

2023 IMAST

IV INTERNATIONAL MEETING
OF AGRARIAN SCIENCE
AND TECHNOLOGY

ATUALIDADES NAS CIÊNCIAS AGRÁRIAS:
MUDANÇAS, TENDÊNCIAS E IMPACTOS



Organizadores

Profa. Assoc. Claudia Maria Bertan Membrive

Profa. Dra. Elaine Mendonça Bernardes

Dr. Fábio Sampaio Rosas

Prof. Assoc. Ricardo da Fonseca

unesp 
20 | **scat**
anos 
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS
UNESP DRACENA





IMAST 2023

**IV INTERNATIONAL MEETING OF
AGRARIAN SCIENCE AND TECHNOLOGY**

Organizadores

Profa. Assoc. Claudia Maria Bertan Membrive

Profa. Dra. Elaine Mendonça Bernardes

Dr. Fábio Sampaio Rosas

Prof. Assoc. Ricardo da Fonseca

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E
TECNOLÓGICAS - FCAT**

Unesp - Câmpus de Dracena

Diretor

Prof. Titular Fábio Erminio Mingatto

Vice-diretora

Profa. Dra. Sirlei Aparecida Maestá

Comissão Científica Editorial

Prof. Assoc. Claudia Maria Bertan Membrive

Profa. Dra. Elaine Mendonça Bernardes

Prof. Assoc. Evandro Pereira Prado

Dr. Fábio Sampaio Rosas

Prof. Dr. Leandro Tropaldi

Pós-Doutorando Maurício Bruno Prado da
Silva

Prof. Dr. Paulo Renato Matos Lopes

Prof. Assoc. Reges Heinrichs

Prof. Assoc. Ricardo da Fonseca

Prof. Assoc. Samuel Ferrari

Prof. Dr. Vitor Corrêa de Mattos Barretto

Conselho Editorial

Profa. Dra. Maria José Vicentini Jorente

Prof. Dr. Rodrigo E. Botelho Francisco

Profa. Dra. Joana Gusmão Lemos

Profa. Dra. Dunia Llanes Padrón

Prof. Dr. Jordi Planella-Ribera

Prof. Dr. Daniel Martinez-Avila

Profa. Dra. Alice Semedo

Prof. Dr. José Antonio Frías

Profa. Dra. Rosa San Segundo

Profa. Dra. Marian Blanco Ruiz

Profa. Dra. Cristina Portugal

Prof. Dr. Edberto Ferneda

Profa. Dra. Angela Grossi

Profa. Dra. Jaima Pinheiro de Oliveira

Prof. Dr. Sean Bracken

Dra. Natalia Nakano

Dra. Mariana Cantisani Padua

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvida pela Seção Técnica de Biblioteca e Documentação
Universidade Estadual Paulista (Unesp)
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Dracena

1319 IMAST 2023 / Organizadores: Claudia Maria Bertan Membrive,
Elaine Mendonça Bernardes, Fábio Sampaio Rosas, Ricardo
da Fonseca. -- Dracena : FCAT ; Marília : Ladri, 2023.
410 p. : il. ; 30 cm.

ISBN (Digital): 978-65-980955-1-2

ISBN (Impresso): 978-65-980955-0-5

Inclui bibliografia.

1. Ciências agrárias. 2. Veterinária. 3. Zootecnia.
4. Agronomia. I. Título. II. International Meeting of Agrarian
Science and Technology. III. Membrive, Claudia Maria Bertan.
IV. Bernardes, Elaine Mendonça. V. Rosas, Fábio Sampaio. VI.
Fonseca, Ricardo da.

Bibliotecário Fábio Sampaio Rosas

CRB 8/6665



IMAST 2023

**IV INTERNATIONAL MEETING OF
AGRARIAN SCIENCE AND TECHNOLOGY**

Organizadores

Profa. Assoc. Claudia Maria Bertan Membrive

Profa. Dra. Elaine Mendonça Bernardes

Dr. Fábio Sampaio Rosas

Prof. Assoc. Ricardo da Fonseca



Laboratório de
Design e
Recuperação da
Informação

Dracena
2023

PRESIDENTE

Profa. Assoc. Carolina dos Santos Batista Bonini

VICE-PRESIDENTE

Prof. Dr. Fernando Shintate Galindo

REPRESENTANTES DOCENTES

Prof. Dr. Anderson Chagas Magalhães
Profa. Assoc. Claudia Maria Bertan Membrive
Profa. Dra. Elaine Mendonça Bernardes
Prof. Dr. Etiénne Groot
Profa. Dra. Kátia de Oliveira
Prof. Dr. Leandro Tropaldi
Profa. Dra. Pâmela Gomes Nakada Freitas
Prof. Dr. Paulo Alexandre Monteiro de Figueiredo
Prof. Dr. Reges Heinrichs
Prof. Dr. Ricardo Velludo Gomes de Soutello
Prof. Assoc. Ronaldo da Silva Viana
Prof. Dr. Samuel Ferrari
Prof. Dr. Vagner do Nascimento
Profa. Assoc. Valquíria Cação Cruz-Polycarpo
Prof. Dr. Vitor Corrêa de Mattos Barretto

