relative heart weight (heart/body weight) was increased in HSDD either compared to CD or NSDD groups. The ratio testicles/body weight was augmented in all DD

groups compared to CD, and in HSDD also compared to NSDD. Undernutrition induced kidney atrophy as can be seen in groups LSDD and NSDD, but the high dietary sodium led to kidney hypertrophy in the HSDD group. The renal index was similar between HSDD and CD.

All rats on the DD from weaning had a higher diet intake throughout life than rats on CD at all study weeks but rats on LSDD and HSDD diet intake was greater than NSDD. The values of percent Na⁺ excretion over intake were similar among NSDD, HSDD and CD. Due to the low sodium intake, the levels of Na⁺ urinary sodium concentration shown by LSDD were undetectable in the sodium electrolyte analyzer.

At 8th of age, HSDD exhibited H₂O intake 5 times all other groups but at 13th and 18th weeks of age, the difference was 3 times. The values of percent H₂O excretion in urine over intake decreased with age. At 8th week the mean values were 40% for CD, LSDD and NSDD but 77% for HSDD; at 13th week mean values were 31% for CD, LSDD and NSDD but 56% for HSDD; and at the 18th week of age CD, LSDD and NSDD mean values were 23% and the rats from HSDD group excreted 55% percent of the H₂O intake. Dietary Na⁺ influenced H₂O intake as expected, but H₂O balance was maintained independently of nutrition condition and Na⁺ intake.

After 12 h overnight H₂O deprivation, the decrement in urine volume was less than CD and lower urinary density on NSDD group points to incapacity to conserve H₂O.

Creatinin and lithium clearances were similar among rats from all groups. The mean value of plasma lithium in all experimental groups was 0.30 ± 0.09 $\mu\text{Eq/mL}$, varying from 0.26 to 0.33, $\mu\text{Eq/mL}$. Besides being measured after an acute administration, these values were well below the nephrotoxic levels observed in humans in chronic treatments [14]. Sodium tubular transport values, assessed by filtered load, distal delivery plus proximal tubule fractional re-absorption were similar among groups. However, fractional distal re-absorption was increased in LSDD and decreased in HSDD compared to CD and NSDD, due to Reinforcing data on maintained Na⁺ balance in undernourished rats, the plasma volume was similar (3.4 ± 0.41 vs $3.3 \pm 0.37\text{mL}$) between NSDD and CD groups.

Discussion

The organ weight relative to body weight was adopted here due to great difference in rat weights from CD and the DD groups at 18th week of age. Rats on DD at different Na⁺ levels weighed less than the ones on CD, due to deficient quality and quantity of nutrients but carbohydrates. Na⁺ levels were the only difference among the DD, and NSDD rats weighed more than LSDD at 18th week but rats on HSDD group weighed less throughout the study, compared to CD and NSDD rats. The results on LSDD are different from the weight pattern seen on 12 week old rats, from weaning on normal protein diets but with low, normal or high s Na⁺: the rats on low Na⁺ diet weighed more than controls, and rats on the high Na⁺ weighed less from the 8th week until adults [9], in agreement with the NSDD data here.

Interestingly, the weight gain stabilized differently among the experimental groups: at the 13th week for the CD, at the 18th week for HSDD and LSDD but rats of NSDD group were still growing at the week 18th, since protein-malnourished rats grow more slowly but for longer durations [15], although here the rats did not reach normal final size. Organ weights were more affected in the HSDD group. The higher testicles weights on all DD groups could be due to

increased angiogenesis as previously been seen [16]. Higher heart weight in the HSDD rats might be by increased oxidative stress, as has been shown that a high-salt diet leads to increased generation of reactive oxygen species in striated muscle micro-vessels, which are responsible for decreased endothelium-dependent dilation [17]. This could lead to cardiac hypertrophy by hemodynamic mechanisms. Furthermore, increased oxidative stress could lead also to hypertrophy in some tissue [18].

Regarding the sodium balance, the values of percent Na^+ excretion over ingestion shows that rats from all groups maintained their balances, However, previous results from this laboratory found natriuresis in DD rats from weaning: i) in adult rats in a high Na^+ control diet (807.5 mg/100g) or on a low Na^+ deficient diet (207.5 mg/100 g), although Na^+ intake was higher in control rats, Na^+ excretion were similar but the percent excreted over the ingested was 3 times higher in the low sodium deficient diet rat, thus indicating a difficulty on sodium conservation [19]; ii) Urinary Na^+ excretion was increased and almost twice the Na^+ intake in juvenile and adult DD rats as to controls. At the molecular level, the ATP-dependent Na^+ transporters were affected in opposite ways. The (Na^+-K^+) ATPase activity from undernourished rats fell by 30%, in parallel with a 20% decrease in its immunodetection, whereas the ouabain-insensitive Na^+ -ATPase, which is responsible for the fine-tune control of Na^+ reabsorption, increased threefold. Then, that early alterations in proximal tubule Na^+ pumps, together with an abnormally augmented urinary Na^+ excretion, might be the link between undernutrition and late renal dysfunction [6].

