

ISSN 2595-3125

# Revista Agrária Acadêmica

*Agrarian Academic Journal*

Volume 2 - Número 1 - Jan/Fev (2019)

Publicação técnico-científica bimensal eletrônica

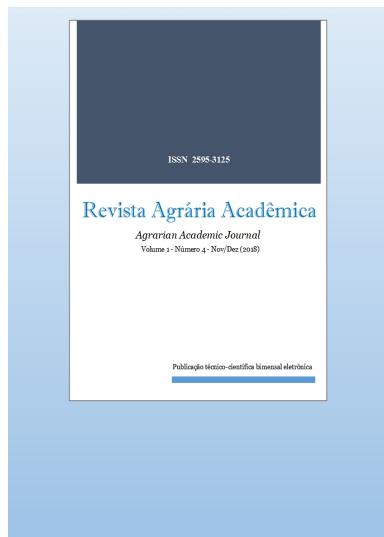
# Revista Agrária Acadêmica

*Agrarian Academic Journal*

Volume 2 – Número 1 – Jan/Fev (2019)

## SUMÁRIO

<b>Genótipos de batata para o sistema orgânico de produção no centro-oeste brasileiro.</b> Giovani Olegário da Silva, Juliana Zucolotto, Gabriel Emiliano Pereira, Carlos Francisco Ragassi, Agnaldo Donizete Ferreira de Carvalho, Arione da Silva Pereira	6 - 15
<b>Consumo e digestibilidade de dietas contendo farelo de mamona extrusado fornecidas a cabras em lactação.</b> Sueli Freitas dos Santos, Magno José Duarte Cândido, Marco Aurélio Delmondes Bomfim, Diego Barcelos Galvani, José Luis Ramirez Ascheri	16 - 27
<b>Sensor laser para determinação do volume foliar do dossel de plantas arbóreas.</b> André Luís da Silva Quirino, Mauri Martins Teixeira, Haroldo Carlos Fernandes, Francisco de Assis de Carvalho Pinto, Alexandre Santos Brandão	28 - 37
<b>Produtividade de cultivares de maxixe (<i>Cucumis anguria L.</i>) em diferentes sistemas de cultivo.</b> Herodilson Guimarães da Costa, Ana Francisca T. A. Ferreira e Ferreira, Hiroshi Noda, Jânia Lília da Silva Bentes	38 - 46
<b>Enxertia em cultivar de tomateiro Yoshimatsu.</b> Luziane Vitor de Souza, Daniel Felipe de Oliveira Gentil	47 - 55
<b>Extratos de plantas no controle biológico do fungo <i>Botrytis cinerea</i> na cultura do morangueiro.</b> Cristiano Pereira da Silva, Rafaella Caroline Bernardi Marchiotti	56 - 68
<b>Produção e composição do leite de cabras alimentadas com dietas contendo farelo de mamona extrusado.</b> Sueli Freitas dos Santos, Marco Aurélio Delmondes Bomfim, Magno José Duarte Cândido, Diego Barcelos Galvani, Rita de Cássia Ramos do Egito Queiroga	69 - 80
<b>Fungos associados às sementes de cedro vermelho (<i>Cedrela odorata L.</i>) e teto amarelo (<i>Ormosia excelsa spruce Ex Benth.</i>).</b> Geisa da Silva Cristostomo, Jania Lilia da Silva Bentes, Alex-Sandra Farias de Almeida	81 - 92
<b>Agentes etiológicos envolvidos na mastite bovina na bacia leiteira de Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil.</b> Leide Lágela de Oliveira Sousa, Brenda Ferreira de Figueiredo, Rebeca Alves dos Santos, Jomel Francisco dos Santos, Paulo Cesar Gonçalves Azevedo Filho	93 - 102
<b>A construção dos mercados de qualidade do cacau no Brasil.</b> Katianny Gomes Santana Estival, Solange Rodrigues Santos Corrêa, Diego Pierotti Procópio	103 - 123
<b>O vírus ORF (Ectima Contagioso).</b> Rosana Léo de Santana	124 - 143
<b>Urospermia in horses.</b> Jailson Honorato, José Adalmir Torres de Souza, Deyse Naira Mascarenhas Costa	144 - 160



A Revista Agrária Acadêmica é um periódico científico publicado bimestralmente 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](mailto: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.

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.

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



ISSN (on-line): 2595-3125



DOI: 10.32406

Conselho Editorial

EDITORES

Jailson Honorato – Doutorado em Ciência Animal – UI / USA

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

CONSELHO EDITORIAL

Alan Mario Zuffo (UFMS) – Doutorado em Agronomia (Fitotecnia) – UFLA

Alexander Stein de Luca (IFMT) – Doutorado em Ciências Biológicas – UFSCAR

Ana Maria Quessada (UNIPAR) – Doutorado em Medicina Veterinária – UNESP

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

Bruno Gomes Cunha (INCRA) – Doutorando em Agronomia (Solos e Nutrição de Plantas) – UFS

Carlos Antonio dos Santos (UFRRJ) – Doutorando em Fitotecnia (Produção Vegetal) – UFRRJ

Carlos Frederico de Souza Castro (IFGOIANO) – Doutorado em Química – UnB

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

Clauber Rosanova (IFTO) – Doutorando em Ciências do Ambiente – UFT

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

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

Cristiano Pereira da Silva (UNIGRAN) – Doutorado em Agronomia (Produção Vegetal) – UNESP

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

Daniel Sá Freire Lamarca (ESALQ-USP) – Doutorando em Engenharia de Sistemas Agrícolas – ESALQ-USP

Déborah Nava Soratto (UFMS) – Doutoranda em Ciência Florestal – UFV

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

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

Elton Lima Santos (UFAL) – Doutorado em Zootecnia (Nutrição Animal) – UFRPE

Erasto Viana Silva Gama (IFBAIANO) – Doutorado em Ciências Agrárias – UFRB

Fábio Adriano Santos e Silva (IFGOIANO) – Doutorando em Ciências Agrárias – IFGOIANO

Fábio Janoni Carvalho (IFTM) – Doutorando em Agronomia (Fitotecnia) – UFU

Fabíola Villa (UNIOSTE) – Doutorado em Agronomia (Fitotecnia) – UFLA / Pós-Doutorado em Olivicultura – EPAMIG

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

Gabriela Braga de Sá (UFCG) – Mestranda em Ciências Florestais – UFCG

Givago Coutinho (UFLA) – Doutorado em Agronomia (Fitotecnia) – UFLA

Hébelys Ibiapina da Trindade (IFMA) – Doutorado em Ciência Animal – UFPI

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

Ivaniel Fôro Maia (INCAPER) – Mestrando em Engenharia Ambiental – UFES

Izidro dos Santos de Lima Junior (IFMS) – Doutorado em Agronomia (Produção Vegetal) – UFGD

Jorge González Aguilera (UFMS) – Doutorado em Genética e Melhoramento – UFV

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

Norivaldo Lima Santos (EMDAGRO) – Doutorado em Zootecnia (Produção Animal) – UFPB

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

Sarah Jacqueline Cavalcanti da Silva (UFAL) – Doutorado em Agronomia (Fitopatologia) – UFRPE

Silvia Cristina Vieira (COATER) – Mestrado em Agronegócio e Desenvolvimento – UNESP

Tarcisio Rangel do Couto (UFF) – Doutorado em Agronomia (Fitotecnia) – UFRRJ

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

## Bases Indexadoras



# Revista Agrária Acadêmica

*Agrarian Academic Journal*

Volume 2 – Número 1 – Jan/Fev (2019)

---

doi: 10.32406/v2n12019/6-15/agrariacad

## Genótipos de batata para o sistema orgânico de produção no centro-oeste brasileiro

Potato genotypes for organic cultivation in Central-West Brazil

Giovani Olegário da Silva<sup>1</sup>, Juliana Zucolotto<sup>2</sup>, Gabriel Emiliano Pereira<sup>3</sup>, Carlos Francisco Ragassi<sup>4\*</sup>, Agnaldo Donizete Ferreira de Carvalho<sup>5</sup>, Arione da Silva Pereira<sup>6</sup>

<sup>1</sup>- Embrapa Hortalícias - Brasília/DF – Brasil, E-mail: [giovani.olegario@embrapa.br](mailto:giovani.olegario@embrapa.br)

<sup>2</sup>- Programa de pós-graduação em Fitotecnia/Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/Universidade de São Paulo – USP – Piracicaba/SP – Brasil, E-mail: [julianazucolotto@gmail.com](mailto:julianazucolotto@gmail.com)

<sup>3</sup>- Programa de pós-graduação em Agronomia/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária/Universidade de Brasília – UnB – Brasília/DF – Brasil, E-mail: [gb.emiliano28@gmail.com](mailto:gb.emiliano28@gmail.com)

<sup>4</sup>\*- Embrapa Hortalícias - CP 218, CEP 70.275-970 - Brasília/DF – Brasil, E-mail: [carlos.ragassi@embrapa.br](mailto:carlos.ragassi@embrapa.br)

<sup>5</sup>- Embrapa Hortalícias - Brasília/DF – Brasil, E-mail: [agnaldo.carvalho@embrapa.br](mailto:agnaldo.carvalho@embrapa.br)

<sup>6</sup>- Embrapa Clima Temperado - Pelotas/RS – Brasil, E-mail: [arione.pereira@embrapa.br](mailto:arione.pereira@embrapa.br)

---

### Resumo

Avaliaram-se genótipos de batata em sistema orgânico na região produtora de batata do Centro-Oeste Brasileiro. Sete genótipos foram avaliados por três safras, 2016, 2017 e 2018 em delineamento blocos casualizados com cinco repetições. A produtividade (total, comercial e número de tubérculos comerciais) e a qualidade (massa média de tubérculos comerciais e peso específico) foram avaliados. IPR Cris e BRSIPR Bel destacaram-se em produtividade total nas três safras avaliadas. BRSIPR Bel, seguida por BRS Ana obtiveram os maiores valores de peso específico, ao passo que IPR Cris e BRS F63 apresentaram valores intermediários. IPR Cris e BRSIPR Bel podem ser recomendadas para o cultivo nessas condições.

**Palavras-chave:** *Solanum tuberosum* L., peso específico, rendimento de tubérculos

### Abstract

Potato genotypes were evaluated under organic cultivation in Central-West Brazil. Seven potato genotypes were evaluated during three crop seasons, 2016, 2017 and 2018 in a randomized complete block design with five replications. Productivity (total and marketable and number of marketable tubers) and quality traits (average mass of marketable tubers and specific gravity) were assessed. IPR Cris and BRSIPR Bel stood out for total productivity along the three crop seasons. BRSIPR Bel followed by BRS Ana had the highest specific gravity, whereas IPR Cris and BRS F63 had intermediate values. IPR Cris and BRSIPR Bel can be recommended for cultivation under such conditions.

**Keywords:** *Solanum tuberosum* L., specific gravity, tuber productivity

## Introdução

A batata (*Solanum tuberosum* L.) é a terceira fonte alimentar mais importante do mundo, sendo suplantada apenas por arroz e trigo. O Brasil produziu, em 2016, 3.656.846 toneladas de batata, em uma área de 118.076 hectares, com produtividade média de 30,98 t ha<sup>-1</sup> (IBGE, 2018). Incrementos de produtividade em sistemas convencionais de produção têm sido alcançados devido à alta responsividade da cultura às melhorias no manejo cultural, apresentando aumento exponencial de produtividade em resposta, principalmente, aos altos níveis de adubação (SILVA et al., 2018) e ao controle químico de pragas e doenças, que são empregados nesse cultivo. Em razão disso, esses sistemas apresentam alto custo de produção e, considerando a alta oscilação dos preços da batata no mercado, o sistema pode apresentar baixa viabilidade econômica.

Apesar de bastante responsiva a insumos, é possível cultivar batata em sistemas menos intensivos de produção, como o orgânico, sobretudo quando cultivares mais adaptadas são utilizadas. Mesmo que, em geral, a produtividade de tubérculos nos sistemas orgânicos seja inferior aos convencionais, o sistema orgânico apresenta uma maior viabilidade econômica, uma vez que seu maior valor agregado, aliado a uma menor exigência dos consumidores desse nicho de mercado por aparência do tubérculo, acaba compensando as baixas produtividades. Além disso, com o uso de técnicas de manejo adequadas às normativas da produção orgânica, é possível se obter sucesso na lavoura e, consequentemente, um produto de qualidade (NAZARENO, 2009).

O cultivo orgânico de batata difere do convencional em diversos fatores (NAZARENO, 2009). Neste sistema, são utilizadas fontes de adubo menos solúveis como os adubos orgânicos e de rochas, enquanto no convencional são utilizadas maiores doses de adubos solúveis na linha de plantio. Não são permitidos inseticidas e fungicidas utilizados em sistema convencional, mas apenas preparados naturais químicos e biológicos, caldas e organismos para controle biológico (NAZARENO, 2009). No sistema orgânico, a utilização de cultivares tolerantes ou resistentes é ainda mais importante que no sistema convencional, devido à menor quantidade de produtos permitidos para o controle de pragas e doenças (NAZARENO, 2009). Por outro lado, devido à existência de produtos que podem ser aplicados preventivamente e por haver um maior equilíbrio físico-químico-biológico do solo e do ambiente em geral, há uma menor propensão de adoecimento e de ataque por pragas do que nos sistemas mais intensivos de produção (NAZARENO, 2009).

As cultivares de batata utilizadas nos diferentes sistemas de produção no Brasil são, predominantemente, de origem europeia. Essa preferência deve-se, principalmente, a melhor

aparência dos tubérculos, característica de suma importância para os produtos comercializados *in natura*. No entanto, as cultivares de origem europeia tendem a ser menos adaptadas e mais exigentes em relação aos insumos, principalmente por terem sido selecionadas em condições edafoclimáticas distintas das brasileiras (SILVA et al., 2014). Neste sentido, a Embrapa e outras instituições nacionais desenvolvem pesquisas visando à seleção de novas cultivares aptas aos diferentes mercados e com diferentes graus de rusticidade, além de desenvolver técnicas de manejo e estudos de adaptação a diferentes ambientes e condições de cultivo.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o desempenho de genótipos de batata para caracteres componentes de produtividade e de qualidade de tubérculos em sistema orgânico de produção na região produtora de batata do Centro-Oeste Brasileiro, visando à identificação daqueles com maior potencial para esse tipo de cultivo.

## Material e Métodos

Os experimentos foram realizados em Brasília-DF ( $15^{\circ}56'30''$  S,  $48^{\circ}08'22''$  W, 999 m a.n.m.), sob cultivo orgânico na safra de inverno de 2016, 2017 e 2018.

Foram avaliadas as cultivares BRS Ana, BRSIPR Bel, BRS F63, BRS Clara, IPR Cris, Agata, e o clone avançado CL308. Os plantios foram realizados em 03/06/2016, 29/05/2017 e 29/05/2018 e as colheitas em 07/10/2016, 02/10/2017 e 26/09/2018.

A área de instalação do experimento era isolada das áreas de cultivo convencional por árvores e arbustos e estava sendo manejada havia 15 anos em sistema orgânico. Todos os plantios foram realizados na mesma área, mas em talhões diferentes a cada safra, que permaneceram em pousio quando não plantados.

A batata semente da primeira safra foi constituída por tubérculos da classe básica de primeira geração, produzidos em sistema convencional, com tubérculos tipo II (40 a 50 mm de diâmetro) armazenados previamente em câmara fria à  $4^{\circ}$  C por dez meses. Para as safras posteriores, foram utilizados tubérculos semente do mesmo tamanho, obtidos do próprio experimento (em sistema orgânico) e armazenados em câmara fria à  $4^{\circ}$  C por sete meses.

O solo da área experimental foi classificado como Latossolo vermelho distrófico de textura argilosa. A análise química do solo, na camada de 0 a 20 cm, apresentou os seguintes resultados: matéria orgânica =  $26,3 \text{ g dm}^{-3}$ ; pH ( $\text{H}_2\text{O}$ )= 5,9 ; P (Mehlich)=  $6,9 \text{ mg dm}^{-3}$ ; K=  $0,801 \text{ cmolc dm}^{-3}$ ; Na=  $0,052 \text{ cmolc dm}^{-3}$ ; Ca=  $1,9 \text{ cmolc dm}^{-3}$ ; Mg=  $0,9 \text{ cmolc dm}^{-3}$ ; H+Al =  $3,7 \text{ cmolc dm}^{-3}$ ; CTC=  $7,4 \text{ cmolc dm}^{-3}$  e V= 49,7%.

As adubações dos experimentos foram feitas no sulco de plantio com 28,75 t ha<sup>-1</sup> de composto orgânico (COUTO et al., 2008) e 1,25 t ha<sup>-1</sup> de termofosfato magnesiano (2,0% N, 10,0% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 7,0% K<sub>2</sub>O, 8,0% Ca e 1,0% Mg). A amontoa das plantas foi realizada 20 dias após os plantios junto à aplicação de composto orgânico fermentado do tipo Bokashi (HENZ et al., 2007). O controle de plantas daninhas foi realizado de forma manual por meio de capinas regulares. A irrigação foi feita via aspersão seguindo-se as recomendações para a cultura (EMBRAPA, 2015).

Os experimentos foram realizados em blocos casualizados, com cinco repetições. As parcelas foram compostas por duas linhas com 10 plantas cada, espaçadas 0,80 m entre linhas e 0,35 m entre plantas.

Após as colheitas, foram realizadas as avaliações dos seguintes caracteres: produtividade total de tubérculos (PTT) em t ha<sup>-1</sup>, produtividade de tubérculos comerciais (PTC) em t ha<sup>-1</sup>, número de tubérculos comerciais (NTC) por hectare, sendo considerados como comerciais os tubérculos com diâmetro transversal acima de 45 mm, massa média de tubérculos comerciais (MMTC) obtida pela divisão PCT/NTC em gramas, peso específico de tubérculos (PE) obtido com uso de balança hidrostática pela fórmula PE= peso no ar / (peso no ar – peso na água), utilizando-se uma amostra padronizada de 2 kg de tubérculos comerciais (peso fora da água), que posteriormente foi pesada submersa em água para obtenção do peso na água.

Foram feitos os testes de homogeneidade e uniformidade dos dados e, em seguida, análise de variância individual e conjunta. Quando constatada a significância pelo teste de F a 5% de probabilidade de erro, os tratamentos foram submetidos ao teste de agrupamento de médias de Scott-Knott ( $p \leq 5\%$ ), utilizando-se o programa estatístico computacional Genes (CRUZ, 2013).

## Resultados e Discussão

Foram verificadas diferenças entre genótipos para todas as variáveis avaliadas. A interação entre genótipos e anos foi significativa para todas as variáveis, exceto para PE. Por outro lado, houve diferença entre anos nas avaliações de PE, indicando que, apesar de haver diferenças entre os três anos de avaliação, os genótipos apresentaram o mesmo comportamento, agrupando-se nos mesmos grupos de médias independentemente do ano experimental (Tabela 1). O coeficiente de variação experimental (CV%) variou de 0,45% para PTC a 21,71% para PE, valores esses considerados adequados em relação à precisão experimental de experimentos com batata (PIMENTEL GOMES, 2009).

**Tabela 1.** Resumo da análise de variância conjunta para caracteres de rendimento e peso específico de tubérculos de sete genótipos de batata cultivados em sistema orgânico de produção em Brasília-DF, nas safras de 2016, 2017 e 2018.

<b>Fonte de variação</b>	<b>GL</b>	<b>Quadrado médio</b>				
		<b>PTT<sup>1</sup></b>	<b>PTC</b>	<b>NTC</b>	<b>MMTC</b>	<b>PE</b>
Bloco	4	0,38	0,31	2,71	151,80	0,00005
Genótipo (G)	6	5,72*	3,29*	17,45*	2409,73*	0,0012*
Ano (A)	2	6,63*	3,15*	14,09	3941,20*	0,0018*
G x A	12	4,79*	5,96*	21,58*	4815,83*	0,00004
Resíduo	72	0,66	0,69	3,35	660,03	0,00002
Média geral	-	22,40	15,58	90,50	164,03	1,072
CV (%)	-	17,63	21,71	19,92	15,66	0,45

\*significativo a 5% de probabilidade de erro pelo teste F. <sup>1</sup>PTT: produtividade total de tubérculos (t ha<sup>-1</sup>); PTC: produtividade de tubérculos comerciais (t ha<sup>-1</sup>); NTC: número de tubérculos comerciais ha<sup>-1</sup>; MMTC: massa média de tubérculos comerciais (g tubérculo<sup>-1</sup>); PE: peso específico.

A cultivar IPR Cris foi a única agrupada entre os genótipos mais produtivos em todos os três anos de avaliação ao se considerar tanto a PTT quanto a PTC (Tabela 2). Considerando-se somente a PTT, ou seja, a produtividade independentemente do tamanho do tubérculo, as cultivares BRSIPR Bel e IPR Cris pertenceram ao grupo de maior produtividade em todos os três anos de avaliação. É importante se observar que a PTT pode ser até mais relevante que a PTC para o sistema orgânico de produção, visto que o tamanho do tubérculo pode não ser um parâmetro decisivo do ponto de vista do consumidor desse tipo de produto (NAZARENO et al., 2009).

**Tabela 2.** Médias de caracteres avaliados em genótipos de batata cultivados em sistema orgânico de produção em Brasília-DF, nas safras de 2016, 2017 e 2018.

<b>Genótipo</b>	<b>2016</b>	<b>2017</b>	<b>2018</b>	<b>2016</b>	<b>2017</b>	<b>2018</b>
	<b>PTT<sup>1</sup></b>			<b>PTC</b>		
Agata	25,42 a	7,79 c	10,29 c	20,69 a	4,51 c	5,92 c
BRS Ana	24,87 a	28,71 a	19,29 b	21,34 a	21,73 a	11,21 b
BRSIPR Bel	24,90 a	35,54 a	30,18 a	19,70 a	19,71 a	15,89 b
BRS F63	7,28 b	26,57 a	30,16 a	4,50 b	21,43 a	24,29 a
CL308	8,47 b	16,15 b	33,22 a	3,53 b	12,95 b	28,62 a
BRS Clara	19,63 a	15,72 b	22,43 b	12,89 a	9,68 b	13,41 b
IPR Cris	17,08 a	30,77 a	36,10 a	11,87 a	20,97 a	22,27 a
Média Geral	18,24	23,04	25,95	13,50	15,85	17,37
CV(%)	22,22	18,08	12,93	30,18	19,85	14,66
<b>Genótipo</b>	<b>2016</b>	<b>2017</b>	<b>2018</b>	<b>2016</b>	<b>2017</b>	<b>2018</b>
	<b>NTC</b>			<b>MMTC</b>		
Agata	110.360 a	35.010 c	45.640 b	181,12 a	123,54 b	131,34 b
BRS Ana	106.110 a	124.110 a	68.570 b	195,98 a	174,58 a	154,52 b
BRSIPR Bel	117.140 a	132.890 a	91.530 b	165,85 a	148,42 b	175,77 b
BRS F63	32.160 b	106.410 a	115.970 a	135,71 b	208,89 a	208,33 a
CL308	31.260 b	84.310 b	137.280 a	111,73 b	152,66 b	218,39 a
BRS Clara	81.800 a	65.780 b	79.010 b	149,43 b	144,00 b	173,20 b
IPR Cris	71.150 a	134.050 a	130.030 a	161,97 a	156,91 b	172,37 b
Média Geral	78.570	97.510	95.430	157,40	158,43	176,27
CV(%)	25,99	17,74	16,06	15,56	16,74	14,75

\*Médias seguidas da mesma letra na coluna pertencem ao mesmo grupo, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade do erro.<sup>1</sup>PTT: produtividade total de tubérculos (t ha<sup>-1</sup>); PTC: produtividade de tubérculos comerciais (t ha<sup>-1</sup>); NTC: número de tubérculos comerciais (ha<sup>-1</sup>); MMTC: massa média de tubérculos comerciais (g tubérculo<sup>-1</sup>).

Uma considerável variação no comportamento produtivo e de qualidade de tubérculos dos genótipos de batata avaliados pode ser observada em relação ao ano de cultivo (Tabela 2). Essa magnitude de variação no desempenho em razão do efeito ambiental tem sido frequentemente relatada para a cultura da batata, especialmente quando se avaliam caracteres quantitativos (SILVA et al., 2017).

Para o sistema orgânico, atenção especial deve ser dada à estabilidade da produção, que pode ser até mais importante do que o valor de produtividade obtido em apenas um ciclo da cultura (NAZARENO, 2009). Considerando-se esse aspecto, apenas as cultivares IPR Cris e BRSIPR Bel, dentre os sete genótipos estudados, se mantiveram entre as mais produtivas (PTT) ao longo dos três anos avaliados pela presente pesquisa. A cultivar Agata, apesar de estar agrupada entre os genótipos mais produtivos em 2016, estabeleceu um grupo isolado de produtividade inferior nos dois anos seguintes tanto para PTT quanto para PTC, demonstrando uma baixa estabilidade no sistema

estudado. Com relação ao NTC, apenas IPR Cris se manteve no grupo de maior desempenho e, com relação à MMTC, nenhum dos genótipos estudados se manteve no grupo de desempenho mais favorável por todos os ciclos avaliados. Diferente de todos os genótipos estudados, a cultivar BRS Clara se manteve no grupo inferior de MMTC por todos os três anos avaliados.

As cultivares BRS Ana (PEREIRA et al., 2010), BRS Clara (PEREIRA et al., 2013) e IPR Cris (NAZARENO et al., 2015) são geralmente recomendadas para o cultivo orgânico por apresentarem tolerância a doenças tais como requeima (*Phytophthora infestans*) e pinta preta (*Alternaria solani*). No entanto, o fator resistência a doenças não foi determinante no presente estudo, devido à não ocorrência dessas doenças. Também foi relevante a adoção de medidas preventivas, em especial o cultivo na época seca da Região Centro Oeste (maio a outubro), que é menos propensa ao aparecimento de doenças.

A produtividade média de tubérculos comerciais (PTC) nos três anos foi de 15,58 t ha<sup>-1</sup>, porém foram obtidos rendimentos próximos a 20 t ha<sup>-1</sup> para os genótipos mais produtivos, com maior valor numérico para o clone CL308 em 2018, de 28,62 t ha<sup>-1</sup>. Esses valores são considerados satisfatórios para as condições de cultivo orgânico e indicam que o ambiente (sistema + tratos culturais) em que os genótipos foram cultivados foi efetivo para se avaliar o potencial dos genótipos neste sistema.

ROSSI et al. (2011) avaliaram 18 genótipos de batata em sistema orgânico no Estado de São Paulo, sendo que, naquele estudo, foram considerados comerciais os tubérculos acima de 40 mm. Os autores verificaram que os rendimentos de tubérculos comerciais variaram de 3,78 a 18,07 t ha<sup>-1</sup> e a massa média dos tubérculos comerciais variou entre 50 e 80 g, valores bem menores que no presente estudo. Naquele experimento, o fator tolerância à pinta preta foi importante, devido à ocorrência da doença, sendo a cultivar Agata e, principalmente, a cultivar Asterix, algumas das mais afetadas.

PASSOS et al. (2017) avaliaram oito cultivares de batata em sistema orgânico em três experimentos na Região Sul do Brasil, dentre elas IPR Cris, Agata e BRS Clara e verificaram, na média dos experimentos, produtividade comercial entre 12,0 e 22,7 t ha<sup>-1</sup>, com IPR Cris, Agata e BRS Clara produzindo 13,5, 16,3 e 19,2 t ha<sup>-1</sup>, respectivamente. No presente estudo, IPR Cris em 2017 (20,97 t ha<sup>-1</sup>) e 2018 (22,27 t ha<sup>-1</sup>) apresentou maior produtividade comercial do que Agata (4,51 t ha<sup>-1</sup> e 5,92 t ha<sup>-1</sup> em 2017 e 2018, respectivamente) e que BRS Clara (9,68 t ha<sup>-1</sup> e 13,41 t ha<sup>-1</sup> em 2017 e 2018, respectivamente). Em 2016, a produtividade comercial das três cultivares não diferiu significativamente.

SILVA et al. (2017) avaliaram 13 clones avançados de batata, além das cultivares Agata e Asterix, em sistema orgânico de produção em Brasília-DF. Os autores observaram grande variação nos rendimentos comerciais dos diferentes genótipos, 3,50 a 38,75 t ha<sup>-1</sup>, com valor médio de 13,50 t ha<sup>-1</sup>. Naquele estudo, Agata produziu 7,72 t ha<sup>-1</sup> e Asterix 11,12 t ha<sup>-1</sup>. Os mesmos autores avaliaram os mesmos genótipos em uma área próxima, em sistema convencional, e verificaram que, embora alguns clones (F158-08-01, por exemplo), tenham apresentado rendimentos elevados e semelhantes nos dois sistemas (37,01 t ha<sup>-1</sup> em sistema convencional e 38,75 t ha<sup>-1</sup> em sistema orgânico), a produtividade média de tubérculos comerciais em sistema convencional foi bem superior à do sistema orgânico (21,66 t ha<sup>-1</sup>). Por outro lado, rendimentos de tubérculos menores no sistema orgânico são compensados por maior cotação deste tipo de produto no mercado (NAZARENO, 2009).

O peso específico (Tabela 3), que é correlacionado com o teor de matéria seca dos tubérculos, é um aspecto importante considerando-se os diferentes usos culinários da batata. Produtos fritos de cultivares com maior peso específico tendem a ficar mais crocantes e absorver menos gordura. No presente estudo, a cultivar BRSIPR Bel apresentou o maior valor, seguida pela BRS Ana. Ambas as cultivares são indicadas para fritura (PEREIRA et al., 2010; 2015). Valor intermediário foi observado nas cultivares BRS Clara, IPR Cris e BRS F63, o que sugere aptidão para múltiplos usos culinários. Agata apresentou o menor valor e CL308 teve peso específico um pouco menos baixo. O peso específico da IPR Cris (1,074) observado neste estudo foi um pouco inferior ao relatado por NAZARENO et. al. (2015), 1,078, com base na média de 10 ambientes de produção convencional na Região Sul do País, em que Agata também apresentou valor superior (1,067) ao do presente estudo. Os menores valores de PE obtidos no presente estudo podem ser atribuídos às temperaturas mais elevadas da região produtora do Centro Oeste brasileiro em comparação com as temperaturas da Região Sul do Brasil. Segundo MARINUS; BODLAENDER (1975), altas temperaturas causam redução no teor de matéria seca da batata.

**Tabela 3.** Médias de peso específico de sete genótipos de batata cultivados em sistema orgânico de produção em Brasília-DF, das safras de 2016, 2017 e 2018.

Genótipo	Peso específico
BRSIPR Bel	1,084 a
BRS Ana	1,079 b
BRS Clara	1,074 c
IPR Cris	1,074 c
BRS F63	1,070 c
CL308	1,063 d
Agata	1,059 e

\*Médias seguidas da mesma letra na coluna pertencem ao mesmo grupo, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade do erro.

PEREIRA et al. (2013), na média de cinco experimentos em sistema convencional de cultivo, relataram a cultivar BRS Clara com PE de 1,077. Os autores obtiveram valor médio de 1,066 para Agata, que é um pouco superior ao valor do presente estudo. BRSIPR Bel e BRS Ana, que são as únicas cultivares recomendadas para fritura dentro do conjunto de genótipos avaliado, apresentaram os maiores valores de PE, como era esperado. PEREIRA et al. (2015), na média de sete ambientes sob cultivo convencional, observaram valor médio de 1,087 para BRSIPR Bel, também um pouco superior ao valor de 1,084 obtido no presente estudo. PEREIRA et al. (2010) observaram valor médio de 1,087 para BRS Ana na média de dois ambientes em clima subtropical e em sistema convencional, também superior ao valor de 1,079 do presente estudo.

## Conclusão

As cultivares IPR Cris, com potencial para múltiplos usos culinários, e BRSIPR Bel, com aptidão para fritura, apresentaram os maiores e mais estáveis potenciais produtivos para o sistema orgânico de produção nas condições da região produtora de batata do Centro-Oeste brasileiro, podendo ser recomendadas para o cultivo nessas condições.

## Referências bibliográficas

- COUTO, J.R.; RESENDE, F.V.; SOUZA, R.B.; SAMINEZ, T.C.O. Instruções práticas para produção de composto orgânico em pequenas propriedades. **Comunicado Técnico (Embrapa Hortaliças)**, v. 53, p.1-8, 2008.
- CRUZ, C.D. Genes: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.35, n. 3, p.271-276, 2013.
- EMBRAPA. Sistema de produção da batata. **Sistema de Produção (Embrapa Hortaliças)**, v.8, p.1-252, 2015.
- HENZ, G.P.; ALCÂNTARA, F.A.; RESENDE, F.V. **Produção Orgânica de Hortaliças: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. 1<sup>a</sup> Ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2007, 308p.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção Agrícola Municipal 2015: informações sobre culturas temporárias**. Disponível na Internet <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pesquisas/pam/default.asp>. Acesso em: 26 de outubro de 2018.
- MARINUS, J.; BODLAENDER, K.B.A. Response of some potato varieties to temperature. **Potato Research**, v.12, n.2, p.189-204, 1975.

- NAZARENO, N.R.X. **Produção Orgânica de Batata: potencialidades e desafios.** 1<sup>a</sup> Ed. Londrina: IAPAR, 2009, 249p.
- NAZARENO, N.R.X.; PEREIRA, A.S.; SILVA, G.O.; CASTRO, C.M.; BERTONCINI, O.; MEDEIROS, C.A.B.; HIRANO, E.; GOMES, C.B.; CAMPOS, J.F. IPR-Cris: Cultivar rústica de batata. **Horticultura Brasileira**, v.33, n.3, p.404-408, 2015.
- PASSOS, S.; KAWAKAMI, J.; NAZARENO, N.R.X.; SANTOS, K.C.; TAMANINI JUNIOR, C. Produtividade de cultivares de batata orgânica em região subtropical do Brasil. **Horticultura Brasileira**, v.35, n.4, p.628-633, 2017.
- PEREIRA, A.S.; BERTONCINI, O.; CASTRO, C.M.; MELO, P.E.; MEDEIROS, C.A.B.; HIRANO, E.; GOMES, C.B.; TREPTOW, R.O.; LOPES, C.A.; NAZARENO, N.R.X.; MACHADO, C.M.M.; BUSO, J.A.; OLIVEIRA, R.P.; UENO, B. BRS Ana: cultivar de batata de duplo propósito. **Horticultura Brasileira**, v.28, n.4, p.500-505, 2010.
- PEREIRA, A.S.; BERTONCINI, O.; SILVA, G.O.; CASTRO, C.M.; GOMES, C.B.; HIRANO, E.; BORTOLETTO, A.C.; MELO, P.E.; MEDEIROS, C.A.B.; TREPTPW, R.O.; DUTRA, L.F.; LOPES, C.A.; NAZARENO, N.R.X.; LIMA, M.F.; CASTRO, L.A.S.; KRIPLOW, A.C.R.; SUINAGA, F.A.; REISSER JUNIOR, C. BRS Clara: cultivar de batata para mercado fresco, com resistência à requeima. **Horticultura Brasileira**, v.31, n.4, p.664-668, 2013.
- PEREIRA, A.S.; NAZARENO, N.R.X.; SILVA, G.O.; BERTONCINI, O.; CASTRO, C.M.; HIRANO, E.; BORTOLETTO, A.C.; TREPTOW, R.O.; DUTRA, L.F.; LIMA, M.F.; GOMES, C.B.; KROLOW, A.C.R.; MEDEIROS, C.A.B.; CASTRO, L.A.S.; SUINAGA, F.A.; LOPES, C.A.; MELO, P.E. BRSIPR Bel: Cultivar de batata para chips com tubérculos de boa aparência. **Horticultura Brasileira**, v.33, n.4, p.135-139, 2015.
- PIMENTEL GOMES, F. **Curso de estatística experimental.** 15<sup>a</sup> Ed. Piracicaba: ESALQ, 2009, 451p.
- ROSSI, F.; MELO, P.C.T.; AZEVEDO FILHO, J.A.; AMBROSANO, E.J.; GUIRADO, N., SHAMMASS, E.A.; CAMARGO, L.F. Cultivares de batata para sistemas orgânicos de produção. **Horticultura Brasileira**, v.29, n. 3, p.372-376, 2011.
- SILVA, G.O.; BORTOLETTO, A.C.; PONIJALEKI, R.; MOGOR, A.F.; PEREIRA, A.S. Desempenho de cultivares nacionais de batata para produtividade de tubérculos. **Revista Ceres**, v.61, n.5, p.752-756, 2014.
- SILVA, G.O.; CARVALHO, A.D.F; PEREIRA, A.S.; RAGASSI, C.F.; AZEVEDO, F.Q. Desempenho de clones avançados de batata para rendimento de tubérculos em quatro ambientes. **Revista Agro@mbiente On-line**, v.11, n.4, p.323-330, 2017.
- SILVA, G.O.; BORTOLETTO, A.C.; CARVALHO, A.D.F.; PEREIRA, A.S. Effect of potassium sources on potato tuber yield and chip quality. **Horticultura Brasileira**, v.36, n.3, p.395-398, 2018.

Recebido em 28/12/2018  
Aceito em 15/01/2019

# Revista Agrária Acadêmica

*Agrarian Academic Journal*

Volume 2 – Número 1 – Jan/Fev (2019)

---

doi: 10.32406/v2n12019/16-27/agrariacad

## **Consumo e digestibilidade de dietas contendo farelo de mamona extrusado fornecidas a cabras em lactação**

Intake and digestibility of diets containing extruded castor meal provided to lactating goats

Sueli Freitas dos Santos<sup>1\*</sup>, Magno José Duarte Cândido<sup>2</sup>, Marco Aurélio Delmondes Bomfim<sup>3</sup>,  
Diego Barcelos Galvani<sup>4</sup>, José Luis Ramirez Ascheri<sup>5</sup>

<sup>1</sup>\*Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral – CE, Brasil; [sfsantoszootecnia@gmail.com](mailto:sfsantoszootecnia@gmail.com)

<sup>2</sup>Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Zootecnia, UFC, Fortaleza – CE, Brasil;

<sup>3</sup>Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral – CE, Brasil;

<sup>4</sup>Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral – CE, Brasil;

<sup>5</sup>Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro – RJ.

---

### **Resumo**

Objetivou-se avaliar o consumo, digestibilidade aparente e balanço de nitrogênio em cabras leiteiras alimentadas com dietas contendo alimento extrusado à base de farelo de mamona (AEFM). O consumo de carboidrato não fibroso (g/d) foi influenciado ( $P<0,05$ ), apresentando relação linear positiva com o aumento do nível de inclusão de AEFM. Houve influencia dos tratamentos sobre os nutrientes DMS, DMO, DPB, DEE e DFDN, ocasionando efeito linear decrescente ( $P<0,05$ ). Assim como também na DCNF que apresentou efeito quadrático ( $P<0,05$ ). Observou-se que os valores encontrados para o nitrogênio fecal, foram influenciados ( $P<0,05$ ). Os resultados encontrados indicam que o AEFM, apesar de ocasionar redução da digestibilidade dos nutrientes, pode ser utilizado na substituição do farelo de soja em dieta de cabras leiteiras sem reduções no consumo de nutrientes, e sem proporcionar qualquer dano à saúde animal.

**Palavras chave:** biodiesel, nutrição de ruminantes, pequenos ruminantes, *Ricinus communis*

### **Abstract**

The objective was to evaluate the intake, apparent digestibility and nitrogen balance in dairy goats fed diets containing extruded food-based castor meal (EFCM) in dairy goats. The non-fibrous carbohydrate intake (g / d) was affected ( $P <0.05$ ), presenting a positive linear relationship with inclusion level of EFCM. There was no influence of treatment on the DMD, OMD, CPD, NDFD DEE and nutrients, causing linear effect ( $P <0.05$ ). As well as in DCNF that showed a quadratic effect ( $P <0.05$ ). It was observed that the values found for fecal nitrogen, were affected ( $P <0.05$ ). The results indicate that the EFCM despite causing a reduction in digestibility of nutrients, can be used in replacement of soybean meal in diets of dairy goats without reductions in nutrient intake, and without providing any damage to animal health.

**Keywords:** biodiesel, *Ricinus communis*, ruminant nutrition, small ruminants

## Introdução

Os caprinos são criados nas mais diversas regiões do mundo, especialmente naquelas com pouca disponibilidade de alimentos e limitações ambientais o que, geralmente, limita sua eficiência produtiva e reprodutiva. A habilidade de sobrevivência dos caprinos em ambientes hostis constitui-se em uma importante alternativa para o desenvolvimento humano em regiões com baixa oferta de alimentos e clima adverso.

Na região Nordeste do Brasil, embora existam animais adaptados a estas condições, a produção ainda é dependente da oferta de alimentos ao longo do ano e o uso de alimentos concentrados tem sido a principal estratégia que os produtores têm adotado para alimentar seus rebanhos de cabras para produção de leite, o que pode ser oneroso e comprometer a viabilidade econômica do sistema produtivo. O uso de alimentos alternativos em sistemas de produção pode reduzir os custos produtivos contribuindo para o aumento da produção e o ganho dos produtores.

Dentre as opções disponíveis de alimentos alternativos, tem surgido um interesse crescente nos subprodutos da indústria da mamona em função do incentivo do governo federal para o plantio desta cultura para atender ao programa de biodiesel. A torta da mamona é o principal subproduto dessa cadeia produtiva, sendo esta utilizada principalmente como adubo orgânico (SEVERINO, 2005). A utilização da torta de mamona para alimentação animal pode contribuir para valorização desse subproduto, e vem ao encontro da necessidade de geração de alimentos para dar suporte à pecuária familiar na região Nordeste.

No entanto, para que possam ser utilizado em rações para animais, os subprodutos, torta e farelo de mamona precisam passar por um processo de destoxificação, em função da presença de uma proteína tóxica, a ricina (HOFFMAN, et al., 2007). Sua toxidez pode afetar humanos, animais e insetos, (LER; LEE; GOPALAKRISHNAKONE 2006).

O desenvolvimento de tecnologias para destoxificação dos subprodutos da mamona contribuirá diretamente no aumento da disponibilidade de insumos para ração animal. Na medida em que essa tecnologia seja interiorizada e aplicada por produtores rurais que atuem na agropecuária, serão ampliadas as suas fontes de renda.

Segundo Ascheri et al., (2007), uma tecnologia promissora na destoxificação dos subprodutos da mamona é o processo de extrusão, que tem se mostrado bastante eficaz para este fim, possibilitando assim, a inclusão desses subprodutos na dieta animal. Com o presente estudo, objetivou-se avaliar a inclusão do alimento extrusado à base de farelo de mamona na dieta sobre o consumo, a digestibilidade aparente dos nutrientes e o balanço de nitrogênio em cabras lactantes.

## Material e métodos

O experimento foi conduzido no Setor de Caprinocultura Leiteira da Embrapa Caprinos e Ovinos, localizada em Sobral-CE, na região norte do estado, a 66 m de altitude,  $3^{\circ} 41'10''$ , latitude sul e  $40^{\circ} 20'59''$ , de longitude oeste, apresentando um clima do tipo BSw'h'semi-árido quente (IPECE, 2005). O período experimental compreendeu os meses de julho a agosto de 2009, totalizando 34 dias, sendo 27 dias de adaptação às dietas e sete dias de coleta de dados.

Foram utilizadas 20 cabras Saanen multíparas com aproximadamente  $60 \pm 5$  dias de lactação e peso vivo médio de  $40,0 \pm 8,0$  kg. Os animais foram alojados em baias individuais, providas de cochilos, bebedouros e saleiros. E distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos, sendo três diferentes níveis de substituição do farelo de soja pelo alimento extrusado à base de farelo de mamona (AEFM), além de uma dieta controle (sem AEFM).

O alimento extrusado utilizado neste estudo foi doado pela Embrapa Agroindústria de Alimentos, no qual foi destoxificado pelo método de extrusão segundo Ascheri et al., (2007).

Os tratamentos avaliados foram: **T1** (controle) - 0% de AEFM e 100% de farelo de soja; **T2** - 33% de AEFM e 67% de farelo de soja; **T3** - 67% de AEFM e 33% de farelo de soja e **T4** - 100% AEFM e 0% de farelo de soja na matéria seca (MS) das dietas. O acesso às dietas foi *ad libitum*. As dietas isoprotéicas e isoenergéticas, foram calculadas para atender às exigências de manutenção e produção de leite de cabras em lactação, pesando aproximadamente 40 kg e com produção média de 1,5 kg de leite/dia, conforme o NRC (2007). O fornecimento das dietas foi dividido em duas refeições diárias, permitindo uma sobra de 10 a 15% do total oferecido. As composições químicas dos alimentos e das dietas experimentais encontram-se nas tabelas 1 e 2 respectivamente.

Tabela 1. Composição química e perfil de ácidos graxos dos alimentos utilizados para formulação das dietas experimentais

Nutrientes	Composição química			
	AEFM	Milho em grão	Farelo de soja	Feno de capim-tifton 85
Matéria seca (% MN)	90,73	85,30	87,9	91,70
Matéria orgânica (%MS)	93,83	93,60	94,2	90,70
Proteína bruta (%MS)	31,20	10,0	49,7	9,94
Extrato etéreo (%MS)	1,44	3,20	4,10	2,00
Fibra em detergente neutro (%MS)	49,24	5,10	15,60	86,90
Fibra em detergente ácido (%MS)	29,92	4,90	9,90	43,00
Hemicelulose (%MS)	19,32	0,20	5,70	43,90
Celulose (%MS)	2,33	0,91	8,30	33,60
Lignina (%MS)	5,93	0,16	1,30	4,30
Proteína insolúvel em detergente ácido (% PB)	8,26	3,08	1,54	9,21
Proteína insolúvel em detergente neutro (%PB)	37,01	7,72	2,75	35,94
Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca (%MS)	69,56	82,09	90,60	51,53
Composição em Minerais				
Nitrogênio - N ( mg /kg)	50,50	--	--	--
Fósforo - P ( mg /kg)	5,40	--	--	--
Potássio - K ( mg /kg)	7,00	--	--	--
Cálcio – Ca ( mg /kg)	18,10	--	--	--
Manginésio – Mg ( mg /kg)	12,60	--	--	--
Enxofre – S ( mg /kg)	1,80	--	--	--
Zinco – Zn (mg/kg)	99,50	--	--	--
Ferro – Fe (mg/kg)	2763,00	--	--	--
Mangânes – Mn (mg/kg)	84,70	--	--	--
Cobre – Cu (mg/kg)	20,70	--	--	--
Boro – B (mg/kg)	67,80	--	--	--
Composição em ácidos graxos (%AG)				
Palmítico (C16:0)	6,20	11,70	15,30	58,10
Esteárico (C18:0)	3,20	4,90	4,50	7,10
Oléico (C18:1n 9c)	7,30	32,40	17,70	8,40
Linoléico C18:2n 6c	14,20	51,00	57,30	16,60
γ-Linolênico (C18:3n 6)	65,80	--	--	--

Tabela 2. Formulação e composição química das dietas experimentais

Componentes	Proporção das dietas			
	Nível de substituição do farelo de soja pelo AEFM (% MS)			
	0	33	67	100
Feno de capim – tifton	37,60	34,70	29,60	23,30
Farelo de mamona				
Extrusado	0,00	4,80	11,20	20,40
Milho	48,50	50,10	52,70	56,10
Farelo de soja	13,30	10,10	6,00	0,00
Fosfato bicálcio	0,60	0,00	0,50	0,00
Calcário	0,00	0,30	0,00	0,20
Composição químico-bromatológica (%MS)				
Matéria seca (MS)	88,60	88,50	87,70	87,60
Matéria orgânica (MO)	93,70	93,70	93,60	93,60
Proteína bruta (PB)	15,10	15,00	14,70	14,30
Extrato etéreo (EE)	2,70	2,80	2,70	2,00
Fibra em detergente neutro (FDN)	37,30	36,60	34,80	33,20
Fibra em Detergente Neutro (FDNF)	32,70	30,15	25,72	20,25
Neutro de Forragem				
Cálcio (Ca)	0,30	0,30	0,30	0,30
Fósforo (P)	0,40	0,40	0,40	0,40
Composição em ácidos graxos (%AG)				
Palmítico (C16:0)	10,70	3,90	6,70	5,20
Esteárico (C18:0)	3,60	44,50	2,70	2,40
Oléico (C18:1n 9c)	33,20	13,20	13,20	9,00
Linoelaidico (C18:2n 6t)	--	7,60	--	--
Linoléico	52,50	19,30	16,10	7,00
C18:2n 6c	--	7,90	56,20	70,10
γ-Linolênico (C18:3n 6)				

Para estimativa do consumo, da digestibilidade dos nutrientes e balanço de nitrogênio das dietas experimentais, no decorrer do 1º ao 7º dia do período de coleta, foram efetuadas coletas de alimentos, sobras, fezes e urina.

A coleta de alimentos e sobras realizou-se do 1º ao 5º dia do período de coleta. As amostras de fezes, por sua vez, foram coletadas no 3º e 4º dia, diretamente da ampola retal em diferentes horários: 07:00; 09:00; 13:00 e 15:00 horas, constituindo uma amostra composta por animal.

As amostras de alimentos, sobras e fezes destinaram-se ao Laboratório de Nutrição Animal da Embrapa Caprinos e Ovinos, sendo pesadas, acondicionadas em sacos de papel e bandejas de alumínio identificadas e levadas à estufa de ventilação forçada a 65º durante 72 horas. Em seguida, todas as amostras foram trituradas em moinho do tipo Wiley®, marca TECNAL® utilizando-se peneira com malha de 1 mm. Posteriormente, determinados os teores de matéria seca (MS), nitrogênio total pelo método de Kjedhal, extrato etéreo (EE) e cinzas (CZ), utilizando-se as técnicas descritas em Silva e Queiroz (2002), e de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA), segundo Van Soest et al., (1991). O teor de proteína bruta foi estimado multiplicando-se o teor de nitrogênio total pelo fator 6,25. O teor de hemicelulose foi calculado como a diferença entre os teores de FDN e de FDA.

Nos alimentos, procedeu-se também às análises de nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) e nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), de acordo com técnicas descritas por Licitra; Hernandez; Van Soest, et al., (1996), e de lignina em ácido sulfúrico (LDA), conforme descrito por Pereira e Rossi Jr., (1995). Os teores de carboidratos totais (CT) e carboidratos não fibrosos (CNF) foram obtidos pelas fórmulas: CT = 100 - (%PB + %EE+ %MM) e CNF= (CT-FDN), respectivamente, conforme descrito em Sniffen et al.,(1992).

As análises de minerais do AEFM foram realizadas no Laboratório de Análise Foliar no Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa – UFV.