REPRESENTANTES DISCENTES DA GRADUAÇÃO

Bruna Beatriz dos Santos Correia
Igor Henrique Pepi Cotrim
Isabele Lanza Meidas
Jhulli Victória de Almeida
Liandra de Medeiros
Mariana Bonini Silva
Maysa Lopes de Almeida
Rafaella Dias Basso
Vitor Rodrigues
William Fagundes Dias dos Santos

REPRESENTANTES DISCENTES DA PÓS-GRADUAÇÃO

Caroline Gomes Azevedo
Camila Araújo Miranda
José Augusto Liberato de Souza
Laura Silva Nantes
Louyne Varini Santos dos Anjos
Lucila de Sousa Vilela
Melissa Alexandre Santos

Milene Gomes Vieira da Silva
Victor Hugo Cruz
Yasmin Soares Dias

REPRESENTANTES DISCENTES

- INDICADOS PELO GERUD

Ana Laura Biassi Orlandi
Anabelle Jorge Barbosa
Beatriz dos Santos Carvalho
Cauan Anacito França Rodrigues
Fabiana Natal Domingues
Franciele de Lima Vieira
Lorayni de Jesus Menêses
Luana Albuquerque da Silva
Nadya de Oliveira Rodrigues

- INDICADOS PELO PET/ZOOTECNIA

Ana Beatriz Silva Donegá
Bianca Cristine Duarte de Mattos
Camila Santos Franco
Gabriel Souza da Silva
Layane da Silva Bispo dos Santos
Nathália Farias Mathias

TÉCNICO-ADMINISTRATIVO

Renan Buchini



IMAST 2023



Foto de Fernando Shimete Galindo

Honra-nos receber a nobre missão de apresentar os avanços técnico-científicos criados e mantidos pela equipe da atual Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena (FCAT), relacionados ao 4º IMAST, além de confirmar que *"quando a proposta é descobrir novos caminhos, o convite deve ser para explorá-los de forma plena"*.

Nesse sentido, no DNA e na história da atual FCAT, estão os importantes passos que se iniciaram na Unidade Diferenciada, passando para Unidade Experimental, alcançando o status de câmpus, e, finalmente, constituindo-se na FCAT/Dracena, caminho comprido e cumprido com qualidade, perseverança e, principalmente, com paixão pela abençoada missão de formar recursos humanos com consciência cidadã, permeada pela dedicação de todos os seus servidores técnico-administrativos e docentes e entendendo o papel da FCAT – e de toda instituição de ensino superior – é retornar à sociedade o conhecimento nela gerado e seus resultados científicos, buscando a melhoria da qualidade de vida de todos.

O conteúdo da presente publicação reflete a essência das atividades multidisciplinares e da transversalidade, sem a banalização desses importantes termos, uma vez que entrega o trabalho dos grupos e das equipes de áreas afins, intra e extramuros, que se dedicaram para dividir e multiplicar o conhecimento de temas relevantes e intimamente relacionados ao agronegócio.

A diversidade do conteúdo convida o leitor à atualização e ao acréscimo de cultura nos mais diversos assuntos, que culminam em capítulos que trazem a complementação de informações na formação dos graduandos, novas perspectivas e novas perguntas para serem respondidas em capítulos futuros pelos pós-graduandos e a constatação do movimento e da responsabilidade na divulgação da ciência e das pesquisas por parte dos pesquisadores/docentes.

Parabenizamos a FCAT, reconhecendo a farta colheita dos que semearam e dos que cuidam e cuidarão dos dinâmicos desafios de manter a ciência e a pesquisa vivas. Viva o câmpus com toda a sua comunidade! E viva a FCAT por sempre acreditar, contribuir e divulgar ações científicas de qualidade.

Professor Titular Mário De Beni Arrigoni

Vice-Diretor da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia,
na Unesp câmpus de Botucatu

Os últimos anos trouxeram novos desafios para os cientistas. A pandemia, além das mortes e efeitos extremamente danosos sobre a economia mundial, evidenciou a distância entre os espaços nos quais se produz ciência e tecnologia e os usuários de seus produtos finais. Paralelamente, a intensificação do uso das tecnologias de comunicação, particularmente das “redes sociais” assombrou cientistas com a multiplicação da desinformação, em escala mundial. Uma população despreparada para analisar a divulgação de resultados preliminares de medicamentos, alheia à metodologia da ciência, foi “presa fácil”.