Also, anesthetized 3-month day old rats assigned from weaning to a multideficient diet, which was low in sodium, presented a high urinary sodium excretion, a negative sodium balance and renal vasodilatation as well [4]. In spite of the diverse dietary Na^+ , balance was maintained at all weeks with Na^+ excretion paralleling ingestion in this study.

The present work was designed to shed some light on the nature of the natriuresis seen on rats on a DD since weaning. There were three major possibilities: increased ingestion, renal impairment to conserve Na^+ and comparison to a control diet low in Na^+ . All rats on the DD from weaning had higher diet intake throughout life than rats on control. Na^+ intake is a product of diet intake and Na^+ dietary content, which was respectively low, normal and high on DD rats. The excretion relative to intake indicates that rats on DD at diverse Na^+ levels were able to maintain their respective Na^+ balances at all study weeks.

The capacity to concentrate urine is the finest and most complex of the renal functions, the last to be acquired in normal life and the first to be lost when functioning renal mass starts to decrease. Then, NSDD were unable to concentrate urine, corroborating literature data in humans [1, 2], in rats [2, 10] and our previous results [5, 6, 19]. The impairment of urinary concentration mechanisms was not correlated with increment in GFR, i. e, medullar washout seem unlikely in these undernourished animals, since plasma volume was unchanged in the normal sodium levels.

GFR is reduced both in humans with caloric protein malnutrition and experimentally in rats on low protein diets [2] contributing to the hydro-electrolytic alterations. Here, GFR was not different in adult conscious on DD, independently of dietary Na^+ content. Since plasma volume was similar between CD and DD rats, it may be suggested that effective circulatory volume might be unchanged. Measurement of GFR by creatinine clearance is a valid method in conscious animals, since GFR measured simultaneously by creatinine and by $[3\text{H}]$ inulin clearances, a significant correlation was shown between them [20] The increased urinary volume in NSDD rats could not be

attributed to reduction in Na⁺ re-absorption in the proximal and distal tubules. Kudo and others [21] have shown that Na⁺ re-absorption is reduced in the thick ascendant limb of Henle loop in undernourished rats and here, we cannot discard a reduced Na⁺ re-absorption in the ascending limb of Henle's loop. Furthermore, the synthesis of urea is reduced in the liver of undernourished rats, consequently diminishing medullar osmolarity [22]. This disturbance of urinary concentration leads to an increment of urea transporters in the inner medullary collecting ducts [23].

Conclusions

Malnutrition and sodium content did not influence: glomerular filtration; proximal tubular sodium transport; sodium balance; plasma volume; pressure levels. Malnutrition compromised the urinary concentration mechanism, however, sodium excretion does not seem to contribute to this disorder, since it remained closely correlated with the concentration of this electrolyte in the diet.

Acknowledgment

Financial support for this research was provided by CAPES through PROCAD 8052. We would like to thank Nielson Torres de Melo for his technical support, Laboratório Marcelo Magalhães for creatinin analysis and Marcelo CC Stabile for revising the English.