Para estimativa da excreção fecal, foi utilizada a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi), como indicador interno. As amostras (alimentos, sobras e fezes), foram acondicionados em sacos de poliamida em uma proporção de 25 mg/cm<sup>2</sup>, seguindo a indicação de Huntington e Givens, (1995). Para obtenção dos valores de (FDNi), foram utilizadas dois animais fistuladas no rúmen, sendo o substrato incubado *in situ* por 240 horas, seguindo metodologia descrita por Casali et al., (2008). Após este período, os sacos foram retirados, lavados em água corrente e tratados com solução de FDN, segundo Van Soest et al., (1991), sendo então, secos por 72 horas em estufa de ventilação forçada a 60°C e posteriormente a 105°C por 45 minutos (CASALI, et al., 2008). A excreção fecal foi estimada como:

$$\text{Excreção fecal} = \frac{\text{Indicador consumido (g.dia}^{-1})}{\text{Concentração indicador MS fecal (g.gMS}^{-1})}$$

O teor de compostos nitrogenados foi determinado em amostras *spot* de urina, obtidas por micção espontânea no 5º dia do período de coleta, aproximadamente quatro horas após o fornecimento da alimentação da manhã. O volume urinário diário foi estimado utilizando-se a creatinina como indicador, por meio do quociente entre a quantidade de creatinina excretada diariamente e sua concentração na amostra *spot*.

$$\text{Volume urinário (L)} = \frac{26,05 \times \text{PV (kg)}}{\text{Concentração creatinina na amostra spot (mg.L}^{-1})}$$

O valor de 26,05 utilizado na equação refere-se à quantidade de excreção diária de creatinina ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ). A quantificação da creatinina da amostra *spot* foi realizada por meio de análise colorimétrica com pícrato e acidificante (Labtest®).

O balanço de nitrogênio (BN) foi calculado considerando-se as quantidades de nitrogênio consumido (NC); o nitrogênio excretado nas fezes (NF); nitrogênio excretado na urina (NU) e nitrogênio excretado no leite (NL). A partir destes valores, procedeu-se ao cálculo para quantificação do nitrogênio de excreção total (NET), nitrogênio endógeno basal (NEB), de acordo com o AFRC (1993), que considera o N endógeno tecidual e as perdas dérmicas de N como 0,35 e 0,018 do peso metabólico, respectivamente.

Assim, os valores foram expressos como:

$$\text{NET (g.d}^{-1}) = (\text{NF} + \text{NU} + \text{NL})$$

$$\text{NEB (g.d}^{-1}) = (0,35 + 0,018) \times \text{PV}^{0,75}$$

Para determinação do pH do rúmen, foram coletadas amostras de fluido ruminal, através de sonda esofágica, no período de 0, 6 e 12 horas após o fornecimento da ração. O pH foi medido imediatamente após a coleta do material, em potenciômetro digital.

Os dados foram submetidos à análise de variância, mediante uso do procedimento GLM do SAS (Statistical Analyses System, SAS Inst. Inc., Cary, NC, 2003). O modelo estatístico incluiu o

efeito fixo de tratamento e o erro residual. A variável pH ruminal foi analisada como medida repetida no tempo com auxílio do procedimento MIXED, adicionando ao modelo os efeitos fixos do horário de coleta e de sua interação com o efeito de tratamento. As médias foram obtidas através da função LSMEANS do SAS, sendo o efeito de tratamento desdobrado em seus componentes linear e quadrático por meio de contrastes ortogonais polinomiais. Efeitos foram declarados significativos quando  $P<0,05$ .

## Resultados e discussão

Os resultados do consumo da matéria seca e dos nutrientes estão descritos na tabela 3. Os mesmos demonstram que não houve efeito da substituição do farelo de soja pelo AEFM ( $P>0,05$ ), sobre o consumo de matéria seca (g/d, % PV, g/kgPV<sup>0,75</sup>), consumo de matéria orgânica (g/d e g/kgPV<sup>0,75</sup>), (proteína bruta g/d e g/kgPV<sup>0,75</sup>), extrato etéreo (g/d e g/kgPV<sup>0,75</sup>), fibra em detergente neutro (g/d, %PV e g/kgPV<sup>0,75</sup>), carboidratos não fibrosos(g/kgPV<sup>0,75</sup>) e carboidratos totais (g/d e g/kgPV<sup>0,75</sup>).

O consumo de carboidratos não fibrosos (g/d) foi influenciado ( $P<0,05$ ), apresentando aumento linear à medida que se aumentou o nível de participação do AEFM nas dietas. Esse aumento pode estar associado aos teores de fibra das dietas (tabela 2), uma vez que a quantidade de fibra diminui à medida que se aumentou o nível de participação de AEFM, favorecendo assim, o incremento de carboidratos não fibrosos. Conforme classificação descrita por Sniffen, (1992), os CNF representam à fração A (composta de açúcares solúveis e ácidos orgânicos) de rápida degradação e a B1 (amido, pectina e glucanos), que são de fácil fermentação, disponibilizando assim maior aporte de energia para o crescimento dos microrganismos ruminais que permite maior adesão e menor tempo de colonização, e consequentemente maior digestão (VAN SOEST, 1994).

Tabela 3. Consumo de alimento por cabras lactantes recebendo dietas com diferentes níveis de substituição do farelo de soja pelo alimento extrusado à base de farelo de mamona (AEFM)

Variáveis	Níveis de substituição (% da matéria seca)				EPM	P>F	Contraste	
	0	33	67	100			L	Q
CMS (g/d)	1304,34 4	1308,85	1412,48	1586,2	83,85	0,61	0,21	0,62
CMS (%PV)	2,70	3,28	2,86	3,08	0,20	0,76	0,70	0,66
CMS (g/kgPV <sup>0,75</sup> )	71,12	85,92	75,70	82,54	5,10	0,73	0,60	0,70
CMO(g/d)	1220,58 2	1223,65	1327,34	1485,1	78,07	0,60	0,21	0,63
CMO g/kgPV <sup>0,75</sup> )	66,56	80,34	71,22	77,28	4,80	0,74	0,60	0,69
CPB (g/d)	203,10	211,57	213,48	226,32	14,53	0,95	0,58	0,94
CPB (g/kgPV <sup>0,75</sup> )	10,96	13,66	11,32	11,80	0,82	0,66	0,98	0,51
CEE (g/d)	37,26	38,85	41,02	31,14	2,22	0,44	0,42	0,22
CEE (g/kgPV <sup>0,75</sup> )	2,02	2,52	2,18	1,62	5,07	0,14	0,20	0,06
CFDN (g/d)	383,82	365,82	353,32	401,74	33,92	0,96	0,89	0,63
CFDN (%PV)	0,79	0,95	0,70	0,79	0,08	0,73	0,70	0,83
CFDN(g/ kgPV <sup>0,75</sup> )	20,98	24,92	18,68	21,06	2,01	0,75	0,74	0,85
CCNF (g/d)	596,34	607,40	719,52	825,88	31,60	0,06	0,01	0,46
CCNF(g/ kgPV <sup>0,75</sup> )	32,32	38,14	38,76	41,11	0,23	0,41	0,12	0,61
CCT (g/d)	980,18 2	973,25	1072,82	1227,6	61,60	0,45	0,14	0,52
CCT (g/kgPV <sup>0,75</sup> )	52,96	61,14	56,59	60,85	0,23	0,83	0,56	0,78

Consumo de matéria seca – CMS; Consumo de matéria orgânica – CMO; Consumo de proteína bruta – CPB; Consumo de extrato etéreo – CEE; Consumo de fibra em detergente neutro – CFDN; Consumo de carboidrato não fibroso – CCNF; Consumo de carboidrato total - CCT em (g/d; g/kg e % do peso corporal- PC); EPM- erro padrão da média; P>F – Probabilidade do efeito do tratamento; Efeito: L: Linear e Q: Quadrático.

Para as variáveis de digestibilidade (tabela 4), observou-se que houve influência dos tratamentos sobre os nutrientes DMS, DMO, DPB, DEE e DF DN, ocasionando efeito linear decrescente ( $P<0,05$ ), e para a variável DCNF, foi observado um efeito quadrático ( $P<0,05$ ), à medida que se aumentou o nível de substituição do farelo de soja pelo AEFM. Apesar da redução de fibras nas dietas (tabela 2), esse comportamento possivelmente atribui-se como um efeito direto do material utilizado, que por ter sido submetido a um processo térmico pode ter passado por mudanças na qualidade de seus nutrientes, reduzindo assim, a extensão da degradação.

**Tabela 4.** Digestibilidade aparente de dietas contendo diferentes níveis de substituição do farelo de soja pelo alimento extrusado à base de farelo de mamona (AEFM), fornecidas a cabras em lactação

Variáveis	Níveis de substituição (% da matéria seca)				EPM	P>F	T Contraste
	0	33	67	100			
DMS ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	787,8	755,7	700,8	672,6	1,35	0,03	0,04 0,94
DMO ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	805,8	771,0	719,0	709,0	1,22	0,04	0,05 0,62
DPB ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	818,4	774,7	719,4	567,2	1,64	0,04	<0,01 0,12
DEE ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	802,8	809,2	777,4	689,8	1,10	0,04	0,01 0,05
DFDN ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	556,2	438,0	291,2	204,2	2,30	0,03	0,01 0,74
DCNF ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	963,6	933,5	952,4	1000,0	0,90	0,05	0,06 0,02
DCT ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	803,8	768,7	716,8	749,4	1,33	0,16	0,08 0,25

Digestibilidade da matéria seca – DMS; Digestibilidade da matéria orgânica – DMO; Digestibilidade da proteína bruta – DPB; Digestibilidade do extrato etéreo – DEE; Digestibilidade da fibra em detergente neutro – DFDN; Digestibilidade do carboidrato não fibroso – DCNF; Digestibilidade do carboidrato total – DCT; EPM- erro padrão da média; P>F – Probabilidade do efeito do tratamento; Efeito: L: Linear e Q: Quadrático.

Para o balanço nitrogenado (tabela 5), observou-se que não houve influencia dos tratamentos sobre as variáveis de nitrogênio consumido (NC), nitrogênio excretado na urina (NU), nitrogênio excretado no leite (NL), balanço de nitrogênio (BN), nitrogênio de excreção total (NET) e nitrogênio endógeno basal (NEB).

Com o aumento dos níveis de substituição do farelo de soja pelo AEFM, observou-se que os valores encontrados para o nitrogênio fecal (NF), foram influenciados pelos tratamentos ( $P<0,05$ ). Esse resultado pode ser explicado pela redução na digestibilidade da proteína bruta, como foi mostrado na tabela 4, que por sua vez, é decorrente do maior teor de proteína insolúvel em detergente neutro do AEFM, em relação ao farelo de soja (tabela 1).

Os resultados obtidos para as variáveis de nitrogênio demonstram que em relação ao valor biológico da proteína, o AEFM apresenta uma qualidade de proteína compatível com farelo de soja, ocasionando assim, um balanço de nitrogênio positivo, em que os valores obtidos em todos os níveis de substituição foram suficientes para atender às exigências de manutenção e síntese de tecidos dos animais.

**Tabela 5.** Balanço de N em cabras lactantes alimentadas com dietas com diferentes níveis de substituição do farelo de soja pelo alimento extrusado à base de farelo de mamona (AEFM)

Variáveis	Níveis de substituição (%matéria seca)				EPM	P>F	Contraste	
	0	33	67	100			L	Q
NC (g.d <sup>-1</sup> )	32,52	41,05	34,16	38,90	2,86	0,70	0,64	0,75
NF (g.d <sup>-1</sup> )	5,96	9,77	9,54	17,67	1,02	0,01	0,01	0,31
NU (g.d <sup>-1</sup> )	14,96	19,50	16,08	11,82	1,45	0,40	0,34	0,15
NL (g.d <sup>-1</sup> )	3,74	4,47	4,36	6,20	0,62	0,57	0,21	0,66
BN (g.d <sup>-1</sup> )	7,86	7,30	4,18	3,20	1,15	0,43	0,12	0,93
NET (g.d <sup>-1</sup> )	24,64	33,72	29,96	35,70	2,16	0,32	0,15	0,71
NEB (g.d <sup>-1</sup> )	6,78	7,10	6,86	7,30	0,27	0,90	0,59	0,91

Nitrogênio consumido – NC; Nitrogênio excretado nas fezes – NF; Nitrogênio excretado na urina – NU; Nitrogênio excretado no leite – NL; Balanço de nitrogênio – BN; Nitrogênio de excreção total – NET;; Nitrogênio endógeno basal – NEB; EPM- erro padrão da média; P>F – Probabilidade do efeito do tratamento; Efeito: L: Linear e Q: Quadrático.

Para os parâmetros de pH ruminal, observou-se que não houve diferenças (P>0,05), entre as dietas experimentais (tabela 6), demonstrando assim que a fermentação ruminal manteve-se adequada. Os valores de pH ruminal verificados nesse estudo, apresentaram médias de 6,36 (0 hora), 6,18 (6 horas) e 6,23 (12 horas), respectivamente. Em todos os tempos, as médias obtidas para o pH ruminal estiveram próximas dos padrões normais citados pela literatura, um limite mínimo de 6,2 conforme Mertens (1992).

**Tabela 6.** pH ruminal de cabras lactantes consumindo dietas com diferentes níveis de substituição do farelo de soja pelo alimento extrusado à base de farelo de mamona (AEFM)

Tempo	Tratamentos				Média/horário	EPM
	0	33	67	100		
0h	6,44	6,30	6,18	6,52	6,36	0,11
6h	6,24	6,00	6,14	6,34	6,18	0,12
12h	6,24	6,30	6,06	6,34	6,23	0,11
Média total	6,30	6,20	6,12	6,40	6,25	0,11

<sup>a</sup>EPM-Erro padrão residual da média

## Conclusão

O alimento extrusado à base de farelo de mamona pode substituir em sua totalidade o farelo de soja utilizado na dieta de cabras leiteiras sem grandes reduções no consumo, digestibilidade de nutrientes e balanço de nitrogênio, sem proporcionar ainda nenhum dano à saúde dos animais.

## Referências bibliográficas

- AFRC Energy and protein requirements of ruminants. CAB International, Wallingford, Oxon OX10 8DE, UK. 175 p.1993.
- ASCHERI, J. L. R.; MACIEL, F. M.; CARVALHO, C. W. P. de; FREITAS, S. C. de; MACHADO, O. L. T. Destoxificação de torta de mamona por extrusão termoplástica: estudo preliminar. In: Congresso da rede brasileira de tecnologia de biodiesel, 2., p.1-6, 2007, Brasília, DF. **Anais...** Brasília, DF: ABIPTI: MCT, 2007.
- CASALI, A. O.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. de C.; PEREIRA, J. C.; HENRIQUE, L. T.; FREITAS, S. G.; PAULINO, M. F. Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimentos *in situ*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 2, p. 335-342, 2008.
- HOFFMAN, L.V.; DANTAS, A.C.A.; MEDEIROS, E. P.; SOARES, L. S. Ricina: Um passe para utilização da torta de mamona e suas aplicações. Campina Grande: **Embrapa Algodão**, 2007. 25p (Documento, 174).
- HUNTINGTON, J. A.; GIVENS, d. I. The *in situ* technique for studying the ruminal degradation of feeds: **A review of the procedure**. **Nutrition Abstract and Reviews**, Series B, London, v.65, p.63-90, Feb. 1995.
- INSTITUTO DE PESQUISA E ESTRATÉGIA ECONÔMICA DO CEARÁ (IPECE). In: **Perfil Básico Municipal**; Fortaleza, 10 p. 2005.
- LER, S. G.; LEE F. K.; GOPALAKRISHNAKONE, P. Trends in detection of warfare agents - Detection methods for ricin, staphylococcal enterotoxin B and T-2 toxin. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1133, n. 1-2, p.1-12, 2006.
- LICITRA, G.; HERNANDEZ, T.M.; VAN SOEST, P.J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminants feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.57, p.347-358, 1996.
- MERTENS, D. R. Análise da fibra e sua utilização na avaliação de alimentos e formulações de rações. In: Simpósio Internacional de ruminantes, 1992, Lavras **Anais...** Lavras SBZ-EZAL, 1992. P.188.
- NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of small ruminants**. Washington, D.C.: National Academy Press. 362 p.2007.
- PEREIRA, J.R.A.; ROSSI JR., P. **Manual prático de avaliação de alimentos**. Piracicaba: FEALQ, 25p.1995.
- SEVERINO, L.S. **O Que Sabemos sobre a Torta de Mamona**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 31p. 2005. (Documento, 134).
- S INSTITUTE. SAS System for Windows. Version 9.0. Cary: SAS Institute Inc. 2003. 2,CD-ROMs.
- SILVA, D.J; QUEIROZ, A.C. **Análise de Alimentos**.Métodos químicos e biológicos. Viçosa: UFV, 235p. 2002.
- SNIFFEN, C.J., O'CONNOR, J.D., VAN SOEST, P.J. D. G. FOX, D. G.; RUSSELL, J. B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, p. 3562-3577, 1992.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Animal Science**, v.74, p.3583-3597, 1991.
- VAN SOEST, P.J. Nutritional ecology of the ruminant. Ithaca: 2ed. Cornell University Press, 476p.1994.

Recebido em 31/10/2018

Aceito em 16/12/2018

# Revista Agrária Acadêmica

*Agrarian Academic Journal*

Volume 2 – Número 1 – Jan/Fev (2019)

---

doi: 10.32406/v2n12019/28-37/agrariacad

## Sensor laser para determinação do volume foliar do dossel de plantas arbóreas

Laser sensor for determining the leaf volume of woody plants canopy

André Luís da Silva Quirino<sup>1\*</sup>, Mauri Martins Teixeira<sup>2</sup>, Haroldo Carlos Fernandes<sup>3</sup>, Francisco de Assis de Carvalho Pinto<sup>4</sup>, Alexandre Santos Brandão<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Engenheiro-Agrônomo, Doutor. Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Campus Viçosa, Avenida Peter Henry Rolfs, s/n, 36570-000, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. (31) 3891-0345. [andrelsquirino@yahoo.com.br](mailto:andrelsquirino@yahoo.com.br)

<sup>2</sup> Engenheiro-Agrônomo, Doutor. Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Campus Viçosa, Avenida Peter Henry Rolfs, s/n, 36570-000, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. (31) 3899-2729. [mauri@ufv.br](mailto:mauri@ufv.br)

<sup>3</sup> Engenheiro Agrícola, Doutor. Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Campus Viçosa, Avenida Peter Henry Rolfs, s/n, 36570-000, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. (31) 3899-2729. [haroldo@ufv.br](mailto:haroldo@ufv.br)

<sup>4</sup> Engenheiro Agrícola, Doutor. Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Campus Viçosa, Avenida Peter Henry Rolfs, s/n, 36570-000, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. (31) 3899-2729. [facpinto@ufv.br](mailto:facpinto@ufv.br)

<sup>5</sup> Engenheiro Elétrico, Doutor. Departamento de Engenharia Elétrica, Universidade Federal de Viçosa, Campus Viçosa, Avenida Peter Henry Rolfs, s/n, 36570-000, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. (31) 3899-3266. [alexandre.brandao@ufv.br](mailto:alexandre.brandao@ufv.br)

---

### Resumo

Este trabalho teve como objetivo avaliar o desempenho do sensor laser, modelo LMS 111, na extração de características referentes ao dossel de plantas arbóreas. Para validação da proposta uma planta adulta de café foi colocada em vaso com condições controladas. Para a determinação do volume foliar o LMS 111 foi montado em uma plataforma móvel com velocidades controladas de 1, 3 e 6 km/h. Na presente proposta, a velocidade de 3 km/h proporcionou os melhores resultados para a determinação do dossel das plantas arbóreas, pois foi possível determinar o volume de uma planta a partir da nuvem de pontos em um tempo inferior ao início da detecção da planta seguinte.

**Palavras Chaves:** Agrotóxicos, Nuvem de pontos, Sensor laser, Volume foliar

### Abstract

This study aims to evaluate the performance of the laser sensor, Model LMS 111, in the extraction of features related to the canopy of woody plants. To validate the proposal, an adult coffee plant was placed in controlled conditions. For leaf volume reconstruction technique the LMS 111 was mounted on a mobile platform controlled at 1, 3 and 6 km/h. In such case, the time required to determine the volume of a plant from the cloud point was lower than the time required to leave the end of one plant and to start capturing information from the next one.

**Keywords:** Cloud of points, Lase sensor, Leaf volume, Spraying.

## Introdução

O método baseado no *Tree Row Volume* (TRV) para a determinação do volume do dossel de plantas arbóreas é muito simples de ser empregado, porém é dependente do espaçamento, tamanho da planta, idade e outros fatores. Devido à sua simplicidade de uso, ele é o método manual mais utilizado atualmente. A medição de plantas empregando-se o método do TRV considera que todas as plantas possuem o mesmo tamanho e que cada linha de plantas a ser pulverizada é igual a uma parede formada pelas folhagens, sendo o volume de pulverização suficiente para recobri-la.

Considerando que há uma variabilidade espacial do dossel de plantas, quanto à altura, profundidade e densidade, torna-se necessário a individualização da aplicação de agrotóxicos sobre as copas. Em outras palavras, as recomendações deixam de ser em litros por hectares ( $L\ ha^{-1}$ ), passando a ser em litros por planta ( $L\ planta^{-1}$ ).

Os procedimentos de medição manual do dossel das plantas são onerosos e demandam uma quantidade considerável de mão de obra. Neste contexto, pesquisadores têm dedicado ao desenvolvimento de técnicas que tornem esta etapa mais rápida e eficiente. Dentre as técnicas até então pensadas, destaca-se o método de medição automático baseado em sensores de profundidade. Como, por exemplo, nos trabalhos de García et al.(2010); Koch (2010) e Zhao et al.(2011), onde a determinação do dossel de florestas e a caracterização de áreas de cultivo são realizadas.

Comumente, as medidas de volume são realizadas por um sensor de varredura laser acoplados a uma aeronave ou através de imagens de satélites, o que torna o processo inviável financeiramente em certos casos. Daí, vislumbrando a possibilidade de redução dos custos, Van der Zande et al. (2006) introduziram a utilização do *Laser Measurement Systems* (LMS) montado sobre rodas, afinal é comum a existência de uma máquina agrícola em áreas de cultivo. Além disso, tal procedimento possibilita uma proximidade entre o sensor e o objeto de interesse.

O sensor de varredura laser, modelo LMS 111, é um dispositivo de uso geral e de baixo custo utilizado em sistemas anticolisão, de vigilância e acesso monitorado. Trata-se de um dispositivo laser de mensuração eletro-ótico, que fornece o escaneamento do perímetro de uma região em um plano com precisão de milímetros. O LMS mensura o ambiente de forma bidimensional através de coordenadas polares, com uma faixa angular de  $270^\circ$ , resolução mínima de  $0,25^\circ$ , alcance máximo de 20 m e frequência de amostragem máxima de 50 Hz (FIGURA 1).



Figura 1. Sensor LMS 111. Fonte: SICK AG, (2009).

Segundo Zamahn e Salyani (2004) a coleta de informações à cerca das características do dossel das plantas através da metodologia do sensoriamento remoto, incluindo a metodologia *Light Detection and Ranging* (LIDAR), pode melhorar a interpretação de características das plantas. Desta forma, torna-se uma ferramenta útil para melhorar o planejamento e o gerenciamento das plantas de forma individual dentro de uma lavoura, o que reflete na redução dos custos de produção, conforme destacado em Rosell-Polo et al., 2009.

Neste contexto, objetiva-se com este trabalho avaliar o desempenho do sensor laser, modelo LMS 111, na obtenção de características referentes ao dossel de plantas arbóreas que possibilitem a determinação de seu volume foliar e a comparação com os métodos manuais de Whitney e do esferoide prolato.

## Material e métodos

O experimento foi realizado nas dependências do Laboratório de Mecanização Agrícola da Universidade Federal de Viçosa, visando comparar os dados obtidos, manualmente, com aqueles obtidos pelo LMS-111.

Primeiramente, uma planta adulta de café foi colocada em vaso de 500 L para a medição do volume foliar do dossel utilizando-se o método manual de Whitney (TUMBO et al., 2002), expresso pela Equação 1.

$$V_w = \frac{\pi}{4} RD_2 A_T \left[ 1 - \left( \frac{D_E}{3} \right)^2 \right] \quad (1)$$

onde

$V_w$  = volume do dossel ( $m^3$ );

$A_T$  = altura total do dossel (m);

$D_E$  = distância entre plantas na linha (m);

R = raio máximo do dossel perpendicular à linha da cultura (m); e,

D<sub>2</sub> = diâmetro máximo do dossel paralelo à linha da cultura (m).

Vale comentar que o valor de D<sub>E</sub> é igual a zero para plantas individuais.

O segundo método de medição manual utilizado considerou-se o volume do dossel como um esferoide prolato (Equação 2).

$$V_p = \frac{\pi R}{2} \left( \frac{2(A_T - A_M)}{3} + (A_M - A_s) \right) \quad (2)$$

em que

V<sub>p</sub> = volume do dossel (m<sup>3</sup>);

R = raio máximo do dossel perpendicular à linha da cultura (m);

A<sub>T</sub> = altura total do dossel (m);

A<sub>M</sub> = altura até o ponto de máximo diâmetro do dossel (m) e,

A<sub>S</sub> = altura do solo até a saia da planta (m).

O LMS 111 foi montado em uma ponte tipo trilho deslizante com controle da velocidade, a uma altura de 0,97 m, em relação ao piso, e a uma distância de 1,52 m, em relação às plantas. Além disso, ele foi configurado para uma resolução de 0,5º em sua varredura e para uma transmissão de dados por protocolo Ethernet. A Figura 2 ilustra a montagem do sensor e aponta os principais itens que compõem o experimento.

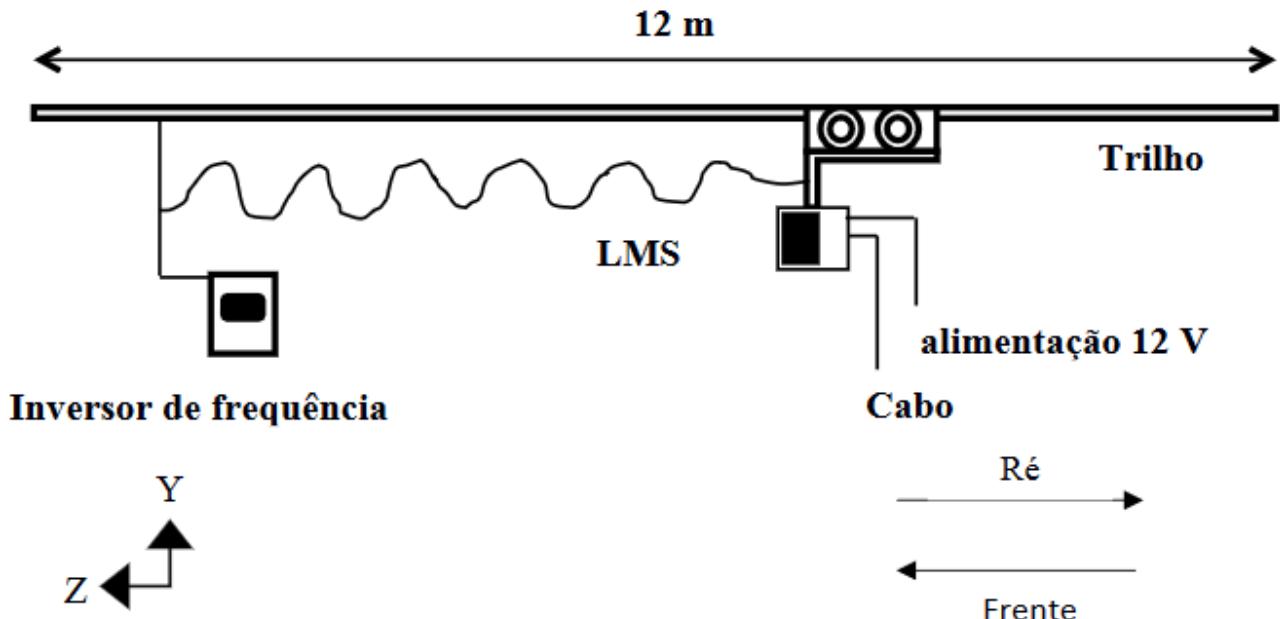


Figura 2. Influência da velocidade de trabalho na representação do dossel foliar de uma planta arbórea (A) na forma de nuvem de pontos da mesma planta nas velocidades de 1 Km/h (B), 3 Km/h (C) e 6 Km/h (D), (Vista Frontal).

Na montagem em questão, o sensor laser desloca-se ao longo do eixo Z e seu controle de velocidade é guiado e monitorado por um sistema composto por um motor elétrico acionado por um inversor de frequência e atuado fisicamente por um sistema de transmissão e redução composto por um conjunto pinhão e cremalheira.

Para efeitos comparativos, o LMS 111 deslocou-se por cinco vezes nas velocidades de 1, 3 e 6 km/h. Esta abordagem de análise foi adotada a fim de realizar o estudo de desempenho do sistema trabalhando em condição controlada, com velocidade constante e percurso predeterminado. Após cada passada (repetição), o perfil do dossel das plantas era criado através da nuvem de pontos recebida durante a leitura do sensor, a qual resultava da interceptação dos feixes laser sobre as folhas da planta.

Vale enfatizar que os dados provenientes do sensor em uma varredura é dado em coordenadas polares, ou seja, existe uma relação entre o ângulo de feixe e a medida de distância associada a ele. A Figura 3 ilustra uma varredura em coordenadas polares e sua conversão para coordenadas Cartesianas. No caso desse trabalho, tal transformação é realizada pelas Equações 3 e 4:

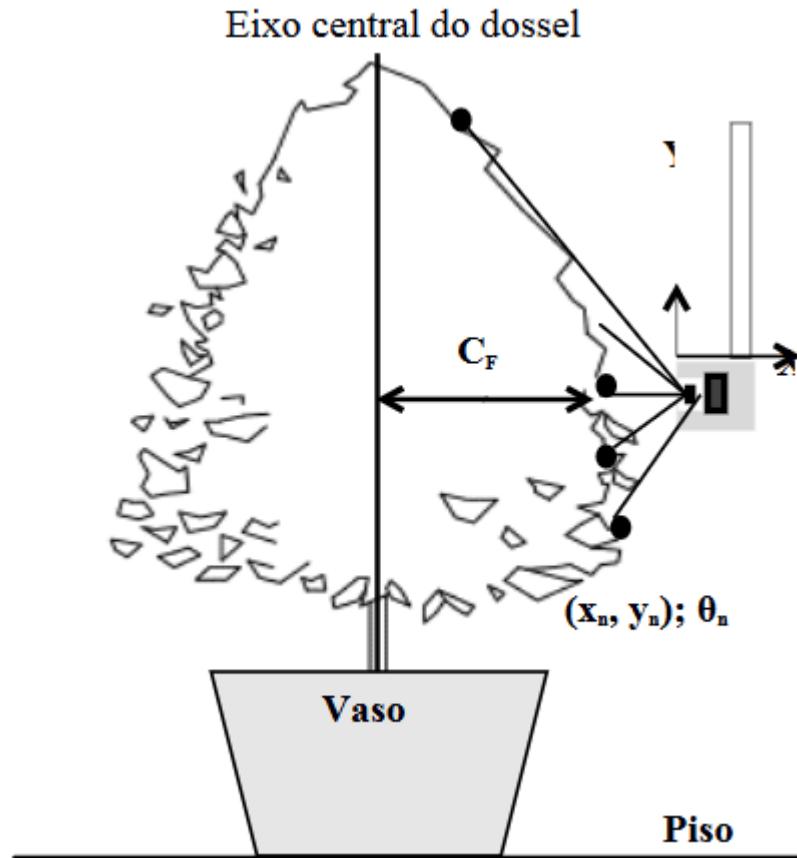


Figura 3. Procedimento de mensuração do LMS (Vista Lateral Esquerda).

$$x_i = D - d_i \sin(\theta_i) \quad (3)$$

$$y_i = A - d_i \cos(\theta_i) \quad (4)$$

onde

$x_i$  = valores de coordenadas x (m);

$y_i$  = valores de coordenadas y (m);

D = distância entre o dispositivo laser e o eixo central do dossel em (m);

A = altura entre o dispositivo laser e o solo (m);

$d_i$  = distância mensurada pelo dispositivo laser em (m); e,

$\theta_i$  = ângulo de escaneamento.

Para fins de análises comparativas, os parâmetros obtidos através da mensuração automática com o LMS 111 foram inseridos na Equação (1) e confrontados com os valores obtidos manualmente, utilizando a diferença porcentagem de volume foliar.

## Resultados e discussão

Os resultados de volume do dossel utilizando a metodologia de Whitney e a do esferoide Prolato foram, respectivamente,  $1,129 \text{ m}^3$  e  $1,175 \text{ m}^3$ , para a mesma planta. A razão pela qual o volume do dossel é menor utilizando o método de Whitney é explicado no trabalho de Tumbo et al. (2002). A principal diferença entre os métodos está na adoção dos pontos de referência para a medição do diâmetro. No método de Whitney, utilizam-se os diâmetros paralelo e perpendicular à linha de plantio, enquanto no método de volume prolato, somente a medida paralela é levada em consideração.

A Figura 4 ilustra uma fatia individual da nuvem de pontos gerada com resolução angular de  $0,5^\circ$ , totalizando 541 medidas de distância entre o sensor e os anteparos do ambiente. Vale comentar que quanto menor a resolução angular, maior a fidelidade na reconstrução do ambiente, porém se requere um maior tempo de processamento em virtude de um maior volume de dados.

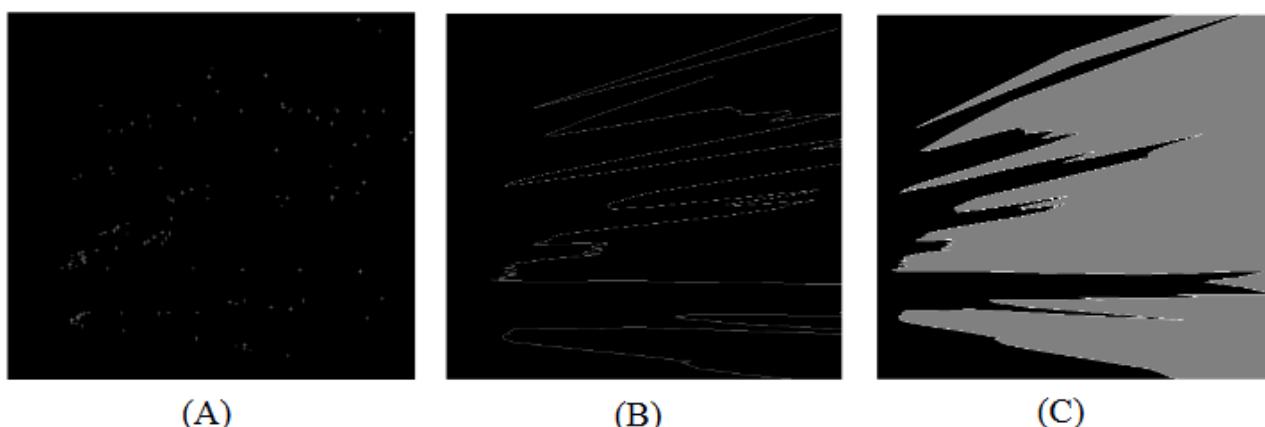


Figura 4. Sequência de confecção do polígono: método para cálculo do volume foliar do dossel de plantas arbóreas. Nuvem de pontos original de uma fatia (A), interligação entre os pontos de uma fatia (B), fatia individual mensurada (C).

A Figura 5 ilustra três representações do dossel foliar de uma mesma planta da café, reconstruído através das medidas do LMS 111 sob diferentes velocidades de deslocamento linear sobre a plataforma ilustrada na Figura 1. Segundo Lee e Ehsani (2009) e verificado aqui experimentalmente, a velocidade de trabalho do dispositivo afeta diretamente a identificação do dossel da cultura, para os olhos menos treinados, e influencia na determinação da largura do dossel (subestimando sua medida real).

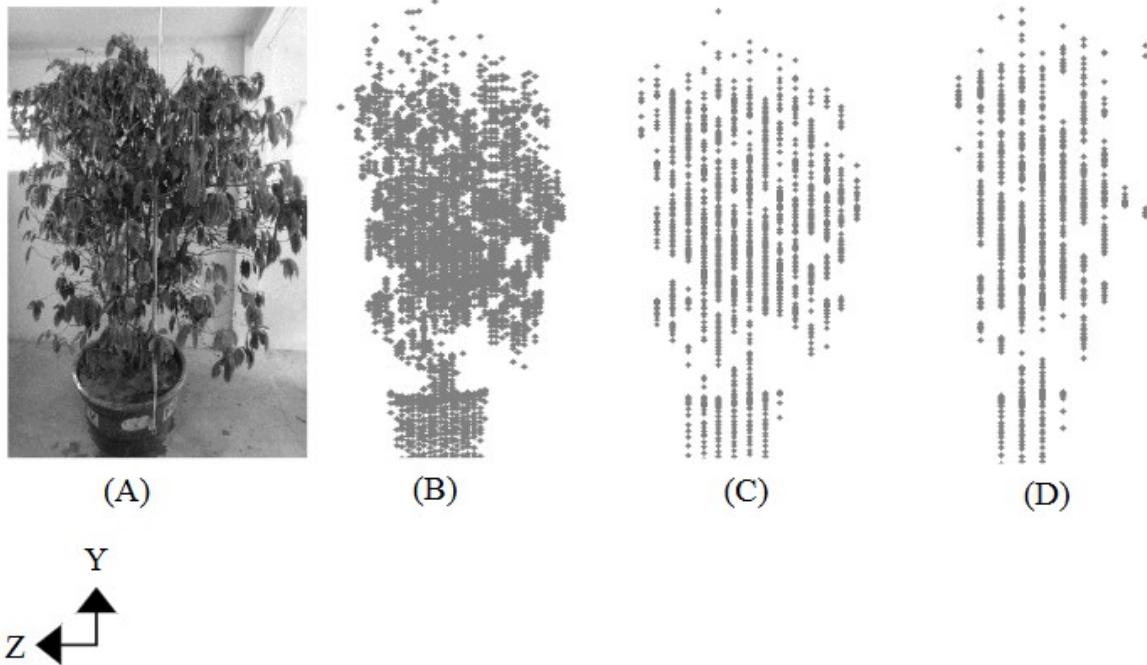


Figura 5. Influência da velocidade de trabalho na representação do dossel foliar de uma mesma planta arbórea, na forma de nuvem de pontos da mesma planta, nas velocidades de 1 (A), 3 (B) e 6  $\text{km h}^{-1}$  (C), (Vista Frontal).

Uma análise comparativa da medida dos volumes dos dosséis das plantas em distintas velocidades pode ser vista no TABELA 1. Os métodos manuais de cálculo de volume foliar de Whitney e de volume por esferoide de prolato foram comparados com o método automático obtido pela abordagem LIDAR.

Primeiramente, verifica-se que ao aplicar os dados obtidos pelo LMS 111 nas Equações (1) e (2), as medidas de volume são inferiores àquelas obtidas manualmente, independente da velocidade de translação do sensor na plataforma. Também é possível constatar que a diferença volumétrica do dossel é maior quando se utiliza o método de esferoide prolato em comparação ao método de Whitney, devido à sua menor precisão.

**Tabela 1.** Diferença percentual entre os volumes medidos manualmente e através do LMS 111 em função da velocidade de trabalho.

Velocidade (km/h)	Abordagem adotada para medição do volume foliar ( $m^3$ )			Diferença percentual entre métodos automático e manual	
	LIDAR (L)	Whitney (W)	Prolato (P)	$(L-W)/L$ [%]	$(L-P)/P$ [%]
1	0,94	0,813	0,951	-10,73	-16,60
3	1,06	1,129	1,175	-5,86	-9,55
6	0,65	0,725	0,921	-42,08	-44,35

Apesar de a velocidade de 1 km/h ser aquela que melhor representou o dossel da planta arbórea através da nuvem de pontos, sabe-se que esta não é a velocidade comumente utilizada na maioria das operações agrícolas. No caso em questão, as diferenças percentuais entre o volume obtido manualmente e do LMS foram, respectivamente, de 10,7 e 16,6 %.

Quando se trabalhou na velocidade de 3 km/h, as diferenças entre os volumes medidos manualmente e o LMS foram de 5,8% e 9,5%. Vale destacar que esta é uma velocidade muito empregada em operações agrícolas e, portanto, pode ser adotada para obtenção das características do dossel de plantas arbóreas.

Por fim, observando-se, tanto a Figura 4, quanto o TABELA 1, conclui-se que o LMS operando-se a uma velocidade de translação de 6 km/h não é ideal para uma caracterização fiel do dossel das plantas arbóreas. A discrepância superior a 40% se explica pela passagem rápido do sensor em frente a planta, impossibilitando sua caracterização.

## Conclusões

O LMS 111 é um sensor a laser baseado na metodologia LIDAR, que pode ser utilizado na obtenção automática de dados de distância entre a fonte (sensor) e um anteparo (objetivo), a fim de se determinar o volume do dossel de plantas arbóreas.

Através de validações experimentais, verificou-se que, dentre as velocidades testadas, a de 3 km/h mostrou-se a ideal.

Velocidades iguais ou superiores a 6 km/h não se aplicam satisfatoriamente para a determinação do volume de dossel de plantas arbóreas, pois sua caracterização fica debilitada pela carência de pontos representativos do cultivo.

## Agradecimentos

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudo, e ao CNPq, pela aprovação de auxílio financeiro (Processo nº487442/2012-1).

## Referências bibliográficas

- GARCÍA, M.; RIAÑO, D.; CHUVIECO, E.; DANSOND, F. Estimating biomass carbon stocks for a Mediterranean forest in central Spain using LiDAR height and intensity data. **Remote Sensing of Environment**. n.114, p. 816 –830. 2010.
- KOCH, B. Status and future of laser scanning, synthetic aperture radar and hyperspectral remote sensing data for forest biomass assessment. **Journal of Photogrammetry and Remote Sensing**. p. 581–590. 2010.
- LEE, K.; R. EHSANI. A laser-scanning system for quantification of tree-geometric characteristics. **Applied Engineering in Agriculture**. n. 25, vol 5, p. 777-788. 2009.
- ROSELL-POLO, J.R.R.; SANZ-CORTIELLA, R.; LLORENS, J.; ARNO, J.; ESCOLA, A.; RIBES-DASI, P.; MASIP, J.; CAMP, F.; GRACIA, F.; SOLANELLES, F.; PALLEJA, T.; PAL, L.; PLANAS, S.; GIL, E.; PALACIN, J. A tractor-mounted scanning LIDAR for the non-destructive measurement of vegetative volume and surface area of tree-row plantations: A comparison with conventional destructive measurements. **Biosystems Engineering**. v. 102. p. 128-134. 2009.
- TUMBO, S. D.; SALYANI M.; WHITNEY, J. D.; WHEATON T. A.; W. MILLER, M. Investigation of laser and ultrasonic ranging sensors for measurements of citrus canopy volume. **Applied Engineering in Agriculture**. v. 18. p. 367-372. 2002.
- VAN DER ZANDE, D.; HOET, W.; JONCKHEERE, I.; VAN AARDT, J.; COPPIN, P. Influence of measurement set-up of ground-based LIDAR for derivation of tree structure. **Agricultural and Forest Meteorology**. v. 141, n. 2–4, p.147–160. 2006.
- ZAMAN, Q.U.; SALYANI, M. Effects of foliage density and ground speed on ultrasonic measurement of citrus tree volume. **Applied Engineering in Agriculture**. v. 20, n.2, p. 173–178. 2004.
- ZHAO, K.; POPESCU, S.; MENG, X.; PANG, Y.; AGCA, M. Characterizing forest canopy structure with lidar composite metrics and machine learning. n.115, p. 1978–1996. 2011.

Recebido em 30/10/2018  
Aceito em 04/01/2019

# Revista Agrária Acadêmica

*Agrarian Academic Journal*

Volume 2 – Número 1 – Jan/Fev (2019)

---

doi: 10.32406/v2n12019/38-46/agrariacad

## Produtividade de cultivares de maxixe em diferentes sistemas de cultivo

Productivity of gherkin cultivars in different cropping systems

Herodilson Guimarães da Costa<sup>1</sup>, Ana Francisca T. A. Ferreira e Ferreira<sup>1</sup>,  
Hiroshi Noda<sup>2</sup>, Jânia Lília da Silva Bentes<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>- Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical, Universidade Federal do Amazonas, Faculdade de Ciências Agrárias-FCA, 69080-000, Manaus, AM, Brasil.

<sup>2</sup>- Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia-INPA

\*Autor para correspondência: [jlbentes@ufam.edu.br](mailto:jlbentes@ufam.edu.br)

---

### Resumo

O maxixe é uma hortaliça fruto bastante consumida no Norte e Nordeste do país, e ao longo dos anos vem sendo cultivada pelos agricultores familiares de modo tradicional. Contudo, no cultivo tradicional o fruto ainda é produzido em contato com o solo, o que induz a sua depreciação comercial e a frequente ocorrência de doenças. Várias técnicas têm sido implementadas para o cultivo das hortaliças fruto, sendo o tutoramento uma das mais utilizadas, por promover o aumento da produtividade e melhorar a qualidade dos frutos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a produtividade de três cultivares de maxixe (Norte, Nordestino e INPA) em três sistemas de condução (rasteiro, em vara vertical e espaldeira) no período de estiagem e de chuvas no Amazonas. Foram avaliados o peso, comprimento, diâmetro e número de frutos, e a produtividade foi estimada nos diferentes sistemas de cultivo. Os cultivos rasteiro e com espaldeira, apresentaram os maiores resultados de produção, entretanto a melhor qualidade dos frutos foi obtida no cultivo com espaldeira. Dentre as cultivares testadas, a cultivar INPA apresentou o melhor desempenho. O período de estiagem foi o que mais favoreceu a produção e qualidade dos frutos de maxixe, sendo este o recomendado para o cultivo dessa espécie no Estado do Amazonas.

**Palavras-chave:** *Cucumis anguria* L., espaldeira, qualidade de fruto.

### Abstract

Gherkin is a very consumed vegetable in the North and Northeast of Brazil, and over the years it has been cultivated by the family farmers in a traditional way, with the fruit in contact with the soil, which induces the commercial depreciation of the fruits and the frequent occurrence of diseases. Several techniques have been implemented for the cultivation of fruit vegetables, being the tutoring one of the most used, for promoting the increase of productivity and to improve the quality of the fruits. The objective of this work was to evaluate the productivity of three cultivars of gherkin (North, Northeastern and INPA) in three (undergrowth, in vertical stake and espalier) in the dry and rainy season in Amazonas. Parameters related to weight, length, diameter and number of fruits were evaluated, and productivity was estimated. However, the best quality of the fruits was obtained in the cultivation with espalier. Among the cultivars, INPA presented the best performance. The period of drought was the one that favored the production and quality of the fruits of maxixe, which is recommended for the planting of this crop in the state of Amazonas.

**Keywords:** *Cucumis anguria*, tutoring, fruit quality.

## Introdução

A espécie *Cucumis anguria* L., derivada do ancestral *Cucumis longipes* Hook, pertencente à família Cucurbitácea, é conhecida popularmente como maxixe, maxixe comum, pepino-de-índio, pepino-de-burro, e pepino espinhoso. De origem Africana, esta espécie está amplamente distribuída nas regiões de clima tropical e subtropical no mundo, sendo bastante explorada em diversas regiões do Brasil (SCHAEFER e RENNER, 2011).

O maxixeiro é uma planta rústica, monóica, com caule trepador ou rastejante e de produção anual. Os frutos apresentam coloração verde clara, com formato variado, podendo apresentar ou não espículos (prolongamentos pontiagudos que se desenvolvem na casca do fruto), e são ricos em minerais e vitaminas, principalmente zinco (THIRUVENGADAM e CHUNG, 2014). No Brasil, os frutos de maxixeiro são utilizados para consumo direto, *in natura* na forma de saladas, cozidos, ou em conserva (picles), principalmente no Norte e Nordeste do país (OLIVEIRA et al., 2010). No Amazonas o maxixeiro é cultivado de forma convencional, rasteira, e a produtividade da cultura é em torno de 5 ton.ha<sup>-1</sup> podendo chegar a 10 ton.ha<sup>-1</sup>.

O sistema de cultivo é um fator primordial à expansão da produção de hortaliças frutas, como o maxixe. A adoção de um sistema de condução que permitam uma aeração mais adequada entre as plantas e melhor aproveitamento da luminosidade, contribuindo para o crescimento e o desenvolvimento da planta, é de grande interesse, visando a produção de frutos de maior tamanho e qualidade, e aumentando o rendimento da cultura (MUNIZ et al., 2011).

Técnicas de cultivo como tutoramento podem ser empregadas na cultura do maxixe e aumentar a produtividade, visto é uma técnica utilizada frequentemente no cultivo de hortaliças frutas, principalmente as de hábito trepador. Embora represente um aumento inicial no custo de produção, este sistema favorece o controle fitossanitário, facilita os tratos culturais e a colheita e melhoram a qualidade dos frutos aumentando o período produtivo (FILGUEIRA, 2013), além de reduzir a ocorrência da “barriga branca” que consiste em uma descoloração do fruto face em contato com o solo (MODOLO e COSTA, 2003). Este trabalho teve como objetivo avaliar a produtividade de três cultivares de maxixeiro, em diferentes sistemas de cultivo, durante as estações seca e chuvosa no estado do Amazonas, Brasil.

## Material e métodos

Foram realizados dois experimentos, um nos meses de julho a setembro de 2013, que corresponde a estação de seca e outro nos meses de março a junho de 2014, estação chuvosa, na Fazenda Experimental da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), localizada no Km 38 da BR-174. O solo da área experimental foi classificado como Latossolo Amarelo de Textura Argilosa (EMBRAPA, 2006). Para verificar as características químicas do solo, foi realizada a análise química de 15 amostras, coletadas na camada de 0 a 20 cm de profundidade, e os resultados mostraram as seguintes informações: pH = 5,61, conteúdo de Ca 2,0 cmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup>, Al 3,98 cmol<sub>c</sub>.dm<sup>-3</sup>, P 7,0 mg.dm<sup>-3</sup>, K 39 mg.dm<sup>-3</sup> e matéria orgânica 45,19 g.Kg<sup>-1</sup>.

O preparo da área foi feito através de roçagem, aração e gradagem. A abertura das covas foi realizada manualmente, com dimensões de 0,30 m x 0,30 m x 0,30 m, e para a correção da acidez do solo, foi aplicada a quantia de 500 g de calcário por cova. A adubação de plantio foi feita utilizando 7 g de ureia, 2 g de cloreto de potássio, 16 g de superfosfato simples e 1,5 kg de esterco curtido de ave por cova, conforme é realizado pelos produtores da região.

As cultivares utilizadas foram ‘Norte’, ‘Nordestino’ que são amplamente cultivadas no Estado e a ‘Maxixe Regional’ (frutos sem espículo, cedida pelo Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia - INPA), em três sistemas de cultivo: condução com vara vertical, condução em espaldeira usando arame galvanizado com cinco fileiras de fios espaçados a 30 cm e condução rasteira.

A semeadura foi realizada em tubetes de polietileno, usando o substrato comercial Vivatto®, (composto de casca de pinus, bioestabilizante, vermiculita, moinha de carvão vegetal, água e espuma fenólica) O transplantio para o campo foi feito quando as mudas apresentaram quatro folhas definitivas. As mudas foram plantadas no espaçamento de 2,0 m x 2,0 m. Foi realizada a irrigação diária por gotejamento e capina manual quando necessária.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com parcelas subdivididas contendo nove tratamentos e três repetições, sendo as parcelas constituídas pelos três sistemas de condução, e as subparcelas as três cultivares de maxixe. A unidade experimental correspondeu a duas plantas por repetição, totalizando seis plantas. Foram realizadas dez colheitas, com intervalos de quatro dias entre elas, sendo a primeira efetuada aos 60 dias após a semeadura.. Os parâmetros avaliados foram o peso médio (g), o comprimento e diâmetro (mm) de 50% dos frutos em cada colheita, o número de frutos, obtido pela contagem total de frutos por tratamento em cada colheita, e a produtividade média (ton.ha<sup>-1</sup>), estimada a partir do peso médio dos frutos.

Os dados foram submetidos a análise (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste F a 5% de probabilidade pelo pacote *agricolae* implementado no software R (*R development*).

## Resultados e Discussão

Entre os sistemas de cultivo avaliados, o cultivo rasteiro e em espaldeira apresentaram os maiores valores de produção (Tabela 1). No sistema rasteiro, a cultivar INPA obteve A MAIOR MÉDIA PARA número de frutos (194.66). A redução na produção de maxixeiro no sistema tutorado, com vara vertical, pode estar diretamente relacionada com a quantidade elevada de hastes secundárias e terciárias emitidas pela planta que ficam sobrepostas causando sombreamento, reduzindo a eficiência na captação da luz solar para a fotossíntese (OLIVEIRA et al. 2010).

Estudos realizados por MODOLLO e COSTA (2003), utilizando fios de ráfia para a condução das plantas de maxixe, mostraram uma produtividade média de 29 t.ha<sup>-1</sup> para maxixe comum e 35 t.ha<sup>-1</sup> para maxixe paulista, resultados superiores obtidos neste trabalho, cuja produtividade das três cultivares em vara vertical foi estimada em 6,60 t.ha<sup>-1</sup>.

Apesar da baixa produtividade observada no sistema de condução com vara VERTICAL, os frutos apresentaram boa qualidade, com coloração verde uniforme e sem ocorrência da “barriga branca”, resultando em um aspecto com melhor aceitação no mercado.

**Tabela1.** Avaliação de parâmetros quantitativos de cultivares de *C. anguria* em diferentes sistemas de produção em duas épocas sazonais no Estado do Amazonas.

Condução	Cultivar	Estação Seca					Estação Chuvosa					
		TRA T	PMF (g)	CMF (mm)	DF (mm)	NF (unidade)	PROD (ton.ha <sup>-1</sup> )	PMF (g)	CMF (mm)	DF (mm)	NF (unidade)	PROD (ton.ha <sup>-1</sup> )
Vara	Norte	T1	37.90 a	56.44 a	35.01 a	77.16 cd	2.92 bcd	34.25 a	54.34 a	34.35 a	35.00 b	1.96 ab
	Nordestino	T2	28.23 b	49.50 bc	32.39 b	51.66 d	1.20 d	25.34 b	47.60 b	31.16 b	25.50 b	0.66 b
	INPA	T3	32.13 ab	53.02 abc	33.52 ab	60.83 d	1.94 cd	28.93 ab	50.95 ab	32.11 ab	43.00 ab	0.47 b
Espaldeira	Norte	T4	35.90 a	51.48 bc	33.85 ab	140.00 abc	5.00 ab	32.39 ab	51.97 a	33.30 a	72.50 ab	2.43 ab
	Nordestino	T5	27.12 b	49.05 c	31.64 b	119.33 abcd	3.21 bcd	27.64 b	48.62 b	29.85 b	61.33 ab	1.70 ab
	INPA	T6	31.67 ab	52.2 abc	33.46 ab	117.33 bcd	3.77 abcd	29.34 ab	48.52 ab	30.34 ab	56.33 ab	1.66 ab
Rasteiro	Norte	T7	31.64 ab	53.23 abc	32.89 ab	102.00 bcd	3.27 bcd	32.10 ab	54.40 a	33.123 a	77.50 ab	2.90 a
	Nordestino	T8	29.78 ab	50.43 bc	32.16 b	155.66 ab	4.67 abc	26.71 b	50.68 b	31.23 b	59.83 ab	1.62 ab
	INPA	T9	32.95 ab	53.83 ab	33.67 ab	194.66 a	6.47 a	29.06 ab	51.39 ab	32.27 ab	105.00 a	3.07 a

\*Médias seguidas pelas mesmas letras na vertical não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

**TRAT:** Tratamentos; **PMF:** Peso médio dos frutos em gramas; **CMF:** Comprimento médio de frutos em milímetros; **DF:** Diâmetro de frutos em milímetros; **NF:** número de frutos em unidades; **PROD:** estimativas de produtividade/planta.

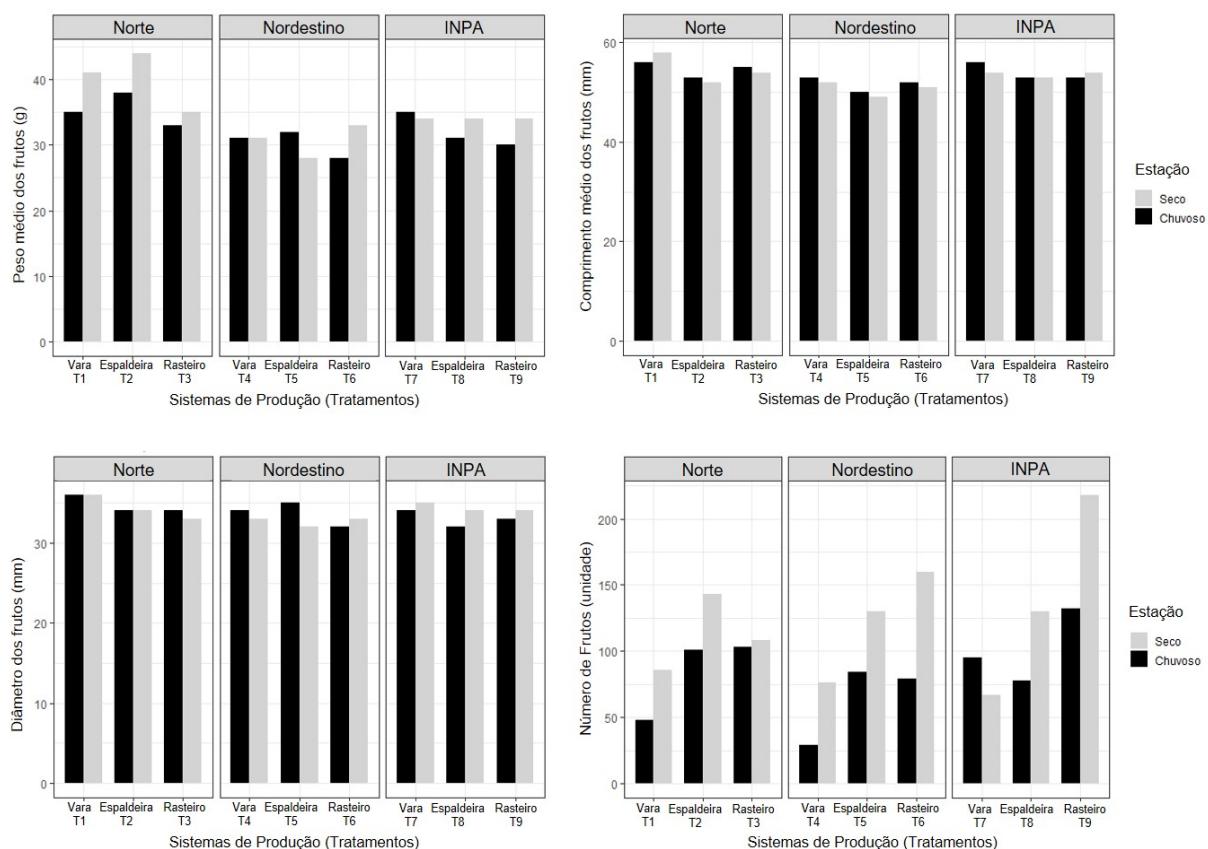
Na condução das cultivares de maxixe em espaldeira vertical, a produtividade das cultivares Norte, Nordestino e INPA foram respectivamente 5.00, 3.21 e 3.77 ton.ha<sup>-1</sup>, no período de estigem, e 2.43, 1.70, 1.66 ton.ha<sup>-1</sup> no período de chuvas, respectivamente. As cultivares formam mais

produtivas neste sistema do que na condução com vara vertical, com resultados um pouco inferiores aos encontrados no sistema de condução rasteiro. A planta de maxixe apresenta uma forte supressão da dominância apical, concentrando a frutificação nos ramos laterais (MODOLO e COSTA, 2003). Ao contrário da condução com vara vertical, onde os ramos se concentraram em torno de um único tutor. Na condução com espaldeira, os ramos secundárias e terciárias ficaram bem distribuídas ao longo dos fios, possibilitando maior captação da luz solar e aeração mais adequada às plantas, contribuindo para o crescimento e o desenvolvimento das mesmas.

No sistema de condução rasteiro, foi observada maior produtividade, entretanto foi observado uma qualidade de frutos inferior aos colhidos dos sistemas com espaldeira. De acordo com MARTINS (1986), o plantio de maxixe na forma rasteira vem sendo praticado pelos agricultores familiares ao longo dos anos, tanto em áreas de várzea ou de terra firme, onde os frutos ficam em contato com o solo, o que induz má coloração e depreciação comercial. Segundo LEAL et. al. (2000), o cultivo do maxixe utilizando espaldeira reduz em até 95% a ocorrência da barriga branca. Além disso, os frutos em contato com o solo ficam mais suscetíveis aos ataques por microrganismos, o que não ocorre no cultivo tutorado, onde os frutos ficam suspensos.

Na condução rasteira, a cultivar regional do INPA obteve maior produtividade média, com 6,47 ton.ha<sup>-1</sup>, seguidas das cultivares Nordestino com 4,67 ton.ha<sup>-1</sup>, e cultivar Norte com 3,27 ton.ha<sup>-1</sup>. A maior média de produtividade da cultivar regional INPA no sistema rasteiro pode estar relacionada com a adaptabilidade às condições climáticas da Região Amazônica.

A análise conjunta das estações seca e chuvosa para os parâmetros de produção de maxixe avaliados apresentaram contrastes significativos pelo teste F a 5% de probabilidade para o peso médio de frutos (PF) e número de frutos (NF), havendo interação entre cultivar e condução (Figura 1). A análise de variância (Tabela 2) mostrou que durante a estação seca, todos os parâmetros avaliados foram significativos em função da cultivar, enquanto que somente os parâmetros de número de frutos (NF) e produção (PROD), foram influenciados pelos sistemas adotados, comprovada assim a interação entre cultivar x sistemas nestes dois parâmetros nos diferentes sistemas de cultivo.



**Figura 1.** Influência da sazonalidade na produtividade de *Cucumis anguria* em três sistemas de cultivo.

De acordo com PIMENTEL (1985), no cultivo convencional do maxixeiro, existem variações quanto à produtividade, dependendo da época e local de cultivo. A Região Amazônica possui duas estações distintas, a estiagem que compreende os meses de junho a novembro, e a estação chuvosa que inicia no mês de dezembro terminando em maio, com precipitação média anual de 1750 a 2500 mm (OLIVEIRA et al. 2011). Todas as cultivares avaliadas obtiveram as maiores médias no período de estiagem. A menor produtividade das cultivares de maxixe na época chuvosa observados neste trabalho pode estar associada entre outros fatores, à falta de polinização das flores femininas, resultando no abortamento de grande parte das flores levando a falhas na frutificação durante a condução do experimento.

Ao avaliar a produtividade de melancia, RESENDE et. al. (2010) observaram que durante a floração das plantas, o excesso de chuvas prejudicou a polinização, danificando as flores e a ação dos polinizadores. De acordo com AUGUSTO (2003), a polinização auxilia na formação de frutos e sementes, aumentando a produtividade agrícola e que polinização realizada pelas abelhas *Apis mellifera* é extremamente importante para aumentar a produção de diversas culturas.

Além da polinização, outro fator influenciado pela intensidade de chuvas é a ocorrência de pragas e doenças no maxixeiro (BACCI et. al., 2006). O ataque de pragas e patógenos comprometem a produção das plantas devido a redução da área fotossintética ativa e consequentemente, depreciação dos frutos (BARROS, 2010). Nesta época sazonal, diferentemente da estiagem, as cultivares utilizadas não interferiram nos parâmetros número de frutos e produtividade, sendo estes dois fortemente influenciados pelos sistemas adotados, mostrando assim que durante a época chuvosa no Amazonas, os sistemas adotados tiveram um peso maior que o tipo de cultivar utilizada, reforçando assim a hipótese da importância da modernização dos plantios de maxixe.

**Tabela 2.** ANOVA mostrando os valores obtidos do teste F em função dos fatores cultivar e sistema de condução utilizados para a cultura do maxixe em dois períodos sazonais.

	Período de Estiagem				
	PMF	CMF	DF	NF	PROD
Cultivar	10.228 **	20.134***	16.255***	4.558*	7.728**
Sistema	0.457	5.042*	2.774	98.650**	56.562***
Cultivar x Sistema	1.608	2.826	2.230	17.868***	15.272***
CV	9.975015	2.780822	2.201907	12.02723	15.80565
	Período Chuvoso				
	PMF	CMF	DF	NF	PROD
Cultivar	5.825*	4.937*	4.002*	1.377	3.459
Sistema	0.036	1.323	0.967	7.862**	15.350***
Cultivar x Sistema	3.84	0.329	0.201	0.902	1.338
CV	13.44514	6.286105	6.863525	41.99533	39.11355

\*Significativo a 0.05%    \*\* significativo a 0.01%    \*\*\* significativo 0.001% de probabilidade pelo teste F.

## Conclusão

A produtividade das plantas de maxixe variou em função do tipo de condução, da cultivar estudada e da época de cultivo. Os cultivos rasteiros e com espaldeiras se mostraram promissores sendo a cultivar regional INPA a que proporcionou maior produtividade na estação seca.

## Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela bolsa de estudos do primeiro autor.

## Referências bibliográficas

- AUGUSTO, S. C.; GARÓFALO, C. A. **Comportamento das abelhas**. In: DEL-CLARO, K.; PREZOTO, F. As distintas fases de comportamento animal/ SBet – Sociedade Brasileira de Etiologia. Jundiaí. Conceito, 2003. Disponível em [www.diaadiadecacao.pr.gov.br/portals/pde/arquivos/2532-8.pdf](http://www.diaadiadecacao.pr.gov.br/portals/pde/arquivos/2532-8.pdf). Acessado em 20/08/2018.
- BACCI, L. PICANÇO, M. C.; GONRINGA, A. H. R.; GUEDESB, R. N. C.; CRESPOB, A. L. B. Critical yield components and key loss factors of tropical cucumber crops. **Crop Protection**, v. 25, p. 1117-1125, 2006.
- BARROS, E. C. **Impacto e fatores determinantes de pragas em *Phaseolus vulgaris***. Tese (Departamento de Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2010.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA-EMBRAPA. **Centro Nacional de Pesquisa de Solos-Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2<sup>a</sup> ed. 305 p. Rio de Janeiro, 2006.
- ESQUINAS-ALCAZAR, J.T.; GULICK, P.J. Genetic resources of cucurbitaceae. Rome: **International Board for Plant Genetic Resources**, 1983. 101p.
- FILGUEIRA, F.A.R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Editora UFV, 3<sup>a</sup> ed. 421 p. Viçosa-MG. 2013.
- LEAL, F. R.; SANTOS, V. B.; SALVIANO, A. A. C. Sistemas de condução e aplicação de cal extinta na cultura do maxixe. **Horticultura Brasileira**, v. 18. Suplemento, p. 542-543. Trabalho apresentado no 40º Congresso Brasileiro de Olericultura. Brasília-DF. 2000.
- MARTINS, M.A.S. **Maxixe (*Cucumis anguria* L.) e seu cultivo em São Luís do Maranhão**. EMAPA, Documento 8. São Luis-MA. 1986.
- MATSUMOTO, Y.; MIYAGI, M. 2012. Evaluation of the Resistance in Gherkin (*Cucumis anguria* L.) to Fusarium Wilt and Inheritance of the Resistant Gene. **Tetrahedron Letters** 4(9):407 3535-3538
- MEEUSE, A.D.J. The possible origin of *Cucumis anguria* L. **Blumea**, v.4, p. 196-205, 1958.
- MUNIZ, J.; KRETZSCHMAR, A. A.; RUFATO, L.; PELIZZA, P. R; ALENCAR, T. M.; DUARTE, E.; A. P. F. LIMA.; GARANHANI, F. Sistemas de condução para o cultivo de *Physalis* no planalto catarinense. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 3, p. 830-838, Jaboticabal-SP, 2011.
- MODOLO, V. A.; COSTA, C. P. Avaliação de linhagens de Maxixe Paulista em ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, v. 21, n. 4, p. 632-634, outubro-dezembro Brasília, 2003a.
- MODOLO, V. A; COSTA, C. P. **Maxixe: uma hortaliça de tripla forma de consumo**. ESALQ – Divisão de Biblioteca e Documentação. 20 p. il. (Série Produtor Rural, nº19). Piracicaba-SP. 2003.
- OLIVEIRA, A. P.; OLIVEIRA, F. J. V.; SILVA, J. A.; OLIVEIRA, A. N. P.; SANTOS, R. R.; SILVA, D. F. Parcelamento e fontes de nitrogênio para a produção de maxixe. **Horticultura Brasileira**, vol. 8: pag. 218-221, 2010.
- OLIVEIRA, M. L.; BACCARO, F. B.; Braga-Neto, R.; MAGNUSSON, W. E. **Reserva Ducke: a biodiversidade amazônica através de uma grade**. PPBio-Programa de Pesquisa em Biodiversidade. Manaus, 2011. Acessado em 15/07/2018. Disponível online em: <<http://ppbio.inpa.gov.br/>>.
- PEREIRA, F. H. F.; NOGUEIRA, I. C.C.; PEDROSA, J. F.; NEGREIROS, M. Z.; NETO, F. B. Poda da haste principal e densidade de cultivo na produção e qualidade de frutos em híbridos de melão. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 2, p. 192-197. 2008.
- PIMENTEL, A.A.M.P. **Olericultura no trópico úmido: hortaliças da Amazônia**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1985. 332 p

RESENDE, G. M.; DIAS, R de C. S.; COSTA, N. D. Sistema de produção de melancia. **Sistema de produção 6**, ISSN 1807-0027, versão eletrônica, Embrapa Semiárido, 2010. Disponível em: [www.sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/melancia/SistemaProducao\\_Mel](http://www.sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/melancia/SistemaProducao_Mel). Acessado em 15/07/2018.

SCHAEFER, H.; RENNER, S. S. Phylogenetic relationships in the order Cucurbitales and a new classification of the gourd family (Cucurbitaceae). **TAXON**, v. 60, p. 122–138, 2011.

THIRUVENGADAM, M., AND CHUNG, I.M. 2014. Optimization of factors influencing in vitro flowering of gherkin (*Cucumis anguria* L.). **Acta Biologica Hungarica** 65(1): 72-84.

YOKOYAMA, S.; SILVA JÚNIOR, A. A. Maxixe: uma hortaliça pouco conhecida. **Agropecuária catarinense**, v.1, n.3, p.12-13. 1988.

Recebido em 29/10/2018

Aceito em 21/01/2019

# Revista Agrária Acadêmica

*Agrarian Academic Journal*

Volume 2 – Número 1 – Jan/Fev (2019)

---

doi: 10.32406/v2n12019/47-55/agrariacad

## **Enxertia em cultivar de tomateiro Yoshimatsu**

Grafting in tomato cultivar Yoshimatsu

Luziane Vitor de Souza<sup>1</sup>, Daniel Felipe de Oliveira Gentil<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Secretaria de Estado de Produção Rural – SEPROR, Manaus, AM, Brasil. E-mail: [luzziane@gmail.com](mailto:luzziane@gmail.com)

<sup>2</sup>\* Departamento de Produção Animal e Vegetal, Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Amazonas – UFAM, Manaus, AM, Brasil. E-mail: [dfgentil@ufam.edu.br](mailto:dfgentil@ufam.edu.br)

---

### **Resumo**

Este trabalho verificou a compatibilidade entre cultivares comerciais de tomateiro e a Yoshimatsu, através da enxertia. O experimento de enxertia teve cinco tratamentos (enxertos ‘Santa Cruz’, ‘Santa Cruz Kada Gigante’, ‘Santa Cruz Kada Paulista’, ‘Santa Clara 5800’ e ‘Gaúcho Melhorado’) e quatro repetições. O experimento de garfagem em fenda cheia teve quatro tratamentos (enxertos ‘Santa Cruz’, ‘Santa Cruz Kada Gigante’, ‘Santa Cruz Kada Paulista’ e ‘Santa Clara 5800’) e cinco repetições. A cultivar Yoshimatsu foi o porta-enxerto. As cultivares comerciais mostraram compatibilidade, com maior afinidade entre o porta-enxerto e os enxertos ‘Santa Clara 5800’ e ‘Santa Cruz Kada Paulista’, especialmente na garfagem em fenda cheia (cerca de 90% de pegamento).

**Palavras-chave:** *Solanum lycopersicum*, propagação vegetativa, produção de mudas.

### **Abstract**

This work verified the compatibility between commercial tomato cultivars and Yoshimatsu by means of grafting. Approach grafting underwent five treatments ('Santa Cruz', 'Santa Cruz Kada Gigante', 'Santa Cruz Kada Paulista', 'Santa Clara 5800' and 'Gaúcho Melhorado' scions) plus four repetitions. Full cleft grafting underwent four treatments ('Santa Cruz', 'Santa Cruz Kada Gigante', 'Santa Cruz Kada Paulista' and 'Santa Clara 5800') plus five repetitions. Yoshimatsu cultivar stood as under stock. Commercial cultivars showed compatibility, with greater affinity between under stock and 'Santa Clara 5800' and 'Santa Cruz Kada Paulista' scions, especially upon full cleft grafting (nearly 90% attachment rate).

**Keywords:** *Solanum lycopersicum*, vegetative propagation, seedling production.

---

## Introdução

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* – Solanaceae) é muito suscetível a doenças, sendo a murcha-bacteriana (*Ralstonia solanacearum*) uma das principais e de difícil controle (ZAMBOLIM et al., 2000). Isto porque o patógeno apresenta grande variabilidade, caracterizada pela ocorrência de raças, com especificidades por hospedeiros (BUDDENHAGEN et al., 1962), e de bionaves, classificadas conforme a habilidade em utilizar determinados açúcares e álcoois como fontes de carbono (HAYWARD, 1991).

Uma das alternativas para atenuar esse problema é o melhoramento genético da espécie. No Amazonas, em 1976, pesquisadores do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) iniciaram um programa de melhoramento, visando à obtenção de cultivares resistentes e adaptadas aos ambientes amazônicos de várzea e de terra firme. Após doze anos de trabalho, foi apresentada a cultivar Yoshimatsu (NODA et al., 1988), sendo que suas progêneres avançadas vêm se mostrando aptas ao cultivo em solos naturalmente infestados pelo patógeno (PENA et al., 2010; SOUZA et al., 2013).

Outro modo de viabilizar o plantio de determinadas cultivares em áreas infestadas por *R. solanacearum* é por meio da enxertia (SANTOS et al., 2003; LOPES; MENDONÇA, 2014). Em hortaliças, é uma técnica empregada para solucionar problemas com patógenos de solo, evitando o contato de uma planta suscetível com um solo infestado, pelo uso de porta-enxerto resistente, possibilitando a produção de cultivares requeridas pelo mercado, mas sem a devida resistência (SANTOS; GOTO, 2003). O porta-enxerto resistente se mantém sadio, assumindo a função de absorver água e nutrientes do solo, ao mesmo tempo em que isola a cultivar suscetível do patógeno presente no solo (LOOS et al., 2009).

No Brasil, os primeiros registros do uso da enxertia no cultivo de hortaliças datam da década de 1950 no Norte do país (LOPES; MENDONÇA, 2014). Segundo Galli et al. (1968), dada a distribuição generalizada da bactéria na região, era comum o cultivo do tomateiro enxertado sobre solanáceas nativas, como a jurubeba ou junca - *Solanum toxicarium*, cujo nome atual aceito e correto é *Solanum stramoniifolium*, conforme MOBOT (2018). Do mesmo modo, Pimentel (1985) relata que nas regiões de Bragantina e Guajarina do Estado do Pará e no Estado do Acre, o tomateiro era cultivado enxertado em jurubeba, para evitar a ocorrência de doenças do solo. Filgueira (1982) ressalta ainda que os agricultores nortistas adotavam a enxertia do tomateiro em jurubeba, pelo método de garfagem em fenda cheia, na prevenção da murcha-bacteriana.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi verificar a compatibilidade entre cultivares comerciais de tomateiro e a Yoshimatsu, através da enxertia pelos métodos de encostia e de garfagem em fenda cheia, em Manaus, Amazonas.

## Material e Métodos

O trabalho foi conduzido no Setor de Olericultura da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), em Manaus, Amazonas. O clima da região, conforme a classificação de Köppen, é do tipo Af – sem estação seca (ALVARES et al., 2013).

As sementes de tomateiro ‘Yoshimatsu’ foram fornecidas pelo INPA e as das cinco cultivares comerciais (Santa Cruz, Santa Cruz Kada Gigante, Santa Cruz Kada Paulista, Santa Clara 5800 e Gaúcho Melhorado) foram adquiridas no comércio local.

**Experimento de encostia.** As sementes foram semeadas em bandejas de poliestireno expandido, no mesmo dia, mantidas em telado com 50% de sombreamento, sobre bancada de madeira de 0,8 m de altura do solo. No momento em que apresentaram duas folhas verdadeiras, as plantas foram repicadas para copos plásticos com capacidade de 500 ml, contendo substrato comercial, sendo colocadas, no mesmo copo, lado a lado, a cultivar enxerto (comercial) e a porta-enxerto (‘Yoshimatsu’), para melhor desenvolvimento das plantas e facilitar a operação da enxertia, conforme orientações de Branco et al. (2007).

Ao apresentarem 3-4 folhas verdadeiras, foi aplicado o método de enxertia por encostia, adaptado de Goto et al. (2003b, p. 66). A incisão foi feita, com o auxílio de metade de uma lâmina de barbear, na região do caule entre as folhas cotiledonares e a primeira folha verdadeira. Periodicamente, a lâmina foi desinfetada em álcool 70%. O corte de 1,0 cm de profundidade foi feito no sentido de cima para baixo nas plantas da cultivar Yoshimatsu e de baixo para cima nas plantas das demais cultivares. Em seguida, os cortes foram encaixados e presos com prendedor.

As plantas enxertadas foram mantidas em câmara úmida, sob telado com 50% de sombreamento, visando manter elevada a umidade relativa do ar, como salientam Goto et al. (2003a). A estrutura da câmara úmida consistiu de bancada de madeira com 1,0 m de largura, 3,0 m de comprimento e 0,8 m de altura do solo, sobre a qual foi instalada uma estrutura de madeira de 1,0 m de altura, revestida por agrofilme de 150 micras de espessura. Uma lateral da cobertura permaneceu levantada durante todo o experimento, a fim de evitar a elevação da temperatura e prejuízos à cicatrização e à formação do calo (GOTO et al., 2003a).

Aos sete dias após a enxertia, foram retirados os prendedores e feitos os desmames dos enxertos e as decapitações dos porta-enxertos, através do corte dos caules logo abaixo e logo acima do ponto de enxertia, respectivamente, com o auxílio de uma lâmina desinfetada em álcool 70%. A avaliação do pegamento foi realizada após sete dias do desmame.

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos (cultivares Santa Cruz, Santa Cruz Kada Gigante, Santa Cruz Kada Paulista, Santa Clara 5800 e Gaúcho Melhorado) e quatro repetições de cinco plantas cada. As médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

**Experimento de garfagem em fenda cheia.** As sementes da cultivar porta-enxerto Yoshimatsu foram semeadas em bandejas de poliestireno expandido, oito dias antes da semeadura das cultivares enxertos, sendo mantidas em viveiro telado com 50% de sombreamento. No momento em que apresentaram duas folhas verdadeiras, as plantas foram repicadas para copos plásticos com capacidade de 500 ml, contendo substrato comercial.

Quando as mudas do porta-enxerto apresentaram 5-8 folhas verdadeiras e as dos enxertos 3-5 folhas verdadeiras foi aplicado o método de enxertia por garfagem em fenda cheia, modificado de Cardoso et al. (2006, p. 91). Este consistiu em fazer um corte transversal no caule do porta-enxerto, com o auxílio de metade de uma lâmina de barbear, acima da terceira folha verdadeira, seguida de abertura de uma fenda longitudinal com 1,5 cm de profundidade; nos enxertos (garfos), foi feito um corte transversal acima das folhas cotiledonares e, em seguida, na extremidade inferior do garfo, um bisel duplo formando uma cunha de 1 cm de comprimento. Posteriormente, o garfo foi encaixado na fenda do porta-enxerto, ficando presos com auxílio de prendedor. Periodicamente, a lâmina foi desinfetada com álcool 70%.

As plantas enxertadas foram mantidas em câmara úmida, sob telado com 50% de sombreamento, como no experimento anterior. Aos 10 dias da enxertia, os prendedores foram retirados e o pegamento avaliado.

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (cultivares Santa Cruz, Santa Cruz Kada Gigante, Santa Cruz Kada Paulista e Santa Clara 5800) e cinco repetições de cinco plantas cada. As médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

## Resultados e Discussão

**Experimento de encostia.** A análise estatística detectou diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 1). Os enxertos ‘Santa Cruz Kada Paulista’ e ‘Santa Clara 5800’ mostraram desempenho superior, com porcentagem de pegamento acima de 65%, embora não tenham diferido estatisticamente das cultivares Gaúcho Melhorado e Santa Cruz Kada Gigante. O enxerto ‘Santa Cruz’ apresentou desempenho inferior, com porcentagem de pegamento abaixo de 35%.

**Tabela 1.** Valores médios do pegamento dos enxertos de cultivares comerciais, pelo método de encostia, utilizando a cultivar Yoshimatsu como porta-enxerto.

Tratamentos	Pegamento dos enxertos (%) <sup>1</sup>
Yoshimatsu - Santa Cruz Kada Paulista	69,3 a
Yoshimatsu - Santa Clara 5800	67,8 a
Yoshimatsu - Gaúcho Melhorado	53,2 ab
Yoshimatsu - Santa Cruz Kada Gigante	47,6 ab
Yoshimatsu - Santa Cruz	34,9 b
Média	54,6

<sup>1</sup> Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

De acordo com Goto et al. (2003a), a capacidade de uma planta enxertada em outra conseguir êxito na união e de desenvolver-se como planta única pode ser considerada como compatibilidade. Por outro lado, a falta total ou parcial de sobrevivência de mudas enxertadas pode ser atribuída à incompatibilidade. Em solanáceas, a escolha errada da combinação enxerto - porta-enxerto pode resultar em grandes prejuízos (GOTO et al., 2003a).

Diz-se que duas plantas são incompatíveis quando, por motivos intrínsecos a elas, não são capazes de formar uma união perfeita, impossibilitando o desenvolvimento normal da nova planta (FACHINELLO et al., 1994). No presente estudo, as porcentagens de mortalidade dos enxertos variaram em torno de 30 e 65%, resultante da não ocorrência de união entre estes e o porta-enxerto ‘Yoshimatsu’. Portanto, a mortalidade foi menor nos enxertos ‘Santa Cruz Kada Paulista’ e ‘Santa Clara 5800’ e maior no ‘Santa Cruz’. Segundo Fachinello et al. (1994), o principal sintoma da incompatibilidade é, sem dúvida, a falta de união entre enxerto e porta-enxerto.

**Experimento de garfagem em fenda cheia.** A análise estatística não constatou diferença significativa entre as cultivares estudadas (Tabela 2). Entretanto, em valores absolutos, os enxertos ‘Santa Clara 5800’ e ‘Santa Cruz Kada Paulista’ apresentaram porcentagem de pegamento em torno de 90%, enquanto os enxertos ‘Santa Cruz’ e ‘Santa Cruz Kada Gigante’ mostraram pequeno decréscimo, ficando com cerca de 80% pegamento. Esses valores ficaram próximos aos obtidos por

Cardoso et al. (2006) que, avaliando a viabilidade do uso do híbrido Hawaii 7996 como porta-enxerto de cultivares comerciais de tomateiro (Santa Clara, Santa Cruz Kada e híbrido Débora Plus), obtiveram 93,4% de pegamento para todos os enxertos, usando o método de garfagem em fenda cheia.

**Tabela 2.** Valores médios do pegamento dos enxertos de cultivares comerciais, pelo método de garfagem em fenda cheia, utilizando a cultivar Yoshimatsu como porta-enxerto.

Tratamentos	Pegamento dos enxertos (%) <sup>ns</sup>
Yoshimatsu - Santa Clara 5800	91,4
Yoshimatsu - Santa Cruz Kada Paulista	89,8
Yoshimatsu - Santa Cruz	80,4
Yoshimatsu - Santa Cruz Kada Gigante	80,4
Média	85,5

<sup>ns</sup> Não significativo pelo teste F.

Os resultados do presente trabalho também corroboram com os obtidos em outros estudos de enxertia por garfagem em tomateiro. Lopes; Goto (2003), adotando o método de fenda simples e o híbrido Momotaro T-93 como enxerto, obtiveram 91,33% de pegamento para o porta-enxerto híbrido Anchor-T e 99,33% para o porta-enxerto híbrido Kaguemusha. Branco et al. (2007), utilizando o híbrido Anchor-T como porta-enxerto e híbrido Débora Max como enxerto, obtiveram aproximadamente 95% de pegamento da enxertia pelo método de fenda simples.

No ponto do enxerto, tanto no método de encostia quanto no de garfagem em fenda cheia, foi verificado o surgimento de raízes adventícias. Conforme Cardoso et al. (2006), isso ocorre devido à capacidade do caule do tomateiro de emitir raízes adventícias em condições de umidade elevada, sendo que as mesmas morrem logo após a retirada das plantas da condição de câmara úmida e, aparentemente, não causam nenhum prejuízo ao desenvolvimento das mesmas.

As porcentagens de mortalidade dos enxertos, pelo método de garfagem em fenda cheia, foram menores nos enxertos ‘Santa Clara 5800’ e ‘Santa Cruz Kada Paulista’ (cerca de 10 %) e maiores nos enxertos ‘Santa Cruz’ e ‘Santa Cruz Kada Gigante’ (em torno de 20 %). No entanto, foram inferiores às observadas no experimento de encostia, demonstrando ser o método adequado para enxertas tendo a cultivar Yoshimatsu como porta-enxerto.

Segundo Goto et al. (2010), o método de encostia apresenta sucesso quando as plantas enxertadas são submetidas a condições de temperatura amena e umidade elevada. Desse modo, considerando as temperaturas elevadas comuns no Estado do Amazonas, é provável que este

método não seja satisfatório nas condições locais. Ademais, a principal desvantagem da encostia em relação ao método de garfagem é que o ponto de enxertia, após o pegamento e o desmame, tende a ser frágil (GOTO et al., 2003b).

Em ambos os métodos de enxertia, as cultivares comerciais avaliadas mostraram compatibilidade com a cultivar Yoshimatsu, com maior afinidade observada entre o porta-enxerto e as cultivares Santa Clara 5800 e Santa Cruz Kada Paulista, especialmente na garfagem em fenda cheia. De acordo com Lopes; Mendonça (2014), o uso de tomateiro resistente como porta-enxerto tem a vantagem de reduzir o problema de incompatibilidade em relação ao uso de espécies diferentes, embora não ofereça proteção completa, pois uma determinada combinação pode não ser totalmente efetiva para locais de alta pressão do inóculo. Neste aspecto, Fernandes; Bentes (2018) verificaram que plantas enxertadas de ‘Santa Cruz Kada Gigante’ em ‘Yoshimatsu’ apresentaram resistência parcial, maior crescimento e produtividade, podendo usar a cultivar Yoshimatsu em programas de manejo da doença em cultivo de tomateiro. Conforme Lopes et al. (2015), sob condições ambientais muito favoráveis à doença e/ou sob alta pressão do inóculo (alta virulência e/ou alta população do patógeno), são necessárias medidas complementares e antecipadas de controle para reduzir a população de *Ralstonia solanacearum* no solo ou escolha de ambiente menos propício à sua multiplicação, visando potencializar os benefícios da enxertia em tomateiro.

## Conclusão

As cultivares comerciais apresentaram compatibilidade com a ‘Yoshimatsu’, notadamente quando foi utilizado o método de enxertia de garfagem em fenda cheia.

## Referências Bibliográficas

- ALVARES, C.A.; STAPE, J.L.; SENTELHAS, P.C.; GONÇALVES, J.L.M.; SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift*, v.22, n.6, p.711-728, 2013.
- BRANCO, R.B.F.; GOTO, R.; CARNEIRO JÚNIOR, A.G.; GUIMARÃES, V.F.; RODRIGUES, J.D.; TRIVELIN, P.C.O.; SILVEIRA, L.V.A. Enxertia e água de irrigação carbonatada no transporte de <sup>15</sup>N e na produção do tomateiro. *Revista Brasileira Engenharia Agrícola e Ambiental*, v.11, n.4, p.374-379, 2007.
- BUDDENHAGEN, I.W., SEQUEIRA, L.; KELMAN, A. Designation of races of *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology*, v.52, p.726, 1962.

CARDOSO, S.C.; SOARES, A.C.F.; BRITO, A.S.; CARVALHO, L.A.; LEDO, C.A.S. Viabilidade de uso do híbrido Hawaii 7996 como porta-enxerto de cultivares comerciais de tomate. **Bragantia**, v.65, n.1, p.89-96, 2006.

FACHINELLO, J.C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J.C.; KERSTEN, E.; FORTES, G.R.L. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. Pelotas: UFPEL, 1994. 179p.

FERNANDES, B.S.; BENTES, J.L.S. Enxertia de tomateiro em solanáceas silvestres no controle da murcha bacteriana. **Revista Agrária Acadêmica**, v.1, n.3, p.26-32, 2018.

FILGUEIRA, F.A.R. **Manual de olericultura:** cultura e comercialização de hortaliças. São Paulo: Agronômica Ceres, 1982. 357p.

GALLI, F.; TOKESHI, H.; CARVALHO, P.C.T.; BALMER, E.; KIMATI, H.; CARDOSO, C.O.N.; SALGADO, C.L. **Manual de fitopatologia:** doenças das plantas e seu controle. São Paulo: Biblioteca Agronômica Ceres, 1968. 640p.

GOTO, R.; CAÑIZARES, K.A.L.; STRIPARI, P.C. Fatores que influencia a enxertia. In: GOTO, R.; SANTOS, H.S.; CAÑIZARES, K.A.L. (Org.). **Enxertia em hortaliças**. São Paulo: UNESP, 2003a. p.25-31.

GOTO, R.; KOBORI, R.F.; SANTOS, S.; CAÑIZARES, K.A.L. Metodologia de enxertia. In: GOTO, R.; SANTOS, H.S.; CAÑIZARES, K.A.L. (Org.). **Enxertia em hortaliças**. São Paulo: UNESP, 2003b. p.57-67.

GOTO, R.; SIRTOLI, L.F.; RODRIGUES, J.D.; LOPES, M.C. Produção de tomateiro, híbrido Momotaro, em função do estádio das mudas e da enxertia. **Ciência e Agrotecnologia**, v.34, n.4, p.961-966, 2010.

HAYWARD, A.C. Biology and epidemiology of bacterial wilt caudis by *Pseudomonas solanacearum*. **Annual Review of Phitopathology**, v.29, p.65-87, 1991.

LOOS, R.A.; CALIMAM, F.R.B.; SILVA, D.J.H. Enxertia, produção e qualidade de tomateiros cultivados em ambiente protegido. **Ciência Rural**, v.39, n.1, p.232-235, 2009.

LOPES, C.A.; BOITEUX, L.S.; ESCHEMBACK, V. Eficácia relativa de porta-enxertos comerciais de tomateiro no controle da murcha-bacteriana. **Horticultura Brasileira**, v.33, n.1, p.125-130, 2015.

LOPES, C.A.; MENDONÇA, J.L. **Enxertia em tomateiro para o controle da murcha-bacteriana**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2014. 8p. (Circular Técnica, 131).

LOPES, M.C.; GOTO, R. Produção do híbrido Momotaro de tomateiro, em função da enxertia e do estádio das mudas no plantio. **Horticultura Brasileira**, v.21, n.3, p.553-557, 2003.

MOBOT. Missouri Botanical Garden. **Tropicos**. Saint Louis: 2018. Disponível em: <http://www.tropicos.org/Name/29603063>. Acesso em 21 de dezembro de 2018.

NODA, H.; MACHADO, F.M.; SILVA FILHO, D.F. Yoshimatsu, cultivar de tomate para cultivo no Trópico Úmido. **Horticultura Brasileira**, v.6, n.1 p.70, 1988. (resumo).

PENA, M.A.A.; NODA, H.; MACHADO, F.M.; PAIVA, M.S.S. Adaptabilidade e estabilidade de genótipos de tomateiro sob cultivo em solos de terra firme e várzea da Amazônia infestados por *Ralstonia solanacearum*. **Bragantia**, v.69, n.1, p.27-37, 2010.

PIMENTEL, A.A.M. **Olericultura no trópico úmido:** hortaliças na Amazônia. Agronômica Ceres: São Paulo, 1985. 322p.

SANTOS, H.S.; GOTO, R. Enxertia em hortaliças. In: GOTO, R.; SANTOS, H.S.; CAÑIZARES, K.A.L. (Org.). **Enxertia em hortaliças.** São Paulo: UNESP, 2003. p.9-10.

SANTOS, H.S.; GOTO, R.; KOBORI, R.F. Enxertia em solanáceas. In: GOTO, R.; SANTOS, H.S.; CAÑIZARES, K.A.L. (Org.). **Enxertia em hortaliças.** São Paulo: UNESP, 2003. p.47-54.

SOUZA, N.M.; BLIND, A.D.; SILVA FILHO, D.F.; RODRIGUES, H.S.; NODA, H. Avaliação de linhagens e cultivares de tomate resistentes à murcha bacteriana (*Ralstonia solanacearum*) desenvolvidas na Amazônia. **Enciclopédia Biosfera**, v.9, n.16, p.400-410, 2013.

ZAMBOLIM, L.; COSTA, H.; LOPES, C.A.; VALE, F.X.R. Doença de hortaliças em cultivo protegido. In: ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.; COSTA, H. (Ed.) **Controle de doenças de plantas: hortaliças.** v.1. Viçosa: 2000. p.373-407.

Recebido em 02/01/2019

Aceito em 15/01/2019

# Revista Agrária Acadêmica

*Agrarian Academic Journal*

Volume 2 – Número 1 – Jan/Fev (2019)

---

doi: 10.32406/v2n12019/56-68/agrariacad

## **Extratos de plantas no controle biológico do fungo *Botrytis cinerea* na cultura do morangueiro**

Plant extracts in the biological control of *Botrytis cinerea* organic strawberry

Cristiano Pereira da Silva<sup>1\*</sup>, Rafaella Caroline Bernardi Marchiotti<sup>2</sup>

<sup>1\*</sup> Professor Doutor da Faculdade Unigran Capital, Rua: Abrão Júlio Rahe, 325 – Centro, Campo Grande – MS, Cep. 79010-010 Campo Grande/MS. E-mail: [cpsilva.cetec@gmail.com](mailto:cpsilva.cetec@gmail.com)

<sup>2</sup> Professora Doutora Adjunta da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul – UEMS. BR 163 km 20,2, BR-163, Km 20,2, Cep. 79980-000. Campus de Mundo Novo/MS. E-mail: [bernardi.rafaella@gmail.com](mailto:bernardi.rafaella@gmail.com)

---

### **Resumo**

A cultura do morangueiro é uma das mais difíceis quando se trata do controle biológico de fungos. A utilização de extratos de plantas como um controle alternativo para minimizarmos a incidência de fungos persistentes nas lavouras ou áreas de plantio têm sido pesquisado nos últimos anos, na busca de controle mais naturais e menos danoso ao meio ambiente e a saúde humana. Diante do exposto o objetivo deste trabalho foi verificar o efeito dos extratos das plantas, losna (*Artemisia absinthium* L.), arruda (*Ruta graveolens* L.), pimenta-longa (*Piper aduncum* L.) no controle biológico do fungo *Botrytis cinerea*. Os extratos foram preparados através de métodos de extração do extrato bruto das plantas, diluídos em solventes a base do álcool etanoico, dosados em 0 (controle ou testemunha), 25g.L<sup>-1</sup>, 50g.L<sup>-1</sup>, 100g.L<sup>-1</sup> perfazendo 12 tratamentos, 5 repetições e 10 plantas por parcela. Dentre os resultados obtidos, destacamos as concentrações de 100g.L<sup>-1</sup> para os extratos de *Piper aduncum* L. com efeito significativo no controle dos fungos de *Botrytis cinerea* com diminuição significativa da presença e infestação nas plantas como nos frutos.

**Palavras-chave:** extratos, controle, fungo, morangueiro.

### **Abstract**

Strawberry culture is one of the most difficult when it comes to the biological control of fungi. The use of plant extracts as an alternative control to minimize the incidence of persistent fungi in crops or planting areas has been researched in recent years, in the search for more natural control and less harmful to the environment and human health. The objective of this work was to verify the effect of the extracts of the plants, losna (*Artemisia absinthium* L.), arruda (*Ruta graveolens* L.), pimento-longa (*Piper aduncum* L.) on the biological control of the fungus *Botrytis cinerea*. The extracts were prepared by extracting the crude extract of the plants, diluted in ethanol-based solvents, dosed at 0 (control or control), 25g.L<sup>-1</sup>, 50g.L<sup>-1</sup>, 100g.L<sup>-1</sup>, 12 treatments, 5 replicates and 10 plants. Among the results obtained, we highlight the concentrations of 100g.L<sup>-1</sup> for the extracts of *Piper aduncum* L. with significant effect on the control of *Botrytis cinerea* fungi with significant decrease of the presence and infestation in plants as in fruits.

**Keywords:** extracts, control, fungus, strawberry.

## Introdução

A cultura do morangueiro pode ser cultivada em diferentes condições edafoclimáticas, praticada por pequenos e médios produtores rurais, denominado de cultivo familiar, que utiliza mão de obra familiar durante todo o ciclo (DIAS et al., 2007). O cultivo de morangos tem se expandido pelo país ao longo dos anos, principalmente nos estados do sul e sudeste, como também, em algumas regiões do norte e nordeste brasileiro. Algumas variedades mais resistentes ao clima e algumas patologias, associadas com tecnologias como irrigação ou fertirrigação, cobertura plástica (microtúneis) e manejos biológicos, permitem maior qualidade na produção e oferta do produto no mercado durante o ano inteiro (PAGNAN & MONEGAT, 2015).

A produtividade do morangueiro no ambiente protegido e em sistemas hidropônicos é uma realidade, tendo ótimos resultados na produção, quando comparado ao cultivo direto no solo, visto que o cultivo em solo, com ambiente desprotegido, têm sido considerados desfavoráveis para a produção em algumas épocas do ano, com incidência de patologias associadas aos fungos, vírus e bactérias que acometem as plantas diminuindo a produção e aumentando os gastos no manejo da cultura. O cultivo fora de solo garante a produção durante os doze meses do ano, pois com o ambiente protegido a planta não entra em contato com as intempéries climáticas, e o ambiente se torna favorável para a produção (ANTUNES et al., 2017).

No Brasil, a produção de morango é mais expressiva nos Estados de São Paulo, Minas Gerais, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, Espírito Santo, Rio de Janeiro e Distrito Federal (CAMARGO FILHO & CAMARGO, 2009). O controle das doenças da cultura do morangueiro é uma das principais dificuldades durante o manejo da cultura e tratos culturais, se estendendo até a fase de produção. Geralmente as plantas e mudas com fungos e bactérias, por exemplo, são eliminadas e evitando a infestação nas demais. Um dos principais problemas enfrentados pelos produtores de morango são as doenças no pré e pós-colheita, em especial as podridões.

Aliada ao controle das doenças fúngicas, viróticas e bacterianas na cultura do morangueiro, também existe a preocupação entre os consumidores quanto a segurança alimentar, já que o que vem despertando atenção especial nesta cultura são os elevados índices de resíduos de agrotóxicos, identificados em análises pós-colheita (JARDIM & CALDAS, 2012).

No controle convencional recomendasse utilizar as práticas gerais de controle como o controle químico deve ser feito com aplicação de fungicidas registrados para a cultura do morangueiro, como os fungicidas cúpricos, organos-sintéticos devem ser receitados com os devidos alertas quanto aos cuidados de uso (dosagens, período de carência, técnicas de aplicação, riscos de

intoxicação), além de evitar a presença de resíduos de fungicidas nos morangos colhidos. Os fungicidas registrados atualmente (2017) para o controle desta doença, são dodine, oxicloreto de cobre e tiofanato metílico.

Algumas espécies de plantas utilizadas no controle biológico de fungos estão associadas na ativação das rotas de defesa, como também com a produção de metabólitos secundários como as fitoalexinas. Outras plantas apresentam odor fortemente aromático, sabor ardente e característico, que possui em seu óleo essencial o constituinte eugenol, acetato de eugenol e humuleno, além do ácido oleanólico, vanilina e ácido galotânico, induzindo a produção de fitoalexinas gliceolinas.

As doenças fúngicas iniciam com a presença de "pinta", "mancha-das-folhas" e "micosferela", "necroses dos tecidos", com indicações nas folhas, caules e nos frutos quando a planta inicia ou está na fase de produção. Fungos como os das espécies *Mycosphaerella fragariae* (Tul.). Lindau, *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Mycosphaerella fragariae* apresentam ocorrência em todo território brasileiro. Inicialmente os sintomas ocasionados pelas espécies de fungos, são praticamente os mesmos formam pequenas manchas, arredondadas, de coloração púrpura, marrom acinzentada. Posteriormente, as manchas se desenvolvem, ficando com cor marrom clara com o centro acinzentado. Sob condições favoráveis, as manchas podem se juntar evoluindo para toda a folha. Além das folhas, o fungo pode infectar os pecíolos, cálices e frutos, porém nestes, é pouco comum. A redução na área fotossintetizante provocada pelas manchas pode ser responsável por perdas da ordem de 10% a 100%, dependendo da suscetibilidade da variedade e das condições ambientais (FORTES, 2003; TANAKA et al., 2005; COSTA & VENTURA, 2006;).

A cultura do moranguero com a utilização de extratos de plantas como uma forma de controle alternativo é uma realidade a muitos produtores no mundo. Além da busca de produtos, subprodutos e morangos com menos agrotóxicos, fungicidas e pesticidas, em geral, têm aumentando nos últimos anos a busca de extratos naturais de plantas que apresentam princípios ativos que atuam na diminuição da incidência, infestação e no controle biológico dos fungos. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi verificar os efeitos dos metabólicos secundários presentes nos extratos de losna (*Artemisia absinthium* L.), arruda (*Ruta graveolens* L.), pimenta-longa (*Piper aduncum* L.) no controle do fungo *Botrytis cinerea*.

## Material e Métodos

O experimento foi conduzido entre os anos de 2017 e 2018 em condições de estufa e em vasos (figura 01) localizado na zona rural de Campo Grande/MS, em parceria com um produtor Sr.