References

- [1] Klahr S, Tripathy K, Garcia FT, Mayoral LG, Ghitis J, Bolanos O. On the nature of the renal concentrating defect in malnutrition. **Am J Med** 1967;43:84-96.
- [2] Benabe JE, Martinez-Maldonado M. The impact of malnutrition on kidney function. **Miner Electrolyte Metab** 1998;24(1):20-6.
- [3] Teodósio NR, Lago ES, Romani SAM, Guedes RCA. A regional basic diet from northeast Brazil as a dietary model of experimental malnutrition. **Arch Latinoam Nutr** 1990;40:533-47. [4] Paixão ADO, Nunes FA, Monteiro JC, Maciel CR. Low sodium chloride content in a multideficient diet induces renal vasodilatation in rats. **Nutr Res** 2003;23:85-9.
- [5] Costa-Silva JH, Higa EM, Castro-Chaves C. A multideficient diet impairs renal H₂O and Na conservation, increases glomerular and proximal tubule function. Abstract, **Annals of World Congress of Nephrology**, Singapore, 2005.
- [6] Costa-Silva JH, Silva PA, Pedi N, Luzardo R, Lamas EM, Lara LS, Bezerra AM, Castro-Chaves CC, Vieyra A. Chronic undernutrition alters renal active Na⁺ transport in young rats: potential hidden basis for pathophysiological alterations in adulthood? **Eur J Nutr** 2009;48:437-45.
- [7] Mills DE, Huang YS, Narce M, Poisson JP. Psychosocial stress, catecholamines, and essential fatty acid metabolism in rats. **Proc Soc Exper Biol Med** 1994;205:56-61.
- [8] Reeves PG. Components of the AIN-93 diets as improvements in the AIN-76A Diet. **The Journal of Nutrition** 1997;127:838S-41.
- [9] Coelho MS, Passadore MD, Gasparetti AL, Bibancos T, Prada PO, Furukawa LL, *et al.* High- or low-salt diet from weaning to adulthood: Effect on body weight, food intake and energy balance in rats. **Nutr Met Cardiovasc Dis** 2006;16:148-55.

- [10] Klein JD, Le Quach D, Cole JM, Disher K, Mongiu AK, Wang X, Bernstein KE, Sands JM. Impaired urine concentration and absence of tissue ACE: involvement of medullary transport proteins. **Am J Physiol Renal Physiol** 2002;283:517-24.
- [11] Amaro CRPR, Padovani CR, Gontijo JAR, Figueiredo JF. Avaliação da função tubular proximal utilizando o clearance de lítio no tratamento pela Ciclosporina A em ratos. **J Bras Nefrol** 1997;19:369-75.
- [12] Thomsen K. Lithium clearance as a measure of sodium and water delivery from proximal tubule. **Kidney Int** 1990;37(S28):S10-6.
- [13] Farjanel J, Denis C, Chatard JC, Geysant A. An accurate method of plasma volume measurement by direct analysis of Evans blue spectra in plasma without dye extraction: origins of albumin-space variations during maximal exercise. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol** 1997;75:75-82.
- [14] Raedler TJ, Wiedemann K. Lithium-induced nephropathies. **Psychopharmacol Bull**, 2007;40:134-49.
- [15] Reichling TD, German RZ. Bones, muscles and visceral organs of protein-malnourished rats (*Rattus norvegicus*) grow more slowly but for longer durations to reach normal final size **J. Nutr.** 130: 2326-32, 2000.
- [16] Carvalho M, Mateus L, Afonso F, Van Harten S, Cardoso LA, Redmer DA, Ferreira-Dias G. Testicular angiogenic activity in response to food restriction in rabbits. **Reproduction** 2009;137(3):509-15.
- [17] Lenda DM, Sauls BA, Boegehold MA. Reactive oxygen species may contribute to reduced endothelium-dependent dilation in rats fed high salt. **Am J Physiol Heart Circ Physiol** 2000;279(1):H7-H14.
- [18] Kitiyakara C, Chabrashvili T, Chen Y, Blau J, Karber A, Aslam S, Welch WJ, Wilcox CS. Salt intake, oxidative stress, and renal expression of NADPH oxidase and superoxide dismutase. **J Am Soc Nephrol** 2003;14(11):2775-82.
- [19] Ribeiro VS, Silva PA, Lamas EM, Lara LS, Chaves CC, Vieyra A. A deficient diet from weaning affects renal structure, Na⁺ conservation and blood pressure in the adult rat. **Annals of the Covian Symposium**, 2008. P. 12.
- [20] Hoppe CC, Roger G, Moritz EKM, McEwen LAC, Fitzgerald SM, Dowling J, Bertram JF. Combined prenatal and postnatal protein restriction influences adult kidney structure, function, and arterial pressure. **Am J Physiol** 2007; 292:462-9.
- [21] Kudo LH, Shimizu MHM, Seguro AC, Rocha AS. Renal concentrating defect in protein Malnutrition: the role of the thick ascending Limb of Henle and inner Medullary Collecting Duct. **Nephron** 1991;57:156-63.
- [22] Aperia A, Broberger O, Larsson A, Snellman K. Studies of renal urea cycle enzymes. I. Renal concentrating ability and urea cycle enzymes in the rat during protein deprivation. **Scand J Clin Lab Invest** 1979;39(4):329-36.
- [23] Isozaki T, Verlander JW, Sands JM. Low protein diet alters urea transport and cell structure in rat initial inner medullary collecting duct. **J Clin Invest** 1993;92(5):2448-57.

Submissão: 25/01/2018

Aceito: 02/04/2018