Fabrício de Souza, que iniciou sua produção no mesmo ano, local conhecido como “Cinturão Verde” localizada na estrada vicinal, saída para a cidade de Rochedo/MS. Em visita técnica ao local com os alunos do curso de agronomia, identificamos a dificuldade do produtor no controle biológico de fungos e propomos auxiliá-lo através de um convênio com a universidade. Foram separados 10 vasos por tratamento, contendo 1 planta por vaso, distribuídos de forma casualizadas. Prioridade eram manter os vasos com plantas já infestada ou com evidências e sintomas da presença do fungo *Botrytis cinerea*.



**Figura 01:** Área experimental distribuída em Bloco Inteiramente Casualizado.



**Figura 02:** Folha do morangueiro infestada pela mancha causada pelo fungo *Botrytis cinerea* (Lindau). Campo Grande/2018.

Os extratos brutos foram preparados no laboratório da faculdade utilizando como solvente básico, extratos alcoólicos etanólicos, com folhas de losna, arruda e pimenta-longa, na concentração de 10%, no Laboratório da faculdade. Para o preparo dos extratos, o material vegetal foi imerso no álcool 70%, sendo utilizados 100 gramas de material vegetal para cada litro de álcool, que então foram macerados e mantidos em repouso durante três dias, no escuro. Decorrido este tempo, os extratos foram filtrados, obtendo-se assim o preparado para utilização.

Os extratos foram aplicados por pulverização nos morangueiros, buscando atingir cada pseudofruto, um dia antes da colheita. A colheita foi realizada apenas com morangos que apresentavam-se em ponto de colheita comercial, ou seja, com coloração final com mais de 75% de vermelho. Posteriormente, foi realizada seleção dos morangos por tamanho e ausência de lesão mecânica, sendo em seguida, levados ao Laboratório de Fisiologia Vegetal da universidade.

As aplicações dos extratos foram aplicados no período matutino (7h ás 10h) de 15 em 15 dias. A forma de avaliação é a medição direta dos sintomas da doença, através da contagem do número de lesões e tamanho das lesões. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as comparações de médias foram realizadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

O experimento foi constituído por 12 tratamentos x 5 repartições e 10 plantas por parcelas.

Tratamento 1: (Losna – 0g.L<sup>-1</sup>)

Tratamento 2: (Losna – 25g.L<sup>-1</sup>)

Tratamento 3: (Losna – 50g.L<sup>-1</sup>)

Tratamento 4: (Losna – 100g.L<sup>-1</sup>)

Tratamento 5: (Arruda – 0g.L<sup>-1</sup>)

Tratamento 6: (Arruda – 25g.L<sup>-1</sup>)

Tratamento 7: (Arruda – 50g.L<sup>-1</sup>)

Tratamento 8: (Arruda – 100g.L<sup>-1</sup>)

Tratamento 9: (Pimenta-longa – 0g.L<sup>-1</sup>)

Tratamento 10: (Pimenta-longa – 25g.L<sup>-1</sup>)

Tratamento 11: (Pimenta-longa – 50g.L<sup>-1</sup>)

Tratamento 12: (Pimenta-longa – 100g.L<sup>-1</sup>)



**Figura 03:** Aspecto visual da ação do fungo *Botrytis cinerea* no cultivo do morango. Campo Grande/MS. 2018

O sintoma típico da doença é a formação de lesões circulares sobre as folhas. Nos demais órgãos da planta, o patógeno forma lesões alongadas, deprimidas, de cor avermelhada ou violácea. A doença pode provocar perdas na ordem de 10 a 100%, dependendo da suscetibilidade do cultivar e das condições ambientais. Nas folhas, as lesões iniciam-se como pequenas manchas circulares, de coloração castanha-avermelhada. Posteriormente, estas lesões adquirem bordos vermelho-púrpura, com o centro levemente deprimido, necrosado e de cor acinzentada (TANAKA, 2000).

O tamanho e a coloração da lesão variam em função da cultivar e temperatura. Devido a estes fatores, nota-se que, às vezes, as manchas são circundadas por pequenas pontuações de cor púrpura, não apresentando o centro claro característico. As lesões atingem 3 a 5 mm de diâmetro e podem coalescer, atingindo toda a superfície da folha, ocasionando a sua morte. Nos frutos, em con-

dições de elevada severidade da doença, são observadas lesões de coloração marrom-avermelhada, com formato arredondado.

Para a avaliação dos resultados obtidos foram realizadas análises semanais na área experimental, utilizando régua, cadernos de campo e câmera fotográfica, para as observações e registros. Já a massa da matéria fresca e seca, no final do experimento, após 120 e 160 dias os frutos foram coletados por amostragem e levados ao laboratório para determinar a massa fresca, as medidas e análises mais próximas. Para a determinação da massa seca os frutos foram colocados em condições de estufa por 72 dias na temperatura de 60°C dentro de saquinhos de papel. Após a retirada foram pesados em balança de precisão. Para a análise foliar foram utilizados paquímetros na determinação da área foliar, além de programas estatísticos para análises dos dados obtidos.

Os sintomas da doença são inicialmente, o aparecimento de manchas marrons, que vão se expandindo até tomar todo o fruto, que apresenta uma coloração acinzentada e uma cobertura característica do mofo-cinzento. Sobre os frutos maduros, ocorre primeiramente o surgimento de manchas descoloridas que se expandem por todo o órgão tornando-os impróprios para o consumo, pois altera sabor e odor tornando-os desagradáveis. Como os frutos verdes, os maduros também ficam recobertos pelo mofo cinzento, apodrecendo rapidamente (DIAS et al., 2005).

Este fungo é capaz de sobreviver no solo junto à matéria orgânica ou como uma massa compacta de hifas. Após a produção de conidióforos pelas hifas, em plantas doentes, estes produzem os conídios, que viajam pelo ar infectando vários outros hospedeiros. Sua germinação é favorecida por temperaturas que ficam em torno de 22 a 25°C e umidade relativa de 90 a 100 %. A colonização dos tecidos é muito rápida após sua infiltração, apresentando ampla esporulação e originando outros ciclos da doença como na Figura 3 (TÖFOLI et al., 2011). Apresenta inicialmente a coloração cinza, para depois, se tornar cinza-marrom (BRAGA, 2012).

## Resultados

**Tabela 1.** Resultados obtidos com aplicação de extratos de losna (*Artemisia absinthium L.*), arruda (*Ruta graveolens L.*), pimenta-longa (*Piper aduncum L.*) no controle do fungo *Botrytis cinerea*. (Campo Grande/MS 2018).

Tratamentos	.....Cultura do Morango.....		
	Incidência (%)	Frutos sadios (%)	Esporulação (%)
Tratamento 1	45,15d	14,35c	8,55d
Tratamento 2	38,25cd	16,75bc	5,75c
Tratamento 3	33,50cd	18,55b	2,33ab
Tratamento 4	22,36b	22,15a	1,87a
Tratamento 5	38,25cd	13,87c	9,23d
Tratamento 6	35,32c	15,98bc	5,87c
Tratamento 7	24,17b	18,25b	1,87a
Tratamento 8	20,50a	24,67a	1,52a
Tratamento 9	42,75d	13,25c	7,89d
Tratamento 10	31,25c	17,33bc	4,98c
Tratamento 11	25,50b	25,50a	1,35a
Tratamento 12	16,25a	26,75a	1,22a
CV (%)	3,58	7,85	6,87

\*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

Legenda: Tratamento 1 (Losna – 0g.L<sup>-1</sup>), Tratamento 2 (Losna – 25g.L<sup>-1</sup>), Tratamento 3 (Losna – 50g.L<sup>-1</sup>), Tratamento 4 (Losna – 100g.L<sup>-1</sup>); Tratamento 5 (Arruda – 0g.L<sup>-1</sup>), Tratamento 6 (Arruda – 25g.L<sup>-1</sup>), Tratamento 7 (Arruda – 50g.L<sup>-1</sup>), Tratamento 8 (Arruda – 100g.L<sup>-1</sup>); Tratamento 9 (Pimenta-longa – 0g.L<sup>-1</sup>), Tratamento 10 (Pimenta-longa – 25g.L<sup>-1</sup>), Tratamento 11 (Pimenta-longa – 50g.L<sup>-1</sup>), Tratamento 12 (Pimenta-longa – 100g.L<sup>-1</sup>)

**Tabela 2.** Avaliação dos frutos de morangueiro tratados com aplicação do extrato de losna (*Artemisia absinthium* L.), arruda (*Ruta graveolens* L.), pimenta-longa (*Piper aduncum* L.) no controle do fungo *Botrytis cinerea* (Campo Grande/MS 2018).

Tratamentos	.....Cultura do Morango.....			
	n. médio de frutos por plantas	n. médio de massa fresca fruto	n. médio de massa seca fruto	Área da mancha nos frutos (cm)
Tratamento 1	10,67 a	8,33 a	6,12 a	1,73 a
Tratamento 2	10,33 a	8,15 a	5,67 ab	0,98 ab
Tratamento 3	10,88 a	7,98 ab	5,25 ab	0,92 ab
Tratamento 4	11,13 a	8,25 a	6,09 a	0,89 b
Tratamento 5	9,55 ab	6,55 b	5,25 ab	0,85 b
Tratamento 6	9,89 ab	7,25 ab	5,85 ab	0,88 b
Tratamento 7	9,25 ab	7,33 ab	5,89 ab	0,85 b
Tratamento 8	9,67 ab	8,47 a	6,10 a	0,78 bc
Tratamento 9	10,13 a	8,66 a	6,09 a	0,67 c
Tratamento 10	10,15 a	8,78 a	6,15 a	0,54 c
Tratamento 11	10,75 a	6,33 b	5,09 b	0,55 c
Tratamento 12	10,25 a	7,15 ab	5,05 b	0,48 c
CV (%)	0,46	0,74	0,72	0,45

\*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

Legenda: Tratamento 1 (Losna – 0g.L<sup>-1</sup>), Tratamento 2 (Losna – 25g.L<sup>-1</sup>), Tratamento 3 (Losna – 50g.L<sup>-1</sup>), Tratamento 4 (Losna – 100g.L<sup>-1</sup>); Tratamento 5 (Arruda – 0g.L<sup>-1</sup>), Tratamento 6 (Arruda – 25g.L<sup>-1</sup>), Tratamento 7 (Arruda – 50g.L<sup>-1</sup>), Tratamento 8 (Arruda – 100g.L<sup>-1</sup>); Tratamento 9 (Pimenta-longa – 0g.L<sup>-1</sup>), Tratamento 10 (Pimenta-longa – 25g.L<sup>-1</sup>), Tratamento 11 (Pimenta-longa – 50g.L<sup>-1</sup>), Tratamento 12 (Pimenta-longa – 100g.L<sup>-1</sup>)

**Tabela 3.** Resultados obtidos com aplicação do extrato de losna (*Artemisia absinthium* L.), arruda (*Ruta graveolens* L.), pimenta-longa (*Piper aduncum* L.) no controle do fungo *Botrytis cinerea*. (Campo Grande/MS 2018).

Tratamentos	.....Cultura do Morango.....			
	n. de plantas infestadas	n. de folhas com manchas	n. de manchas por folhas	Área da mancha nas folhas (cm)
Tratamento 1	8,25 c	15,25 c	8,67c	0,75c
Tratamento 2	5,67 b	12,56 c	6,25b	0,55c
Tratamento 3	5,75 b	8,33 b	6,75b	0,55c
Tratamento 4	5,65 b	7,76 b	6,75b	0,45bc
Tratamento 5	4,25 ab	7,25 b	5,25ab	0,43bc
Tratamento 6	4,13 ab	6,88 b	5,05 ab	0,38 b
Tratamento 7	5,35 b	6,25 b	6,25 b	0,33 b
Tratamento 8	5,75 b	5,75 ab	6,75 b	0,43 bc
Tratamento 9	4,09 c	4,75 a	5,14 ab	0,48 bc
Tratamento 10	4,17 c	4,25 a	5,25 ab	0,37 a
Tratamento 11	3,08 d	3,55 a	3,75 a	0,33 a
Tratamento 12	3,12 d	3,25 a	3,25 a	0,33 a
CV (%)	0,56	0,83	0,87	0,75

\*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

Legenda: Tratamento 1 (Losna – 0g.L<sup>-1</sup>), Tratamento 2 (Losna – 25g.L<sup>-1</sup>), Tratamento 3 (Losna – 50g.L<sup>-1</sup>), Tratamento 4 (Losna – 100g.L<sup>-1</sup>); Tratamento 5 (Arruda – 0g.L<sup>-1</sup>), Tratamento 6 (Arruda – 25g.L<sup>-1</sup>), Tratamento 7 (Arruda – 50g.L<sup>-1</sup>), Tratamento 8 (Arruda – 100g.L<sup>-1</sup>); Tratamento 9 (Pimenta-longa – 0g.L<sup>-1</sup>), Tratamento 10 (Pimenta-longa – 25g.L<sup>-1</sup>), Tratamento 11 (Pimenta-longa – 50g.L<sup>-1</sup>), Tratamento 12 (Pimenta-longa – 100g.L<sup>-1</sup>)

## Discussão

De acordo com a Tabela 1, observa-se que não foi verificado efeito dos tratamentos aplicados no moranguero sobre a incidência de podridões do mofocinzento e esporulação de fungos (*Botrytis cinerea*) e percentagem de morangos sadios. Os resultados mostraram o efeito na redução do

número de plantas infestada, número de incidência do ataque do fungo e número de frutos sadios. Percebe-se que na medida em que aumenta a concentração dos extratos a área das lesões e ataque dos fungos diminuíram.

Nota-se que realmente o extrato da planta apresenta efeito na diminuição da ação de necrose nas folhas do morangueiro provocado pelo fungo, pois dois experimentos em épocas e locais diferentes revelaram tal ação fisiológica. Grissa (2003) trabalhando com tratamentos alternativos para o controle de doenças nas plantas, utilizou extrato de cavalinha na concentração de 20 gL<sup>-1</sup> e verificou que o progresso da severidade da requeima em tomateiro foi reduzida em até dez vezes. Trabalhando-se com diferentes concentrações, seja 10 ou 20 gramas por litro, o preparado de *Equisetum* se mostrou efetivo para o controle de doenças em espécies diferentes de plantas. Seu alto teor de silício (Si) atribui ação fitoprotetora ao *Equisetum* spp. Francisco & May de Mio (1998) obtiveram controle alternativo eficiente para oídio (*Sphaerotheca fuliginia*) em pepino com *Equisetum* sp (cavalinha) com espalhante adesivo a 20g/L<sup>-1</sup> infuso em água fervendo.

Conforme já relatado por Bertalot et al. (2012), citado por Malavolta et al., (2000) e Severino (2001), a espessura da cutícula bem como o número e distribuição dos estômatos também podem influir na penetração dos extratos no controle biológico. Assim, extratos de plantas que apresentam silício e cobre em sua concentração, colabora com enzimas respiratórias e fotossintéticas, aumentando a resistência a doenças e fornece maior vigor às plantas.

Heling et al., (2015) utilizaram em seus experimentos alguns fungicidas no controle fungo *Mycosphaerella fragariae* (Tul.). Lindau. como o Azoxistrobina e Ciproconazole, além do tratamento alternativo com suspensão de células bacterianas de *Saccharomyces cerevisiae*; tratamento com suspensão de células de *Saccharomyces boulardii*; e tratamento com suspensão de células de *Bacillus cereus*. Dentre os resultados obtidos, destacaram que os morangueiros que receberam aplicações de *Saccharomyces cerevisiae* e *Bacillus cereus* obtiveram controle no desenvolvimento de *Mycosphaerella fragariae* semelhante estatisticamente aos morangueiros que receberam o Tratamento com fungicida. Os diferentes tratamentos aplicados sobre as plantas de morangueiro não causaram alterações nos mecanismos de defesa analisados. Os tratamentos *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus cereus* e Controle, apesar de reduzirem a severidade de *M. fragariae*, não elevaram a produtividade das plantas.

Na tabela 02 os resultados demonstram que os extratos das plantas utilizadas no experimento, não interferiram na produção e massa dos frutos (peso). No entanto, percebemos que a variável número de manchas nos frutos percebe-se que na medida em que foram aumentando a

concentração dos extratos foram diminuindo a área da manha nas folhas das plantas, destacando ainda os melhores resultados nos tratamentos com extratos de *Piper aduncum* L.

Podemos perceber certa similaridade na tabela 03 onde os resultados mostram efeito significativo para os tratamentos em que se utilizou extratos de *Piper aduncum* L. Neste sentido, podemos perceber que o número de plantas infestadas, número de folhas com manchas e área da manchas nas foram diminuindo na medida em que se aumentou as concentrações dos extratos das três espécies de plantas utilizadas nos experimentos, No entanto, percebemos que os melhores resultados foram obtidos nos tratamentos em que se utilizou extratos da espécie de *Piper aduncum* L.

## Conclusões

De acordo com os resultados conclui-se que:

- O extrato de losna (*Artemisia absinthium* L.), arruda (*Ruta graveolens* L.), pimenta-longa (*Piper aduncum* L.) apresentaram efeito significativo na incidência do ataque do fungo (*Botrytis cinerea*).
- Dentre os extratos destacamos os tratamentos utilizando a espécie pimenta-longa (*Piper aduncum* L.) e os melhores tratamentos x concentração ocorreu na proporção de 100g.L<sup>-1</sup>.

## Agradecimentos

Agradecemos as universidades e faculdades envolvidas neste projeto de pesquisa.

## Referências bibliográficas

- ANTUNES, L. E. C.; FAGHERAZZI, A.F.; VIGNOLO, G.K. **Morango tem produção crescente.** Campo & Negócio. Anuário HF. Nº 1, p. 96-102, 2017.
- BERTALOT, M. J. A; CARVALHO-PUPATTO, J. G; FURTADO, E. L; MENDOZA, E; MENDES, R. D; BUSO, D. R; Controle alternativo de *Mycosphaerella fragariae* na cultura de morango orgânico (*Fragaria vesca*). **Revista Brasileira de Agroecologia.** V.7, n.2, 170-177, 2012.

- BRAGA, D. O. **Qualidade pós-colheita de morangos orgânicos tratados com óleos essenciais na pré-colheita.** 2012. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.
- COSTA, H.; VENTURA, J.A.; Manejo integrado de doenças do morangueiro. In: SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO, **Anais...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, p. 17-28, 2006.
- DAROLT, M. R. **Morango: sistema orgânico apresenta viabilidade técnica, econômica e ecológica.** 2005. Disponível em: <http://www.portaldoagronegocio.com.br> - Acesso em: 02/09/2016
- DIAS, M. S. C. et al. Doenças do morango. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 26, n. 228, p. 40-43, 2005.
- FRANCISCO, D.P, MAY de MIO, L.L. Eficiência de óleos e extratos de plantas no controle do oídio (*Sphaerotheca fuliginea*) em pepino. **Summa Phytopathologica**, v.24, p59, 1998.
- FORTES, J.F.; OSÓRIO, V.A. **Morango Fitossanidade.** Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, DF. 35p. 2003.
- GODOI, R.S.; ANDRIOLI, J.L.; FRANQUÉZ, G.G.; JÄNISCH, D.I.; CARDOSO, F.L.; VAZ, A.A.B. Produção e qualidade do morangueiro em sistemas fechados de cultivo sem solo com emprego de substratos. **Ciência Rural**. Santa Maria. V. 39, n. 4, p. 1039-1044. Julho 2009.
- GRISA, I. M. Controle alternativo da requeima (*Phytophthora infestans*) e do oídio (*Oidium lycopersici*) na cultura do tomate em cultivo protegido: avaliação do efeito fitoprotetor de extratos aquosos de cavalinha (*Equisetum hyemale*) e de cinzas de casca de arroz. 2003. 58 p. (Dissertação de Mestrado em Agroecossistemas) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.
- HELING, A.L; KUHN, O.J; STANGARLIN, J.R; Controle biológico de *Mycosphaerella fragariae* na cultura do morangueiro. **Revista Scientia Agrarias Paranaensis**. V.14, n.4, pg 221-228, 2015.
- LORENZETTI, E.R. **Controle de Doenças do morangueiro com óleos essenciais e *Trichoderma sp.*** Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal de Lavras. 107p. 2012.
- MORAES, S.A. de. **Quantificação de doenças de plantas.** 2007. Disponível em: [www.agronline.com.br](http://www.agronline.com.br). Acesso em: 15 agosto 2018
- PAGNAN, H. A.; MONEGAT, V. Morango cultivado em substrato ou em semi-hidroponia. **Revista Campo e Negócios**. 2015.
- TANAKA, M.A.S.; BETTI, J.A.; KIMATI, H. Doenças do Morangueiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Eds.). **Manual de Fitopatologia: Doenças de Plantas Cultivadas.** Quarta Edição. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 2, p. 489-500, 2005.
- TÖFOLI, J.G. et al. **Mofo cinzento em plantas oleráceas, frutíferas e ornamentais.** 2011. Disponível em: [www.infobibos.com/artigos](http://www.infobibos.com/artigos). Acesso em: 08 jul. 2013.

Recebido em 10/12/2018  
Aceito em 09/01/2019

# Revista Agrária Acadêmica

*Agrarian Academic Journal*

Volume 2 – Número 1 – Jan/Fev (2019)

---

doi: 10.32406/v2n12019/69-80/agrariacad

## Produção e composição do leite de cabras alimentadas com dietas contendo farelo de mamona extrusado

Production and composition of goats milk fed with diets containing extruded castor meal

Sueli Freitas dos Santos<sup>1\*</sup>, Marco Aurélio Delmondes Bomfim<sup>2</sup> Magno José Duarte Cândido<sup>3</sup>, Diego Barcelos Galvani<sup>4</sup>, Rita de Cássia Ramos do Egito Queiroga<sup>5</sup>

<sup>1</sup>\* Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral – CE, Brasil; [sfsantoszootecnia@gmail.com](mailto:sfsantoszootecnia@gmail.com)

<sup>2</sup>Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral – CE, Brasil;

<sup>3</sup>Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Zootecnia, UFC, Fortaleza – CE, Brasil;

<sup>4</sup> Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral – CE, Brasil;

<sup>5</sup>Centro de Ciência da Saúde Departamento de Nutrição, UFPB, João Pessoa, PB, Brasil;

---

### Resumo

Objetivou-se avaliar a produção e composição do leite de cabras leiteiras alimentadas com dietas contendo alimento extrusado à base de farelo de mamona (AEFM). Os valores médios de nitrogênio uréico do leite (NUL), e dos teores na concentração dos ácidos graxos butírico ( $C_{4:0}$ ) e caprílico ( $C_{8:0}$ ), foram influenciados ( $P<0,05$ ) quando comparada ao tratamento controle. Para o índice de aterogenicidade (IA), observou-se influência ( $P<0,05$ ), demonstrando melhor resultado no nível 33% de substituição. As variáveis odor característico, odor estranho, sabor característico, sabor estranho, sabor rançoso, sabor adocicado e aceitação global, foram influenciados ( $P<0,05$ ), com médias de 3,24, 2,88, 5,20, 3,86, 3,49, 4,10 e 4,36% respectivamente. O (AEFM) pode substituir o farelo de soja em até 33% na dieta de cabras lactantes sem causar prejuízos para a produção, composição físico-química, perfil dos ácidos graxos do leite e nas suas características sensoriais, sendo então, uma fonte de alimentação alternativa para cabras lactantes.

**Palavras-chave:** subprodutos, lactação, pequenos ruminantes, qualidade do leite, *Ricinus communis*

### Abstract

The objective of this study was to evaluate the production, composition and sensory characteristics of dairy goat milk fed diets containing extruded food-based castor meal (EFCM). The average values of milk urea nitrogen (MUN) were affected ( $P < 0.05$ ), and the concentration of the butyric acid content in fatty acids ( $C4:0$ ) and caprylic ( $C8:0$ ) were affected ( $P < 0.05$ ) when compared to the control treatment. For the atherogenicity index (IA) showed a significant effect ( $P < 0.05$ ), demonstrating best results in 33% replacement level. The variables characteristic odor, strange odor, characteristic taste, strange taste, rancid flavor, sweet taste and overall acceptability were affected ( $P < 0.05$ ), with averages of 3.24, 2.88, 5.20, 3, 86, 3.49, 4.10 and 4.36% respectively. The (EFCM) can replace soybean meal up to 33% in the diet of lactating goats without causing damage to production, physical and chemical composition, fatty acid profile of milk and their sensory qualities, then being an alternative power source for lactating goats.

**Keywords:** by-products, lactation, small ruminants, milk quality, *Ricinus communis*

---

## Introdução

No Brasil, a produção de leite de cabra tem sido importante ferramenta de inclusão de pequenos produtores no mercado, (SANTOS et al., 2011). Em busca de melhor produtividade, estão sendo utilizados animais com maior potencial genético para produção. Entretanto, estes animais exigem um maior aporte de nutrientes pela maior exigência nutricional o que pode em alguns casos inviabilizar economicamente a produção. Uma alternativa para barateamento de custo das dietas para esses animais é o uso de alimentos alternativos oriundos da atividade agrícola e da agroindústria. Algumas destas fontes alternativas de alimentos com potencial para a alimentação animal tem sido geradas a partir de oleaginosas destinadas para a produção de biodiesel, dentre as quais se destacam a torta e o farelo de mamona (BOMFIM; FERNANDES; OLIVEIRA, 2008; BOMFIM.; SILVA; SANTOS, 2009; SANTOS et al., 2011).

No entanto, para que esses subprodutos possam ser utilizados em rações para animais, precisa passar por um processo de destoxificação, em função de sua toxidez (BOMFIM; SILVA; SANTOS, 2009). Em um trabalho, desenvolvido por Ascheri et al., (2007), foi testado o processo de extrusão como um método para destoxicificar a torta ou farelo de mamona. A aplicação deste método de destoxificação vem contribuir diretamente com o aumento da disponibilidade desses subprodutos na alimentação animal, proporcionando assim, rentabilidade associada à produção de alimento de qualidade a população. Diante do exposto, o presente estudo foi realizado objetivando avaliar o efeito da substituição do farelo de soja pelo alimento extrusado à base de farelo de mamona sobre a produção, composição físico-química, perfil dos ácidos graxos e características sensoriais do leite de cabras em lactação.

## Material e métodos

O experimento foi conduzido no Setor de Caprinocultura Leiteira da Embrapa Caprinos e Ovinos, localizada em Sobral-CE, na região norte do estado, a 66 m de altitude,  $3^{\circ} 41'10''$ , latitude sul e  $40^{\circ} 20'59''$ , de longitude oeste, apresentando um clima do tipo BSw'h'semi-árido quente (IPECE, 2005). O período experimental compreendeu os meses de julho a agosto de 2009, totalizando 34 dias, sendo 27 dias de adaptação às dietas e sete dias de coleta de dados.

Foram utilizadas 20 cabras Saanen multíparas com aproximadamente  $60 \pm 5$  dias de lactação e peso vivo médio de  $40,0 \pm 8,0$  kg. Os animais foram alojados em baias individuais, providas de cochilos, bebedouros e saleiros. E distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado com

quatro tratamentos, sendo três diferentes níveis de substituição do farelo de soja pelo alimento extrusado à base de farelo de mamona (AEFM), além de uma dieta controle (sem AEFM).

O alimento extrusado utilizado neste estudo foi doado pela Embrapa Agroindústria de Alimentos, no qual foi destoxicificado pelo método de extrusão segundo Ascheri et al., (2007).

Os tratamentos avaliados foram: **T1** (controle) - 0% de AEFM e 100% de farelo de soja; **T2** - 33% de AEFM e 67% de farelo de soja; **T3** - 67% de AEFM e 33% de farelo de soja e **T4** - 100% AEFM e 0% de farelo de soja na matéria seca (MS) das dietas. O acesso às dietas foi *ad libitum*. As dietas isoprotéicas e isoenergéticas, foram calculadas para atender às exigências de manutenção e produção de leite de cabras em lactação, pesando aproximadamente 40 kg e com produção média de 1,5 kg de leite/dia, conforme o NRC (2007). O fornecimento das dietas foi dividido em duas refeições diárias, permitindo uma sobra de 10 a 15% do total oferecido. As composições químicas dos alimentos e das dietas experimentais encontram-se nas tabelas 1 e 2 respectivamente.

Tabela 1. Composição química e perfil de ácidos graxos dos alimentos utilizados para formulação das dietas experimentais

Nutrientes	Composição química			
	AEFM	Milho em grão	Farelo de soja	Feno de capim-tifton 85
Matéria seca (% MN)	90,73	85,30	87,9	91,70
Matéria orgânica (%MS)	93,83	93,60	94,2	90,70
Proteína bruta (%MS)	31,20	10,0	49,7	9,94
Extrato etéreo (%MS)	1,44	3,20	4,10	2,00
Fibra em detergente neutro (%MS)	49,24	5,10	15,60	86,90
Fibra em detergente ácido (%MS)	29,92	4,90	9,90	43,00
Hemicelulose (%MS)	19,32	0,20	5,70	43,90
Celulose (%MS)	2,33	0,91	8,30	33,60
Lignina (%MS)	5,93	0,16	1,30	4,30
Proteína insolúvel em detergente ácido (% PB)	8,26	3,08	1,54	9,21
Proteína insolúvel em detergente neutro (%PB)	37,01	7,72	2,75	35,94
Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca (%MS)	69,56	82,09	90,60	51,53
Composição em Minerais				
Nitrogênio - N ( mg /kg)	50,50	--	--	--
Fósforo - P ( mg /kg)	5,40	--	--	--
Potássio - K ( mg /kg)	7,00	--	--	--
Cálcio – Ca ( mg /kg)	18,10	--	--	--
Manginésio – Mg ( mg /kg)	12,60	--	--	--
Enxofre – S ( mg /kg)	1,80	--	--	--
Zinco – Zn (mg/kg)	99,50	--	--	--
Ferro – Fe (mg/kg)	2763,00	--	--	--
Mangânes – Mn (mg/kg)	84,70	--	--	--
Cobre – Cu (mg/kg)	20,70	--	--	--
Boro – B (mg/kg)	67,80	--	--	--

Composição em ácidos graxos (%AG)				
Palmítico (C16:0)	6,20	11,70	15,30	58,10
Esteárico (C18:0)	3,20	4,90	4,50	7,10
Oléico (C18:1n 9c)	7,30	32,40	17,70	8,40
Linoléico C18:2n 6c	14,20	51,00	57,30	16,60
$\gamma$ -Linolênico (C18:3n 6)	65,80	--	--	--

Tabela 2. Formulação e composição química das dietas experimentais

Proporção das dietas				
Nível de substituição do farelo de soja pelo AEFM (% MS)				
Componentes	0	33	67	100
Feno de capim - tifton	37,60	34,70	29,60	23,30
Farelo de mamona extrusado	0,00	4,80	11,20	20,40
Milho	48,50	50,10	52,70	56,10
Farelo de soja	13,30	10,10	6,00	0,00
Fosfato bicálcio	0,60	0,00	0,50	0,00
Calcário	0,00	0,30	0,00	0,20
Composição químico-bromatológica (%MS)				
Matéria seca (MS)	88,60	88,50	87,70	87,60
Matéria orgânica (MO)	93,70	93,70	93,60	93,60
Proteína bruta (PB)	15,10	15,00	14,70	14,30
Extrato etéreo (EE)	2,70	2,80	2,70	2,00
Fibra em detergente neutro (FDN)	37,30	36,60	34,80	33,20
Fibra em Detergente Neutro de Forragem (FDNF)	32,70	30,15	25,72	20,25
Cálcio (Ca)	0,30	0,30	0,30	0,30
Fósforo (P)	0,40	0,40	0,40	0,40
Composição em ácidos graxos (%AG)				
Palmítico (C16:0)	10,70	3,90	6,70	5,20
Esteárico (C18:0)	3,60	44,50	2,70	2,40
Oléico (C18:1n 9c)	33,20	13,20	13,20	9,00
Linoelaidíco (C18:2n 6t)	--	7,60	--	--
Linoléico C18:2n 6c	52,50	19,30	16,10	7,00
$\gamma$ -Linolênico (C18:3n 6)	--	7,90	56,20	70,10

Para mensuração da produção de leite, as cabras foram ordenhadas duas vezes ao dia e tiveram a produção mensurada durante os sete dias de coleta de dados. Amostras do leite da manhã e da tarde foram coletadas e compostas respeitando a proporção do leite ordenhado.

Para a análise físico-química do leite, durante dois dias consecutivos, as amostras do leite da manhã e da tarde foram coletadas e destinadas para amostras compostas de 100 ml por animal.

Nas amostras coletadas foram realizadas análises de proteína bruta do leite (PBL), gordura do leite (GL), lactose (LAC), sólidos totais (ST), estrato seco desengordurado (ESD) e nitrogênio uréico do leite (NUL) no Laboratório da Clínica do Leite da USP/ESALQ. Já para análise de rendimento de queijo foi seguido o protocolo proposto por Othmane et al., (2002), no laboratório de Nutrição Animal da Embrapa Caprinos e Ovinos.

As amostras de leite para análise de ácidos graxos foram obtidas no primeiro e no segundo dia das coletas, em tubo *eppendorf* de 1,5 mL e congeladas. Após o congelamento, as amostras do primeiro dia foram homogeneizadas com as amostras do segundo dia, para análise composta.

A determinação do perfil dos ácidos graxos foi realizada no Laboratório de Nutrição Animal da Embrapa Caprinos e Ovinos, onde a extração foi realizada seguindo metodologia descrita por Bligh e Dyer (1959) e a metilação foi realizada segundo Precht e Molkentin (2000).

A análise dos ésteres metílicos dos ácidos graxos foi realizada utilizando um cromatógrafo a gás Shimadzu GC 2010, equipado com um detector de ionização de chama (FID) e coluna capilar de sílica fundida (tm Supelco SP-2560). As amostras foram injetadas em *split* a uma razão de 1:10. A temperatura do injetor e do detector foi de 250° C. A temperatura de programação da coluna utilizada foi de 180° a 190° C a 5° C/minuto, 190° C por 12 minutos, 190 a 215° C a 3° C/minuto, 215° C a 240° C a 5° C/minuto e 240° C por 10 minutos. O gás de arraste utilizado foi o nitrogênio, com fluxo de 1 ml/minuto. O pico de cada ácido graxo foi identificado comparando-se com o tempo de retenção dos picos presentes no padrão de lipídios, composto por mistura de ácidos graxos (FAME-Supelco 37 - Component FAME Mix -10000Og in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / SUPELCO cat. 47885-U, PUFA2 –Supelco cat. 47015-U e Ácido Linoleico Conjugado – Linoleic Acid Conjugated Methyl Ester / SIGMA cat. O5632). Os ácidos graxos foram identificados e quantificados por comparação dos tempos de retenção e as áreas de seus picos observados para seus padrões.

Para a análise sensorial, foram coletados 100 mL de leite por dia de cada animal, durante dois dias consecutivos. Após a coleta, foi realizada uma homogeneização do leite referente a cada tratamento, totalizando quatro amostras. As avaliações sensoriais foram realizadas no Campus I da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), de acordo com metodologia descrita por Moraes (1985),

em cabines individuais, longe de ruídos e odores, em horários previamente estabelecidos e respeitando um jejum de sólidos e líquidos uma hora antes a análise sensorial.

Foi utilizado um painel de dez provadores selecionados e treinados, composto por funcionários, professores e alunos do Campus I da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), sendo aplicados testes de análise descritiva quantitativa (ADQ) para os atributos de odor característico, sabor característico, sabor rançoso e sabor adocicado, conforme metodologia descrita por Faria e Yotsuyanagi (2002), utilizando uma escala de intensidade de nove pontos, variando de extremamente fraco a extremamente forte. Para a análise hedônica, foram utilizados os atributos de sabor e odor. As amostras de leite, codificadas com três dígitos, foram previamente pasteurizadas, mantidas sob refrigeração e servidas à temperatura ambiente, de acordo com o sugerido por Ferreira et al., (2000).

Entre uma amostra e outra, foram servidos biscoitos de água e sal e água filtrada aos provadores com objetivo de haver uma neutralização no paladar. As análises foram realizadas em dois dias consecutivos, sendo servidas em turnos distintos (uma pela manhã e outra à tarde), contendo, por vez, quatro amostras de leite. A proposta foi submetida à apreciação pelo Comitê de Ética em Pesquisa do CCS/UFPB. Os procedimentos realizados na pesquisa foram explicados aos voluntários e, em seguida, aqueles que se interessaram em participar do estudo, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

Os dados foram analisados em delineamento inteiramente casualizado, utilizando-se o procedimento GLM do programa computacional SAS (Statistical Analyses System, SAS Inst. Inc., Cary, NC, (2003). O modelo da análise de variância para os dados referentes à produção, composição físico-química e perfil dos ácidos graxos do leite incluiu o efeito fixo do nível de substituição do farelo de soja pelo AEFM e o erro residual. Os dados oriundos da análise sensorial não apresentaram distribuição normal e foram transformados por meio do procedimento RANK do SAS. Os dados transformados foram então submetidos à análise de variância, cujo modelo incluiu os efeitos fixos do nível de substituição do farelo de soja pelo AEFM, avaliador e da interação nível de substituição x avaliador, além do erro residual. As médias foram obtidas através da opção LSMEANS do SAS, sendo o efeito do nível de substituição do farelo de soja pelo AEFM desdobrado em seus componentes linear e quadrático por meio de contrastes ortogonais polinomiais. Adotou-se como crítico o nível de significância de 0,05.

## Resultados e discussão

Na tabela 3, é possível observar os resultados para os parâmetros da composição físico-química do leite. Não houve influência dos tratamentos sobre a produção de leite (PL), que apresentou valor médio de 0,644 kg/dia. As composições em proteína bruta do leite (PBL) e gordura do leite (GL) também não foram influenciadas ( $P>0,05$ ), apresentando valores médios de 2,86%, 2,73%, respectivamente. Isso demonstra que a disponibilidade de nutrientes presentes na dieta fornecida aos animais do presente estudo encontrava-se adequada e similar entre os tratamentos.

Tabela 3. Efeito do nível de substituição do farelo de soja pelo AEFM sobre produção de leite (PL), teor de proteína bruta do leite (PBL), de gordura do leite (GL), de nitrogênio uréico do leite (NUL), de lactose (LAC), sólidos totais (ST) extrato seco desengordurado (ESD) e rendimento de queijo (RQ) por cabras lactantes

Variável	Nível de substituição (%matéria seca)				EPM	Contraste		
	0	33	67	100		P>F	L	Q
PL(g/d)	0,797	0,958	0,823	1,204	0,05	0,70	0,37	0,71
PLCG (kg.dia <sup>-1</sup> )	0,634	0,779	0,659	0,977	0,05	0,62	0,33	0,71
PBL (%)	2,70	2,81	2,91	3,05	0,07	0,32	0,07	0,98
GL (%)	2,70	2,80	2,70	2,74	0,12	0,98	0,89	0,90
NUL (mg.dL <sup>-1</sup> )	28,30	26,90	25,90	23,10	0,64	0,06	0,01	0,60
LAC ( g.kg <sup>-1</sup> )	39,60	38,30	40,90	40,70	0,05	0,34	0,24	0,62
ST( g.kg <sup>-1</sup> )	100,8	102,1	105,0	107,0	0,18	0,63	0,20	0,92
ESD(g.kg <sup>-1</sup> )	74,1	74,2	78,0	79,4	0,08	0,09	0,02	0,70
RQ%	20,05	18,13	25,60	25,22	1,10	0,07	0,03	0,72

Houve uma redução linear dos valores médios de nitrogênio uréico do leite (NUL), ( $P<0,05$ ) à medida que o farelo de soja foi substituído pelo AEFM (tabela 3). Isto indica que a utilização do AEFM resultou em uma menor excreção de N no leite, o que implica em maior eficiência de uso para o metabolismo. Uma menor degradabilidade ruminal da proteína ou mesmo diferenças no perfil aminoacídico entre farelo de soja e AEFM podem estar envolvidos neste efeito observado, uma vez que, o farelo de mamona apresenta níveis de aminoácidos inferiores ao farelo de soja, (ROSTAGNO et al., 2011). Este fato também pode ter influenciado nas concentrações de extrato seco desengordurado (ESD) e rendimento de queijo (RQ), onde observou-se variações nos níveis 67 e 100% de substituição ( $P<0,05$ ).

A concentração de ureia no leite é considerada bom indicador do metabolismo e ingestão de proteína em animais leiteiros e, atualmente, é utilizado como ferramentas para avaliação de dietas. Segundo Hof et al., (1997), a ureia presente na circulação sanguínea tem a capacidade de se difundir

livremente para o leite. Dessa forma, torna-se possível estimar a concentração de ureia no sangue medindo-se sua concentração no leite, uma vez que esse dado é ferramenta importante para o monitoramento da nutrição proteica em rebanhos leiteiros.

Não houve efeito dos tratamentos ( $P>0,05$ ), para as variáveis lactose (LAC) e sólidos totais (ST), apresentando valores médios de  $39,87\text{g}.\text{kg}^{-1}$ ,  $103,72\text{ g}.\text{kg}^{-1}$ , respectivamente.

Na tabela 4, observa-se que os resultados obtidos com o uso do AEFM nas dietas experimentais, influenciaram ( $P<0,05$ ) a concentração dos ácidos graxos butírico ( $\text{C}_{4:0}$ ) e caprílico ( $\text{C}_{8:0}$ ). A concentração de ambos apresentou um efeito quadrático com o aumento de participação do AEFM nas dietas. Os valores encontrados para esses coeficientes foram superiores aos encontrados por Santos et al., (2011). De acordo com (HARVATINE; BOISCLAIR; BAUMAN, 2009), a formação desses ácidos ocorre na glândula mamária pela síntese “de novo” a qual é proveniente, principalmente, de moléculas de acetato e butirato, como produto final oriundo da digestão de gorduras e carboidratos estruturais presentes na dieta animal.

Apesar das diferenças no perfil dos ácidos graxos das dietas (tabela 2), o teor de extrato etéreo, não foi suficiente para promover alterações significativas no perfil lipídico do leite. Onde este apresentou valores próximos daqueles relatados por Maia et al., (2006) e Santos, et al., (2011), quando utilizaram diferentes fontes de óleo e diferentes níveis de substituição do feno de capim-tifton 85 pela casca de mamona, respectivamente, sobre o perfil dos ácidos graxos do leite.

Também não houve efeito dos tratamentos ( $P>0,05$ ), sobre os teores de ácidos graxos saturados (AGS), ácidos graxos insaturados (AGI), ácidos graxos poli-insaturados (AGP), com médias de 75,66; 23,92; 21,84 e 1,89%, respectivamente.

Para o índice de aterogenicidade (IA), observou-se que houve influencia ( $P<0,05$ ), demonstrando resultados elevados nos níveis 33, 67 e 100% de substituição do farelo de soja pelo AEFM, quando comparado à dieta controle. Para o cálculo do índice de aterogenicidade, diferentes pesos são atribuídos para as diferentes categorias de ácidos graxos, relacionando os compostos pró e antiaterogênicos presentes no leite. Sendo que, segundo Ulbricht e Southgate, (1991), quanto mais baixo este índice, melhor é a qualidade nutricional da dieta quanto à redução do potencial de risco de incidência de doenças cardiovasculares. Esse aumento do (IA), confirma-se pela redução dos ácidos graxos poli-insaturados, também nos grupos 33 e 67 %, quando comparados à dieta controle, e elevação no grupo com 100% de substituição.

Tabela 4. Perfil de ácidos graxos do leite de cabras lactantes alimentadas com dietas contendo quatro níveis de substituição do farelo de soja pelo AEFM % do total de ácidos graxos

Ácidos Graxos	Denominação	Níveis de substituição (%matéria seca)				EP	Contraste		
		0	33	67	100		M	P>F	
		L	Q						
C4:0	Butírico	0,79	1,33	1,08	0,70	0,07	0,04	0,48	0,01
C6:0	Capróico	1,13	1,46	1,24	1,09	0,07	0,37	0,62	0,14
C8:0	Caprílico	1,54	1,80	1,62	1,33	0,06	0,12	0,17	0,04
C10:0	Cáprico	7,32	7,81	8,01	7,56	0,29	0,85	0,73	0,43
C12:0	Láurico	3,56	3,81	4,88	4,25	0,22	0,30	0,16	0,40
C14:0	Mirístico	11,48	11,86	13,78	12,62	0,42	0,27	0,18	0,37
C15:0	Pentadecanóico	0,11	0,70	0,81	1,44	0,24	0,71	0,54	0,45
C16:0	Palmítico	36,33	38,32	39,75	37,18	1,07	0,70	0,68	0,30
C16:1	Palmitoléico	0,53	0,75	0,68	0,62	0,03	0,20	0,53	0,06
C17:0	Heptadecanóico	0,46	0,38	0,40	0,35	0,02	0,21	0,07	0,67
C18:0	Esteárico	9,96	6,99	6,15	6,81	0,23	0,20	0,09	0,17
C18:1n 9t	Elaídico	0,53	0,44	0,46	0,49	0,03	0,81	0,75	0,45
C18:2n 6c	Linoléico	1,48	1,39	1,46	1,49	0,07	0,96	0,88	0,71
C18:3n6	γ-Linolênico	0,23	0,25	0,27	0,29	0,03	0,88	0,48	0,99
CLA9t11	Ácido linoléico conjugado	0,36	0,31	0,24	0,33	0,24	0,30	0,44	0,15
<i>cis-9 trans 11</i>									
AGS	Ácidos graxos saturados	74,64	74,94	79,16	73,90	1,21	0,43	0,85	0,26
AGI	Ácidos graxos insaturados	24,46	24,56	20,91	25,75	1,07	0,44	0,98	0,28
AGM	Ácidos graxos	21,80	22,81	19,14	23,62	1,01	0,44	0,84	0,40
monosaturados									
AGP	Ácidos graxos	1,94	1,75	1,76	2,12	0,10	0,51	0,55	0,19
poliinsaturados									
AGS:AGI	Saturados:Insaturados	3,05	3,05	3,78	2,86	0,21	0,54	0,99	0,43
AGP:AGI	Poliinsaturados:	0,07	0,07	0,08	0,08	3,08	0,40	0,72	0,49
Insaturados									
IA	Índice de aterogenicidade	2,97	3,68	4,74	3,62	0,23	0,09	0,13	0,05

AGS: Ácidos graxos saturados; AGI: Ácidos graxos insaturados; AGP: Ácidos graxos poli-insaturados; AGS:AGI: Relação total de ácidos graxos saturados: total de insaturados; AGP:AGI: Relação total ácidos graxos poli-insaturados : total de insaturados; IA: Índice de aterogenicidade [{C12:0 + (4 x C14:0) + C16}/ Total insaturados]

Para as características sensoriais os resultados obtidos demonstram que os parâmetros odor característico (OC), odor estranho (OE), foram influenciados pelos tratamentos ( $P<0,05$ ), conforme pode ser visto na tabela 5.

Tabela 5. Características sensoriais do leite de cabras Saanen alimentadas com dietas contendo quatro níveis de substituição do farelo de soja pelo AEFM

<b>Atributo</b>	<b>Níveis de substituição</b>				<b>EPM</b>	<b>P&gt;F</b>	<b>Contraste</b>	
	<b>0</b>	<b>33</b>	<b>67</b>	<b>100</b>			<b>L</b>	<b>Q</b>
OC	3,50	2,93	2,93	3,73	0,05	<0,01	0,43	0,01
OE	3,06	2,86	2,80	2,80	0,03	<0,01	0,03	0,65
SC	5,30	4,60	5,60	5,30	0,04	<0,01	0,14	0,17
SE	3,76	4,00	3,80	3,90	0,03	<0,01	0,43	0,88
SR	3,53	3,16	3,66	3,63	0,04	<0,01	0,45	0,39
SA	4,16	4,00	4,26	4,00	0,07	<0,01	0,83	0,83
AG	5,50	6,26	5,70	5,23	0,07	<0,01	0,18	0,02

OC-Odor Característico; OE-Odor Estranho; SC-Sabor Característico; SE-Sabor Estranho; SR-Sabor Rançoso; SA-Sabor adocicado; AG-Aceitação Global

É possível que estes resultados estejam associados com aumento da concentração dos ácidos graxos de cadeia curta, butírico ( $C_{4:0}$ ) e caprílico ( $C_{8:0}$ ). O odor do leite caprino relaciona-se pela presença de compostos voláteis que se formam em odores agradáveis ou não, nos quais são provavelmente produzidos no metabolismo animal. Entretanto, Queiroga e Costa (2003), comentaram que o manejo alimentar apresenta-se como premissa determinante da produção e composição do leite caprino, estando diretamente relacionado com a quantidade x qualidade da dieta ofertada.

Na tabela 5, também encontram-se os valores para os parâmetros sabor característico (SC), sabor estranho (SE), sabor rançoso (SR), sabor adocicado (SA) e aceitação global (AG), que também demonstraram influencia dos tratamentos ( $P<0,05$ ). Possivelmente, esse comportamento também associa-se ao aumento da concentração dos ácidos graxos de cadeia curta, butírico ( $C_{4:0}$ ) e caprílico ( $C_{8:0}$ ), conforme apresentados anteriormente na tabela 4.

Apesar de ter ocorrido influência dos tratamentos sobre os atributos (OC, OE, SC, SE, SR e SA), os resultados demonstram que houve uma estabilidade do leite quanto a reações de oxidações. E que a aceitação global das amostras deste estudo, indica que o leite teve boa aceitação, pois dentro da escala (1 a 9), sua melhor média 6,26 situou-se na faixa intermediária, demonstrando, certa qualidade do produto.

## Conclusão

Em relação à produção de leite, sua composição físico-química, perfil dos ácidos graxos e suas características sensoriais, o alimento extrusado à base de farelo de mamona pode substituir o

farelo de soja em sua totalidade na dieta de cabras lactantes, sem agregar grandes modificações que depreciem a qualidade do produto avaliado. Mostrando assim, que, esse subproduto pode ser uma fonte de alimentação alternativa para cabras lactantes.

## Referências

- ASCHERI, J. L. R.; MACIEL, F. M.; CARVALHO, C. W. P. de; FREITAS, S. C. de; MACHADO, O. L. T. Destoxificação de torta de mamona por extrusão termoplástica: estudo preliminar. In: Congresso da rede brasileira de tecnologia de biodiesel, 2., 2007, Brasília, DF. **Anais...** Brasília, DF: ABIPTI: MCT, 2007.
- BLIGH, E. G. and DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology** 37, 911-917.1959.
- BOMFIM, M.A.D., FERNANDES, M.F., OLIVEIRA, L.S. Viabilidade dos co-produtos do biodiesel na alimentação de ruminantes: Mitos e Realidades. In: Reunião da Sociedade Nordestina de Produção Animal, 5, p.1-19. **Anais...** Aracaju-SE, 2008.
- BOMFIM, M. A., D.; SILVA, M. M. C.; SANTOS, S. F. In: Potencialidades da utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de caprinos e ovinos. **Revista Tecnologia e Ciência Agropecuária**. João Pessoa, v .3, n.4, p.15-26, dez. 2009
- FARIA, E.V.; YOTSUYANAGI, K. **Técnicas de Análise Sensorial**. ITAL/LAFISE Campinas. 116p., 2002.
- FERREIRA, V. L. P.; ALMEIDA, T. C. A. de; PETTINELLI, M. L. C. de V.; SILVA, M. A. A. P. da; CHAVES, J. B. P.; BARBOSA, E. M. de M., **Análise Sensorial – Testes Discriminativos e Afetivos**, Campinas: Sociedade Brasileira de Tecnologia de Alimentos. 127 p. 2000.
- HARVATINE, K.J.; BOISCLAIR, Y.R.; BAUMAN, D.E. Recent advances in the regulation of milk fat synthesis. **Animal**, v.3, n.1, p.40-54, 2009.
- HOF, G.; VERVOORN, M.D.; LENAERS, P.J.; TAMMINGA, S. Milk urea nitrogen as a tool to monitor the protein nutrition of dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v.80, p.3333-3340, 1997.
- INSTITUTO DE PESQUISA E ESTRATÉGIA ECONÔMICA DO CEARÁ (IPECE). In: **Perfil Básico Municipal**; Fortaleza,;10 p. 2005.
- MAIA, F. J., BRANCO, A. F., MOURO, G. F., CONEGLIAN, S. M., SANTOS, G. T.,MINELLA, T. C., GUIMARÃES, K.C..Inclusão de fontes de óleo na dieta de cabras em lactação: produção, composição e perfil dos ácidos graxos do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n.4, p.1504-1513, 2006.

MORAES, M.A.C. **Métodos de avaliação sensorial dos alimentos**. Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 35p. 1985.

MORGAN, F.; GABORIT, P. The typical flavour of goat milkproducts: technological aspects. **International Journal of Dairy Technology**, v.54, n.1, p.38-40, 2001.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of small ruminants**. Washington, D.C.: National Academy Press. 362 p.2007.

OTHMANE MH; DE LA FUENTE LF; CARRIEDO JA; SAN PRIMITIVO F. Heritability and genetic correlations of test day milk yield and coposition,individual laboratory cheese yield, and somatic cell count for dairy ewes. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.2692-2698, 2002.

PRECHT, J.; MOLKETIN, D Validation of gas-chromatography method for the determination of milk fat by butyric acid analysis. **European Journal of Lipid Sciences and Technology**, 194-201, 2000.

QUEIROGA, R. C. R. E.; COSTA, R. G. Qualidade do leite caprino. In: **I Simpósio Internacional de Conservação de Recursos Genéticos-Raças Nativas para o semi-árido**. Recife. P.161-171. 2003.

ROSGANO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; HANNAS, M. I.; DONZELE, J. L.; SAKOMURA, N. K.; PERAZZO, F. G.; SARAIVA, A.; TEIXEIRA, M. L.; RODRIGUES, P. B.; OLIVEIRA, R. F.; BARRETO, S. L. T.; BRITO, C. O. **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: Composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa: UFV, 141p 2011.

SANTOS, S.F.; BOMFIM, M. A. D.; CÂNDIDO, M. J. D. SILVA, M.M.C. PEREIRA, L.P.S.; SOUZA NETO; M.A.; GARRUTI, D.S.; SEVERINO, L.S. Efeito da casca de mamona sobre a produção, composição e ácidos graxos do leite de cabra. In: **Archivos de Zootecnia**. 60 (229): 113-122. 2011.

S INSTITUTE. SAS System for Windows. Version 9.0. Cary: SAS Institute Inc. 2003. 2,CD-ROMs.

ULBRICHT, T.L.V; SOUTHGATE, D.A.T. Coronary heart disease: seven dietary factors. **Lancet**, v.338, n.19, p.985-992, 1991.

Recebido em 31/10/2018  
Aceito em 03/01/2019

# Revista Agrária Acadêmica

*Agrarian Academic Journal*

Volume 2 – Número 1 – Jan/Fev (2019)

---

doi: 10.32406/v2n12019/81-92/agrariacad

## Fungos associados às sementes de cedro vermelho (*Cedrela odorata* L.) e tonto amarelo (*Ormosia excelsa* Spruce ex Benth.)

Fungi associated with seed cedro vermelho (*Cedrela odorata* L.) e tonto amarelo (*Ormosia excelsa* Spruce ex Benth.)

Geisa da Silva Cristostomo<sup>1</sup>, Jania Lilia da Silva Bentes<sup>2</sup>, Alex-Sandra Farias de Almeida<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Graduanda em Engenharia Florestal, Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Amazonas – UFAM – Manaus/Amazonas – Brasil.

<sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical, Universidade Federal do Amazonas – UFAM – Manaus/Amazonas – Brasil. E-mail: [jlbentes@ufam.edu.br](mailto:jlbentes@ufam.edu.br)

---

### Resumo

O presente estudo teve o objetivo de determinar a qualidade sanitária das sementes de *Cedrela odorata* L. e *Ormosia excelsa* Spruce ex Benth e avaliar a transmissão de fungos via sementes. Foram utilizados teste de *Blotter* e plaqueamento em meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA). Foram identificados os gêneros *Penicillium* sp., *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Rhizopus* sp., *Corynespora* sp.; *Rhizopus* sp. e *Cladosporium* sp. associados às sementes. Foi detectada atransmissão para as plântulas de *O. excelsa* de fungos dos gêneros *Fusarium* sp., *A. flavus* e *Cladosporium* sp.

**Palavras-chave:** patologia de sementes, espécie florestal, patógenos

### Abstract

The aim of this study was to determine the sanitary quality of the seeds of *Cedrela odorata* L. and *Ormosia excelsa* Spruce ex Benth and to evaluate the fungi transmission through seeds. Blotter test and plating in Potato-Dextrose-Agar (BDA) culture medium were used. The genus *Penicillium* sp., *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Rhizopus* sp., *Corynespora* sp., *Rhizopus* sp. and *Cladosporium* sp. were associated with seeds. A transmission was detected for *O. excelsa* seedlings of the genus *Fusarium* sp., *A. flavus* and *Cladosporium* sp.

**Keywords:** seed pathology, forest species, pathogens.

---

## Introdução

As compensações ambientais como a reposição obrigatória de mata nativa em propriedades rurais e a recuperação de áreas degradadas, visando atender às leis Federais e Estaduais, propiciaram o aumento na demanda por sementes de espécies florestais, que constituem insumo básico nos programas de recuperação e conservação de ecossistemas como, reflorestamento, recuperação de áreas degradadas, arborização urbana e a preservação das espécies em extinção (GUARIM NETO; MORAIS, 2003, p. 581; VECCHIATO et al., 2013).

Uma crescente demanda de sementes reflete a necessidade do estabelecimento de padrões de qualidade das mesmas como material propagativo (SANTANA, 2016, p. 1). A qualidade sanitária, fisiológica, física e genética das sementes irá refletir na capacidade das mesmas em originar plantas saudáveis (VECHIATO et al., 2013). As sementes estão sujeitas a uma série de fatores que podem limitar seu desenvolvimento (MACHADO, 2006, p. 76). As sementes podem atuar como fonte de abrigo e transporte de microrganismos de todos os grupos taxonômicos, que podem ser patogênicos ou não, tornando-se assim a detecção desses organismos uma ferramenta importante no manejo fitossanitário de doenças (BARROCAS; MACHADO, 2010, p. 75; MENDES et al. (2011, p. 16).

A presença de fungos pode reduzir a capacidade germinativa de um lote de sementes, causar a morte de plântulas ou transmitir doenças para plantas adultas. É necessário conhecer os agentes, as causas e as consequências decorrentes da contaminação por fungos patogênicos (SANTOS, 2001, p. 14). A contaminação das sementes e frutos de essências florestais ocorre predominantemente no solo onde são colonizados por diversos fungos, incluindo saprófitas e parasitas facultativos (ARAÚJO, 2008, p. 6; LAZAROTTO, 2010, p. 136).

Dentre as espécies florestais nativas carentes de informações sobre a qualidade de suas sementes no Brasil, está o cedro vermelho (*Cedrela odorata* L.) e o tento amarelo (*Ormosia excelsa* Spruce ex Benth.).

O cedro vermelho é uma espécie amazônica de grande porte, alto interesse econômico, explorado para a produção de madeiras de alto valor comercial e está atualmente ameaçada de extinção (ALBERNAZ; AVILAPIRES 2009, p. 26; IUCN 2017). A distribuição desta espécie cobre áreas da Amazônia, Cerrado e Mata Atlântica (FORZZA et al., 2010, p. 134). Segundo CARRERO et al. (2014, p. 96), essa espécie é indicada para a composição de reflorestamento heterogêneo, sistemas agroflorestais e recuperação de áreas degradadas, por apresentar rápido crescimento e bom rendimento nos plantios. A procura por sementes de cedro para reflorestamentos é grande,

entretanto a disponibilidade é baixa e se desconhece a sua qualidade sanitária destas (BENETTI et al., 2009, p. 83).

O tento amarelo é uma espécie florestal nativa e endêmica do Brasil pertencente à família Fabaceae, é usada no tratamento e prevenção de doenças, uma vez que o extrato da semente está a ser testado para combater cárries dentárias. É usado na indústria da madeira para fabricação de móveis e as sementes são frequentemente utilizadas em artesanato e bio-jóias (SILVA et al., 2014, p. 133).

O estudo da associação de fungos encontrados em maior número e frequência sobre sementes e a avaliação do seu potencial patogênico é de fundamental importância, pois pode fornecer subsídios para modelos epidemiológicos, produção de mudas e armazenamento de sementes (SANTOS et al., 1997, p. 120). Pesquisas sobre patologia de sementes de espécies florestais nativas da Amazônia são insuficientes, principalmente no que se refere ao comportamento no armazenamento, com o intuito de manter a viabilidade por um período prolongado (BATISTA et al., 2011, p. 810).

O presente estudo teve como objetivo avaliar a incidência de fungos associados às sementes de cedro-vermelho (*Cedrela odorata* L.) e tento-amarelo (*Ormosia excelsa* Spruce ex Benth.) através dos métodos de detecção em papel-filtro (Blotter test) e em meio Batata-Dextrose-Ágar e avaliar a transmissão de fungos via sementes.

## **Material e Métodos**

### **Procedência das sementes**

Foram utilizados lotes de sementes de cedro-vermelho (*Cedrela odorata* L.) e tento-amarelo (*Ormosia excelsa* Spruce ex Benth.) coletadas no município de Apuí no Estado do Amazonas em fevereiro de 2014 (Lote: ACA-3901-CDR-02082014) e as sementes de tento-amarelo foram coletadas no município de Autazes no Estado do Amazonas em maio de 2015 (Lote: M01TA115JOARI052015). Ambas foram cedidas pelo Centro de Sementes Nativas da Amazônia (CSNAM) da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), onde estiveram armazenadas em estado quiescente e em embalagens hermeticamente fechadas sob temperatura de 10 °C.

### **Teste de sanidade em meio Batata-Dextrose-Ágar (BDA)**

Foram utilizadas 200 sementes desinfestadas em álcool 70% durante 1 minuto, hipoclorito de sódio (NaCl) a 1,5% por 2 minutos, lavadas em água esterilizada por três vezes e secas sobre

papel-filtro, em seguida depositadas equidistantes em placas de petri de 9 cm de diâmetro contendo meio de cultura BDA (KASVI®) sendo cinco sementes em cada placa, totalizando 40 placas para cada espécie vegetal.

As sementes foram mantidas em temperatura ambiente ( $\pm 26^{\circ}\text{C}$ ) durante cinco dias, A avaliação foi realizada pela incidência de sementes infectadas e pela quantificação dos isolados em cada semente, observadas sob microscópio estereoscópico (Olympus). Para identificação dos gêneros foram preparadas lâminas de microscopia em corante azul de algodão 1%, para a visualização das estruturas reprodutivas em microscópio (Zeiss) sob objetiva de 40X (TUITE, 1969, p. 101) e comparadas com as chaves de identificação disponíveis na literatura BARNETT; HUNTER (1972, p. 6).

### **Teste de Blotter**

Foram utilizadas 200 sementes de cada espécie vegetal, divididas em quatro repetições de 50 sementes. Em câmara de fluxo laminar as sementes não desinfestadas, foram depositadas em caixas de plástico transparente tipo gerbox, previamente desinfestadas com álcool 70%, hipoclorito de sódio a 1% e expostas à luz ultravioleta (UV) durante 12 horas, forradas com duas folhas de papel de filtro autoclavadas e umedecidas com água esterilizada. Os gerbox contendo as sementes foram mantidos em temperatura ambiente ( $\pm 26^{\circ}\text{C}$ ) (SANTOS et al. 2011, p. 69).

A avaliação foi realizada em intervalos de 48 horas durante cinco dias. Foi quantificada a incidência de fungos e os gêneros foram identificados com base na observação de estruturas reprodutivas, conforme descrito no experimento anterior. Na ausência de estruturas reprodutivas aderidas às sementes, foi realizado o isolamento em meio de cultura BDA para posterior identificação.

### **Teste de Germinação**

As sementes de *C. odorata* não possuem necessidade de tratamento para quebra de dormência (CARVALHO, 2010, p. 163). As sementes de *O. excelsa* foram submetidas ao tratamento pré-germinativo para superar a dormência tegumentar. A quebra de dormência foi realizada através do desponte lateral nas sementes e a imersão em água por um período de 12 horas.

Para o teste germinação, foram utilizadas 100 sementes de cada espécie que foram previamente desinfestadas em álcool 70% durante 1 minuto, NaCl 1,5% por 2 minutos, lavadas em água esterilizada. As sementes foram dispostas sob papel de germinação, umedecidos com água

destilada, e mantidas em câmara climatizada com temperatura de  $27 \pm 2$  °C e fotoperíodo de 12 horas (GOMES 2013, p. 209).

As avaliações foram realizadas conforme as Regras para Análises de Sementes (BRASIL 2009, p. 147), sendo realizadas aos quinze dias após a instalação do teste. Foram consideradas germinadas as sementes que originaram plântulas normais, com as estruturas essenciais desenvolvidas, como sistema radicular e parte aérea, número específico de cotilédones e gema apical, demonstrando, assim, sua aptidão para produzirem plantas normais sob condições favoráveis de campo. Os resultados foram expressos em porcentagem de semente germinada.

### **Teste de Transmissão de fungos via sementes**

Foram semeadas 100 sementes de cada espécie divididas em quatro repetições de 25 sementes. A semeadura foi realizada em bandejas de isopor com 198 células sendo utilizada uma semente por célula. O substrato utilizado foi areia lavada e autoclavada de acordo com REGO et al. (2009, p. 214). As bandejas foram mantidas em viveiro em temperatura ambiente e irrigação diária.

As avaliações foram feitas aos 7, 14 e 21 dias após a semeadura, pela quantificação de sementes emergentes. Após os 21 dias, aquelas sementes que não germinaram foram retiradas da bandeja e mantidas em câmara-úmida para a posterior verificação da presença de fungos. No caso de identificação de fungos considerados potencialmente patogênico, foi feito o isolamento indireto do mesmo em meio BDA conforme ALFENAS; MAFIA (2016, p. 58) suplementado com antibiótico cloranfenicol 250 mg.mL<sup>-1</sup>. E a identificação foi feita por meio da observação de estruturas reprodutivas do fungo conforme descrito acima.

### **Procedimento Estatístico**

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro repetições para cada teste realizado, sendo cada unidade experimental uma amostra de 50 sementes. A comparação das médias foi feita pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade e o programa utilizado para as análises estatísticas foi o ASSISTAT 7.0.

### **Resultados e discussão**

#### **Avaliação da sanidade das sementes**

Na avaliação sanitária das sementes de *C. odorata* e *O. excelsa* foi identificada a presença dos gêneros: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium* sp., *Corynespora* sp, *Penicillium* sp., e *Rhizopus* sp.

Nas sementes de *C. odorata* 76 isolados no teste em BDA e 293 isolados no teste de papel-filtro, identificados nos gêneros: *Penicillium* sp., *Aspergillus niger*, *Aspergillus. flavus*, *Rhizopus* sp., e *Corynespora* sp. Nas sementes de *O. excelsa* foram obtidos 56 isolados no teste em BDA e 214 isolados no teste de papel-filtro, identificados nos gêneros: *Penicillium* sp, *Rhizopus* sp, *Aspergillus. niger*, *Aspergillus. flavus* e *Cladosporium* sp. (Tabela 1).

Tabela 1. Incidência de fungos em sementes de *Cedrela odorata* (cedro-vermelho) e *Ormosia excelsa* (tento-amarelo), submetidas ao teste de sanidade em Blotter Test e Meio BDA.

		Incidência (%)	
		<i>Cedrela odorata</i>	<i>Ormosia excelsa</i>
Blotter test	<i>Aspergillus flavus</i>	16 b	27 a
	<i>Aspergillus niger</i>	88 a	31 a
	<i>Cladosporium</i> sp.	0 d	4 b
	<i>Penicillium</i> sp.	35 b	14 c
	<i>Rhizopus</i> sp.	8 c	3 b
	ssp.	0 d	29 a
BDA	<i>Aspergillus flavus</i>	2 a	10 a
	<i>Aspergillus niger</i>	6 a	1 b
	<i>Corynespora</i> sp.	1 a	0 b
	<i>Penicillium</i> sp.	17 b	7 b
	spp.	13 b	11 a

Valores seguidos da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Os fungos *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* e *Penicillium* sp. foram os de maior ocorrência nas sementes e foram detectados em ambos métodos testados. Os mesmos resultados foram encontrados por VILELA (2015, p. 43) quando testou a avaliação sanitária de sementes armazenadas e frescas de *Genipa americana* L., e por SALES et al. (2018, p. 49) analisando sementes de mutamba (*Guazuma ulmifolia* Lam.).

PARISI (2012, p. 58) e OLIVEIRA (2011, p. 79) também relataram a incidência de *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. em sementes de *Inga vera* e *Eugenia* spp. Esses fungos também apresentaram elevada incidência em sementes de *Zollernia ilicifolia* Vog. (pau-santo), *Plathymenia reticulata* Benth. (vinhático do campo), *Cassia* sp. (canafistula) e *Handroanthus* sp. (ipê), prejudicando a qualidade das sementes com a queda de sua viabilidade (CARNEIRO, 1990, p. 76).

Os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* são considerados fungos de armazenamento (WALKER et al. 2013, p. 220) e a sua ocorrência pode estar associada ao período em que as sementes ficaram armazenadas. Estes causam apodrecimento durante a germinação o que pode ter favorecido o seu desenvolvimento. Portanto, a contaminação por muitos fungos pode ser diminuída mediante cuidados na colheita e no manuseio das sementes (SANTOS et al., 1997, p. 124).

MIETH et al. (2007, p. 3), utilizando o teste de sanidade em papel-filtro, encontraram, associados às sementes de cedro (*Cedrela fissilis* Vell.), os fungos: *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Verticillium* spp., *Rhizoctonia* spp. Já BENETTI et al. (2009, p. 83), utilizando o teste de sanidade em papel-filtro e BDA, encontraram, associados às sementes de cedro (*Cedrela fissilis* Vell.), os fungos: *Fusarium* sp., *Phomopsis* sp., *Colletotrichum* sp., *Macrophomina* sp., *Pestalotia* sp. e *Cladosporium* sp.

Em ambas espécies ocorreram a incidência de fungos saprófitas, entre os gêneros identificados *Penicillium* sp. e *Rhizopus* sp., sendo que o segundo só foi identificado pelo método de papel filtro.

A variedade, assim como, a quantidade de fungos identificados em meio BDA foi inferior aos verificados pelo método papel-filtro. No método de papel filtro com as sementes de *C. odorata* apenas 3% das sementes não apresentaram fungos, enquanto no método BDA onde ocorreu a prévia desinfestação das sementes 62% das sementes não apresentaram fungos. Já no método de papel filtro com as sementes de *O. excelsa* apenas 3% das sementes não apresentaram fungos, enquanto no método BDA onde ocorreu a prévia desinfestação das sementes 58% das sementes não apresentaram fungos. O que mostra que uma simples desinfestação pode reduzir a incidência desses micro-organismos. Para LAZAROTTO (2010, p. 135), isto se deve ao fato destes fungos estarem, geralmente, localizados superficialmente na semente e serem eliminados no processo de desinfestação utilizado pelo método em meio BDA.

O teste de Blotter foi efetivo na detecção de maior diversidade fúngica em sementes de *C. odorata* e *O. excelsa*. O mesmo tem sido observado em trabalhos com outras espécies vegetais (LAZAROTTO et al., 2012, p. 498; SALES et al., 2018, p. 50), no entanto FANTINEL et al. (2017, p. 11) testando os meios de cultura de BDA, V8 e Blotter teste para sementes de goiaba serrana,

obtiveram maior diversidade de colônias fúngicas para os meios BDA e V8, sugerindo que a eficiência dos métodos está relacionada com o nível de infestação das sementes.

## **Germinação**

Não houve germinação de sementes de *C. odorata*: durante o período de avaliação de 28 dias, conforme recomendado pela RAS (BRASIL 2009, p. 147), o que pode ter sido decorrente do longo período de armazenamento das sementes.

O tempo e as condições de armazenamento das sementes influenciam na sobrevivência e na longevidade, e, embora a qualidade dessas sementes não possa ser melhorada, ela pode ser mantida, dependendo das condições de armazenamento (LEMOS FILHO e DUARTE, 2001, p. 128). O armazenamento, uma vez aplicado de modo adequado, vai diminuir a velocidade de deterioração, que se caracteriza por ser um processo irreversível (DELOUCHE et al., 1973, p. 675; SANO et al., 2008, p. 319).

Para a espécie *O. excelsa* as sementes iniciaram a germinação a partir do 6º dia após a semeadura. Foram considerados germinados os indivíduos que apresentaram o primeiro par de folhas verdadeiras, que correspondeu a 83 e 17% de sementes mortas, devido à ocorrência de fungos, sendo 7% *Fusarium* sp., 6% *A. niger* e 4% *Rhizopus* sp.

A ação de microrganismos, desde que haja condições de umidade e temperatura, pode acelerar a taxa de deterioração das sementes (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000, p. 522).

## **Transmissão de fungos via sementes**

Das 100 sementes avaliadas, 28% não germinaram devido à presença de fungos, sendo consideradas sementes mortas e 12% das plântulas apresentaram algum sintoma de doença, como escurecimento do hipocótilo, da radícula ou cotilédone. Foram identificados nos gêneros *A. flavus* 3%, *Cladospórium* sp. 3% *Fusarium* sp. 4% associados às plântulas. Não possível identificar 2% dos fungos devido à ausência de estruturas reprodutivas. Estes gêneros mostram-se como potencialmente patogênicos no teste de transmissão e foram também detectados no teste de Blotter associados às sementes de *O. excelsa*.

Os maiores problemas relacionados à transmissão de fungos por sementes ocorrem durante as fases de germinação e de formação de mudas (CHEROBINI et al., 2008, p. 66). Segundo (CARVALHO; MUCHOVEJ, (1991, p. 177) e MACIEL et al. (2012, p. 326) algumas espécies do gênero *Fusarium* sp. já foram relatadas causando tombamento em pré ou pós-emergência de plântulas de espécies florestais, sendo problema comum em sementes.

Espécies de *Aspergillus* sp. são consideradas indicadoras da deterioração das sementes e grãos, causando danos, descoloração e alterações nutricionais. Este fungo pode crescer com menor teor de água, seguindo-se, após a contaminação, por *Penicillium* sp., cuja necessidade por umidade é mais elevada, desenvolvido em função da atividade metabólica dos primeiros invasores. O *Cladosporium* sp. quando detectado em alta incidência, também pode reduzir o poder germinativo das sementes VECCHIATO (2010).

Alguns patógenos não afetam a semente ou a emissão das plântulas, mas infectam a plântula sistematicamente, reduzindo seu vigor e manifestando sintomas tardiamente. produzindo inóculo secundário, o qual irá infectar as plantas originárias de sementes sadias (SANTOS et al., 1997, p. 122).

## Conclusões

Os testes de sanidade de Blotter e o plaqueamento em meio BDA, foram eficientes e complementares na detecção de fungos potencialmente patogênicos associados às sementes de *C. odoradta* e *O. excelsa*.

Os gêneros de fungos detectados nas sementes, podem interferir na germinação das sementes e na formação de plântulas.

## Referências bibliográficas

- ALBERNAZ, A.L.K.M.; AVILA-PIRES, T.C.S. Espécies ameaçadas de extinção e áreas críticas para a biodiversidade no Pará. **Museu Paraense Emílio Goeldi**, Belém, 60p, 2009.
- ALFENAS, A.C.; MAFIA, R.G. **Métodos em fitopatologia**. 2<sup>a</sup> Ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, Ed. UFV, 2016. 516p.
- ARAÚJO, E.R. Qualidade fisiológica, etiologia e patogenicidade de fungos assinalados em sementes de aroeira produzidas em três municípios da Paraíba. [Dissertação]. Universidade Federal da Paraíba, Areia, p. 45, 2008.
- BARROCAS, E.; MACHADO, J.D.C. Introdução a patologia de sementes e testes convencionais de sanidade de sementes para a detecção de fungos fitopatogênicos. **Informativo ABRATES: Inovações tecnológicas em Patologia de Sementes**, v. 20, n. 3, 2010.
- BARNETT, H.L.; HUNTER, B.B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. 3<sup>a</sup> Ed. Minnesota: Burgess Publishing Company, 1972. 241p.
- BATISTA, I.M.P.; FIGUEIREDO, A.F.; SILVA, A.M.; SILVA, T.A.F. Efeito de embalagens, ambientes e períodos de armazenamento na germinação e no vigor das sementes de cedro (*Cedrela odorata*) em Manaus – AM. **Floresta**, Curitiba, PR, v. 41, n. 4, p. 809-818, 2011.

- BENETTI, S.C.; SANTOS, A.F.; MEDEIROS, A.C.S.; FILHO, D.S.J. Levantamento de fungos em sementes de cedro e avaliação da patogenicidade de *Fusarium* sp. e *Pestalotia* sp. **Pesquisa Florestal Brasileira**. Colombo, n.58, p. 81-85, 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399p.
- CARRERO, G.C.; PEREIRA, R.S.; JACAÚNA, M.A.; JUNIOR, M.J.V.L. **Árvores do Sul do Amazonas: guia de espécies de interesse econômico e ecológico**. Manaus: IDESAM, p. 111, 2014.
- CARNEIRO, J.S. Qualidade sanitária de sementes de espécies florestais em Paraopeba, MG. **Fitopatologia Brasileira**. v.15, n.1, p. 75-77, 1990.
- CARVALHO, W. L.; MUCHOVEJ, J. J. Fungos associados a sementes de essências florestais. **Revista Árvore**, Viçosa, v.15, n.2, p.173-178, 1991.
- CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4<sup>a</sup> Ed. Jaboticabal: FUNEP, 588p. 2000.
- CARVALHO, P.E.R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2010. v. 4, 644 p.
- DELOUCHE, J.C.; MATHEUS, R.K.; DOUGUERTY, G.M.; BOYD, A.H. Storage of seed in sub tropical regions. **Seed Science and technology**, v.1, n.3, p. 671-700. 1973.
- CHEROBINI, E.A.I.; MUNIZ, M.F.B.; BLUME, E. Avaliação da qualidade de sementes e mudas de cedro. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.18, n.1, p. 65-73, 2008.
- FANTINEL, V.S.; OLIVEIRA, L.M.; CASA, R.T.; SCHNEIDER, P.F.; ROCHA, E.C.; VICENTE, D.; POZZAN, M. Detecção de fungos em sementes de *Acca sellowiana* (Berg) Burret. **Floresta e Ambiente**.
- FORZZA, R.C.; FILARDI, F.L.R.; COSTA, A.; CARVALHO-JÚNIOR, A.A.; PEIXOTO, A.L.; WALTER, B.M.T. **Catálogo de plantas e fungos do Brasil**. Andrea Jakobsson Estúdio, Instituto de Pesquisas do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, v. 1, p. 875, 2010.
- GOMES, J.P.; OLIVEIRA, L.M.; SALDANHA, A.P.; MANFREDI, S.; FERREIRA, P.I. Secagem e Classificação de Sementes de *Acca sellowiana*. (O. Berg) Burret –Myrtaceae quanto à Tolerância à Dessecação e ao Armazenamento. **Floresta e Ambiente**. v. 20, n. 2, p. 207-215, 2013.
- GERMANI NETO, G.G.; MORAIS, R. G. Recursos medicinais de espécies do cerrado e Mato Grosso: um estudo bibliográfico. **Acta Botânica Brasileira**, Porto Alegre, v.17, n. 4.p. 561-584, 2003.
- IUCN Red List of Threatened Species, Version 2017-1. Disponível na internet <http://www.iucnredlist.org/>. Acesso em: 15 de junho de 2017.
- LAZAROTTO, M.; MUNIZ, M.F.B.; SANTOS, A.F.S. Detecção, transmissão, patogenicidade e controle químico de fungos em sementes de paineira (*Ceiba speciosa*). **Summa Phytopathol**. Botucatu, v.36, n.2, p.134-139, 2010.
- LAZAROTTO, M.; MUNIZ, M.F.B.; BELTRAME, R.; SANTOS, A.F.; MACIEL, C.G.; LONGHI, S.J. Sanidade, transmissão via semente e patogenicidade de fungos em sementes de *Cedrela fissilis* procedentes da região Sul do Brasil. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.22. n. 3, p. 493-503, 2012.
- LEMOS FILHO, J.P.; DUARTE, R.J. Germinação e longevidade das sementes de (*Swietenia macrophylla* King - Meliaceae). **Revista Árvore**, v.25, n.1, p. 125-130, 2001.

- MACIEL, C.G.; MUNIZ, M.F.B.; SANTOS, A.F.; LAZAROTTO, N. Detecção, transmissão e patogenicidade de fungos em sementes de angico-vermelho (*Parapiptadenia rigida*). **Summa Phytopathol.** Botucatu, v.38, n.4, p. 323-328, 2012.
- MACHADO, J.C.; WAQUIL, J.M.; SANTOS, J.P.; REICHENBACH, J.W. Tratamento de sementes no controle de fitopatógenos e pragas. **Informe Agropecuário.** Belo Horizonte, v.27, n. 232, p. 76-87, 2006.
- MENDES, S.S.; MESQUITA, J.B.; MARINO, R.H. Qualidade sanitária de sementes de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit armazenadas em câmara fria. **Natural Resources**, Aracaju, v. 1, n. 1, p. 15-22, 2011.
- MIETH, A. T. Microflora e qualidade fisiológica de sementes de cedro (*Cedrela fissilis*) tratadas com extrato natural de hortelã (*Mentha piperita*). IN: **Congresso Brasileiro de Agroecologia**, Guarapari. Anais. Guarapari: ABA, 2007.
- OLIVEIRA, C.F. **Conservação de sementes de Eugenia uniflora Lam. e Inga vera Penn.: qualidade sanitária e taxas respiratórias** [Dissertação]. São Paulo: Instituto de Botânica de São Paulo; 2011.
- PARISI, J.J.D. **Associação entre fungos e a viabilidade de embriões de Inga vera** [dissertação]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Agrícola; 2012.
- PESKE, S.T.; LUCCA FILHO, O.A.; BARROS, A.C.S.A. **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos.** 2<sup>a</sup> Ed. Pelotas: Editora Universitária/UFPel, p. 259-330, 2003.
- REGO, S. S.; NOGUEIRA, A.C.; KUNIYOSHI, Y.S.; SANTOS, F.S. Germinação de sementes de *Blepharocalyx salicifolius* (H.B.K.) Berg. em diferentes substratos e condições de temperaturas, luz e umidade. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 2, p. 212-220, 2009.
- SALES, N.L.P.; COTA, C.G.; FREITAS, F.G.R.; MOREIRA, J.L.; CARVALHO, L.R.; MOREIRA, C.D.D.; BARROSO, P.D. Germinação, sanidade e tratamento de sementes de *Guazuma ulmifolia* Lam. **Caderno de Ciências Agrárias**. v. 10, n. 2, p. 46-52, 2018.
- SANO, S.M.; ALMEIDA, S.P.; RIBEIRO, J.F. Cerrado – Ecologia e Flora. **Embrapa Cerrados**. Brasília – DF: Embrapa Informação Tecnológica, v.2, p. 1.279, 2008.
- SANTANA, J.E.S. **Fungos em sementes de três espécies florestais exóticas coletadas no município de Seropédica, RJ.** [Trabalho de Conclusão de Curso]. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Florestas. 2016.
- SANTOS, A. F. DOS; JÚNIOR, A. G.; AUER, C. G. Transmissão de fungos por sementes de espécies florestais. **Floresta**. Colombo/PR, v.30, n.1/2, p. 119-128, 1997.
- SANTOS, F.E.M.; SOBROSA, R.C.; COSTA, I.F.D.; CORDER, M.P.M. Detecção de fungos patogênicos em sementes de acácia-negra (*Acacia mearnsii* De Wild). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.11, n.1, p. 13-20, 2001.
- SANTOS, A.F.; PARISI, J.J.D.; MENTEN, J.O.M. **Patologia de sementes Florestais.** Colombo: Embrapa Florestais, p. 236, 2011.
- SILVA, D.; BRUNO, F.; IMAKAWA, A.; RAPÔSO, N.; SAMPAIO, P. *Ormosia excelsa* Benthseed asepsis for the initiation of an in vitro. **BMC Proceedings**, v.8, n.4, p. 133, 2014.
- TUITE, J. **Plant pathological methods: fungi and bacteria.** Minneapolis: Burgess, 1969. 239 p.
- VECHIATO, M. H. **Importância da qualidade sanitária de sementes de florestais na produção de mudas.** 2010. Disponível na internet [http://www.infobibos.com/Artigos/2010\\_3/SementesFlorestais/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2010_3/SementesFlorestais/index.htm). Acesso em: 31 de janeiro de 2013.
- VILELA, A.C.M. **Diversidade, sanidade, transmissão e patogenicidade de fungo em sementes e duas espécies florestais nativas da Floresta Atlântica.** [Dissertação]. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Botânica Tropical; 2015.

WALKER, W.; MACIEL, C.G.; BOVOLINI, M.P.; POLLET, C.S.; MUNIZ M.F.B. Transmissão e Patogenicidade de Phomopsis sp. Associadas às Sementes de Angico-vermelho (*Parapiptadenia rigida* Benth.). **Floresta e Ambiente.** v.20, n.2, p. 216-222, 2013.

Recebido em 27/11/2018

Aceito em 04/01/2019

# Revista Agrária Acadêmica

*Agrarian Academic Journal*

Volume 2 – Número 1 – Jan/Fev (2019)

---

doi: 10.32406/v2n12019/93-102/agrariacad

## Agentes etiológicos envolvidos na mastite bovina na bacia leiteira de Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil

Etiological agents involved in bovine mastitis in the milk bowl of President Figueiredo, Amazonas, Brazil

Leide Lágela de Oliveira Sousa<sup>1</sup>, Brenda Ferreira de Figueredo<sup>2</sup>, Rebeca Alves dos Santos<sup>3</sup>, Jomel Francisco dos Santos<sup>4</sup>, Paulo Cesar Gonçalves Azevedo Filho<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Médica Veterinária, Agência de Defesa Agropecuária e Florestal do Estado do Amazonas – ADAF – MANAUS/AMAZONAS – BRASIL. [leide\\_lagela@hotmail.com](mailto:leide_lagela@hotmail.com)

<sup>2</sup> Discente do curso de medicina veterinária, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas – IFAM – MANAUS/AMAZONAS – BRASIL. [le\\_ebrenda@hotmail.com](mailto:le_ebrenda@hotmail.com)

<sup>3</sup> Discente do curso de medicina veterinária, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas – IFAM – MANAUS/AMAZONAS – BRASIL. [bebela123.ads@gmail.com](mailto:bebela123.ads@gmail.com)

<sup>4</sup> Docente do curso de medicina veterinária, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas – IFAM – MANAUS/AMAZONAS – BRASIL. [jomel.santos@ifam.edu.br](mailto:jomel.santos@ifam.edu.br)

<sup>5</sup> Docente do curso de medicina veterinária, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas – IFAM – MANAUS/AMAZONAS – BRASIL. [paulo.filho@ifam.edu.br](mailto:paulo.filho@ifam.edu.br)

---

### Resumo

O objetivo desse trabalho foi identificar os agentes etiológicos da mastite e sua prevalência no rebanho leiteiro de Presidente Figueiredo, observando fatores de riscos e realização de exame bacteriológico. Foram coletadas 77 amostras de 147 vacas de quatro rebanhos leiteiros onde observou-se perda de 15 quartos mamários dos 588 examinados. Cinco animais apresentaram mastite clínica e 69 animais (46,94%), reação ao CMT, com 153 quartos positivos ao teste. Os gêneros isolados foram *Staphylococcus spp* (55,10%), *Streptococcus spp* (30,61%), *Corynebacterium spp* (6,12%), e Gram-negativas (8,16%). Os fatores de riscos estão ligados ao sistema de criação e higiene, bem como a prevalência, à resistência a antibióticos e hábitos de má higiene.

**Palavras-Chave:** Diagnóstico, Leite, Mamite.

### Abstract

The objective of this work was to identify the etiological agents of mastitis and its prevalence in the dairy herd of Presidente Figueiredo, observing risk factors and performing a bacteriological examination. A total of 77 samples were collected from 147 cows from four dairy herds, with loss of 15 mammary quarters of the 588 examined. Five animals presented clinical mastitis and 69 animals (46.94%), a reaction to CMT, with 153 positive rooms to the test. The isolated genera were *Staphylococcus spp* (55.10%), *Streptococcus spp* (30.61%), *Corynebacterium spp* (6.12%), and Gram-negative (8.16%). Risk factors are linked to the breeding and hygiene system, as well as prevalence, antibiotic resistance and poor hygiene habits.

**Keywords:** Diagnosis, Milk, Mammary.

## Introdução

Os Estados Unidos é o maior produtor de leite do mundo, seguido pela Índia, China, Rússia, Alemanha e o Brasil que se encontra como o quinto maior produtor do mundo (EMBRAPA, 2018). Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o Brasil possui um efetivo de 214,9 milhões de cabeças de bovinos (IBGE, 2018), destes, 19,68 milhões de vacas encontravam-se em lactação (EMBRAPA, 2018), produzindo 33,5 bilhões de litros ao ano (IBGE, 2017), o que colocou o país na quarta posição do ranking mundial de produção de leite. Já no ranking de produção leiteira por estados brasileiros e municípios do estado, o Amazonas encontra-se na 24º posição, tendo uma produção de 47.687 litros de leite por dia, e o município de Presidente Figueiredo na 16º posição com uma produção de 245.000 litros/mês, contribuindo, assim, para o desenvolvimento do PIB dos municípios amazonenses, principalmente no interior do estado (IBGE, 2016). Constatou-se que nos últimos 21 anos (1980-2001), a Amazônia contribuiu de 10% a 30% para o setor pecuário brasileiro(VEIGA et al., 2003).

A mastite bovina é uma doença comum em vacas leiteiras com grande impacto econômico global. A mastite é inflamação do úbere da vaca e é principalmente desencadeada pela invasão de patógenos, levando à redução da produção e qualidade do leite (HOGEVEN et al., 2011). Os patógenos encontrados no úbere são muitas vezes divididos em contagiosos e ambientais. Os agentes contagiosos estão bem adaptados à glândula mamária da vaca e se alastram, principalmente, de úberes infectados para úberes não infectados no momento da ordenha, pelo equipamento de ordenha e pelas mãos do ordenhador (MARTINS, 2012; HENNA et al., 2013). Em contrapartida, os agentes ambientais colonizam e se multiplicam facilmente no meio ambiente (ALMEIDA, 2017) e geralmente sua transmissão para o úbere se dá por essas fontes, principalmente entre as ordenhas, embora a transferência desses patógenos por meio do equipamento de ordenha também seja possível (LUNDBERG, 2015).

Os principais microrganismos causadores da mastite são bactérias, podendo ser colonizados também por algas e fungos leveduriformes. Embora várias espécies microbianas tenham sido isoladas a partir do úbere de vacas como, estreptococos e coliformes, o *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) é o agente infeccioso mais prevalente na mastite bovina e está relacionado com mais de 80% dos casos no mundo (PELLEGRINO et al., 2011). A mastite pode ser dividida em mastite clínica e subclínica, a ocorrência de mastite subclínica predomina sobre a forma clínica e sua prevalência atinge de 20% (rebanhos de alta produção) a 50% das vacas em lactação (rebanhos de baixa produção) (HOSSAIN et al., 2017).

As perdas econômicas resultantes da mastite clínica e, principalmente, da mastite subclínica em rebanhos leiteiros, podem acarretar em queda na produção com baixa qualidade do leite (ALMEIDA, 2017), altos custos em medicamentos e serviços veterinários, descarte precoce das vacas e aumento dos custos trabalhistas em mão-de-obra (RUEGG; REINEMANN, 2002). Objetivou-se identificar os principais agentes etiológicos causadores da mastite, bem como correlacionar a prevalência no rebanho leiteiro da bacia leiteira de Presidente Figueiredo, identificando os principais fatores de risco envolvidos na doença.

## **Material e métodos**

### **Amostragem**

O trabalho foi realizado no município de Presidente Figueiredo (Latitude 02° 02' 04"S, Longitude 60° 01' 30" W), no estado do Amazonas, região Norte do Brasil, totalizando quatro propriedades visitadas com aptidão e exploração leiteira.

Foram avaliadas vacas em lactação da raça Girolando e coletadas amostras de leite das vacas com reação ao teste da caneca de fundo escuro e ao teste do CMT para identificação dos casos de mastite clínica e subclínica, respectivamente.

Além desses, com o auxílio de um questionário epidemiológico, foram observados e coletados dados referentes aos animais, criação e manejo com o objetivo de identificar a influência desses fatores na prevalência de casos de mastite nas propriedades estudadas.

A pesquisa encontra-se com o parecer Nº 004/17 autorizado na Comissão de Ética em Uso de Animais (CEUA) da Universidade Nilton Lins.

### **Avaliação dos animais**

As vacas foram submetidas à inspeção e palpação da glândula mamária para detecção de alterações indicativas de mastite clínica. Em seguida, foi realizado o teste da caneca telada para a detecção de mastite clínica, utilizando-se os três primeiros jatos de leite, e, em seguida, o *California Mastitis Test* (C.M.T.) para a detecção de casos de mastite subclínica (SHARMA et al., 2010). Para ambos os testes foi realizada a correta lavagem prévia do teto com água e sabão e secagem com papel toalha.



Fig.01 Teste da caneca de fundo escuro ou telada com presença de grumos. Fonte: Souza, 2017.



Fig.02 Teste *California Mastitis Test*, com reação positiva em uma amostra de leite de quartos mamários. Fonte: Souza, 2017.

## Exame bacteriológico

Todas as amostras apresentaram Contagem de Células Somáticas (CCS's) elevadas e evidências de mastite clínica pelo teste da caneca de fundo escuro/telada. As CCS's no leite foram mensuradas através do teste CMT. Foram coletadas amostras de aproximadamente 5 mL de leite após prévia antisepsia do óstio do teto com álcool 70°GL e colocadas em tubos coletores estéreis devidamente identificados com informações referentes ao animal e ao quarto mamário avaliado e relativas às vacas, aos rebanhos, e condições clínicas foram registradas.

As amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas, contendo gelo reciclável e encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia da Universidade Nilton Lins, onde prosseguiram as análises bacteriológicas. As amostras de leite foram cultivadas em ágar base enriquecido com 5% de sangue ovino e incubadas em estufa microbiológica a 37°C. As leituras foram realizadas a cada 24 horas até completarem 72 horas de incubação para identificação de características morfológicas de suas colônias como: características hemolíticas, incluindo forma e arranjos da bactéria e morfotintoriais utilizando a técnica de Gram (QUINN et al., 2007).

As colônias isoladas no ágar-sangue foram observadas quanto à morfologia (cocos, bacilos, cocobacilos, etc.), arranjo, tamanho da colônia e presença de hemólise.

## Resultados

Observou-se que nas propriedades estudadas, realizavam ordenha mecânica, onde em apenas uma propriedade possuía linha de ordenha, com manejo sanitário adequado. As outras três propriedades não possuíam um manejo satisfatório.

Conforme apresentado no quadro 01, foram examinados um total de 147 vacas em lactação, perfazendo um total de 588 quartos mamários examinados, destes, observou perda de 15 quartos mamários (provavelmente em decorrência da mastite) totalizando uma porcentagem de 2,55% de quartos mamários inutilizáveis. Cinco animais (3,40%) apresentaram mastite clínica em 17 quartos mamários (2,97%) dos quartos examinados e 69 (46,94%) dos animais com reação ao CMT, com 153 quartos (26,70%) positivos ao teste CMT (47%).

**Quadro 01.** Fêmeas bovinas com e sem mastite de quatro propriedades rurais de produção leiteira na bacia leiteira do município de Presidente Figueiredo-AM, amostradas para o diagnóstico bacteriológico de mastite.

Propriedade	Nº de animais com mastite clínica	Nº de animais com mastite subclínica	Nº de animais com mastite
A	4	43	47
B	1	17	18
C	-	6	6
D	-	3	3
<b>TOTAL</b>	<b>5</b>	<b>69</b>	<b>74</b>

Do total da amostra, 76 quartos mamários (49,67%) foram positivos para reação de uma cruz ao CMT, 39 com reação de duas cruzes (25,49%) e 38 quartos com reação positiva para três cruzes (24,83%). Foram coletadas aleatoriamente 77 amostras, e destas, nove, foram observados crescimento bacteriano (11,84%), dezessete amostras com duas cruzes (43,58%) apresentaram desenvolvimento bacteriano e trinta e um amostras com três cruzes (81,57%) apresentaram cultura positiva para crescimento bacteriano, conforme mostrado no quadro 02.

**Quadro 02.** Relação dos quartos mamários reação positiva para o teste CMT e crescimento bacteriológico.

Reação CMT	Nº de quartos mamários positivos ao CMT	Crescimento bacteriológico (amostra)
+	76	9
++	39	17
+++	38	31
<b>TOTAL</b>	<b>153</b>	<b>57</b>

De 588 quartos mamários avaliados, observou-se que os quartos posteriores esquerdos (PE) apresentaram positividade ao teste da caneca telada em quatro quartos mamários e 37 ao teste CMT, o posterior direito (PD) apresentou cinco resultados positivos ao teste da caneca telada e 41 ao teste CMT, o anterior esquerdo (AE) apresentou quatro quartos positivos ao teste 10 da caneca telada e 36 positivos ao teste CMT e quatro quartos do anterior direito (AD) apresentaram teste positivo a caneca telada e 39, positivos para o teste CMT (quadro 03).

**Quadro 03.** Resultado dos quartos mamários avaliados positivos para o teste da caneca telada e o teste CMT.

Quartos mamários avaliados	Teste da caneca telada	CMT-positivo
Posterior Esquerdo - PE	4	37
Posterior Direito - PD	5	41
Anterior Esquerdo - AE	4	36
Anterior Direito - AD	4	39
TOTAL	17	153

Em um total de 42 colônias observadas, as principais bactérias isoladas nas amostras de leite foram: *Staphylococcus* spp. (55,10%), *Streptococcus* spp. (30,61%), *Corynebacterium* spp. (6,12%) e 8,16% das amostras com crescimento de bactérias gram-negativas, conforme o quadro 04.

**Quadro 04.** Resultado das amostras coletadas positivas para o crescimento bacteriano.

Bactérias isoladas no leite mastítico	Frequência relativa (%)
<i>Staphylococcus</i> spp.	55,10
<i>Streptococcus</i> spp.	30,61
<i>Corynebacterium</i> spp.	6,12
Bactérias gram-negativas	8,16
TOTAL	100

Duas vacas, sabidamente com mastite crônica, baseado em resultados de análise microbiológicas e tentativas a diversos tratamentos, apresentaram crescimento para *Staphylococcus* spp., demonstrando a importância desse agente nos casos de mastite com alta resistência microbiana. Entre as cepas hemolíticas encontradas, observou-se uma alta prevalência de *Staphylococcus* spp.

As bactérias do gênero *Streptococcus* spp. foram identificadas conforme a leitura das lâminas através da técnica de gram e ausência de produção da catalase.

**Quadro 05.** Resultado das amostras coletadas de vacas leiteiras das propriedades de Presidente Figueiredo-AM.

Lactocultura	Frequência Absoluta	Frequência Relativa (%)
Total de amostras de leite	77	100
Culturas negativas	19	25
Amostras contaminadas	1	1
Culturas mistas	9	12
Cultura pura	48	62

Notou-se uma alta prevalência de mastite neste estudo relacionado a ordenha mecânica. Com isso, observa-se o fator de risco relacionado a este procedimento. Outros fatores observados foram: o sistema de criação a pasto, processo de secagem dos tetos, não realização de desinfecção dos tetos antes e depois da ordenha, limpeza inadequada do equipamento entre uma vaca e outra e hábitos higiênicos inadequados dos ordenadores.

A prevalência de mastite foi maior em vacas das fazendas com pouca higiene, nas quais o ordenhador não fazia higienização das mãos e equipamentos da ordenha, não realizavam higienização das tetas dos animais antes das ordenhas, que daquelas propriedades com condições higiênicas intermediárias a relativamente boas.

## Discussão

A prevalência constatada neste estudo foi de (50,34%) dos animais com mastite subclínica. Esse achado está de acordo com o encontrado em estudos anteriores que observaram uma prevalência de mastite subclínica de 10% a 48,64% na espécie bovina (ACOSTA et al., 2016). Os principais agentes causadores de mastite nas diferentes regiões do Brasil, são os *Staphylococcus* spp., conforme vários autores (OLIVEIRA et al., 2013; ACOSTA et al., 2016).

Das 77 amostras positivas para o teste da caneca de fundo escuro e CMT-positivo, 67 (87%) foram bacteriologicamente positivas para a cultura, enquanto 10 (13%) foram bacteriologicamente negativas, o que está em linha com os resultados encontrados (OLIVEIRA et al., 2009). É importante salientar para os produtores que certo percentual (10-20%) de vacas amostradas para cultura bacteriana com base no escore do teste CMT não terão crescimento bacteriano devido a vários fatores. Isto é devido a diversos fatores, incluindo a raça das produtoras, estágio de lactação, distúrbios nutricionais, sazonalidade, infecções de curta duração que foram curadas pela vaca, infecções que são caracterizadas por eliminação intermitente de bactérias (*Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*), a administração de antibióticos, conferidas no questionário,

suprimindo, assim, os agentes bacterianos e inibindo seu crescimento no meio e a localização intracelular do patógeno (REBHUN, 2000; QUINN et al., 2007).

Os *Staphylococcus* spp. encontram-se permanentemente presente em rebanhos e produtos lácteos e foram as bactérias mais frequentemente isoladas (ACOSTA et al., 2016). No presente estudo, sua presença foi detectada em 55,10% dos quartos mamários com mastite clínica e subclínica. Resultados similares foram obtidos em outra pesquisa do país, que encontrou o gênero *Staphylococcus* spp. em 51,6% de casos clínicos e subclínicos de mastite (OLIVEIRA et al., 2011).

A glândula mamária é mais suscetível a uma nova infecção durante a fase inicial e a fase final da lactação, o que pode ser devido a uma redução na resposta imunológica do animal e à ausência do pré e pós-dipping, aumentando, por sua vez, o número de patógenos no teto (SANTOS, 2014).

A mastite é uma doença relacionada à uma boa gestão e monitoramento do rebanho, cuja prevenção e controle depende de práticas de manejo sanitárias corretas. É, principalmente, um resultado da interação combinada entre a exposição aos microrganismos, mecanismos de defesa natural da vaca e risco ambiental (SANTOS, 2014). A lactocultura deve ser enfatizada para auxiliar na resolução de problemas de mastite em rebanhos leiteiros. Resultados bacteriológicos quando usado em conjunto com o resultado presuntivo do teste CMT evidenciando aumento de células somáticas, aumentam a sensibilidade de detecção de vacas infectadas com mastite subclínica.

É importante estabelecer medidas de controle da mastite como: manter o animal em pé logo após a ordenha para que o tampão de queratina se forme e o canal do teto seja vedado impedindo a invasão da glândula mamária por microrganismos patogênicos, constituindo, assim, uma barreira física e química no período entre uma ordenha e outra. O tampão de queratina tem ação bacteriostática ou bactericida nos microorganismos (HOGAN, 1988).

O selante de teto interno é outra medida importante de controle no período seco da vaca, visto que 50% dos animais de alta produção não conseguem formar o tampão de queratina natural (SANTOS, 2012). Em conclusão, a mastite foi encontrada como um dos maiores problemas de produção de bovinos na área. As condições de higiene foi um importante fator de risco associado à mastite em vacas na bacia leiteira de Presidente Figueiredo-AM. Os *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Corynebacterium* spp. e a bactérias gram-negativas foram os agentes bacterianos mais importantes da mastite isolados nessa pesquisa. O teste indireto CMT associado a lactocultura, se mostrou importante no diagnóstico da mastite no rebanho leiteiro.

## Considerações finais

As bactérias mais frequentemente isoladas foram estafilococos, o que provavelmente é devido ao contínuo aumento da resistência aos antibióticos utilizados na terapia do rebanho e as más condições de higiene de quem trabalha diretamente na ordenha. O isolamento de três gêneros de microrganismos de 77 amostras de leite indica a origem plurietiológica da mastite.

## Referências bibliográficas

- ACOSTA A.C.; SILVA L.B.G.; MEDEIROS E.S.; PINHEIRO-JÚNIOR J.W; MOTA R.A. **Mastites em ruminantes no Brasil.** Pesquisa Veterinária Brasileira. Laboratório de Bacterioses dos Animais Domésticos. Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco. 2016.
- ALMEIDA R. A.; **Environmental mastitis. Dept. Animal Science. The University of Tennessee. Knoxville.** USA. Disponível em: <<http://www.mastitalia.org/mastitalia/documents/EnvironmentalMastitis.pdf>>. Acesso em: 9 nov. 2017.
- EMBRAPA. **Leite no Brasil e no mundo: aspectos socioeconômicos e ambientais** (Coronel Pacheco, MG). Coronel Pacheco, 2008. Disponível em: Acesso em: 10 jul. 2017.
- EMBRAPA: **Indicadores: Leite e Derivados.** – Ano 9, n. 78 (Maio/2018) – Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2018. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/176816/1/Indicadores-leite-78-Maio.pdf>>. Acesso em : 20 dez. 2018.
- HENNA H. ; KHAN A. A.; BANDAY M. T.; ASHRAF I.; HANDOO N.; BASHIR A.; HAMADANI A. **Bovine mastitis - a disease of serious concern for dairy farmers.** International Journal of Livestock Research ISSN 2277-1964. Jan. 2013. Disponível em: <<https://en.engormix.com/dairy-cattle/articles/bovine-mastitis-disease-serious-t36107.htm>>. Acesso em: 9 nov. 2017
- HOGAN, J.S. **Growth responses of environmental mastitis pathogens to long-chain fatty acids.** Journal of Dairy Science, v.71. 1988.
- HOGEVEN H.; HUIJPS K.; LAM T.J. **Economic aspects of mastitis: new developments.** N. Z. Vet J. 2011.
- HOSSAIN M.K.; PAUL S.; HOSSAIN M.M.; ISLAM M.R.; AND ALAM M.G.S. **Bovine mastitis and its therapeutic strategy doing antibiotic sensitivity test.** Austin Journal of Veterinary Science & Animal Husbandry. Bangladesh. 2017.
- IBGE: **Efetivo de Rebanhos, 2018.** Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939#resultado>>. Acesso em: 20 dez. 2018.
- IBGE: **Estatística da produção pecuária, 2016.** Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE, 2016. 74 p. Disponível em: Acesso em: 11 jul. 2017. IBGE: PPM 2017: Rebanho bovino predomina no Centro-Oeste e Mato Grosso lidera entre os estados. Disponível em: <<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-sala-de-imprensa/2013-agencia-de-noticias/releases/22648-ppm-2017-rebanho-bovino-predomina-no-centro-oeste-e-mato-grosso-lidera-entre-os-estados>>. Acesso em: 20 dez. 2018.

LUNDBERG Å. **Mastitis in dairy cows – Genotypes, spread, and infection outcome of three important udder pathogens.** Doctoral Thesis. Acta Universitatis agriculturae Sueciae. Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala. 2015.

MARTINS, J.D. **Estudo da etiologia das principais bactérias isoladas de mastite bovina em rebanhos leiteiros de propriedades rurais de Goiás.** 2012. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás. Goiânia – GO, 2012.

OLIVEIRA A.A.; MELO C. B.; AZEVEDO H. C. **Diagnóstico e determinação microbiológica da mastite em rebanhos bovinos leiteiros nos tabuleiros costeiros de Sergipe.** Ciência Animal Brasileira, v. 10. 2009.

OLIVEIRA C.M.C. SOUSA M.G.S.; SILVA N.S.; MENDONÇA C.L.; SILVEIRA J.A.S.; OAIGEN R.P.; ANDRADE S.J.T.; BARBOSA J.D. **Prevalência e etiologia da mastite bovina em rebanhos leiteiros na região de Rondon do Pará, estado do Pará.** Pesquisa Veterinária Brasileira. Faculdade de Medicina Veterinária, Campus Castanhal, Universidade Federal do Pará. 2011.

OLIVEIRA, J. L. P. de; KOZERSKI, N. D.; SILVA, D. R.; SILVA, A. V.; MARTINS, L. de. A.. **Fatores de risco para mastite e qualidade do leite no município de Altônia –PR.** Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR, Umuarama. 2013.

PELLEGRINO, M.S.; FROLA, I.D.; ODIERNO, L.M.; BOGNI, C.I.C.I. **Mastitis bovina: resistencia a antibióticos de cepas de Staphylococcus aureus aisladas de leche.** Revista Eletrônica de Veterinária – ISSN 1695-7504, v.12, n.7, 2011. Disponível em: Acesso em: 6 ago. 2017.

QUINN, P.J. MARKEY B.; CARTER M.E.; CARTER G.R.; DONELLY W. J.; LEONARD F. C. **Causas bacterianas de mastite bovina.** Microbiologia veterinária e doenças infecciosas. Porto Alegre, 2007. 451p.

QUINN, P.J. MARKEY B.; CARTER M.E.; CARTER G.R.; DONELLY W. J.; LEONARD F. C. **Diagnóstico Laboratorial de doenças bacterianas.** Microbiologia veterinária e doenças infecciosas. Porto Alegre, 2007. 37p.

REBHUN, W.C. **Doenças do gado leiteiro.** São Paulo: Roca, 2000.

RUEGG P. L., REINEMANN D. J. **Milk Quality and Mastitis Tests.** University of Wisconsin, Madison, 2002.

SANTOS M. V. **Mastite no período de transição.** Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. São Paulo. 2014.

SANTOS M. V. **Período seco: A hora do controle.** Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. São Paulo. 2012.

SHARMA N. V.; PANDEY; SUDHAN. N. A. **Comparison of some indirect screening tests for detection of subclinical mastitis in dairy cows.** Bulgarian Journal of Veterinary Medicine. India. 2010.

VEIGA J. B.; TOURRAND J.F.; POCCARD-CHAPUIS R.; PIKETT M.G. **Cattle ranching in the amazon rainforest.** Embrapa-Cirad Cooperation Program. XII World Forestry Congress, Québec city, Canadá, 2003.

Recebido em 04/01/2019

Aceito em 24/01/2019

# Revista Agrária Acadêmica

*Agrarian Academic Journal*

Volume 2 – Número 1 – Jan/Fev (2019)

---

doi: 10.32406/v2n12019/103-123/agrariacad

## **A construção dos mercados de qualidade do cacau no Brasil**

Construction of cocoa quality markets in Brazil

Katianny Gomes Santana Estival<sup>1</sup>, Solange Rodrigues Santos Corrêa<sup>2</sup>, Diego Pierotti Procópio<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Doutora em Ciências Sociais, Desenvolvimento e Agricultura pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e Professora Adjunta da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC) – Ilhéus/BA. E-mail: [ksgestival@uesc.br](mailto:ksgestival@uesc.br)

<sup>2</sup> Doutora em Ciências Sociais, Desenvolvimento e Agricultura pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e Professora Adjunta da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC) – Ilhéus/BA. E-mail: [srscorrea@uesc.br](mailto:srscorrea@uesc.br)

<sup>3</sup> Mestre em Economia pela Universidade Federal de Viçosa e Professor Auxiliar Nível 1A do Departamento de Zootecnia e Extensão Rural da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT) – Cuiabá/MT. E-mail: [diego\\_pierottivrb@yahoo.com.br](mailto:diego_pierottivrb@yahoo.com.br)

---

### **Resumo**

O artigo proposto apresenta a história da construção dos mercados de qualidade do cacau no Brasil (superior, fino, orgânico e sustentável) entre os anos de 1942 a 2012 com o objetivo de identificar quem são os atores, as organizações e as práticas presentes no processo histórico de construção dos mercados. A metodologia utilizada teve como base as pesquisas bibliográfica e documental que foi realizada no período de 2011 a 2013. Os resultados apontaram a necessidade da profissionalização, do estabelecimento de redes de cooperação entre os atores da cadeia produtiva do cacau no Brasil e a demanda por políticas, programas e projetos governamentais e não governamentais para subsidiar o alcance das condições para o acesso dos produtores aos mercados de qualidade das amêndoas do cacau.

**Palavras chave:** Qualidade, Cacau, História, Mercado, Brasil.

### **Abstract**

The paper presents the history of the construction of quality cocoa markets in Brazil (top, fine, organic and sustainable) between the years 1942 to 2012 with the aim of identifying who are the actors, organizations and practices present in the process historic building markets. The methodology used was based on bibliographic and documentary research and was held in the period from 2011 to 2013. The results indicate the need for professional training, the establishment of cooperation networks between the actors of the supply chain and the demand for policies, programs and projects governmental and non-governmental organizations to support the scope of the conditions for access of producers to the quality of cocoa beans markets.

**Keywords:** Quality, Cocoa, History, Market, Brazil.

## Introdução

No desenvolvimento dos sistemas agroindustriais, assim como outras *commodities*, o sistema agroindustrial do cacau enfrenta novos desafios relacionados ao aumento da produtividade, inovação e qualidade, frente ao crescimento e diversificação das demandas dos mercados consumidores mundiais de chocolates e produtos à base de cacau (manteiga de cacau e pó de cacau).

As mudanças ocorridas no sistema produtivo do cacau tornaram necessária a visão da integração do sistema de produção convencional à visão da cadeia de valor do cacau e chocolates. A cadeia global de valor do cacau chocolate segue a tendência da competição bipolar, segundo Barrientos e Okyere-Asenso (2009) e Fold (2002), caracterizada pelo domínio do poder de barganha dos processadores de cacau e das indústrias de chocolates na estrutura da cadeia.

A produção mundial de amêndoas de cacau para o ano safra 2013/14 esteve distribuída principalmente em Costa do Marfim (39%), Gana (20%), Indonésia (10%), Nigéria (6%), Camarões (5%), Brasil (5%) e Equador (5%) (ICCO, 2016). Segundo IBGE (2017), a produção brasileira em 2015 esteve concentrada principalmente para o estado da Bahia, com 56,1% do total nacional, seguidos dos estados de Pará (38,7%), Rondônia (2%) e Espírito Santo (2%).

No mercado externo, a partir do século XXI, o país começa a se destacar e a participar dos mercados de qualidade do cacau e chocolate, com a produção e reconhecimento do cacau fino e de aroma brasileiro, através das participações e premiações em eventos internacionais como o Salão de Chocolate de Paris e a efetivação de parcerias com renomados chocolateiros do mercado gourmet mundial. Além da inserção nos mercados de qualidades do cacau com as certificações: orgânicos e sustentáveis (*Fair for Life* e *Rainforest Alliance*) – a partir do ano de 2004 e da Identificação de Procedência do Cacau de Linhares – Espírito Santo alcançada em 2012.

No contexto apresentado, o objetivo geral do trabalho é analisar a história da construção dos mercados de qualidade do cacau no Brasil entre os anos de 1942 a 2012 a partir da pesquisa bibliográfica e documental realizada entre os anos de 2011 a 2013. Pretende-se que os resultados obtidos possam ser utilizados como ferramentas para o delineamento de políticas, projetos e programas para a ampliação da participação dos produtores nos mercados de qualidade do cacau.

## Revisão bibliográfica

### Sistemas agroindustriais e agroalimentares

Na literatura alguns conceitos foram propostos com o intuito de buscar um só utilizados para um melhor entendimento da dinâmica do setor agropecuário, como é o caso de Sistema Agroindustrial e Sistema Agroalimentar. No estudo de Batalha e Silva (2011), o termo Sistema Agroindustrial é definido como o conjunto de atividades de concorrem para a produção de produtos agroindustriais, que vai desde a distribuição de insumos básicos para as propriedades rurais até a distribuição do produto final aos consumidores. Vale ressaltar que este conceito não está associado a nenhum tipo de matéria-prima base ou produto final específico.

Além disso, o Sistema Agroalimentar é relacionado apenas com as firmas produtoras de alimentos, diferentemente do Sistema Agroindustrial, que engloba as indústrias alimentícias e também as que produzem madeira, fibras vegetais, couro e dentre outros produtos vinculados ao setor agropecuário (ROSSI *et al.*, 2004). Zylbersztajn e Giordino (2015) ressaltam que na abordagem de Sistemas Agroindustriais, é necessária uma avaliação de quatro elementos fundamentais: (i) Setores produtivos; (ii) Ambiente Institucional; (iii) Ambiente Organizacional; e, (iv) Transações.

Na abordagem dos setores produtivos são discutidas temáticas relacionadas com as estruturas de mercado observadas entre os agentes econômicos que compõem a cadeia produtiva<sup>1</sup>, padrões de concorrência e a identificação de firmas dominantes. Vale ressaltar, que a estrutura de mercado, explica em grande parte os conflitos distributivos existentes no setor agropecuário, que estão relacionados principalmente com a interação do produtor rural no processo de compra dos insumos básicos produtivos e na comercialização dos produtos com as agroindústria (ZYLBERSZTAJN e GIORDINO, 2015).

Para North (1991), as instituições são definidas como as normas legais formalizadas e informais que são estabelecidas entre os agentes econômicos que compõem a sociedade. Zylbersztajn e Giordino (2015) relatam que as organizações são classificadas como estruturas criadas que permitem o funcionamento do Sistema Agroindustrial e podem ser representadas por entidades de ações coletivas, como cooperativas e/ou associações de produtores rurais, entidades de pesquisa, universidades, agentes certificadores especializados e/ou agentes financiadores.

As transações são definidas como as relações especializadas estabelecidas entre os agentes que compõem determinado tipo de setor econômico. Esse tipo de relacionamento pode ser

<sup>1</sup> Batalha e Silva (2011) relatam que a cadeia produtiva é definida a partir da identificação de um produto final específico. Ou seja, são todos os agentes econômicos que participam no processo produtivo do produto, que vai desde as indústrias que fornecem os insumos até a distribuição ao consumidor final.

caracterizado como um tipo de mecanismo de troca de direitos de propriedade, com o objetivo de geração de valor (ZYLBERSZTAJN e GIORDINO, 2015).

Se um ambiente apresentar custos de transação nulo, o mecanismo de sistema de preços é suficiente para a realização adequada dos recursos produtivos no sistema econômico. No entanto, na sociedade contemporânea a maior parte dos processos de negociação existentes entre os agentes econômicos são caracterizados principalmente pela existência de assimetrias informacionais, comportamento oportunista e quebras contratuais, fatores esses que contribuem para a existência de custos de transação positivos (ZYLBERSZTAJN e GIORDINO, 2015). Para Barzel (1982), os custos de transação podem ser definidos como os custos de proteção do direito de propriedade durante o processo de negociação.

A representação de um Sistema Agroindustrial e/ou Agroalimentar pode ser expressa na Figura 1.

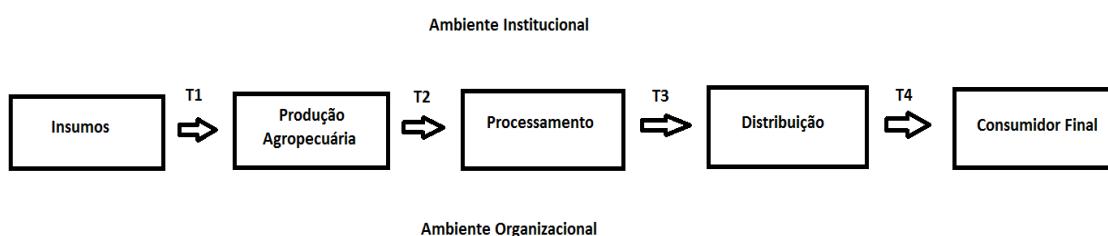


Figura 1. Representação de um Sistema Agroindustrial e/ou Agroalimentar.  
Fonte: Adaptado de ZYLBERSZTAJN e GIORDINO (2015).

Na Figura 1, o Sistema Agroindustrial e/ou Agroalimentar então é representado por todos os agentes econômicos que participam do processo de produção e comercialização do produto agropecuário, que são: (i) Indústrias Fornecedoras; (ii) Produtores rurais; (iii) Indústrias de Processamento (Agroindústrias); (iv) Empresas de distribuição (Atacado e Varejo); e, (v) Consumidor Final. Além disso, destacam-se também os tipos de relações que são estabelecidas entre os agentes que compõem a cadeia produtiva, que são representadas por T1, T2, T3 e T4. Bem como os ambientes institucional e organizacional que auxiliam o funcionamento do sistema.

### **Valor e qualidade nos sistemas agroalimentares**

O conceito de valor é associado com a disposição dos consumidores a pagarem pelos bens/serviços que uma empresa oferta ao mercado. O valor dos produtos ou serviços é estabelecido

com base na percepção do benefício agregado no uso desse produto ou serviço para os consumidores finais (PORTER, 1999).

A geração de valor em produtos tende tornar as empresas mais competitivas em relação às concorrentes (PORTER, 1999). A competitividade é definida por Sandroni (1999) como a capacidade das empresas produzirem bens/serviços com qualidade e custos baixos que lhe permitam concorrer de forma igual ou vantajosa no mercado. Já Spers (2015) relata que a qualidade de um produto pode ser classificada como um ou o conjunto de atributos que são incorporados ao produto/serviço que atenda à necessidade do consumidor final.

Nos mercados agropecuários os valores agregados aos produtos estão relacionados com questões relacionadas com segurança alimentar, sustentabilidade, direitos humanos e bem-estar animal (WILKINSON, 2010). Para Spers (2015), a criação de valor em sistemas agroalimentares depende diretamente do esforço conjunto de todos os agentes que compõem a cadeia produtiva do produto em questão.

Nessa perspectiva de geração de valor em sistemas agroalimentares, relata-se o conceito de cadeia de valor. O conceito de cadeia de valor foi proposto por Porter (1999), que atribuiu à importância das empresas adotarem estratégias que proporcionasse a criação de mais valor para os bens/serviços aos clientes finais. Shank e Govindarajan (1997) definem a cadeia de valor como o conjunto de atividades criadoras de valor que são incorporadas por todos os agentes componentes de uma cadeia produtiva, desde os fornecedores até a distribuição do produto ao consumidor final.

Spers (2015) relata que a avaliação de qualidade nos sistemas agroalimentares deve ser realizada a partir de todos os componentes, que são: (i) segmentos (fornecedores, produção agropecuária, indústrias de processamento, atacado, varejo e consumidor final); (ii) ambiente organizacional; e, (iii) ambiente institucional. Para o autor, a garantia de um atributo que atenda a necessidade do consumidor final, depende o esforço conjunto de todos os componentes da cadeia produtiva.

A competitividade e a concentração de poder entre grupos de atores que atuam nas cadeias produtivas estão acentuadas e têm implicações para as questões de acesso as cadeias de valor do agronegócio com o aumento das barreiras à entrada principalmente para os pequenos produtores, pois para que obtenham retorno financeiro, necessitam atingir padrões mínimos de competitividade semelhantes aos exigidos para os demais atores que atuam nas atividades da cadeia produtiva. Há a necessidade do delineamento de estratégias para compensar a concentração do poder de barganha e favorecer a distribuição mais igualitária do retorno financeiro entre os atores da cadeia, principalmente entre os produtores, através do desenvolvimento de marcas regionais, indicações

geográficas, criação de produtos de nicho e canais alternativos de comercialização (HUMPRHREY, 2005)

## **Metodologia**

Para que o objetivo proposto possa ser alcançado, o método a ser utilizado nessa pesquisa será de natureza qualitativa. As técnicas a serem utilizadas serão as pesquisas bibliográfica e documental. Para Gil (2009), a pesquisa bibliográfica possui a função de resgatar o que já foi publicado sobre o tema estudado, e a análise é realizada principalmente em livros, artigos científicos e anais de congressos. Através da pesquisa bibliográfica buscará ser possível analisar e identificar as publicações nacionais que abordassem os mercados de qualidade do cacau no contexto brasileiro no período de 1942 a 2012.

A pesquisa documental possui a finalidade de obter informações sobre a temática em base de informações que estejam fora do ambiente acadêmico. Fonseca (2002) ressalta que a pesquisa documental recorre à fonte de informações mais diversificadas, como por exemplo, tabelas estatísticas, jornais, revistas, relatórios, documentos oficiais e dentre outras bases de informações que tratam da temática em questão.

Com isso, através da pesquisa documental buscou-se obter informações sobre a evolução e funcionamento do mercado de qualidade do cacau no Brasil através da consulta em jornais, revistas, sites de organizações públicas, privadas e não governamentais que atuam na cadeia produtiva do cacau, grupos virtuais de discussão sobre o segmento produtivo do cacau e chocolate no Brasil e Mundo, atas e documentos da Câmara Setorial da Cadeia Produtiva do Cacau do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e informações de fontes secundárias de entrevistas com atores da cadeia produtiva do cacau (representantes institucionais, técnicos e especialistas, empresários, entre outros).

## **Resultados e discussão**

### **Caracterização dos mercados de qualidade do cacau no Brasil**

Com base nos estudos de Lyrio (2012) e Estival (2013), algumas análises e discussões são apresentadas sobre os mercados de qualidade e certificações do cacau no país. No Brasil, existem diferentes tipos de classificações atribuídas à produção de amêndoas de cacau, que são: (i) cacau

convencional; (ii) cacau fino ou de aroma; (iii) cacau orgânico; (iv) cacau com certificação de sustentabilidade; e, (v) cacau com indicação de origem – como é o caso do selo de Indicação de Procedência do cacau Linhares – Espírito Santo

O cacau convencional que representa 97% do cacau produzido no Brasil (PWC, 2012), é o cacau produzido a partir do sistema tradicional de produção, com amêndoas classificadas pelos critérios mínimos estabelecidos através da Instrução Normativa número 38 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento de 23 de junho de 2008, que estabelece o regulamento técnico da amêndoa de cacau definindo o padrão oficial de classificação, com os requisitos de identidade e qualidade, a amostragem, o modo de apresentação e a marcação (rotulagem).

Em relação ao cacau fino ou de aroma é definido como uma variedade específica que produz amêndoas de sabor e cor padronizados. Este tipo de cacau é produzido pelas nações inclusas na lista do Acordo Internacional do Cacau que foi estabelecido no ano de 2010 (ICCO, 2017). Para Mororó (2012), esse é o tipo de cacau proveniente das variedades Criollo e Trinitário, como por exemplo, o “nacional” do Equador (notas florais), cacau “*porcelana*” da Venezuela (notas de mel e de caramelo) e o Criollo do México.

Para Mororó (2012), o Brasil passa a ser produtor e exportador de cacau fino devido à existência e aceitação do mercado de outros dois conceitos: (i) a indústria aceita como cacau fino as amêndoas que resultarem em aroma e características originais de sabor, como é o caso do aroma delicado e típico de alguns tipos de cacau (aroma frutal, floral, madeira, amendoado e dentre outros); e, (ii) pesquisadores dos segmentos de cacau e chocolates classificam como cacau fino as amêndoas que apresentam o chamado aroma de constituição (presente nas amêndoas frescas) e/ou aroma de fermentação, que aparece durante o período de beneficiamento primário.

O cacau é classificado como orgânico quando seguem de maneira rigorosa as normas estabelecidas pelas organizações certificadoras e, em relação ao comércio internacional, é necessário respeitar a legislação dos países importadores (LYRIO, 2012; ESTIVAL, 2013). De acordo com o FVPP (2011), o cacau com certificação de sustentabilidade produzido no Brasil tem como principal destino o abastecimento do mercado europeu.

O cacau com indicação geográfica é identificado através do selo de origem ou de procedência emitido após avaliação de processo submetido ao INPI (Instituto Nacional da Propriedade Industrial). No sul da Bahia sugue em andamento o processo de indicação geográfica da procedência e origem do cacau, processo conduzido pelo Instituto CABRUCA e APC (Associação dos Produtores de Cacau).

O município de Linhares no Espírito Santo, através do trabalho da ACAL (Associação dos

Cacaueiros de Linhares) obteve em 2012 o selo de indicação de procedência do cacau de Linhares – Espírito Santo. Na Tabela 1 são apresentadas algumas informações sobre o mercado de qualidade de amêndoas de cacau no Brasil para o ano de 2012.

Tabela 1. Cenário dos mercados de cacau de qualidade

<b>Tipo de cacau</b>	<b>Produção em relação ao total nacional (%)</b>
Cacau convencional	97
Cacau fino	1
Cacau orgânico	1
Cacau com certificação de sustentabilidade	1

Fonte: PWC Agribusiness Research and Knowledge Center (2012).

Na Tabela 1 são apresentadas algumas informações sobre a produção brasileira de cacau, destaca-se que a concentração para o tipo convencional, com 97% do total nacional. Para os demais tipos, o fino, orgânico e com certificação de sustentabilidade, juntos representam apenas 3% do que é produzido no país.

### **Desenvolvimento dos mercados de qualidade do cacau no Brasil**

Os mercados agropecuários se assemelham do tipo de estrutura de mercado de Concorrência Perfeita por meio de algumas características, como é o caso do elevado número de empresas atuando num determinado setor econômico. Essa realidade implica na incapacidade do empresário de exercer algum tipo de influência na determinação do preço do bem/serviço, sendo ele considerado um “*tomador de preço*”. O preço do produto será determinado a partir da interação das curvas de Demanda e de Oferta, que resulta na situação de Equilíbrio de Mercado.

Em relação à formação de preço do cacau do mercado internacional, ele é determinado na Bolsa de Valores de Nova York. As variações de preços de compra no mercado do cacau convencional ou *bulk* podem atingir até 10% acima do valor determinado pela Bolsa de Valores, quando o produto (amêndoas de cacau) apresenta critérios de qualidade acima dos critérios mínimos definidos pelos compradores. Esta situação foi observada durante a realização da pesquisa de campo, na relação entre produtores e compradores de cacau do Espírito Santo, município de Linhares, aonde o cacau classificado como tipo I de acordo com a Instrução Normativa número 38 (BRASIL, 2008). Nessa situação, os produtores receberam prêmios de até 20% sob o valor pago pelo quilo do cacau convencional classificado com qualidade inferior.

No processo de comercialização da amêndoas do cacau de qualidade (fino e/ou aroma e orgânico), o pagamento dos prêmios pode atingir até um patamar de 100% do preço que é determinado pela Bolsa de Valores de Nova York. Essa situação é comum na relação estabelecida entre produtores rurais do Sul da Bahia e compradores das amêndoas de cacau fino e de aroma localizados principalmente no mercado europeu.

Sobre as características sociais dos promotores do mercado de qualidade do cacau na Bahia, pode-se afirmar que a diferenciação da qualidade das amêndoas de cacau é identificada como uma prática existente desde os primórdios da produção cacaueira.

Conforme Brasil (1942), os Documentos como o Acordo Complementar ao Acordo do Cacau, celebrado por troca de notas em 3 de outubro de 1942, entre Brasil e Estados Unidos da América, afirma a existência de pagamento diferenciado na entrega de lotes de cacau classificados como *good quality* superior cacau da Baía e *good fair* (referente ao cacau usual), conforme a seguinte passagem: “[...] As entregas serão da usual qualidade “*good quality superior*” cacau da Baía, sendo que da quantidade total adquirida, nunca mais que 10% poderá ser da qualidade usual “*good fair*”, ao preço de \$6,20 por 100 libras FOB (navio)[...].” (BRASIL, 1942, p.1).

Na obra de Jorge Amado (1934) constata-se uma visão preliminar da qualidade no processo produtivo de cacau no país, ao relatar que o cacau *good* vendia-se dois mil-reis mais barato a arroba. A comercialização do cacau era subdividida em *cacau good fair* (qualidade inferior, com presença de mofo) e *cacau good quality superior* (devidamente fermentado e seco, com ausência de mofo).

O processo de diferenciação da qualidade das amêndoas de cacau ocorreu até a ocorrência da “*crise da vassoura de bruxa*” na década de 1980, quando se verificava preços diferenciados pagos ao cacau classificado como “*Cacau Bahia Superior*”. A partir do ano 2000 com a inserção do Brasil nos mercados de qualidade do cacau (fino e orgânico), o mercado de amêndoas de cacau passa a ser caracterizado pela possibilidade de diferenciação do produto (amêndoas de cacau) e reconhecimento por parte do mercado comprador de cacau como detentor de atributos, variáveis e valor adicional do cacau fino e orgânico produzido no país.

Os fatores determinantes da qualidade do cacau produzido no Brasil estão associados à origem, rastreabilidade, certificações – orgânicos, Rainforest Alliance, Fair for Life, sustentabilidade, indicação geográfica e dentre outras formas de diferenciação, como por exemplo, a produção do cacau no sistema agroflorestal cabruca (produção de cacau que mantém a cobertura nativa florestal com o sombreamento de árvores da mata Atlântica brasileira junto aos cacaueiros).

Com relação à regulamentação do sistema agroflorestal do cacau produzido no sistema cabruca no Brasil, segue em tramitação a proposta de criação e implementação de selos verdes para o Cacau Cabruca e Cacau Amazônia (BRASIL, 2012), com o objetivo de agregar valor a essa forma de cultivo e exploração da agricultura que possui cerca de 250 anos. De acordo com a Lei de Criação do Selo Verde Cabruca, o objetivo da manutenção do sistema agroflorestal é conservar a diversidade ecológica e os valores associados a esse tipo de prática produtiva, bem como os recursos hídricos, solos, ecossistemas e paisagens frágeis e singulares. Objetiva-se com essa medida o aproveitamento das funções ecológicas da floresta e a realização de uma exploração de maneira sustentável, desde que não descaracterize a cobertura vegetal existente e não prejudique a função ambiental da área (BRASIL, 2012).

Além da demanda por certificações, da necessidade do atendimento aos padrões e normas para o processamento, produção e adequação do produto, a qualidade do cacau também pode ser associada a sua origem geográfica. Exemplo da distinção associada à origem do cacau já pode ser observado no caso do município de Linhares (Espírito Santo), que em outubro de 2012 obteve o primeiro selo de indicação geográfica do cacau entregue à Associação dos Cacaueiros de Linhares (ACAL) pelo Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI).

Com relação à fluidez do mercado, a entrada no segmento da produção, processamento e comercialização do cacau depende de uma série de fatores, tais como:

- (i) Domínio das técnicas de seleção de sementes, clonagem, manejo, colheita e beneficiamento (dentro da porteira);
- (ii) Articulação entre atores da cadeia de valor (necessidade do estabelecimento de relações de confiança – existência de poucas relações contratuais entre produtores e compradores de cacau, o que demanda a construção de relações sociais e habilidades de negociação);
- (iii) O mercado das empresas compradoras das amêndoas de cacau (empresas intermediárias, partidistas e processadoras de cacau) compra todo o tipo de produção ofertada independente da qualidade. Apesar da exigência de critérios mínimos para a compra, caso o produto ofertado não atenda aos critérios (com base na Instrução Normativa 38 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA), a compra é efetuada com a aplicação de deságio sobre os preços pagos;
- (iv) Para a competitividade, os produtores de cacau necessitam ter acesso ao capital para a realização de investimentos que permitam a aquisição tecnologias de produção e processamento que favoreçam o aumento da produtividade e a melhoria da qualidade do cacau;
- (v) Os produtores de grande e médio porte que conseguem maior escala de produção e garantia de regularidade para o abastecimento das compradoras, adquirem a capacidade de

exercerem maior poder de negociação junto aos compradores, mesmo que os preços de mercado sejam determinados pela Bolsa de Valores de Nova York;

(vi) Os agricultores familiares são desfavorecidos no poder de barganha com os compradores por exercerem principalmente a comercialização individual do cacau e não possuírem regularidade na qualidade e quantidade do fornecimento;

(vii) No caso dos produtores de cacau da Bahia, o alto grau de endividamento no contexto pós “vassoura de bruxa”, bloqueia o acesso aos financiamentos para investimentos em melhorias da produção; e,

(viii) Os conhecimentos sobre o funcionamento e dinâmicas do mercado do cacau e chocolates favorecem a ampliação das redes de comercialização e consequentemente a ampliação das vantagens competitivas.

O conhecimento e o acesso às informações na cadeia de valor do cacau e chocolate podem ser diretamente relacionados quanto ao nível de qualificação dos produtores e gestores das unidades produtivas. Quanto maior for o nível de qualificação dos produtores rurais, melhores perspectivas e presença de habilidades que permitam uma maior participação no mercado concorrencial. Dessa forma, destaca-se a importância de políticas de Assistência Técnica e Extensão Rural (ATER) a essa classe de produtores rurais com o intuito de promover uma difusão de tecnologia e técnicas produtivas mais adequadas à realidade do estabelecimento rural que produz cacau.

Sobre a transparência do mercado e o acesso dos agentes econômicos às informações sobre quantidades, qualidades e preços, ao avaliar as informações obtidas junto aos produtores de grande, médio e agricultores familiares, compradores, indústrias processadoras e organizações (públicas e não governamentais) é possível constatar que o mercado do cacau chocolate não pode ser classificado como transparente.

Pode-se estabelecer uma relação entre a qualificação dos agentes econômicos e o grau de articulação entre os demais atores da cadeia de valor, o que poderia favorecer o acesso às informações de mercado de forma diferenciada. Verifica-se que os grandes e médios produtores analisados na pesquisa, apesar de não participarem ativamente de cooperativas para a compra de insumos e comercialização do cacau, participam de associações e estruturas coletivas com o objetivo de discussão e desenvolvimento de propostas para a resolução de problemas setoriais.

Como exemplos das formas coletivas de articulação política executadas através de organizações e grupos que atuam na cadeia de valor do cacau no Brasil foram identificadas:

(1) Instituto Pensar Cacau – IPC: criado no ano de 2011 por um grupo de cafeicultores do sul da Bahia. Os objetivos desta organização são:

[...] I – Reconhecimento formal por parte do Governo de que a Região Cacaueira da Bahia e o povo que nela vive são vítimas de um ato criminoso que introduziu e disseminou a vassoura-de-bruxa na região.

II – Desconstituição, anulação ou inexigibilidade das dívidas da cacauicultura baiana, geradas ou não pagas em razão da introdução e disseminação da doença vassoura-de-bruxa na lavoura cacaueira da Bahia, bem como em razão da aplicação dos programas oficiais pelo Poder Público.

III – Reparação de todos os danos causados aos cacauicultores em razão da introdução e disseminação da doença vassoura-de-bruxa na lavoura cacaueira da Bahia, bem como daqueles causados em razão da aplicação dos programas oficiais pelo Poder Público. [...] (IPC, 2013, p.3)

Dentro dos objetivos do Instituto Pensar Cacau (IPC), foi produzido e divulgado o documentário vídeo intitulado de “*O Nó*”, que busca afirmar através de depoimentos de especialistas e cacauicultores que a praga agrícola da “*vassoura de bruxa*”, responsável pelo devastamento da produção cacaueira na região Sul da Bahia no final da década de 1980, foi introduzida de forma criminosa e devido à omissão da CEPLAC (Comissão Executiva do Plano de Lavoura Cacaueira) no Programa de Recuperação da Lavoura Cacaueira.

(2) Associação dos Produtores de Cacau – APC: com sede em Ilhéus/Bahia, é composta por produtores de grande e médio porte tem como objetivo defender os interesses da cacauicultura e promover o debate dos temas socioeconômicos e ambientais das regiões cacaueiras.

(3) Lista do cacau: grupo de discussões virtual que tem como objetivo discutir problemas do segmento entre os cacauicultores e divulgar informações do setor.

(4) Diálogos do cacau: esforço coletivo de organizações ambientais, sócio-ambientais, órgãos governamentais de ensino, pesquisa e extensão, agricultores familiares, sindicatos rurais e representantes dos produtores de cacau, para tratar de assuntos ligados à cadeia produtiva e as demandas atuais por um ambiente equilibrado para as atuais e futuras gerações. Com a missão de: “*Valorizar o Sistema Cabruca e a conservação da Mata Atlântica, promovendo a sustentabilidade social, ambiental, econômica e cultural da região cacaueira.*” Foram realizados eventos abertos à comunidade em geral para discussão das temáticas que envolvem a produção cacaueira e sustentabilidade no período de 2008 a 2010.

(5) Site Mercado do Cacau: site criado em 2011 com o objetivo de difundir as práticas do agronegócio e transações ligadas diretamente ao mercado do cacau. Apresenta artigos de discussão da problemática do segmento escritos por produtores e especialistas do setor cacaueiro da região Sul da Bahia.

(6) Câmara Setorial da Cadeia Produtiva do Cacau: com sede no Ministério da Pecuária, Agricultura e Abastecimento (MAPA), conta com a participação de atores que atuam no segmento da cacauicultura (empresas, organizações não governamentais, órgãos governamentais, universidades) para a discussão de questões estratégicas que contribuam com o desenvolvimento do mercado do cacau. No ano de 2010 com a participação dos atores foi construída a agenda estratégica para o período de 2010 a 2015 para o segmento.

Na agricultura familiar, principalmente nos assentamentos rurais, verifica-se que apesar da existência de associações em cada assentamento, há baixo grau de articulação dos produtores para ações coletivas. Tanto a compra de insumos agrícolas quanto a comercialização, constata-se que na maior parte das vezes esses tipos de ações ocorrem de maneira individualizada.

Os movimentos políticos conduzidos pelo INCRA (Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária), Organizações Não Governamentais e Cooperativas, como a COOFASULBA (Cooperativa de Desenvolvimento Sustentável da Agricultura Familiar do Sul da Bahia), onde 40% dos cooperados são produtores do movimento da reforma agrária, mas identifica-se que o grau de articulação entre os grupos dos assentamentos para a resolução de problemas setoriais pode ser considerado baixo.

As questões mais discutidas por este grupo são: acesso à terra, conflitos ambientais, necessidade de melhoria das condições de vida e trabalho (saneamento básico, transporte, educação), acesso a programas governamentais para inserirem-se na comercialização como o Programa de Aquisição de Alimentos (PAA), Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE) e aos programas de crédito agrícola (Banco do Nordeste e Banco do Brasil).

A inserção dos produtores de cacau brasileiros nos mercados de qualidade do cacau fino e/ou aroma e orgânicos é datada na Bahia a partir do ano 2000, através da mobilização de um produtor de origem francesa que atuava também como correspondente de *l'Académie Française du Chocolat* junto aos produtores de cacau da região Sul da Bahia com o objetivo de divulgar e capacitar os produtores sobre as técnicas de produção e beneficiamento do cacau fino e/ou de aroma.

No processo de articulação entre o produtor de cacau francês e os produtores de cacau baianos surgiu a Associação dos Profissionais do Cacau Fino e Especial (APCFE). De acordo com o estatuto da APCFE (2012), criado em 2004, as finalidades da associação seriam:

- [...] I – Desenvolver a rastreabilidade, certificação e promoção da produção de cacau especial e fino.
- II – Desenvolver assessoria e consultoria no desenvolvimento do manejo sustentável da lavoura cacaueira a fim de promover e integrar toda a cadeia produtiva do cacau.
- III – Promover as pesquisas e suas aplicações bem como prestar apoio técnico, científico e educacional à sociedade que compõe a cadeia produtiva do cacau.
- IV – Congregar produtores de cacau especial e fino, difundir a produção da cacauicultura e estimulá-la ao constante aprimoramento técnico e a maior eficiência nos serviços referentes à comercialização deste cacau.
- V – Promover e estimular o consumo de cacau e chocolates finos e de seus produtos derivados em cooperação estreita com o setor privado.
- VI – Promover, incentivar e executar ações na área da educação e qualificação profissional para a sociedade que compõe a cadeia produtiva do cacau (APCFE, Art. 4, 2012).[...]

De acordo com APCFE (2012), o histórico de ações da organização no mercado de qualidade do cacau fino pode ser resumido da seguinte forma:

- 2002 - Programa piloto de pesquisa na Fazenda Vitória, Ilhéus-BA.
- 2003 - Apresentação das amostras na Europa (Indústria e Chocolateiros).
- 2004 - Fundação da APCFE - Ass.Profissionais.Cacau Fino & Especial.
- 2005 - Capacitação de 400 produtores para produção do cacau fino na Bahia e no Espírito Santo.
- 2006 - Comercialização dos Cacau Fino de Origem Brasil na Europa.
- 2006 - Primeiros testes de fabricação de chocolate no Brasil e na Europa.
- 2007- Comercialização dos Chocolates de Origem Brasil na Europa e no Brasil.
- 2008 - Internacionalização da APCFE: parceria com cooperativa ODERI Venezuela e Fine Cocoa Association.

2009 - Integração de cooperativa do Peru e do Vietnã.

2010 - Estruturação logística de transformação e distribuição dos produtos FCA (Fine Cocoa Association).

2011/2012 – Encerramento das ações da APCFE.

De acordo com informações obtidas através da pesquisa documental, o grupo de produtores que integrava a APCFE era caracterizado principalmente por herdeiros das antigas fazendas de cacau do Sul da Bahia. Esses produtores são de grande e médio porte e tinham o interesse de promover o “renascimento” da cultura cacaueira.

Outra característica importante do grupo de produtores do cacau fino é o envolvimento direto, profissionalização e dedicação à atividade produtiva, ao contrário do que ocorria no passado quando a gestão das propriedades era delegada a terceiros e na maior parte das vezes os produtores residiam nas áreas urbanas em outras cidades como Salvador.

A transformação do produtor de cacau, no caso da produção do cacau fino, em um empreendedor rural pode ser identificada pelo alto grau de qualificação e pela busca por acesso às novas tecnologias e parcerias com instituições do Brasil e Mundo.

Apesar do alto grau de articulação inicial do grupo de produtores através da APCFE, a iniciativa não teve continuidade e após um período de sete anos de existência de associação, os produtores se desvincularam e retornaram o trabalho individual, com a ocorrência da formação de grupos para parcerias comerciais entre estes, mas sem atuação e inserção e cooperativas ou associações de produtores.

Mesmo com a dissolução da APCFE, pode-se constatar que a instituição teve um papel importante na construção do mercado de qualidade do cacau no Brasil. A formação dos produtores para a produção do cacau fino e de aroma, articulação junto às parcerias comerciais no Brasil e mercado europeu, disseminação de técnicas e normas para melhorias e padronização do processo produtivo, além da participação e reconhecimento do Brasil como país produtor de cacau fino e de aroma. Vale ressaltar que o país obteve por três anos consecutivos premiações de reconhecimento mundial da qualidade das amêndoas de cacau fino e de aroma produzidas nos estados da Bahia, Espírito Santo e Pará.

Outra iniciativa coletiva formalizada através da criação de uma cooperativa para inserção no mercado de qualidade do cacau e chocolate foi a Cooperativa CABRUCA (Cooperativa dos Produtores Orgânicos do Sul da Bahia), que é composta por 39 produtores de grande e médio porte da região. Foi criada no ano de 2002, com sede no município de Ilhéus – Bahia.

A cooperativa tem como foco a produção e comercialização de amêndoas de cacau fino e orgânico, além da produção e desenvolvimento de produtos à base de cacau. Possui parceiros comerciais no mundo, principalmente no mercado europeu, para a compra de amêndoas de cacau orgânico e também uma empresa de cosméticos do Brasil, com sede em São Paulo. O histórico das certificações do cacau no estado baiano corresponde a:

2002 – Certificação do cacau orgânico da Cooperativa CABRUCA.

2004 – Primeira comercialização brasileira do cacau fino produzido no Brasil via APCFE.

2007 – Certificação das primeiras fazendas produtoras de cacau do Brasil, na Bahia com a certificação de sustentabilidade Rainforest Alliance.

2010 – Início do processo de Indicação Geográfica Cacau na Bahia, conduzido pela APC – Associação dos Produtores de Cacau e Instituto Cabruca (APCFE, 2012).

2012 – Encaminhamento do projeto de lei “*Selo Verde Cacau Cabruca*”.

O perfil dos produtores cooperados da CABRUCA segue o mesmo identificado na APCFE, inclusive alguns dos antigos membros da associação migraram para ingressar na cooperativa, caracterizada por cooperados produtores de cacau de grande e médio porte, herdeiros das antigas fazendas produtoras de cacau, oriundos da região Sul da Bahia e com grau de instrução referente ao ensino superior completo.

A cooperativa CABRUCA mantém fortes relações com organizações externas, como é o caso de uma empresa de cosméticos brasileira, que adquire amêndoas de cacau para a fabricação de cosméticos à base de cacau. Além disso, os produtores cooperados já desenvolveram parcerias com chocolateiros europeus para a produção de chocolates experimentais à base de cacau fino e orgânico. As amêndoas para o desenvolvimento dos chocolates experimentais foram processadas na estrutura “*modelo*” disponível na CEPLAC, localizado em Ilhéus Bahia.

Entre os principais reflexos identificados nos mercados de qualidade do cacau e chocolates no Brasil a partir do ano 2000, é possível identificar os seguintes pontos:

(i) Articulação entre os produtores de cacau (grande e médio porte) para investimentos em pesquisa e desenvolvimento objetivando a melhoria na produtividade e qualidade.

(ii) Efetivação de parcerias entre grandes e médios produtores para o desenvolvimento e viabilização de máquinas, equipamentos e novas tecnologias para o setor.

(iii) Projetos governamentais conduzidos por organizações não governamentais em parcerias com as indústrias processadoras para melhoria da qualidade e produtividade.

(iv) Indicação geográfica do cacau produzido em Linhares, Espírito Santo.

(v) Implantação de indústrias de chocolates finos no Brasil com produção de chocolates à base de cacau fino e orgânico de origem brasileira.

(vi) Reconhecimento do cacau brasileiro nos mercados internacionais: premiações do melhor cacau fino do Mundo no Salão de Chocolate em Paris.

(vii) Projeto de Lei Selo Verde Cabruca: em discussão o projeto visa agregar valor ao cacau brasileiro através da associação do sistema agroflorestal “cabruca”, com foco na preservação e conservação ambiental ao produto cacau e chocolate do Brasil.

(viii) Certificação do cacau orgânico produzido por cooperativas do Pará, região Transamazônica no Programa Cacau Orgânico e efetivação de parcerias de comercialização com chocolateiros europeus e indústrias de cosméticos no Brasil.

No Pará e Espírito Santo as iniciativas de inserção dos produtores nos mercados de qualidades do cacau e chocolates são mais recentes, com a identificação de ações efetivas a partir do ano de 2009. No estado paraense destacam-se as primeiras iniciativas de inserções nos mercados de qualidades do cacau e chocolates ocorreram a partir do ano de 2005 com a implantação e desenvolvimento do Programa Cacau Orgânico, conduzido pela organização não governamental FVPP (Fundação Viver, Produzir e Preservar, em parceria com a CEPLAC SUEPA e IMAFLORA – Instituto de Manejo e Certificação Florestal e Agrícola).

Através do programa Cacau Orgânico iniciou-se a capacitação dos produtores, bem como o processo de certificação do cacau orgânico e cacau sustentável (*Fair For Life*) e o estabelecimento de relações comerciais entre cooperativas de produtores e empresa de cosméticos que fabrica produtos à base de cacau no Brasil e indústria de chocolates da Áustria.

No Espírito Santo, a ACAL (Associação dos Cacaueiros de Linhares) iniciou como no ano de 2009 o processo de Indicação Geográfica do Cacau de Linhares, que foi concluído e com a emissão do selo em outubro de 2012. Já no período de 2011/2012 foi instalada no Espírito Santo uma indústria processadora de cacau que visa produzir massa de cacau (líquor) de qualidade diferenciada voltada para a produção de chocolates finos.

No ano de 2011 foi constituída a COOPERBAHIA (Cooperativa Agroindustrial de Cacau Fino), composta por 11 produtores rurais associados, entre pequenos, médios e grandes, somando mais de 30 propriedades rurais distribuídas em 17 municípios da região cacaueira da Bahia (COOPERBAHIA, 2017). A fábrica para produção e comercialização do líquor (massa de cacau) fino foi implantada no mês de março de 2013.

No ano de 2014 foi retomado o processo de discussão e encaminhamento do processo para a obtenção da Identificação de Procedência do Cacau da Bahia, com a participação de organizações

não governamentais e governamentais da região Sul da Bahia. Destaca-se nesse processo a atuação de uma organização não governamental e da Universidade Estadual de Santa Cruz como indutores e aglutinadores da mobilização dos atores regionais.

## Considerações finais

O desenvolvimento e ampliação dos mercados de qualidade do cacau: superior tipo I (BRASIL, 2008), orgânico, comércio justo, fino e de aroma na agricultura familiar e em assentamentos rurais, pode agregar as amêndoas de cacau a possibilidade de pagamento de prêmios de comercialização relacionados aos fatores éticos, comércio justo e solidário, já que o crescimento da produção, comercialização e maior agregação de valor poderá representar melhores possibilidades de redistribuição do emprego e renda nas regiões produtivas de cacau no Brasil, principalmente entre os produtores da agricultura familiar.

É necessário também o estudo do mercado consumidor para minimizar as barreiras sobre a colocação dos produtos em mercados específicos de qualidade como o mercado consumidor para as amêndoas de cacau fino e orgânico certificados com o “*Selo Verde Cacau Cabruca*” - projeto de Lei 3.665/12 (BRASIL, 2012), que tem como proposta, criar os selos verdes Cacau Cabruca e Cacau Amazônia com o objetivo de incentivar e ampliar a conservação dos sistemas agroflorestais de produção, agregando valor a essa forma de cultivo e exploração da agricultura sustentável.

O ambiente regulatório da sustentabilidade socioambiental da produção cacaueira com relação aos aspectos ambientais sofrerá influência direta do Novo Código Florestal Brasileiro, que de acordo com a visão dos cacaueiros poderá se constituir como um fator limitante à expansão da lavoura cacaueira no Brasil, especificamente a consolidação dos mercados de qualidade do cacau orgânico e sustentável.

A perspectiva é que o projeto de lei que institui o sistema de produção Cabruca (BRASIL, 2011) e o selo verde “*Cabruca*” (BRASIL, 2012) seja aprovado na esfera governamental, o que seria uma alternativa para os produtores de cacau, principalmente do Estado da Bahia, onde predomina este tipo de sistema de produção. No caso, não seria utilizado apenas a área agrícola, mas também o perímetro territorial de reserva legal (RL) para produção (LYRIO, 2012).

Alternativas para minimização dos riscos e favorecimento da ampliação da participação do Brasil nos mercados de qualidade do cacau podem ser advindas do desenvolvimento de políticas públicas, projetos e programas governamentais e não governamentais que possibilitem que grandes, médios e pequenos produtores atuem em redes e construam condições competitivas para inserção

nos novos mercados de qualidade com competitividade, como é o caso dos mercados globais do cacau chocolate.

É importante ressaltar também que o Brasil importa dos países africanos 30% do cacau processado no país (PWC, 2012) para a fabricação de chocolates, ou seja, a produção do cacau convencional (cacau comum que não é classificado no mercado de qualidade do cacau) ainda tem espaço de ampliação da comercialização para atender ao crescimento da demanda do consumidor brasileiro.

A principal questão a ser debatida é sobre que tipos de benefícios diretos e indiretos podem ser acessados pelos produtores de cacau ao realizarem o investimento para a inserção e ampliação da participação nos mercados de qualidade que representaram apenas 3% do mercado do cacau produzido e comercializado pelo Brasil (PWC, 2012) enquanto o país apresenta um déficit de 30% no abastecimento do mercado do cacau convencional, que apresentou alta no preço, que se elevou de R\$ 68,00/arroba em dezembro de 2012, para R\$104,00/arroba em março de 2014.

Deve-se considerar que há uma necessidade de investimento de capital financeiro e humano, já que a participação nos mercados de qualidade do cacau acarreta em elevação dos custos de produção para o produtor rural. Dessa forma, tem-se uma necessidade da elaboração de políticas públicas que atendam a essas demandas dos produtores de cacau no país. Além disso, destaca-se a importância da elaboração de novos estudos que avaliem as melhores soluções que considerem a relação custo, benefício, demandas reais e potenciais dos mercados de qualidade do cacau no país e no exterior.

## Referências bibliográficas

AMADO, J. **Cacau**. Rio de Janeiro: Ariel Editora, 1942.

APCFE – ASSOCIAÇÃO DOS PROFISSIONAIS DO CACAU FINO E ESPECIAL. **Apresentações disponíveis sobre a associação dos profissionais do cacau fino e especial, ano 2012**. Disponível em: <http://www.apcefe.com>. Acesso em: 21 de fevereiro de 2012.

BARRIENTOS, S.; OKYERE-ASENKO, K. Cocoa value chain: challenges facing Ghana in a changing global confectionary market. **Journal Für Entwicklungspolitik**, v. XXV, p. 88-107, 2009.

BARZEL, Y. Measurement cost and the organization of markets. **The Journal of law and Economics**, v. XXV, p. 27-48, 1982.

BATALHA, M. O.; SILVA, A. L. Gerenciamento de sistemas agroindustriais: definições, especificidades e correntes metodológicas. In: BATALHA, M. O. (Org.). **Gestão Agroindustrial**. São Paulo: Atlas, 2011.

**BRASIL. Acordo complementar ao acordo do cacau celebrado por troca de notas a 3 de outubro de 1942, entre Brasil e Estados Unidos da América em 3 de outubro de 1942.** Disponível em: [http://dai-mre.serpro.gov.br/atos-internacionais/bilaterais/1942/b\\_29/](http://dai-mre.serpro.gov.br/atos-internacionais/bilaterais/1942/b_29/). Acesso em: 20 de dezembro de 2016.

**BRASIL. Instrução normativa número 38 de 24 de junho de 2008.** Disponível em: <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=250964455>. Acesso em: 10 de dezembro de 2016.

**BRASIL. Projeto de lei número 3.665 de 2012 que propõe a criação do Selo Verde Cacau Cabruca.** Disponível em: <http://www.camara.gov.br/sileg/integras/1069440.pdf>. Acesso em: 17 de dezembro de 2016.

**COOPERBAHIA – COOPERATIVA AGROINDUSTRIAL DE CACAU FINO.** Disponível em: [http://www.cooperbahia.com.br/\\_novo/](http://www.cooperbahia.com.br/_novo/). Acesso em: 09 de janeiro de 2017.

**ESTIVAL, K. G. S. Construção social do mercado de qualidade do cacau no Brasil.** 2013. 312f. Tese (Doutorado em Ciências Sociais) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

**FOLD, N.** Lead firms and competition in ‘bi-polar’ commodity chains: grinders and branders in the global cocoa-chocolate industry. **Journal of Agrarian Change**, v. 2, n. 2, p. 228–247, 2002.

**FONSECA, J. J. S. Metodologia da pesquisa científica.** Fortaleza: UEC, 2002.

**FVPP – FUNDAÇÃO VIVER, PRODUZIR E PRESERVAR. Criação de cooperativas orgânicas na Amazônia e criação de mercados diferenciados, ano de 2011.** Disponível em: <http://www.fvpp.org.br/>. Acesso em: 15 de dezembro de 2016.

**GIL, A. C. Como elaborar projetos de pesquisa.** São Paulo: Atlas, 2009.

**HUMPHREY, J. Shaping value chains for development:** global value chains in agribusiness. Eschborn: Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit, 2005.

**IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA.** Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/pam/tabelas>. Acesso em: 03 de janeiro de 2017.

**ICCO – INTERNATIONAL COCOA ORGANIZATION.** Disponível em: <https://www.icco.org/>. Acesso em: 15 de janeiro de 2017.

**ICCO – INTERNATIONAL COCOA ORGANIZATION. Production of cocoas beans, year 2016.** Disponível em: [https://www.icco.org/about-us/international-cocoa-agreements/cat\\_view/30-related-documents/46-statistics-production.html](https://www.icco.org/about-us/international-cocoa-agreements/cat_view/30-related-documents/46-statistics-production.html). Acesso em: 04 de janeiro de 2017.

**IPC – INSTITUTO PENSAR CACAU. Estatuto Social do Instituto Pensar Cacau, ano de 2013.** Disponível em <http://www.noticiasagricolas.com.br/dbarquivos/apresentao-do-estatuto.pdf>. Acesso em: 20 de dezembro de 2016.

**LYRIO, C.** Certificação do cacau no Brasil: desafios para a conquista de mercado – o caso da Indicação Geográfica do cacau Sul da Bahia. In: III Congresso Brasileiro do Cacau, 3, 2012, Ilhéus. **Anais...** Ilhéus: Universidade Estadual Santa Cruz, 2012.

**MORORÓ, R. M.** Aproveitamento dos subprodutos, derivados e resíduos do cacau. In: III Congresso Brasileiro do Cacau, 3, 2012, Ilhéus. **Anais...** Ilhéus: Universidade Estadual Santa Cruz, 2012.

**NORTH, D. C.** Institutions. **The Journal of Economic Perspectives**, v. 5, n. 1, p. 97-112, 1991.

PORTER, M. E. **Vantagem competitiva**: criando e sustentando um desempenho superior. Rio de Janeiro: Campus, 1999.

PWC - Agribusiness Research and Knowledge Center. **The Brazilian cocoa industry market research**. Ribeirão Preto: PwC Brazil, 2012.

ROSSI, R. M.; NEVES, M. F.; CASTRO, L. T. Quantificação e coordenação de sistemas agroindustriais: o caso do trigo no Brasil. **Organizações Rurais e Agroindustriais**, v. 7, n. 1, p. 93-102, 2005.

SANDRONI, P. **Novíssimo dicionário de Economia**. São Paulo: Best Seller, 1999.

SHANK, J. K.; GOVINDARAJAN, V. **Revolução dos custos**. Rio de Janeiro: Campus, 1997.

SPERS, E. E. Qualidade e o consumo em sistemas agroindustriais. In: ZYLBERSZTAJN, D.; NEVES, M. F.; CALEMAN, S. M. Q. (Orgs.). **Gestão de Sistemas de Agronegócios**. São Paulo: Atlas, 2015.

WILKINSON, J. Transformações e perspectivas dos agronegócios brasileiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 26-34, 2010.

ZYLBERSZTAJN, D.; GIORDANO, S. R. Coordenação e governança de sistemas agroindustriais. In: ZYLBERSZTAJN, D.; NEVES, M. F.; CALEMAN, S. M. Q. (Orgs.). **Gestão de Sistemas de Agronegócios**. São Paulo: Atlas, 2015.

Recebido em 25/10/2018

Aceito em 13/11/2018

# Revista Agrária Acadêmica

*Agrarian Academic Journal*

Volume 2 – Número 1 – Jan/Fev (2019)

---

doi: 10.32406/v2n12019/124-143/agrariacad

## O vírus ORF (Ectima Contagioso)\*

ORF virus (Contagious Ecthyma)\*

Rosana Léo de Santana<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Médica Veterinária, Doutora em Ciência Veterinária, [rosanaleosantana@gmail.com](mailto:rosanaleosantana@gmail.com)

\* Parte da tese de doutorado da autora

---

### Resumo

Ectima contagioso (EC) ou orf é uma doença infecto-contagiosa da pele causada pelo vírus do ectima contagioso (ECV) ou ORFV, que acomete principalmente ovinos e caprinos, e ocasionalmente o homem. Protótipo do gênero Parapoxvírus da família Poxviridae, está amplamente disseminado em todo mundo, inclusive no Brasil, especialmente na Região Nordeste, onde a caprinovinocultura é amplamente praticada para a produção de pele, carne e leite. Em Pernambuco, a doença ocorre de forma endêmica e pode ser confundida com enfermidades vesiculares, como a Febre Aftosa (FA), havendo a necessidade de diferenciação, sobretudo como suporte às ações do Programa Nacional de Erradicação da Febre Aftosa (PNEFA). Uma grande limitação no controle da doença é a dificuldade de replicação do vírus em cultivo celular, visando sua manipulação biotecnológica para a produção de vacinas.

**Palavras-chave:** orf, parapoxvírus, ectima contagioso

### Abstract

Contagious ecthyma is a severe and proliferative viral disease affecting ovine and caprine species, and eventually men, caused by the contagious ecthyma virus (ECV) of the Parapoxvirus genus. The disease is spread worldwide, including in Brazil, where in the state of Pernambuco, due to its endemicity, can be mistaken by other vesicular diseases such as the Foot and mouth Disease, which requires its diagnostic differentiation. Meanwhile, the control of the infection in endemic regions is limited due to the difficulties in replicating the virus in cell cultures, for the development of vaccines.

**Keywords:** orf, Parapoxvirus, contagious ecthyma

---

## Introdução

A caprinovinocultura é uma atividade econômica explorada em todos os continentes. No entanto, somente em alguns países essa atividade apresenta expressão econômica, sendo, na maioria dos casos, desenvolvida de forma empírica e extensiva, com baixa produtividade e rentabilidade reduzida (NOGUEIRA FILHO E ALVES, 2002).

Como consequência da maior demanda de produtos de origem animal, e o aumento da capacidade zootécnica dos rebanhos, introduziu-se animais de raças européias e africanas e com estes, novos agentes infecciosos, o que gerou novos elementos na cadeia epidemiológica das doenças e permitiu algumas mudanças no comportamento de endemias, como o ectima contagioso (EC) (MAZUR, 1989).

A doença também é conhecida como dermatite pustular contagiosa de ovinos e caprinos, dermatite labial infecciosa, estomatite pustular infecciosa ou boqueira. A enfermidade acomete ovinos, caprinos, outros pequenos ruminantes, e pode ser transmitida para humanos através do contato direto com animais infectados, principalmente para criadores, tratadores e veterinários (ROBINSON & BALASSU, 1981, NANDI et al., 2011).

O vírus do ectima contagioso (ECV), também conhecido como orf vírus (ORFV) é o agente etiológico do ectima contagioso (EC) dos ovinos e caprinos, e pertence ao gênero Parapoxivírus, da família Poxviridae, caracterizado pelo tropismo por células epiteliais e pela alta resistência às condições ambientais, geralmente adversas para a maioria dos vírus, como o ressecamento (PASTORET e BROCHIER, 1990).

O ECV está estreitamente relacionado aos vírus da estomatite papular bovina, pseudocowpox e parapoxvírus que infectam cervídeos (HAIG & MERCER, 1998). A penetração do vírus se dá por meio de abrasões ou escarificações da pele, uma vez que a sua replicação ocorre nos queratinócitos basais (McKEEVER et al., 1988). O primeiro sinal clínico em animais acometidos pelo vírus é o aumento da espessura da pele na área de invasão do vírus, com formação posterior de pápulas, vesículas, pústulas e crostas. Lesões características são observadas na face, principalmente nos lábios, porém em casos mais severos podem ser vistos no úbere, tetas, membros, orelhas, mucosas, cauda e coroa do casco. O período de incubação em ovinos e caprinos varia de 24 a 72 horas. Cursando a enfermidade em 3 a 4 semanas, com desaparecimento das crostas e regeneração do tecido epitelial (ROBINSON e BALASSU, 1981; BUTTNER e RZIHA, 2002).

As lesões desenvolvidas na primeira infecção são severas, de caráter proliferativo e que tendem a se resolver espontaneamente dentro de seis semanas (HAIG & MERCER, 1998). Em

casos de re-infecções, as lesões são evidentes, mas menos severas do que na infecção primária, e regridem em um período mais curto. Após a primeira infecção, a doença parece ocorrer periodicamente nesses rebanhos, provavelmente devido ao longo tempo de sobrevivência do vírus em crostas e nas pastagens (ROBINSON & BALASSU, 1981), e à imunidade, que é de curta duração (HAIG & MERCER, 1998).

O genoma do ECV consiste de uma molécula de DNA linear de fita dupla com aproximadamente 138 Kb que contém presumidamente 131 genes (DELHON et al., 2004). Os Parapoxvírus apresentam forma ovoíde e a relação de guanina e citosina no genoma viral é alta, cerca de 64% (DELHON et al., 2004). 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).

Uma das características importantes do ECV é a sua capacidade de re-infectar e replicar repetidas vezes no seu hospedeiro (HAIG et al., 1996). Alguns fatores podem estar envolvidos neste evento, como o fato da infecção ser aguda e aparentemente restrita aos queratinócitos da epiderme, permitindo ao vírus uma replicação inicial anterior ao recrutamento dos mecanismos efetores da imunidade antiviral. A infecção viral pode não estimular uma resposta protetora; e o vírus pode ter desenvolvido mecanismos para subverter ou interferir com componentes do sistema imune. Dessa forma, a capacidade do ECV de re-infectar o mesmo hospedeiro, embora produzindo lesões menos intensas quando comparadas à infecção primária, pode estar relacionada a esses mecanismos (HAIG et al., 1996a).

O Ectima contagioso é considerado uma enfermidade benigna, entretanto, pode tornar-se grave, quando ocorre comprometimento com outros órgãos, além da pele, causando grandes perdas ao rebanho. A morbidade em animais jovens ou de rebanhos indenes pode ser alta, chegando a 100%, com a mortalidade geralmente baixa, mas que em certos casos, pode se elevar, como no caso de animais jovens, devido a infecções secundárias e manejo deficiente associados à infecção por cepas de alta virulência (ROBINSON e BALASSU, 1981; BUTTNER e RZIHA, 2002).

No Brasil o EC foi descrito pela primeira vez em São Paulo (GUIMARÃES, 1939) e posteriormente em Pernambuco (TORRES, 1943) onde foi considerado um dos principais problemas sanitários da exploração caprina, e em seguida no Rio Grande do Sul (GUERREIRO, 1954). Posteriormente, amostras do ECV foram isoladas de ovinos no Ceará (ARITA et al., 1986), e, na última década, de caprinos em Minas Gerais, Rio de Janeiro (MAZUR e MACHADO, 1990) e de caprinos e ovinos em Pernambuco (OLIVEIRA et al., 1998; SANTANA et al., 2008). Surtos de

doença epidérmica sugerindo a infecção por EC têm sido observados em muitos rebanhos de ovinos e caprinos em diferentes áreas geográficas do Brasil (MAZUR et al., 2000), merecendo atenção a Região Nordeste, onde a maioria dos rebanhos vem sendo explorada em sistemas extensivo ou semi-extensivo, relacionados à subsistência, com manejo alimentar e higiênico-sanitário inadequados, que propiciam o aparecimento de muitas enfermidades como o EC, considerada uma das doenças de maior freqüência (BANDEIRA, 2005; ALENCAR, 2008).

Apesar do desenvolvimento da ovinocaprinocultura brasileira, do caráter endêmico da enfermidade e da sua importância, poucos trabalhos de pesquisa têm sido realizados com relação ao vírus EC, que possam subsidiar o controle da enfermidade, que se fundamenta, principalmente, na vacinação dos animais em áreas endêmicas (TORRES, 1943; ROBINSON e BALASSU, 1981; KILELU, 1992; PINTO JÚNIOR, 2007). Como não existem vacinas inativadas contra EC que sejam eficientes, a vacinação deve ser feita com vírus vivo. Por isto, só é recomendada em criações endêmicas, pois o uso da vacina implica obrigatoriamente na introdução do vírus no rebanho (PINTO JÚNIOR, 2007).

Dentre os entraves tecnológicos para a produção de vacinas, destaca-se a dificuldade de replicação do vírus em cultivo celular.

## Revisão de literatura

### Etiologia

Os ORF vírus pertencentes ao gênero Parapoxvírus da família Poxviridae possuem genoma constituído por uma fita dupla de DNA linear com aproximadamente 138 Kb (MOSS, 2001; DELHON et al., 2004) conteúdo médio de G+C de 64% que contém presumidamente 131 genes, e replicam-se no citoplasma de células de hospedeiros vertebrados e invertebrados (DELLHON et al., 2004). Os membros desta família de vírus são classificados em duas subfamílias, Chordopoxvirinae e Entomopoxvirinae, em função da sua capacidade de replicação em células de hospedeiros vertebrados e invertebrados. Os poxvírus da subfamília Chordopoxvirinae se encontram classificados em oito gêneros: Orthopoxvirus, Parapoxvirus, Capripoxvirus, Suipoxvirus, Leporipoxvirus, Avipoxvirus, Yatapoxvirus e Molluscipoxvirus (Tabela 1), genética e antigenicamente relacionados, apresentando morfologia similar, e restrição de hospedeiros (MOSS, 2001). Cada gênero, exceto o Molluscipoxvirus, inclui espécies que causam doenças em animais domésticos e de laboratório. Existem poxvírus que até o momento não foram formalmente

classificados. De fato, novos poxvírus estão sendo descobertos constantemente, incluindo vírus isolados de lagartos, rãs, cervos, cangurus, entre outros (MURPHY et al., 1999).

No gênero Parapoxvirus o vírus de ectima contagioso ou ORF vírus, é um dos principais representantes deste gênero. O ECV é envelopado apresentando-se com morfologia ovóide e diâmetro entre x nm (PASTORET e BROCHIER, 1990).

O ECV apresenta tropismo por células epiteliais sendo, normalmente, adquirido por abrasões nas porções deslanadas na pele (ROBINSON e BALASSU, 1981).

O genoma dos poxvírus, incluindo o do ECV, é organizado em uma região central conservada, flanqueada por regiões terminais variáveis (MOSS, 2001; DELHON et al., 2004; MERCER et al., 2006). A região central do genoma contém genes homólogos e conservados entre os poxvírus (ORFV009 à ORFV111), e os produtos desses genes participam de mecanismos básicos de replicação, estrutura e morfogênese (MOSS, 2001; DELHON et al., 2004; MERCER et al., 2006). Em contrapartida, as regiões terminais variáveis do genoma (ORF001 à ORFV008 e ORFV112 à ORFV134) representam aproximadamente 20% do genoma e codificam produtos potencialmente envolvidos na patogenia e no sistema imune do hospedeiro (NANDI et al., 2011). É geneticamente relacionado ao Parapoxvírus causador da Estomatite Papular Bovina e do Nódulo dos Ordenhadores em bovinos e humanos, respectivamente (DELHON et al., 2004), é imunologicamente distinto do vírus da vaccínia, e semelhante ao agente causador da pseudovaríola, e antigenicamente semelhante ao vírus da varíola caprina (ROBINSON e MERCER, 1988). A cepa que apresenta um maior número de informações de sua biologia molecular é a NZ2, uma cepa isolada na Nova Zelândia. Estudos de biologia molecular concluíram que ocorre predominância de guanina e citosina no DNA viral, de 64%, e que o seu genoma apresenta um tamanho que varia de 139 a 160 quilopares de base (kpb), sendo estreitamente relacionado ao genoma de outros poxvírus (DELHON et al., 2004).

A heterogeneidade do genoma entre espécies de Parapoxvírus e até entre cepas de uma mesma espécie já foi demonstrado, e estudos recentes para análise do genoma e identificação de seus genes, construção de mutantes 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 devem facilitar a seleção de componentes virais indutores de reações imunes, que não sofram influência das proteínas virais de neutralização e que sejam necessários para a proteção vacinal (BUTTNER e RZIHA, 2002).

Diversos genes codificam proteínas envolvidas no mecanismo de evasão do sistema imune do hospedeiro, como a proteína de resistência ao interferon (OVINFR), o fator inibidor do

crescimento de macrófagos (GIF), o fator de crescimento endotelial e vascular (VEGF-E), a proteína de ligação à heparina e citocinas, e a proteína ortóloga à interleucina-10 de mamíferos (vif-10), são encontrados na região terminal do genoma viral (DELHON et al., 2004).

Genes da região terminal do genoma também codificam fatores com papel importante na interação entre o vírus e seus hospedeiros, determinando o espectro de hospedeiros e modulando resposta do hospedeiro para infecção, porém não essencial para o crescimento em cultivo celular (CHAN et al., 2007).

O gene B2L reside no fragmento BamHI B da cepa NZ2 e codifica uma proteína do envelope viral de 42 kda. O tamanho do gene B2L compreende 1206 pb. O gene B2L está localizado na região 011 sendo conservado em cepas diferentes. Esse gene tem sido o mais usado para detecção do ECV pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) (CHAN et al., 2007). Os poxvírus constituem-se em uma exceção entre os vírus DNA, uma vez que o processo replicativo ocorre no citoplasma das células infectadas (MOSS, 2001).

Os poxvírus codificam todas as enzimas necessárias para a transcrição e replicação do genoma viral, e empacotam nos vírions as enzimas essenciais para a produção e modificação dos RNAs mensageiros (mrna) para a síntese de suas proteínas no início do ciclo replicativo (CANAL, 2007).

## Epidemiologia

O EC ocorre em caprinos e ovinos, estando mundialmente distribuído, em qualquer região onde se criem essas espécies, determinando queda na produção e perda econômica. Ocorre comumente em animais com três a seis meses de idade, embora animais com 10 a 12 dias de idade e adultos possam ser gravemente acometidos (RADOSTITS et al., 2002). Pode accidentalmente infectar humanos, bovinos e ruminantes selvagens e, raramente os cães (ESPOSITO e FENNER, 2001). O ECV é relativamente termo-estável, sendo completamente inativado a 60°C por trinta minutos (ROBINSON e BALASSU, 1981), a 37°C por sete dias e pela radiação ultravioleta (LOSOS, 1986). O congelamento não reduz o título viral, entretanto, temperaturas entre 0,5 e 36 C, por uma semana, reduzem sua infectividade. O ECV em solo sombrio retém infectividade por vários anos (NANDI et al., 2011).

Os surtos podem ocorrer em caprinos e ovinos, com taxas de morbidade que se aproximam de 100% e mortalidade de 5 a 15% (HOUSAWI et al., 1991). As mortes quando ocorrem são devido à extensão das lesões no trato respiratório, podendo alcançar 15% se os animais acometidos não

receberem as medidas de manejo higiênico-sanitárias adequadas, ou se ocorrerem infecções secundárias e miíases cutâneas. As lesões primárias em animais ou humanos causam maior morbidade do que as lesões adquiridas pela re-infecção (ESPOSITO e FENNER, 2001). Os animais recuperados permanecem com imunidade sólida por dois a três anos, porém os anticorpos passivos não protegem as crias, pois os animais recém-nascidos de mães imunes são susceptíveis ao ECV (ROBINSON e BALASSU, 1981).

A disseminação em um rebanho é muito rápida e ocorre pelo contato com outros animais acometidos ou por objetos inanimados, como aplicadores de brincos e emasculadores, resultando em lesões nas caudas (RADOSTITS et al., 2002), ou por exposição a cochos contaminados (MURPHY et al., 1999). Admite-se que a infecção natural e experimental, pelo ECV se dá pela invasão do vírus através da pele lesionada, escarificada por plantas e/ou espinhos. O vírus é eliminado pelos exsudatos das pústulas e vesículas e pelas crostas já secas. O vírus pode permanecer virulento nos pastos e estâbulos durante anos, devido a sua capacidade de conservação nas crostas, especialmente durante o período seco; infecção natural do ECV entre ovinos e caprinos pode ocorrer, mas a transmissão experimental entre estas espécies pode não obter sucesso (RADOSTITS et al., 2002; NANDI et al., 2011).

Os ovinos são susceptíveis à re-infecção e a infecções crônicas. Estas características somadas à resistência viral, explicam como o ECV, uma vez introduzido em um rebanho, tornase difícil de ser erradicado (MURPHY et al., 1999). A persistência do vírus nos rebanhos é própria e em grande parte relacionada ao caráter infeccioso persistente de vírions em crostas de feridas que caem sobre a pastagem e o solo (FENNER et al., 1988).

A estimativa da soroprevalência da infecção pelo ECV nos rebanhos é prejudicada pelo fato do vírus induzir baixos níveis de anticorpos neutralizantes, não sendo de fácil detecção em testes de soroneutralização ( HAIG & MERCER, 1998). Por esse motivo, a prevalência tem sido estimada com base em relatos da ocorrência da doença em rebanhos (RIBINSON e BALASSU, 1981).

## **Patogenia e Imunidade**

A lesão da pele é essencial para o estabelecimento da infecção pelo ECV e para o desenvolvimento de lesões típicas (ROBINSON e BALASSU, 1981). Após o desafio viral da pele com abrasões moderadas, o vírus não se estabelece na epiderme lesada, replicando-se nas células da camada epidérmica basal derivada das paredes dos folículos pilosos. A infecção dissemata-se lateral e uniformemente a partir da nova epiderme, inicialmente no estrato espinhoso mais externo e,

subsequentemente, por toda a profundidade da epiderme. A reação cutânea consiste em resposta celular com necrose e esfalecimento da epiderme acometida bem como o estrato papilar subjacente da derme. Esta resposta cutânea consiste em reação de hipersensibilidade tipo tardio e influxo de células inflamatórias envolvendo neutrófilo, basófilos, e possivelmente, mastócitos. Células dendríticas de classe II também estão envolvidas e parecem formar a base de um mecanismo de defesa dérmica local altamente integrada. As lesões envolvem todos os estágios de mácula, pápula, vesícula, pústula, formação de crosta e cura. As pústulas desenvolvem-se em poucos dias e rompem-se, resultando em úlceras, e, subsequentemente, na formação de crosta espessa, que é eliminada em três a quatro semanas, não deixando cicatriz (McKEEVER et al., 1988).

Os locais mais comuns de infecção são ao redor da boca e narinas (HAIG et al., 1997). Lesões características são frequentemente observadas na face, porém em casos mais severos, outras partes do corpo podem apresentar lesões como: úbere, tetos, membros, orelhas, mucosas, cauda e coroa do casco (BOUGHTON e HARDY, 1932; COATES e HOFF, 1990; HOUSAWI e ABU ELZEIN, 1991).

As lesões de re-infecção progridem pelos mesmos estágios clínicos, mas geralmente não são proliferativas, são menores e se resolvem mais rapidamente, usualmente em duas a três semanas, o que é indicativo do envolvimento de uma resposta imune específica no controle da replicação viral. 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).

Os ovinos desenvolvem uma resposta imune celular, graças às células T CD4 + helper e humoral, com formação de anticorpos anti-ecv específicos, após a infecção (HAIG et al., 1996a, 1996b; LLOYD et al., 2000), porém esta imunidade é curta e a re-infecção pode ocorrer, com sinais clínicos discretos e que desapareceram rapidamente (HAIG e MERCER, 1998). Segundo Haig et al. (1997), o que deve ser esperado após a infecção é uma resposta inflamatória e imune anti-viral, que começa pela ativação celular mediante a liberação de citocinas, como por exemplo citocinas mrna.

A resposta imune a re-infecção foi estudada em alguns animais por Haig et al. (1996b), visando estabelecer a dinâmica local *in vivo* das células envolvidas no processo, anticorpos e citocinas, a partir da drenagem linfática aferente e eferente de nódulos linfáticos, localizados próximos das lesões da pele; foi observado que a linfa aferente de ovinos adultos contém células T CD4 +, T CD8 +, células B e 5 a 15% de células apresentadoras de antígeno; a linfa eferente contém mais de 98% de linfócitos, a maioria dos quais são células T CD4 + e células B, as células T CD8 + participam com aproximadamente 10 a 20%, dos quais mais de 90% são derivados do sangue, e

10% restantes de linfócitos eferentes são derivados da linfa aferente (HAIG et al., 1997). Segundo Bujdoso et al. (1989) o primeiro pico da resposta imune, em casos de re-infecção, seria contra um antígeno de memória do ECV, e o segundo, em resposta a replicação viral na pele, que ocorre entre três e nove dias pós-infecção.

Ha várias razões possíveis pelas quais o vírus EC pode re-infectar 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 poxvirus (HAIG, 2001).

## Sinais clínicos

Os sinais clínicos iniciais de ectima contagioso incluem pápulas, vesículas, pústulas cutâneas e crostas, sendo o período de incubação, de três a oito dias ou aproximadamente uma semana (BARRAVIEIRA, 2005). Formam-se rapidamente crostas amarronzadas a pretas, espessas, mais evidentes nas comissuras labiais. As lesões podem se espalhar para a cavidade oral, focinho, orelhas, pálpebras, tetos e patas. Pode ocorrer mastite em decorrência do comprometimento do sistema de defesa do úbere. Tipicamente as lesões se curam em 14 a 21 dias, porém podem persistir em animais imunodeprimidos. Cordeiros lactentes podem disseminar a infecção ao úbere de ovelhas suscetíveis. Em cordeiros, as lesões orais podem ser graves o suficiente para causar anorexia, perda de peso, desidratação e desnutrição, levando a importantes perdas econômicas (ZAMRI-SAAD, KARIM, AJEELI, 1992). As lesões que atingem a banda coronária podem provocar claudicação, ao passo que as lesões do úbere podem resultar em mastite. Raramente há o comprometimento dos sistemas respiratório e gastrointestinal. Nesses casos podem ocorrer pneumonia e diarréia. É comum a instalação de infecção bacteriana secundária (PUGH, 2005), ou por fungos, como por exemplo, o *Fusobacterium necrophorum*; podendo haver também invasão sistêmica se estendendo para o trato alimentar e traquéia ocasionando gastroenterite e broncopneumonia (RADOSTITS et al., 2002; NANDI et al., 2011).

As lesões orais envolvem a língua, gengivas, coxim dentário ou uma combinação desses locais, em alguns casos extensas lesões dolorosas e proliferativas ocorrem nas margens gengivais dos dentes incisivos e no interior da boca (RADOSTITS et al., 2002).

Na forma podal, que aparece simultânea ou independentemente da forma labial, são observadas lesões cutâneas similares na borda da falange média dos cascos, a altura 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 (NOBREGA 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).

Em ovinos pode ser observada uma forma maligna da doença, que se inicia com um episódio agudo, manifestado por vesículas bucais e extensão dessas lesões para o trato gastrointestinal, seguidas por lesões granulomatosas e desprendimento dos cascos. Nos carneiros as lesões do escroto podem ser acompanhadas por acúmulo de líquido no saco escrotal. Nos casos benignos, as crostas secam e caem, e a recuperação fica completa em cerca de três semanas (RADOSTISTS et al., 2002).

Em caprinos da raça Boer a infecção é manifestada de forma mais severa com dermatite proliferativa multifocal acompanhada de pneumonia crônica, artrite e moderada para severa linfadenopatia (NANDI et al., 2011).

A infecção experimental de um caprino, com um mês de idade e sem raça definida (SRD), sem histórico de EC, foi realizada por Oliveira et al. (1998) para a observação da evolução das lesões macroscópicas da enfermidade, e foi observado que 48 horas após a inoculação (p.i.), o animal desenvolveu lesões difusas na área da inoculação, como edema, múltiplos pontos arredondados, salientes e avermelhados, além do espessamento da pele. As lesões progrediram dando origem a vesículas no quarto dia pós-inoculação, que apresentavam, na superfície, pontos esbranquiçados. As pústulas foram observadas no quinto dia p.i. (pós-infecção), aumentaram de tamanho e romperam-se entre o nono e o 11º dia p.i., dando origem a exsudação serosa e emaciação da região. No 16º dia p.i., o início da formação das 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 de inoculação e regeneração do tecido epitelial.

## Diagnóstico e prognóstico

O diagnóstico de EC é baseado na história do paciente e nos sinais clínicos que o mesmo apresenta, sendo confirmado pelos exames laboratoriais (RADOSTITS et al., 2002).

A identificação de uma infecção ativa é realizada pela detecção de vírions característicos no material da lesão, utilizando a microscopia eletrônica, onde as partículas virais características de parapoxvírus apresentam forma de amora (SHATZMAYR et al., 2006). Pode ser realizado ainda, o isolamento viral em cultivo celular, imunofluorescência direta e a reação em cadeia da polimerase (PCR). Os testes sorológicos empregados são: imunodifusão em gel de agar (IDGA), soroneutralização, fixação de complemento, inibição da hemaglutinação, imunofluorescência indireta e ensaios imunoenzimáticos (ELISA e western blotting) (FERNANDES, 2004).

A dificuldade de cultivo celular permissível a replicação contínua do vírus EC tem levado a comercialização no Brasil de vacina obtida a partir da suspensão de crostas de animais infectados, que apresenta sério risco de disseminação de outras doenças, principalmente virais, já que a vacina não é inativada (PINTO JUNIOR, 2007).

Diversas técnicas moleculares tem sido usadas para caracterização de parapoxvírus, Inoshima et al. (2000), relata protocolo de PCR para diagnóstico de infecção por parapoxvírus; os primers foram desenhados baseados na sequência do gene B2L do ORFV da cepa NZ2 que apresenta um maior número de informações de sua biologia molecular, cepa isolada na Nova Zelândia (DELHON et al., 2004). A Reação em Cadeia da Polimerase é reconhecida como um método de diagnóstico molecular estável, rápido e sensível para a detecção de ácidos nucléicos e pode ser utilizada mesmo quando a disponibilidade de amostra é pequena. A PCR identifica animais verdadeiramente infectados e não apenas soropositivos (NITSCHE et al., 2006).

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).

O prognóstico geralmente é favorável, a doença é benigna e espontaneamente curável, entretanto, há casos graves em que o prognóstico é reservado (RADOSTITS, 2002).

Na maior parte dos surtos de EC, os casos são moderados e não denotam preocupação real, entretanto, casos graves podem também ser confundidos com a língua azul, a dermatose ulcerativa, dermatite micótica, febre aftosa, eczema facial, dermatite proliferativa ou com a varíola ovina (BHANUPRAKASH et al., 2006), sendo necessária a realização do diagnóstico diferencial.

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 PCR em tempo real (qpcr) 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. (BANKOWSKI e ANDERSON, 2004).

A PCR convencional ocorre em 3 fases: desnaturação, anelamento ou hibridização e extensão. Na desnaturação ocorre a separação da fita dupla do DNA em duas fitas únicas, promovida por elevação da temperatura. No anelamento ou hibridização, se dá a demarcação das extremidades do DNA de interesse nas duas fitas resultantes da fase anterior. A polimerase necessita de um fragmento de DNA previamente ligado na região escolhida com antecedência, iniciador ou primer. Primers são pequenos fragmentos de DNA de fita simples sintetizados *in vitro* a partir de uma sequência de oligonucleotídeos previamente conhecida. Somente haverá amplificação de DNA se houver hibridização do primer com um segmento do DNA da amostra, o que confere especificidade à reação. A extensão 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. 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).

A reação de qPCR, PCR quantitativa ou PCR em Tempo Real é realizada em termociclador em tempo real trabalhando através de dois sistemas de detecção de sequências: o sistema TaqMan (também conhecido como ensaio para nuclease 5 fluorescente), que utiliza sonda fluorescente; e o sistema do corante Sybr Green I, que utiliza o corante Sybr Green I, possuindo ligação altamente específica ao DNA de dupla fita, e utiliza o corante ROX como referência passiva. Os produtos da qpcr poderam ser detectados com a análise da curva de dissociação ou melting, realizada posteriormente após a corrida da PCR (BANKOWSKI e ANDERSON, 2004). Vários protocolos para otimização da qpcr poderão ser utilizados até a obtenção de resultados capazes de diagnosticar ECV em lesões de origem animal.

O desenvolvimento de uma PCR como método de diagnóstico molecular para detecção do vírus EC atende a demanda por um teste rápido e sensível para diagnóstico da doença (GALLINA et al., 2006).

## Diagnóstico diferencial

Na Febre Aftosa (FA), sua transmissibilidade é extremamente alta entre os animais, como bovinos, caprinos, ovinos, suíños e outros biungulados selvagens. Os sinais clínicos são precedidos por apatia, febre, e anorexia. As lesões vesiculares podem ser observadas na cavidade oral, língua, narinas, bandas coronárias e tetas; salivação excessiva e descarga nasal são observadas, sua principal via de transmissão é através de aerossóis, ao contrário do EC que sua transmissão se dá exclusivamente através do contato direto ou indireto por fômites e, principalmente, por pastagens contaminadas (RIEDER & BRUM, 2007).

Nos casos de língua azul ocorre elevada taxa de mortalidade, reação sistêmica grave, e as lesões ocorrem no focinho, na coroa dos cascos e de forma extensa na mucosa bucal, sendo mais comum nos adultos do que nos cordeiros lactentes. Como é transmitida por vetores (insetos hematófagos), a taxa de morbidade é menor do que a observada nos casos de EC (BHANUPRAKASH et al., 2006). A dermatite micótica geralmente ocorre na pele lanosa; o eczema facial é distinguido do EC pela presença de dermatite difusa bem como edema grave e lesão das orelhas. As lesões da dermatite proliferativa, também conhecida como podridão do pé em formato de morango, ocorrem apenas nas partes inferiores dos membros; já nos casos de varíola ovina, embora o quadro clínico se apresente bastante semelhante aos causados pelo ECV, as crostas formadas são típicas, duras, ocorrendo comprometimento sistêmico, acompanhado de alta taxa de mortalidade (RADOSTITS et al., 2002).

## Tratamento e controle

O tratamento é paliativo, pois não há drogas específicas (SCAGLIARINI, 2006), a excisão das crostas pode acelerar o processo de resolução (SHELLEY e SHELLEY, 1983). Nos casos de lesões muito graves deve ser realizada a administração oral de fluidos e nutrientes. A aplicação de substâncias adstringentes pode acelerar a recuperação, e nos casos em que houver complicações secundária, recomenda-se tratamento com antibiótico de amplo espectro (PUGH, 2005).

Diante de um surto deve-se implementar medidas de controle imediatas, com isolamento dos animais enfermos. Entretanto, essas medidas, isoladamente, podem não ser efetivas na prevenção do EC por causa do curto período de incubação e a capacidade de sobrevivência do vírus no ambiente

(PUGH, 2005). A vacinação é recomendada apenas em regiões endêmicas, nos animais susceptíveis (BERRIER, 2001).

Por ser uma zoonose altamente contagiosa, é fundamental, que pessoas que trabalhem com animais infectados adotem medidas higiênicas durante o manejo dos animais (PUGH, 2005).

## Imunoterapia

A vacina contra EC utiliza microorganismos completamente virulentos sendo que esta vacina não previne a doença, diminuindo a gravidade e a duração da mesma, estando indicada na imunização ativa de ovinos e caprinos, para prevenir ou minimizar a gravidade de um surto (PINTO JÚNIOR, 2007).

Há disponibilidade de vacinas comerciais que requerem a aplicação na superfície do epitélio escarificado, da axila, virilha, região interna da coxa (exceto em ovelhas lactantes), porção ventral da cauda ou da orelha, e devem ser utilizadas de acordo com a recomendação do fabricante, pois a dose adequada é fundamental para aperfeiçoar a imunização. As vacinas são preparações de vírus vivo, provenientes diretamente de crostas virulentas ou, de vírus replicado em cultura celular (NETTLETON et al., 1996). Após a vacinação, ocorre uma reação local em cerca de 1 a 3 dias, sendo necessárias duas a três semanas para se obter uma resposta imunológica adequada (LUGINBUHL e ANDERSON, 1914). A imunidade se instala ao longo de três semanas e pode persistir por até dois anos. Essas vacinas não são recomendadas para rebanhos livres da doença porque o vírus vacinal permanece viável no ambiente por longo período (BERRIER, 2001).

Análises filogenéticas indicam que ovelhas e cabras possuem cepas virais de ectima contagioso agrupadas em diferentes ramificações na árvore genética, razão pela qual é provável que vacinas preparadas com cepas virais de ectima contagioso isoladas de ovelhas não protegem efetivamente cabras. Estudo realizado recentemente revelou que cepas virais de ectima contagioso isoladas de cabras são mais heterogêneas que cepas virais de ovelhas, indicando a necessidade no preparo de vacinas com cepas virais isoladas de cabras para administração em cabras (MUSSER et al., 2008).

A produção da primeira vacina viva atenuada em cultivo celular realizada por Mayr (1981) foi um importante passo para a obtenção de geração de vacinas melhores definidas e seguras (BUTTNER e RZIHA, 2002). Outras vacinas têm sido desenvolvidas através de cultivo celular (NETTLETON et al., 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). Os animais vacinados desenvolvem lesões de 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 apos 9 a 14 dias e as crostas são mais proeminentes entre 15 e 24 dias (NETTLETON et al., 1996).

Em rebanhos onde a doença se manifesta de forma endêmica, a vacinação de animais com dois ou três dias de idade pode minimizar a gravidade do surto, que em cordeiros podem estar associados à realização da caudectomia (PUGH, 2005). Em adição, população de animais que são protegidos pela vacinação minimizaria o risco de transmissão do ECV para o homem (BUTTNER e RZIHA, 2002).

A vacinação das matrizes deve ser realizada no terço final da gestação, embora não ocorra uma boa transferência de anticorpos pela placenta, e as mães vacinadas transmitem imunidade a suas crias via colostro. Por ser a imunidade passiva de curta duração, é necessário vacinar os cordeiros e cabritos nos primeiros dias de vida (LUGINBUHL e ANDERSON, 2008).

## Referências bibliográficas

- ABRAHAO, 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 virus from sheep in Brazil: a case report. **Virology Journal**, v. 6, n. 47, 2009.
- AIELLO, S. E.: Editor. Contagious ecthyma. **The Merck Veterinary Manual**. 8 edition. Merck & Company, 1998.
- ALENCAR, S.P. **Aspectos sócio-econômicos e sanitários dos rebanhos caprinos e ovinos no Sertão de Pernambuco**. 121f. Tese (Doutorado em Ciência Veterinária) Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2008.
- 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.; CAPELLARO, C.E.M.P.M.; DEAK, J. G. et al. Isolamento e identificação de poxvirus causando doença em ovinos no Estado do Ceará. **Biológico**, São Paulo, v.52, n.1/3, p.23-26, jan./nov., 1986.
- BANDEIRA, D. A. **Características sanitárias e de produção da caprinocultura nas microrregiões do Cariri do Estado da Paraíba**. 117f Tese (Doutorado em Ciência Veterinária) Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2005.

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

BARRAVIEIRA, 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.

BERRIER, R. J. Contagious ecthyma. **Veterinarian's Corner**, v. 1, n. 5, 2001.

BHANUPRAKASH, V., INDRANI, B. K., HOSAMANI, M. e SINGH, R. K. The currente status of sheep pox disease, **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, v. 29, p. 27-60, 2006.

BOUGHTON, I. B.; HARDY, W. T. **Immunization of sheeps and goats against soremouth (Contagious Ecthyma)**. Texas Agricultural Experiment Station, College Station, n. 457, p.5-16, 1932.

BUDDLE, B. M.; DELLERS, R. W. e SCHURIG, G. G. Contagious ecthyma virus-vacination failures. **American Journal of Veterinary Research**, v. 45, n. 2, p. 263-266, 1984.

BUJDOSO, R.; HOPKINS, J.; DUTIA, B.M.; YOUNG, P.; McCONNEL, I. Characterization of sheep afferente lymph dendritic cells and their role in antigen carriage. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 170, p. 1285-1302, 1989.

BÜTTNER. M.; RZIHA. H, J. Parapoxviruses : From the lesion to the viral genome. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 49, p. 7-16, 2002.

CANAL, C.W. Poxviridae. In: FLORES, E.F. **Virologia Veterinária**. Santa Maria: Editora da Universidade de Santa Maria. p. 489-511, 2007.

CHAN K. WEI, LIN J. WEI, LEE S. HWAE, LIAO C. JUNG, TSAI M. CHUN, HSU W. LI, WONG M. LIANG AND SHIN H. CHANG. Identification and phylogenetic analisis of orf virus from goats in Taiwan. **Journal Virus Genes**, v. 35, nº 3. December, 2007.

COATES, J. W.; HOFF, S. Contagious ecthyma: an unusual distribution of lesions in goats. **Canadian Veterinary Journal**, Canadá, v.1, p. 209-210, Mar. 1990.

DELHON, G., TULMAN, E.R., AFONSO, C.L. LU, Z., DE LA CONCHA-BERMEJILLO, A., LEHMKUHL, H.D., PICCONE, M. E., KUTISH, G.F., ROCK, D.L. Genomes of the parapoxviruses ORF virus and bovine papular stomatis virus. **Journal of Virology**, v. 78, p. 168-177, 2004.

ESPOSITO, J.J. e FENNER. **Poxviruses**. In: Knipe, D.M., Howley, P.M., Griffin, D.E., Martin, M.A., Lamb, R.A., Roizman, B., Straus, S.E. (eds.) *Fields Virology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p. 2885-2921, 2001.

FENNER, F.; HENDERSON, D.A.; ARITA, I.; JEZEK, Z.; LANY, I.D. **Smallpox and its eradication**. Geneva: WHO, 1460p,1988.

FERNANDES, A.T.S. **Isolamento e identificação por microscopia óptica e eletrônica de transmissão, de Orthopoxvirus em gado bovino leiteiro e em humanos no norte do estado do Rio de Janeiro**. 105p. Dissertação (Mestrado em Produção Animal). Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Rio de Janeiro, 2004.

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.

GUERREIRO, M.G. Ectima contagioso dos ovinos no estado do Rio Grande do Sul. **Arquivos do Instituto de Pesquisa Veterinária Desiderio Finamor**, Rio Grande do Sul, 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.

HAIG, D.M. e MERCER, A.A. Orf. **Veterinary Research**, v. 29, p. 311-326, 1998.

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 virus. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, v.20, n.3, p. 197-204, 1997.

HAIG, D.M.; DEANE, D.L.; MYATT, N.; THOMSON, J.; ENTRICAN, G.; ROTHEL, J.; REID, H.W. The activation status of ovine CD45R + and CD45R - efferent lymph T cells after orf virus reinfection. **Journal of Comparative Pathology**, v. 115, p. 163-174, 1996a.

HAIG, D.M.; HUTCHINSON, G.; THOMSON, J.; YIRRELL, D.; REID, H.W. Cytolytic activity and associated serine protease expression by skin and afferent lymph CD8 + T cells during orf virus reinfection. **Journal of General Virology**, v. 77, p. 953-961, 1996b.

HAIG, D. M.; McINNES, C.; HUTCHINSON, G.; SEOW, H. F.; e REID, H. W. Cyclosporin A abrogates the acquired immunity to cutaneos reinfection with Parapoxvirus Orf virus. **Immunology**, v. 89, p. 524-539, 1996.

HOSAMANI, M.; YADAV, S.; KALLES, D.J.; MONDAL, B.; BHANUPRAKASH, V.; SINGH, R.K. Isolations and characterization of a Indian orf virus from goats. **Zoonoses and Public Health**, v. 54, p. 204-208, 2007.

HOUSAWI, F. M. T.; ABU ELZEIN, E. M. E. Orf infection following eat taggin in goats. **Reviu D Elevage et de Medicine Veterinaire des pays Tropicaux**, France, v. 44, n. 3, p. 277-278, 1991.

HOUSAWI, F. M. T.; ELZEIN, E.M; AMIN, M.M, AL AFALEQ, AI. Contagious pustular dermatitis (orf) infection in sheep and goats in Saudi Arabia. **Veterinary Record**, v. 128, p. 550-551, 1991.

INOSHIMA, Y., MOROOKA, A., SENTSUI, H., Detection and diagnosis of Papoxvirus by the polymerase chain reaction. **Journal of Virological Methods**, v. 84, p. 201-208, 2000.

KILELU, E. S. **Contagious pustular dermatitis in Kenya** **Bulletin of Animal Health and Production Africa**, Nairobi, v. 40, p. 123-124, 1992.

LOSOS, J.G. **Infectious Tropical Diseases of Domestic Animals**. International Developments Research Centre. Canadá, v.1, p. 559-579, 1986.

LLOYD, J.B.; GILL, H.S.; HAIG, D.M.; HUSBAND, A.J. In vivo T-cell depletion suggests that CD4 + T-cells and a humoral immune reponse are important for the elimination of orf virus from the skin of sheep. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, 2000.

LUGINBUHL, J.M. e ANDERSON, K.L. **Controlling sire mouth in meat goats** (1914). Animal Science Facts. Disponível em: <[http:](http://) acessado em: 05 de fevereiro de 2008.

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

MAZUR, C. **Isolamento e identificação do vírus do ectima contagioso em caprinos no Brasil (Diagnóstico)**. 59f. Dissertação (Mestrado em Ciências área de Microbiologia). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1989.

MAZUR, C.; MACHADO, R. D. The isolation and identification of the contagious ecthyma virus of caprines in all cultures. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 21, n. 1, p. 127-130, 1990.

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.

McKEEVER, D.J.; McEVAN, J.D.; HUTCHISON, G.; REID, H.W. Studies of the pathogenesis of orf virus infection in sheep. **Journal of Comparative Pathology**, v. 99, p. 317-328, 1988.

MERCANTE, M.T.,LELLI, R., RONCHI, G.F., FINI, A., Production and efficacy of an attenuated live vaccine against contagious ovine ecthyma. **Vet. It al.** 44, p. 537-542, 2008.

MOSS, B. **Poxiviridae, the viruses and their replication**. In.Fields.B.N.; Knipe. D. M.; HOWLEY.; CHANOCK, R.M.; MELNICK, J.L. MONATHY, T.P.; ROIZMAN. B.; STRAUS, S.E.. Fields virology, 4.ed. Lippincott, Williams and wilkins, Philadelphia, Pa, 2001.

MURPHY, F.A.; GIBBS, E.J.P., HORZINEK, M.C.; STUDDERT, M.J. **Veterinary Virology**. 3 ed. San Diego: Academic Press, 629p., 1989.

MUSSER, J.,M., TAYLOR, C., A., GUO, J., TIZARD, I., R., WALKER, J. W., Development of a contagious ecthyma vaccine for goats. **American Journal of Veterinary Research**. 69, p. 1366-1370, 2008.

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.; REID, H.W. Tissue culture-propagated orf virus vaccine protects lambs from orf virus challenge. **Veterinary Record**, v.138, p. 184-186, 1996.

NITSCHE, 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.; MACEDO, J. T. S. A.; ARAUJO, J. A. S.; DANTAS, A. F. M.; SOARES, M. P. e RIET-CORREA, F. Ectima contagioso em ovinos e caprinos no semi-árido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 1, p. 135-139, 2008.

NOGUEIRA-FILHO, A.; ALVES, M.O. **Potencialidades da cadeia produtiva da ovinocaprinocultura na região Nordeste do Brasil.**<<http: Documento publicado em 11/04/2002. Acesso em 15/09/2007.

OLIVEIRA, D.S.C.; CASTRO, R.S.; NASCIMENTO, S.A.; 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.

PASTORET, P. P.; BROCHIER, B. Le virus de la vaccine et ses proches parents. **Annalies de Medicine Veterinaire**, Belgium, v. 134, p. 207-220, 1990.

PINTO JÚNIOR, J. H. **Ectima contagioso dos ovinos e caprinos: A doença e sua vacina.** 47p. Monografia (Curso de Pós-Graduação *Lato Sensu* em Farmacologia). Universidade Federal de Lavras, MG, 2007.

PUGH, D.G. **Clínica de Ovinos e Caprinos.** Roca, São Paulo, 2005, 513p.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. Artrite Encefalite Caprina(AEC). **Clínica Veterinária**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 2, p. 1098-1101, 2002.

RIEDER & BRUM M.C Picornaviridae. In: Flores E.F. **Virologia Veterinária.** Santa Maria: Editora da Universidade Santa Maria, p. 546-553, 2007.

ROBINSON, A. J. e BALASSU, T. C. Contagious pustular dermatitis (orf). **Veterinary Bulletin**. v. 51, p. 771-781, 1981.

ROBINSON, A. J. e MERCER, A.A. Orf virus and vaccinia virus do not cross-protect sheep. **Archives of Virology**, v. 101, n. 3-4, p. 255-259, 1988.

SANTANA, R. L. de. **Isolamento e avaliação do comportamento de amostras do vírus ectima contagioso em cultivo de células de córnea fetal caprina.** 57p. Dissertacão (Mestrado em Ciencia Veterinaria). Universidade Federal Rural de Pernambuco, PE, 2008.

SCAGLIARINI, A.; DAL POZZO, F., GALLINA, L.: GUERCIO, A.; DE CLERCIO, 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.; DAL POZZO, F., GALLINA, L.: GUERCIO, A.; DE CLERCIO, E.; SNOECK, R.; ANDREI, G. Ovine skin organotypic culture applied to the ex vivo study or orf vírus infection. **Veterinary Research Communication**. Italy, v 29 (2), p. 245-327, 2005.

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**. Rio de Janeiro, V. 28, n.2, p. 60-62, 2006.

SHELLEY, WD., SHELLEY, ED. Surgical treatment of farmyard pox: orf, milker s nodule, bovine pustular stomatites pox. **Cutis**, 31, 256-257, 1983.

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.

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

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

VIKOREN, T.; LILLEHAUG, A.; AKERSTEDT, J.; BRETTEN, T.; HAUGUM, M.; TRYLAND, M. A severe outbreak of contagious ecthyma (orf) in a free-ranging musk ox (*Ovibos moschatus*) population in Norway. **Veterinary Microbiology**, v. 127, p. 10-20, 2008.

ZAMRI-SAAD, M.; KARIM, S. A. AJEELI, A. L. et al., A severe outbreak of orf involving the buccal cavity of goats. **Tropical Animal Production**, México, v.24, p. 177-178, 1992.

Recebido em 14/10/2018  
Aceito em 15/01/2019

# Revista Agrária Acadêmica

*Agrarian Academic Journal*

Volume 2 – Número 1 – Jan/Fev (2019)

---

doi: 10.32406/v2n12019/144-160/agrariacad

## **Urospermia in horses**

Urospermia em cavalos

Jailson Honorato<sup>1</sup>, José Adalmir Torres de Souza<sup>2</sup>,  
Deyse Naira Mascarenhas Costa<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí – UFPI, Teresina – PI.

[honorato@uemasul.edu.br](mailto:honorato@uemasul.edu.br)

<sup>2</sup> Laboratório de Biotecnologia da Reprodução Animal, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí – UFPI, Teresina – PI. [adalmir@ufpi.edu.br](mailto:adalmir@ufpi.edu.br)

<sup>3</sup> Professora Adjunta Doutora, Universidade Estadual do Tocantins – UNITINS, Palmas – TO.

[missmascarenhas@hotmail.com](mailto:missmascarenhas@hotmail.com)

---

### **Abstract**

Contamination of the raw semen with urine can result in irreversible damage to the semen. The sensitivity of spermatozoa to osmotic damage differs markedly between species. Urospermia has been associated with intermittent subfertility and infertility in the horse. The cause may involve failure of the bladder sphincter occlusion and a functional disorder in the components of the autonomic sympathetic and parasympathetic autonomic nervous system that control urination, erection, and ejaculation. Few studies have been done reporting the effects of urospermia on changes in pH, osmolality and motility of equine semen, but it has been reported in the literature that a urospermic condition leading to a hyperosmolar solution is detrimental to sperm motility in horses.

**Keywords:** Urine, equine, semen, motility

### **Resumo**

A contaminação do sêmen bruto com urina pode resultar em danos irreversíveis ao sêmen. A sensibilidade dos espermatozoides ao dano osmótico difere marcadamente entre as espécies. A urospermia tem sido associada à subfertilidade intermitente e infertilidade no cavalo. A causa pode envolver falha na oclusão do esfincter da bexiga e um distúrbio funcional nos componentes do complexo sistema nervoso autônomo simpático e parassimpático que controlam a micção, a ereção e a ejaculação. Poucos estudos foram feitos relatando os efeitos da urospermia sobre as alterações no pH, osmolalidade e motilidade do sêmen de equino, mas foi relatado na literatura que uma condição urospérmica que leva a uma solução hiperosmolar é prejudicial à motilidade dos espermatozoides em cavalos.

**Palavras-chave:** Urine, equino, sémen, motilidade

## Introduction

Urospermia is the contamination of semen with urine (BLANCHARD et al., 1990) and the contamination of ejaculates with urine occurs occasionally during collection of semen in many species (ALTHOUSE et al., 1989); in stallions can occur sporadically or consistently (McDonnell, 1992). Urospermia manifests itself individually in different stallions, ranging from stallions that present normal copulation with ejaculation to an abnormal pattern of copulation with or without occasional ejaculation (LOWE, 2001). A yellow / amber color of the ejaculate suggests urospermia (KENNEY et al., 1983).

The contamination of the raw semen with urine can result in irreversible damage to the semen (VOGE et al., 2016) and the deleterious effects of urine on sperm are due to changes in pH, increased osmolality and toxic effects of urea and other components of urine (GRIGGS et al., 2001; WIRTU et al., 2008).

The sensitivity of spermatozoa to osmotic damage differs markedly between species, which determines the ability of cells to regain motility after osmotic stress (GOMES-ALVES et al., 2014).

Urine contamination is detrimental to semen motility (KIM, KIM, 1998), acrosome integrity of the membrane and reduces its fertilization capacity (SANTOS et al., 2011), preventing its use in artificial insemination, thus reducing fertility of the stallion (VOGE et al., 2016).

Urospermia has been associated with intermittent subfertility (HOYOS SEPÚLVEDA et al., 1999) and infertility in horses and other species, including man (GRIGGERS et al., 2001). Subfertility is thought to be caused by a direct adverse effect of urine on sperm and indirect adverse urine change in vaginal and endometrial pH of the mare (BLANCHARD et al 1996). Consequently, pregnancy rates decrease due to the toxic effects of urine on sperm function (McCUE, 2014).

Although there are cases where mixing of semen with urine can be avoided, the clinician should often manage artificial insemination with contaminated semen (VOGE et al., 2016). The importance of how to reverse the harmful effects of urinary contamination on semen (GRIGGERS et al., 2001), as well as the need for further studies on the effects of urospermia on fertility and on the quality improvement of equine urosperm semen samples (ELLERBROCK et al. al., 2016) justifies the investigation. The objective was to evaluate the viability of the semen contaminated with urine through the evaluation of sperm motility, function and morphology.

## Literature review

### Causes of urospermia

The causes of urospermia in stallions are not well defined. The pathology may develop as an isolated disorder or may be associated with other primary neurological abnormalities, such as equine protozoal myeloencephalitis, equine herpesvirus 1, and sorghum toxicosis, as well as clinical conditions such as periodic hyperkalemic paralysis, cystitis and urolithiasis. Urospermia can also develop secondary to fractures, osteomyelitis and neoplasia. In addition, some cases do not appear to be associated with a specific pathological condition and may be behavioral in origin (BLANCHARD et al., 1990, MAYHEW et al., 1990; TURNER et al., 1995; McCUE, 2014).

Urospermia may also occur as reproductive dysfunction in cases of equine tail injury (TUTKO et al., 2002).

Urospermia is mentioned as an ejaculatory disorder caused by failure of the bladder neck at the time of ejaculation (VARNER et al., 2000). Inadequate closure of the sphincter may result from mechanical causes, such as fibrosis, or from neurogenic causes (TURNER et al., 1995; VARNER et al., 1991). This may be a transient condition in excessively excited stallions during the first ejaculations. However, in most cases of transient or permanent urospermia, spermatozoa are easily observed (ESTRADA et al., 2003).

It is possible that, under certain circumstances, the hypogastric sympathetic nerve fibers innervating the ejaculatory system and the bladder are stimulated simultaneously, resulting in urine during ejaculation (LOWE, 2001). As the control of urination, erection and ejaculation is orchestrated by parasympathetic and sympathetic activity, any injury to components belonging to the autonomic nervous system can result in urospermia (HOYOS SEPÚLVEDA et al., 1999).

Semen contaminated by urine (inside the urinary bladder) may also occur during retrograde ejaculation (BRINSKO, 2001).

### **Pathogenesis of urospermia**

Little information is available on the pathogenesis of urospermia (MAYHEW et al., 1990), but may involve failure of bladder sphincter occlusion and a functional disorder in components of the sympathetic and parasympathetic autonomic nervous system complex that control urination, erection, and (LEESTER et al., 1990).

The various sites of potential lesions that may interfere with ejaculation and cause the appearance of urine in the ejaculate include afferent and efferent nerves that innervate the structures of the bladder and urethra, ascending visceral afferent and proprioceptive pathways, and efferent motor neuron pathways autonomous and somatic descending within the spinal cord and brain stem. These pathways and their associated reflexes, voluntary and involuntary activity are very complex (MAYHEW, 1990).

Spinal cord disorders were not specifically incriminated in causing urospermia, but were associated with abnormal urination patterns and therefore, a complete evaluation of the horse's gait should be performed. The specific stage of the neurological examination that must be performed in some detail is the evaluation of the signs obtained from the tail, the anus and the rectum. The assessment of tail tonus and anal reflex should be evaluated critically. The evidence of muscular atrophy and localized sweating in the gluteal and perineal region should be examined. This is because lower motor neuron disturbances in this region are the most likely neurological cause of urination during ejaculation. This may be associated with 1) a lower motor neuron lesion that affects lumbar sympathetic output to the hypogastric nerve by controlling alpha-adrenergic muscle tone or 2) a sacral lesion that affects the somatic efferent outlet to the pudendal nerve of cholinergic receptors, maintains urethral striated muscle tone (MAYHEW, 1990).

However, most cases of urospermia in stallions are idiopathic in nature (TURNER, 2007).

### **Clinical signs of urospermia**

A stallion with persistent urination during ejaculation does not show other abnormalities of the urogenital system. It is observed that urine is released in ejaculation on several occasions. The position of the horse while urinating should be normal. The endocrine status of the stallion does not reveal abnormalities as demonstrated by normal serum, testosterone concentration at rest, and by a normal testosterone stimulation test (TURNER et al., 1995; COX, 1975).

As part of a thorough behavioral assessment, the horse can be filmed in its stall for a period of 24 hours. The horse's posture during urination and the frequency and flow of urination may be normal. Frequency, duration and control of the penis are also normal. Frequency and posture of defecation are equally normal. If the stallion leans on the bay wall in an unusual posture, it suggests a slight neurological deficit. Urinary incontinence may not be observed during the 24 hour period at which it is filmed or at any time during its stay (TURNER et al., 1995).

The stallion's libido is good. He develops and maintains an erection and mounts normal, but can not mate well during push. During the first collection of semen, the ejaculate of the stallion is normal, but the ejaculation is immediately followed by urination, which contaminates ejaculation with approximately 20 mL of urine and 20 mL of sand as urine sediment. This causes the ejaculate to appear opaque and fetid. The number of normal motile sperm cells is reported as being less than ideal (KENNEY et al., 1993).

An hour later, a second ejaculate can be collected by the use of an artificial vagina in an attempt to obtain semen jets without urine and determine at which point during ejaculation the urine is emitted. All jets of this fractured ejaculate may be grossly normal, appearing translucent white without obvious urine sediment. The initial motility may be 40% total and 30% progressive (TURNER et al., 1995).

The seminal vesicles, ampulla and prostate are normal on palpation by the rectum (LEEDERTSE et al., 1990). The urinary bladder, accessory sex glands, caudal aorta and iliac arteries should be examined by palpation and ultrasonography by the rectum; no abnormality should be apparent. The bladder may not be manually evident from the rectum, which indicates the presence of any functional sphincter. Rectal palpation and ultrasonography should be performed again and, despite the apparently normal voluntary urination behavior, urine and sediments may remain in the bladder, suspecting a detrusor sphincter muscle dyssynergy (TURNER et al., 1995).

A small amount of urine crystals can be detected during semen evaluation, visible in a microscope smear (LEEDERTSE et al., 1990).

A complete neurological examination does not reveal apparent deficits beyond the urinary tract. Specifically, cranial nerve function, hind limb function, anal tone, anal reflex, tail tone, and defecation are considered normal. There are no areas of cutaneous hypoalgesia (TURNER et al., 1995).

Stallions with less sacral development may be impotent due to incomplete and sterile erections due to urospermia (DEBOWES, 1990).

## **Diagnosis of urospermia**

Urospermia is more likely to occur with stallions that can not ejaculate readily (McKINNON, 2013) and the diagnosis is based on physical characteristics, such as urine odor, increased volume (HOYOS SEPÚLVEDA et al., 1999) and color ranging from yellow to amber (KENNEY et al., 1983) or pale yellow to dark yellow color (ALTHOUSE et al., 1989; BALL, 2008).

Color is influenced not only by urine contamination, but also by the concentration of semen, the diluent used, and the cleansing of ejaculation. Failure to properly wash the penis and remove smear prior to collection can result in ejaculation debris and a color change (ELLERBROCK et al., 2016).

Likewise, odor is a poor diagnostic tool for small amounts of urinary contamination, but is highly specific for moderate to high amounts of urine contamination in raw and refrigerated semen. In addition, the odor may be influenced by the stallion, diluent used or failure to evaluate odor after collection (ELLERBROCK et al., 2016).

The level of contamination of urine semen can also be evaluated by the pH value of the ejaculate and results higher than 8.0, and may even reach 8.5, indicate the presence of urine in the sample (CARY et al., 2004; JASKO, 1992).

However, the color, odor and pH of semen are not reliable tests for detecting small amounts of urinary contamination in widely cooled samples, but a commercial test strip of urea nitrogen can detect the presence of small urine concentrations in samples of semen crude and with moderate degrees of urine contamination in samples prolonged cooled (ELLERBROCK et al., 2016).

In other cases, urospermia may be more difficult to detect and requires the use of urea or creatinine assays (BALL, 2008).

Urea and creatinine are well-known markers for the detection of urine in the ejaculate (MRÁCKOVÁ, ZAVADILOVÁ, SEDLINSKÁ, 2015). Biochemical analysis reveals high concentrations of urea and creatinine in seminal plasma and decreased sperm concentrations in the ejaculate (VOSS, McKINNON, 1993).

Concentrations of urea above 5 mmol / liter or creatinine above 177 µmol / liter in semen are said to be diagnostic (BOYLE, 1990).

However, urea nitrogen and / or creatinine determinations require expensive laboratory equipment, trained technicians, and time, and therefore do not have immediate value to the clinician in the field (ALTHOUSE et al., 1989).

The identification of a rapid and reliable method to determine the presence of urine in ejaculates would be beneficial for immediate diagnosis. A test could be used as a screening procedure for further extensive and costly further analysis of collected samples. In addition, the analysis of urinary contamination in ejaculates not routinely implemented in ultrasound examinations and daily protocols of semen evaluation could be performed easily and without cost. Such testing could also provide additional information about a particular animal and a particular ejaculate in question (ALTHOUSE et al., 1989).

Equine semen samples can be analyzed using the Azostix, Multistix or uric acid test kit. The Azostix diagnostic test contains a reagent strip that is sensitive to urea nitrogen. All urine / semen and control samples are gently shaken several times before testing. The Azostix reagent strip is then immersed in the urine-contaminated control or sample and immediately removed. The strip is held

horizontally and rinsed with distilled water. Subsequently, visual examination for a color change is done at 5-second intervals for 1 minute (ALTHOUSE et al., 1989).

A change in color (yellow to green) is observed within 10 seconds in the ejaculates that had urea nitrogen concentrations above 39 mg / dL (ALTHOUSE et al., 1989).

The Azostix manufacturer recommends that you wait at least 60 seconds to read the test strip against the scale provided on the back of the container. Azostix is highly sensitive and specific when used to diagnose urine contamination in cold semen, regardless of the percentage of urinary contamination (ELLERBROCK et al., 2016).

Another diagnostic test, Multistix, contains 10 reagent strips that can detect glucose, bilirubin, ketones, specific gravity, blood, pH, protein, nitrites, urobilinogen and leukocytes in a sample. Multistix is tested by immersing the reagent strip in the control or in the urine-contaminated sample and then removed. The strip is held in a horizontal position to prevent mixing of chemicals from the adjacent reagent areas. Multistix is examined for a color change at 15-second intervals for 1 minute and then at 30-second intervals for a further 3 minutes (ALTHOUSE et al., 1989).

The Azostix and Multistix tests successfully detect urine in the equine ejaculate (ALTHOUSE et al., 1989) and are highly specific and sensitive methods to evaluate urinary contamination in semen of raw, diluted and cooled stallion (C et al., 2016).

For the detection of urinary contamination in semen, the uric acid test can still be performed. This test is performed by adding 0.3 mL of the control or the urine-contaminated semen sample to a vial containing the premixed phosphotungstic acid test reagents and a color buffer. The flask is shaken gently and examined for a color change at 15-second intervals for 1 minute and subsequently at 30-second intervals for an additional 3 minutes (ALTHOUSE et al., 1989).

The semen should not contain calcium carbonate crystals or other mineral sediments. The osmotic pressure of seminal plasma contaminated with urine is increased due to osmotically active constituents of urine (HOYOS SEPÚLVEDA et al., 1999).

A rectal examination should include assessment of rectal tone and residual urine volume after urination and full palpation of pelvic contents with special attention to the ventral surface of the sacrum where fractures can be detected. With lesions of the sacral nerve root, an abrupt loss of rectal tone can be palpated when the hand is moved from the proximal to the distal rectum (MAYHEW, 1990).

For stallions that apparently can not ejaculate or ejaculate containing lower seminal volumes or lower than expected numbers of spermatozoa, obtaining a urine sample after ejaculation through bladder catheterization is a simple diagnostic procedure which can be used to investigate the possibility of retrograde ejaculation (BRINSKO, 2001).

## Treatment of urospermia

A few studies have reported on urospermia and its treatment in stallions (GRIGGERS et al., 2001) and most cases are idiopathic in nature, limiting therapeutic options (VOGE et al., 2016). Targeted therapies to reduce urinary contamination include reducing the amount of urine in the bladder prior to reproduction, collecting only the semen-rich portion of the ejaculate using an open-

ended artificial vagina, or pharmacological treatment to increase closure of the cervix bladder during ejaculation (TISCHNER et al., 1974).

Among these limited therapeutic options available for the treatment of urospermia in stallions, none were consistently satisfactory. Encouraging the horse to urinate immediately prior to ejaculation has been suggested (LEENDERTSE, et al., 1990) and techniques to induce micturition in stallions include lodging in a recently laid bed, stool placement of another stallion in the stallion of the affected stallion and the use of diuretics (LEENDERTSE, et al., 1990; HELD, et al., 1992). Fractionation of ejaculate has also been suggested as a means of managing urospermia. Theoretically, urine-free ejaculation could be obtained by collecting only urine-free jets (VARNER, et al., 1991; NASH, et al., 1980). This technique may be satisfactory if urine contamination occurs only in the final ejaculation jets. Unfortunately, the pattern of urinary contamination during ejaculation is not always repeated in an affected individual (TURNER et al., 1995).

The affected stallion can be housed in the stall of another stallion that still contained a fecal pile of that other stallion. Initially, the affected stallion seems very anxious to be in the stall of another stallion. However, after about 3 minutes, the horse smells like the other stallion's fecal pile, perches on it and urinates on the other stallion's fecal stack (McCUE, 2014).

The stallion will then be immediately taken to the breeding shed and the semen collected without contamination with urine. The cycle of moving the stallion to another stall and allowing it to urinate should be repeated three times on all other days. Normal ejaculation in the absence of urinary contamination will occur during each collection procedure and will be normal since then (McCUE, 2014).

Another management technique that can be employed to encourage a stallion to urinate prior to semen collection is to remove the stallion from its normal stall, clean the stall, lay fresh bed, and then return the horse to its stall. Most stallions will urinate within a few minutes to mark their territory (McCUE, 2014).

Management of the stallion during the remaining breeding period implies delaying mating until immediately after urination. This can be achieved by administering a diuretic followed by exposure to urinary stimuli 30 minutes later. This includes stallion walking around a pasture with a mare in the estrus, whistling for the stallion or shaking the drinking water while it is in its stall. When the stallion has urinated, the mare is brought (LOWE, 2001).

Twelve hours after mating, mares are reexamined by ultrasonography for evidence of uterine fluid not present before mating and possibly associated with urination during intercourse. If present, the mare is treated with a high volume uterine lavage with 3 L of isotonic saline (0.9% NaCl) infused through a uterine lavage catheter and applied 20 IU of oxytocin IM. The mare is then reexamined 2 hours later (LOWE, 2001).

Treatment of urospermia stallions includes diuretics,  $\alpha$ -adrenoceptor agonists,  $\beta$ -adrenoceptor antagonists, tricyclic antidepressants, parasympathetic muscarinic receptor antagonists, muscarinic parasympathetic receptor agonists and hormones. These drugs are intended to (1) promote evacuation of the bladder prior to ejaculation; (2) increase the tone of the external urethral sphincter during ejaculation to avoid contamination of the semen by urine; or (3) altering the production of urine (HOYOS SEPÚLVEDA et al., 1999).

The use of diuretics may be helpful if the stallion completely empties its bladder prior to ejaculation, but may result in a large volume of diluted urine deposited in ejaculation that would be detrimental to fertility (GRIGGERS et al., 2001).

Tricyclic antidepressants, such as imipramine, were used as therapy for urospermia in stallions in an effort to increase bladder sphincter tone (McDONNEL, 1992) and the external urethral sphincter during ejaculation (TURNER et al., 1995).

The owner should administer 500 mg of imipramine in ration 2 to 3 hours prior to collection of semen and collect semen immediately after the stallion has urinated. If the first ejaculate has gross urine contamination, a second ejaculate should be collected 10 to 15 minutes later (TURNER et al., 1995).

Imipramine also appears to increase the contractility of the bladder neck during urine output. The mechanism of action is not fully understood, but apparently tricyclic antidepressants and their metabolites promote  $\alpha$ -adrenergic activity by inhibiting norepinephrine reuptake (McDONNEL, 1992). On the other hand, a test with three stallions exhibiting urospermia showed no beneficial effect of imipramine on the subsequent biochemistry of seminal plasma, including urea and creatinine concentration (HOYOS SEPÚLVEDA et al., 1999). These medications can also be used to decrease the frequency of retrograde ejaculation (BRISKO, 2001).

In an additional attempt to control urospermia, administration of phenylpropanolamine, another  $\alpha$ -adrenergic agent, was administered (0.35 mg / kg) twice daily for 14 days with no apparent improvement (TURNER et al., 1995).

As urination during ejaculation is usually intermittent in stallions, success is often elusive (VOSS, McKINNON, 1993). The response to treatment should be evaluated individually (HOYOS SEPÚLVEDA et al., 1999).

Semen diluents are commonly used in equine AI to prolong semen viability and inhibit bacterial growth, but the use of a semen diluent may also be beneficial in relieving the negative effects of urine on sperm motility. The recovery of progressive semen motility, reduced by urinary contamination, depends on the diluent used to dilute the semen (GRIGGERS et al., 2001).

When urine contamination is substantial, the semen should be mixed with an equal volume of semen diluent and centrifuged for 10 minutes at 400 x g. Centrifugation will separate seminal plasma, sperm and any urine sediment (DASCANIO, WITONSKY, 2005).

While centrifugation may be expected to provide an additional benefit by reducing the amount of urine contaminating the semen, centrifuging the ejaculate and resuspension with the crude diluent have no advantage over the simple addition of diluent. It is possible that the exposure of spermatozoa to a higher concentration of urine crystals, which would be centrifuged in the sediment along with the sperm, could cause additional damage to the cells and inhibit any beneficial effect of the centrifugation. In addition, a potential disadvantage of centrifugation is the possible loss of some viable spermatozoa in the discarded supernatant if the procedure is not performed correctly; for example, rapid removal of the supernatant after completion of the centrifugation process. Although centrifugation is a valuable technique to remove undesirable seminal plasma for some infertile stallions, it is still unclear in cases of urospermia (GRIGGERS et al., 2001).

In cryopreservation of semen in many species, centrifugation of ejaculates is necessary to remove seminal fluids, increase semen concentration and recover samples contaminated with urine (ALVAREZ et al., 2012).

When these treatments are unsuccessful, the minimization of the toxic effects of urine on the semen is attempted. Treatment of semen contaminated with urine by cushioned / resuspension centrifugation may improve some of the adverse effects of urospermia on fertility, maintaining sperm membrane integrity, but stallions vary in their response to these treatments (VOGE et al., 2016).

### Effects of urospermia on equine semen

Few studies have been done reporting the effects of urospermia on changes in pH, osmolality and motility of equine semen, but it has been reported that a urospermic condition leading to a hyperosmolar solution is detrimental to sperm motility in horses (GRIGGERS et al. 2001). It is believed that spermatozoa can undergo training in media with higher ionic strength. Thus, without adjustment of the ejaculate, the spermatozoa in semen contaminated with urine can undergo premature acrosome formation and reaction, resulting in decreased fertility (DASCANIO, WITONSKY, 2005).

The addition of diluted urine (obtained after administration of furosemide) to semen to produce a 5% (v: v) mixture has little effect on osmolality or pH, increasing from 312 to 316 mOsm and 7.71 to 7.80, respectively, and do not significantly affect motility immediately after treatment or after 1 hour. In the present study, it was found that the volume of urine collected by catheterization increased significantly.

Addition of 50% diluted urine or any amount of urine collected by catheterization resulted in an immediate reduction of initial progressive motility from 116% to 64%. The effect of adding 33 or 50% catheterized urine resulted in an immediate reduction to 5% and 0% progressive motility, respectively. There is no clear indication whether acidic or basic conditions are more detrimental to the motility of equine semen, but urine is detrimental to semen motility in almost all cases. Only when a small amount (5%) of diluted urine was added to ejaculation, there was no apparent effect on motility. Any amount of "normal" urine or greater amounts of diluted urine reduces motility (GRIGGERS et al., 2001).

Other preliminary studies have shown that the addition of urine to the semen prior to the addition of diluent resulted in a marked reduction in sperm motility (VOGE et al., 2016), affecting the initial motility and semen motility after 24 hours of cooling, even when there is a small amount of urine. Urine contamination has a more pronounced effect on the reduction of sperm motility in the raw semen compared to refrigerated and diluted stored samples. Addition to semen with a commercial milk-based semen diluent can correct the damaging effects of a hypertonic solution and alkaline pH. However, even a small amount of urine contamination (less than 10% of the total semen volume) has deleterious effects on semen motility and may go unnoticed by semen processing and transport (ELLERBROCK et al., 2016).

Centrifugation of semen contaminated with urine and resuspension with new amounts of diluent does not improve the above motility. The skim milk diluter restores better motility than the egg yolk extender at a ratio of 1: 3 immediately after addition and in any ratio when centrifuged. In addition, the skim milk extender continues to provide superior motility as compared to the egg yolk extender under these circumstances 1 hour after centrifugation and resuspension (GRIGGERS et al., 2001).

Semen DNA quality decreased as urine contamination increased. This effect was immediately apparent (T0), but became more pronounced with increasing storage time of the cooled semen (VOGE et al., 2016).

The effects of urospermia on the motility or fertility of cooled stallion semen were not documented. In practice, urine-contaminated ejaculates may be marketed because of the lack of knowledge of personnel who collect and process semen or for fraudulent reasons without disclosure to the breeding practitioner who manages the mare. It remains unknown whether urine contamination can be adequately diagnosed in prolonged-cooled semen using common means to assess urinary contamination (ELLERBROCK, et al., 2016).

### **Effects of urospermic semen on mare**

Urinary contamination of semen can also cause decreased conception rates due to possible inflammation induced in the uterus by urinary components. The effects of urine on the endometrium were extrapolated from the effects found in mares with vesico-vaginal reflux (DASCANIO, WITSKY, 2005).

Urine in the uterus may result from vesico-vaginal reflux and subsequent flow forward through an open cervix and may also occur from contamination by a stallion having urospermia. (GRIGGERS et al, 2001). In addition, urine in the uterus creates chemical endometritis and, if it persists, will interfere with the maintenance of pregnancy. Urine in the uterus of the mare is identified by hyperechoic accumulations most commonly at the corneal junction and does not easily creep with the catheter. It seems that the echogenicity of urine is a combination of crystals and mucus. Urine in the uterus should be removed with voluminous lavage (McKINNON, McCUE, 2013).

Ultrasonography of the mare after the service is a useful technique for the diagnosis of urospermia in natural mare creations. Normally, they have a hyperechoic accumulation of urine crystal sediment in the body of the uterus, which, although similar to the appearance of air, does not have the typical air refraction (McKINNON, 2013).

### **Final considerations**

Finally, there is still a need to evaluate the endometrial effects of mares inseminated with samples of urospermic semen from stallions, as well as the performance of *in vivo* fertility tests.

### **References**

ALTHOUSE, G.C.; SEAGER, S.W.J.; VARNER, D.D.; WEBB, G.W. Diagnostic aids for the detection of urine in the equine ejaculate. *Theriogenology*, 31, 1141-1148, 1989.

ALVAREZ-RODRÍGUEZ, M., ALVAREZ, M., LOPEZ-URUE~NA, E., MARTINEZ-RODRIGUEZ,C., BORRAGAN, S., ANEL-LOPEZ, L., DE PAZ, P., ANEL, L. Brown bear sperm double freezing: effect of elapsed time and use of PureSperm® gradient between freeze-thaw cycles. *Cryobiology*, 67, 339-346, 2013.

ÁLVAREZ-RODRÍGUEZ, M.; ÁLVAREZ, M.; ANEL-LÓPEZ, L.; LÓPEZ-URUEÑA, E.; MANRIQUE, P.; BORRAGÁN, S.; MORRELL, J.M.; PAZ, P. de; ANEL, L. Effect of colloid (Androcoll-Bear, Percoll, and PureSperm) selection on the freezability of brown bear (*Ursus arctos*) sperm. **Theriogenology**, 85, 1097-1105, 2016.

ALVAREZ-RODRÍGUEZ, M.; ALVAREZ, M.; BORRAGAN, S.; MARTINEZ-PASTOR, F.; HOLT, W.V.; FAZELI, A.; PAZ, P. de; ANEL, L. The addition of heat shock protein HSPA8 to cryoprotective media improves the survival of brown bear (*Ursus arctos*) spermatozoa during chilling and after cryopreservation. **Theriogenology**, 79, 541-550, 2013.

ANEL, L.; ALVAREZ, M.; MARTINEZ-PASTOR, F.; GOMES, S.; NICOLAS, M.; MATA, M.; MARTINEZ, A.F.; BORRAGAN, S.; ANEL, E.; PAZ, P. de. Sperm cryopreservation in Brown Bear (*Ursus arctos*): Preliminary Aspects. **Reproduction of Domestic Animals**, 43 (4), 9-17, 2008.

ANEL, L.; GOMES-ALVES, S.; ALVAREZ, M.; BORRAGAN, S.; ANEL, E.; NICOLAS, M.; MARTINEZ-PASTOR, F.; PAZ, P. de. Effect of basic factors of extender composition on post-thawing quality of brown bear electro-ejaculated spermatozoa. **Theriogenology**, 74, 643-651, 2010.

ARRUDA, R.P. **Avaliação dos efeitos de diluidores e crioprotetores para o espermatozoide eqüino pelo uso de microscopia de epifluorescência, Citometria de fluxo, análises computadorizadas da motilidade (CASA) e da morfometria (ASMA)**. 2000. 121f. Tese (Livre Docência) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2000.

BALL, B.A. Diagnostic Methods for Evaluation of Stallion Subfertility: A Review. **Journal of Equine Veterinary Science**, 28 (11), 2008.

BLANCHARD, T.L.; VARNER, D.D.; BRETZLA, K.N.; MORRIS, D.L.; ELMORE, R.G. Male reproductive disorders. In: SMITH, B.P. **Large Animal Internal Medicine**, 1st ed. St. Louis – MO, 1990.

BLISS, S.B.; VOGE, J.L.; HAYDEN, S.S.; TEAGUE, S.R.; BRINSKO, S.P.; LOVE, C.C. The impact of "cushion"ed centrifugation protocols on sêmen quality of stallions. **Theriogenology**, 77, 1232-1239, 2012.

BOURKE, D.A.; KYLE, C.E.; MCEVOY, T.G.; YOUNG, P.; ADAM, C.L. Advanced reproductive technologies in South American Camelids. In: GERKEN, M.; RENIERI, C. (Eds.), **Proceedings of the 2nd European Symposium on South American Camelids**. Publ Universita degli Studi di amerino, 1995.

BOYLE, M. The investigation of stallion fertility problems. **Equine Veterinary Education**, 2 (2) 65-61, 1990.

BRINSKO, S.P. et al. **Manual of Equine Reproduction** (Third edition), Mosby Elsevier, 2002.

BRINSKO, S.P. Retrograde ejaculation in a stallion. **Journal of American Veterinary Medical Association**, 218, 551-553, 2001.

CARY, J.A.; MADILL, S.; FARNSWORTH, K.; HAYNA, J.T.; DUOOS, L.; FAHNING, M.L. A comparison of electro-ejaculation and epididymal sperm collection techniques in stallions. **Canadian Veterinary Journal**, 45, 2004.

CHEN, D.; SCOBY, M.J.; JEYENDRAN, R.S. Effects of urine on the functional quality of human spermatozoa. **Fertility and Sterility**, 64, 1216-1217, 1995.

CHEN, L.M.; HOU, R.; ZHANG, Z.H.; WANG, J.S.; AN, X.R.; CHEN, Y.F.; ZHENG, H.P.; XIA, G.L.; ZHANG, M.J. Electro-ejaculation and sêmen characteristics of Asiatic black bears (*Ursus thibetanus*). **Animal Reproduction Science**, 101, 358-364, 2007.

CHEN, M.; BONGSO, A. Comparative evaluation of two density gradient preparations for sperm separation for medically assisted conception. **Human Reproduction**, 14 (3) 759-764, 1999.

COX, J. E. Experience with a diagnostic test for equine cryptorchidism. **Equine Veterinary Journal**, 7, 179, 1975.

DANEK, J.; WISNIEWSKI, E.; KRUMRYCH, W. A case of urospermia in a stallion. **Medycyna-Weterynaryjna**, 50, 129-131, 1994.

DASCANIO, J.J.; WITONSKY, S.G. Theriogenology: question of the month. **Journal of American Veterinary Medical Association**, 227, 225-227, 2005.

DeBOWES, R.M. Management of vertebral fractures. In: WHITE, N.A.; MOORE, J.N. (Eds.) **Current Practice of Equine Surgery**, 1st ed., J.B. Lippincott Co., Philadelphia, PA, 1990.

DELFIOL, D.J.Z.; OLIVEIRA-FILHO, J.P. de; BATAZZA, A.; SOUZA, C.P. de; BADIAL, P.R.; ARAUJO JUNIOR, J.P.; BORGES, A.S. Prevalência da mutação causadora da paralisia periódica hipercalêmica em equinos da raça Quarto de Milha no Brasil. **Ciência Rural**, v. 45, n. 5, 2015.

ELLERBROCK, R.; CANISSO, I.; FEIJO, L.; LIMA, F.; SHIPLEY, C.; KLINE, K. Diagnosis and effects of urine contamination in cooled-extended stallion sêmen. **Theriogenology**, 85, 1219-1224, 2016.

ESTRADA, A.; SAMPER, J.C.; LILLICH, J.D.; RATHI, R.R.; BRAULT, L.S.; ALBRECHT, B.B.; IMEL, M.M.; SENNE, E.M. Azoospermia associated with bilateral segmental aplasia of the ductus deferens in a stallion. **Journal of American Veterinary Medical Association**, 222 (12), 2003.

FERNANDEZ BACA, S. Manipulation of reproductive functions in male and female New World Camelids. **Animal Reproduction Science**, 33, 307-323, 1993.

GIULIANO, S.; DIRECTOR, A.; GAMBAROTTA, M.; TRASORRAS, V.; MIRAGAYA, M. Collection method, season and individual variation on seminal characteristics in the llama (*Lama glama*). **Animal Reproduction Science**, 104, 359-369, 2008.

GOMES-ALVES, S.; ALVAREZ, M.; NICOLAS, M.; MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, C.; BORRAGÁN, S.; CHAMORRO, C.A.; ANEL, L.; PAZ, P. de. Salvaging urospermic ejaculates from brown bear (*Ursus arctos*). **Animal Reproduction Science**, 150, 148-157, 2014.

GONZALEZ-FERNANDEZ, L.; MORRELL, J.M.; PENA, F.J.; MACIAS-GARCIA, B. Osmotic shock induces structural damage on equine spermatozoa plasmalemma and mitochondria. **Theriogenology**, 78, 415-422, 2012.

GRIGGERS, S; PACAMONTI, D.L; THOMPSON, R.A; EILTS, B.E. The effects of pH, osmolality and urine contamination on equine spermatozoa motility. **Theriogenology**, 56, 613-622, 2001.

HELD, J.P.; McCracken, M.D.; TOAL, R.; LATIMER, F. Epididymal swelling attributable to generalized lymphosarcoma in a stallion. **Journal of American Veterinary Medical Association**, 201, 1913-1915, 1992.

HOYOS SEPÚLVEDA, M.L.; ROCHA, G.F.Q.; BRUMBAUGH, G.W.; MONTIEL, Q.; RODRIGUEZ, M.; MORALES, E.C. Lack of Beneficial Effects of Bethanechol, Imipramine or Furosemide on Seminal Plasma of Three Stallions with Urospermia. **Reproduction of Domestic Animals**, 34, 489-493, 1999.

IETJE, P.; LEENDERTSE, A.C.; ASBURY, K.J.; BOENING, F.C.; SALDERN, V. Successful management of persistent urination during ejaculation in a Thoroughbred stallion. **Equine Veterinary Education**, 2 (2) 62-64, 1990.

JASKO, D.J. Evaluation of stallion sêmen. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, 7, 018- 037, 1992.

JOHNSON, A.K.; LOVE, C.C.; CASILLO, A.L.; POOL, R.R. Mesothelioma of the tunica vaginalis testes in a stallion. **Equine Veterinary Education**, 20 (9) 480-484, 2008.

KENNEY, R.M.; HURGEN, J.; PIERSON, R.; WITHERSPOON, D.; SIMONS, J. **Manual for Clinical Fertility Evaluation of the Stallion**. Society for Theriogenology, Hasrings, NB, 1983.

KIM, S.C.; KIM, H.W. Effects of nitrogenous components of urine on sperm motility: an *in vitro* study. **International Journal of Andrology**, 21, 29-33, 1998.

KOJIMA, E.; TSURUGA, H.; KOMATSU, T.; MURASE, T.; TSUBOTA, T.; KITA, I. Characterization of sêmen collected from beagles and captive Japanese black bears (*Ursus thibetanus japonicus*). **Theriogenology**, 55, 717-731, 2001.

LEENDERTSE, I.P.; ASBURY, A.C.; BOENING, K.J.; SALDERN, F.C. Successful management of persistent urination during ejaculation in a Thoroughbred stallion. **Equine Veterinary Education**, 2, 62-64, 1990.

LOWE, J.N. Diagnosis and management of urospermia in a commercial Thoroughbred stallion. **Equine Veterinary Education**, 13 (1) 4-7, 2001.

MACPHERSON, M.L.; BLANCHARD, T.L.; LOVE, C.C.; BRINSKO, S.P.; VARNER, D.D. Use of a silane-coated silica particle solution to enhance the quality of ejaculated semen in stallions. **Theriogenology**, 58, 317-320, 2002.

MAKLER, A.; DAVID, R.; BLUMENFELD, Z.; BETTER, O.S. Factors affecting sperm motility. VII. Sperm viability as affected by change of pH and osmolality of semen and urine specimens. **Fertility and Sterility**, 36, 507-511, 1981.

MAYHEW, I.G. Neurological aspects of urospermia in the horse. **Equine Veterinary Education**, 2 (2) 68-69, 1990.

McCUE, P.M. Urospermia or urine in the semen – Article in **Animal Reproduction Systems**, 2014. Available in <http://www.arssales.com/Urospermia.html>

McDONNEL, S.M. Ejaculation physiology and dysfunction. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, 8, 57-70, 1992.

McKINNON, A.O. Some selected diseases of the breeding stallion. In: Reproducción equina III: Trabajos presentados en el Tercer Congreso Argentino de Reproducción Equina / 1a ed. - Río Cuarto: UniRío Editora, 2013.

McKINNON, A.O.; McCUE, P.M. Uterine abnormalities. In: Reproducción equina III: Trabajos presentados en el Tercer Congreso Argentino de Reproducción Equina / 1a ed. - Río Cuarto: UniRío Editora, 2013.

MORRELL, J.M., DALIN, A.M., RODRIGUEZ-MARTINEZ, H. Comparison of density gradient and single layer centrifugation of stallion spermatozoa: yield, motility and survival. **Equine Veterinary Journal**, 41, 53-58, 2009.

MORRELL, J.M.; GERAGHTY, R.J. Effective removal of equine arteritis virus from stallion semen. **Equine Veterinary Journal**, 38, 224-229, 2006.

MORTIMER, D. Sperm preparations methods. **Journal of Andrology**, 21 (3) 357-366, 2000.

MRÁCKOVÁ, M.; ZAVADILOVÁ, M.; SEDLINSKÁ, M. Assessment of the effect of selected components of equine seminal plasma on semen freezability. **Macedonian Veterinary Review**, 38 (1) 91-96, 2015.

NASH, J.G.; VOSS, J.L.; SQUIRES, E.L. Urination during ejaculation in a stallion. **Journal of American Veterinary Medical Association**, 176, 224-227, 1980.

NAYLOR, J.M.; NICKEL, D.D.; TRIMINO, G.; CARD, C.; LIGHTFOOT, K.; ADAMS, G. Hyperkalaemic periodic paralysis in homozygous and heterozygous horses: a co-dominant genetic condition. *Equine Veterinary Journal*, 31 (2) 153-159, 1999.

NEELY, D.P.; BRAVO, P.W. Reproductive evaluation and infertility in the male llama and alpaca. In: YOUNGQUIST, R.S. (Ed.), **Current Therapy in Large Animal**. Theriogenology. W.B. Saunders Company, Philadelphia, PA, 1997.

NICOLAS, M.; ALVAREZ, M.; ANEL, E.; MARTINEZ, F.; BORRAGAN, S.; MARTINEZ-PASTOR, F.; PAZ, P. de; ANEL, L. Spermatozoa recovery and post-thawing quality of brown bear ejaculates is affected for centrifugation regimes. **European Journal of Wildlife Research**, 58, 77-84, 2012.

NICOLAS, M.; ALVAREZ, M.; BORRAGAN, S.; MARTINEZ-PASTOR, F.; CHAMORRO, C.A.; ALVAREZ-RODRÍGUEZ, M.; PAZ, P. de; ANEL, L. Evaluation of the qualitative and quantitative effectiveness of three media of centrifugation (Maxifreeze, "cushion" Fluid Equine, and PureSperm® 100) in preparation of fresh or frozen-thawed brown bear spermatozoa. **Theriogenology**, 77, 1119-1128, 2012b.

NICOLAS, M.; ALVAREZ, M.; GOMES-ALVES, S.; MATA-CAMPUSANO, M.; BORRAGAN, S.; MARTINEZ-PASTOR, F.; PAZ, P. de. Effects on brown bear (*Ursus arctos*) spermatozoa freezability of different extender and dilution ratios used for pre-freezing centrifugation. **European Journal of Wildlife Research**, 57, 259-266, 2011.

O'BRIEN, J.K.; ROTH, T.L.; STOOPS, M.A.; BALL, R.L.; STEINMAN, K.L.; MONTANO, G.A.; LOVE, C.C.; ROBECK, T.R. Sperm sex-sorting and preservation for managing the sexratio and genetic diversity of the southern white rhinoceros (*Ceratotherium simum simum*). **Animal Reproduction Science**, 152, 137-153, 2015.

OKANO, T.; MURASE, T.; TSUBOTA, T. Electro-ejaculation and sêmen cryopreservation of free-ranging Japanese black bears (*Ursus thibetanus japonicus*). **Journal of Veterinary Medicine Science**, 66, 1371-1376, 2004.

ORTEGA-FERRUSOLA, C.; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, L.; MURIEL, A.; MACÍAS-GARCÍA, B.; RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, H.; TAPIA, J.A.; ALONSO, J.M.; PENA, F.J. Does the microbial flora in the ejaculate affect the freezeability of stallion sperm? **Reproduction in Domestic Animals**, 44, 518-522, 2009.

POMMER, A.C.; RUTLLANT, J.; MEYERS, S.A. The role of osmotic resistance on equine spermatozoa function. **Theriogenology**, 58, 1373-1384, 2002.

ROTH, T.L.; STOOPS, M.A.; ATKINSON, M.W.; BLUMER, E.S.; CAMPBELL, M.K.; CAMERON, K.N.; CITINO, S.B.; MAAS, A.K. sêmen collection in rhinoceroses (*Rhinoceros unicornis*, *Diceros bicornis*, *Ceratotherium simum*) by electro-ejaculation with a uniquely designed probe. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, 36, 617-627, 2005.

SANTOS, I.P.; CUHNA, I.C.P.; MELO, E.T.J. Effects of urine and NaCl solutions of different osmolarities on canine sperm. **Animal Reproduction**, 8, 73-79, 2011.

SILVA, A.R.; CARDOSO, R.C.S.; SILVA, L.D.M.; CHIRINEIA, V.H.; LOPES, M.D.; SOUZA, F.F. Prognostic value of canine frozen-thawed semen parameters on *in vitro* sperm-oocyte interactions. **Theriogenology**, 66, 456-462, 2006.

SÖDERLUND, B.; LUNDIN, K. The use of silane-coated silica particles for density gradient centrifugation in in-vitro fertilization. **Human Reproduction**, 15, 857-860, 2000.

TISCHNER, M.; KOSINIAK, K.; BIELANSKI, W. Analysis of the pattern of ejaculation in stallion. **Journal of Reproduction and Fertility Supplement**, 41, 329-335, 1974.

TURNER, R.M.O. Urospermia and hemospermia. In: MCKINNON, A.O.; PYCOCK, J.F.; SAMPER, J.C. (Eds.), **Current therapy in equine reproduction**, Saunders, St. Louis, 2007.

TURNER, R.M.O.; LOVE, C.C.; MCDONNELL, S.M.; SWEENEY, R.W.; TWITCHELL, E.D.; HABECKER, P.L.; REILLY, L.K.; POZOR, M.A.; KENNEY, R.M. Use of imipramine hydrochloride for treatment of urospermia in a stallion with a dysfunctional bladder. **Journal of American Veterinary Medical Association**, 207, 1602-1606, 1995.

TUTKO, J.M.; SELLON, D.C.; BURNS, G.A.; VIVRETTE, S.L.; RAGLE, C.A.; MCCONNICO, R.S.; GIBBONS, D. Cranial coccygeal vertebral fractures in horses: 12 cases. **Equine Veterinary Education**, 14, 197-200, 2002.

VARNER, D.D.; BLANCHARD, T.L.; BRINSKO, S.P.; LOVE, C.C.; TAYLOR, T.S.; JOHNSON, L. Techniques for evaluating selected reproductive disorders of stallions. **Animal Reproduction Science**, 60-61:493-509, 2000.

VARNER, D.D.; LOVE, C.C.; BRINSKO, S.P.; BLANCHARD, T.L.; HARTMAN, D.L.; BLISS, S.B.; CARROL, B.S.; ESLICK, M.C. Semen processing for the subfertile stallion. **Journal of Equine Veterinary Science**, 28, 677-685, 2008.

VARNER, D.D.; SCHUMACHER, J.; BLANCHARD, T.L.; JOHNSON, L. **Diseases and management of breeding stallions**. Goleta, California: American Veterinary Publications, 337-340, 1991.

VERSTEGEN, J; IGUER-OUADA, M; OCLIN, K. Computer assisted semen analyzers in andrology research and veterinary practice. **Theriogenology**, v.57, 2002.

VOGE, J.; VARNER, D.D.; BLANCHARD, T.L.; MESCHINI, M.; TURNER, C.; TEAGUE, S.R.; BRINSKO, S.P.; LOVE, C.C. The effects of urine concentration, and "cushion" centrifugation to remove urine, on the quality of cool-stored stallion sperm. **Theriogenology**, 86 (5) 1294-1298, 2016.

VOLPE, A.; ARTINI, P.G.; COUKOS, G.; UCCELI, E.; MARCHINI, E.; GENAZZANI, A.R. Sperm retrieval for direct intraperitoneal insemination in a diabetic with retrograde ejaculation. **Journal of Reproductive Medicine**, 37, 219-220, 1992.

VOSS, J.L.; McKINNON, A.O. Hemospermia and urospermia. In: McCKINNON, A.O.; VOSS, J.L. (eds). **Equine Reproduction** (Lea and Febiger) Philadelphia-PA. 1993.

WAITE, J.A.; LOVE, C.C.; BRINSKO, S.P.; TEAGUE, S.R.; SALAZAR, J.L.; MANCILL, S.S. Factors impacting equine sperm recovery rate and quality following "cushioned" centrifugation. **Theriogenology**, 70, 704-714, 2008.

WATSON, P.F. The effects of cold shock on sperm membranes. In: Clarke A, Morris GJ (Ed.). **Effects of low temperatures on biological membranes**. London: Academic Press, 1981.

Recebido em 08/11/2018

Aceito em 16/01/2019