A ciência voltada à produção de alimentos não é uma exceção, no que diz respeito a esses novos desafios. Dentro das ciências agrárias, a questão da sustentabilidade e da segurança alimentar são temas recorrentes. Um vasto caminho já foi percorrido pelo País para geração de conhecimentos em questões atreladas a esses temas. A cada artigo científico gerado, novas questões são levantadas e o avanço é constante. Entretanto, levar esse conhecimento a um número cada vez maior de estudantes, pesquisadores, extensionistas e educadores em geral, é fundamental para nossa sociedade. Exige, por sua vez, a utilização de todos os meios de divulgação disponíveis.

À Universidade pública cabe gerar e divulgar conhecimentos, em constante diálogo com a sociedade, e com intensa participação de seus jovens cientistas. Nesse sentido, mais uma vez, a Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas (FCAT) da Unesp, câmpus de Dracena, dá sua contribuição em resposta às questões contemporâneas e a possíveis alternativas para o futuro, dentro das ciências agrárias e veterinárias. O presente livro traz pesquisas e ações realizadas por docentes pesquisadores da FCAT e dos cursos de pós-graduação que ela oferece em conjunto com a Faculdade de Engenharia (FE), da Unesp, câmpus de Ilha Solteira, nas suas respectivas áreas de atuação. São temas que fazem parte da produção vegetal e/ou da produção animal, ou são intrinsecamente ligadas a elas.

No presente livro, a preocupação com os impactos da produção e a importância da inovação perpassam vários capítulos. Do solo ao melhoramento genético de animais, são 23 capítulos sobre produção vegetal, recursos florestais, produção animal e genética e biotecnologia. Três capítulos sobre solo, sendo um deles específico para agrofloresta, discutem trabalhos relevantes sobre o assunto na literatura específica e apontam possibilidades para pesquisas neste importante fator de produção. Dois capítulos sobre microrganismo completam um quadro que, em conjunto, consiste em técnicas já consagradas pela pesquisa, novas alternativas e combinações entre elas. Na produção de sementes,

as tecnologias são detalhadamente apresentadas, de maneira bastante didática em um capítulo. O mesmo pode ser dito quanto às inovações no sistema produtivo do arroz de terras altas, também assunto de um capítulo específico.

Três capítulos abordaram especificamente recursos florestais. Um deles, já mencionado, voltou-se à questão do solo em agrofloresta. Outro trata da produção de mudas de espécies florestais (e hortícolas também) com aproveitamento de resíduos e, por fim um capítulo aborda doença preocupante e de controle ainda limitado em seringueiras.

Seis capítulos são dedicados a questões da produção animal (peixes, suínos, aves e bovinos). Os trabalhos refletem a inserção das pesquisas no cenário de dicotomia da produção animal no Brasil. Por um lado, questões relativamente novas na produção animal, como a produção de alimentos seguros (*food safety*) e do bem-estar animal, emergem em dois capítulos (um aborda possibilidade de redução no uso de antibióticos na produção de frango pelo uso de óleos essenciais e outro o bem-estar na produção de leitões). Outro avança em ponto importante para a produção de alimentos que é a redução do fornecimento de proteínas na produção (especificamente piscicultura). E na pecuária de corte, dois capítulos apresentam trabalhos que subsidiam análises sofisticadas para tomada de decisão na produção animal. Por outro lado, há capítulos que tratam, com novas abordagens, problemas fundamentais persistentes na pecuária de corte brasileira (helmintoses) e qualidade da água (na piscicultura).

Todos os capítulos do livro têm potencial de utilização didática, nas respectivas linhas de pesquisa. Destacam-se, pelo texto e ilustrações, o capítulo sobre o ciclo reprodutivo em teleósteos neotropicais e os cinco capítulos finais, de genética e biotecnologia. Um desses capítulos (sobre o aplicativo R) tem seu potencial ampliado, pela possibilidade de uso em diferentes linhas de pesquisa.

Diante do exposto, conclui-se que o livro cumpre com os objetivos aos quais se propôs e continuou o trabalho implantado nos IMASTs anteriores (2016, 2018 e 2021), quando material foi compilado e disponibilizado online¹.

Nossos agradecimentos e reconhecimento a todos os autores que pela dedicação à elaboração dos capítulos aqui apresentados e ao Laboratório de Pesquisa em Design e Recuperação da Informação (Ladri) da Faculdade de Filosofia e Ciências da Unesp no Câmpus de Marília,

1 Disponível em: <https://www.dracena.unesp.br/#!/servicos/biblioteca/acervo/livros-fcat/>

responsável, pela segunda vez, por toda a editoração do livro do IMAST.

Renovamos nossa esperança de que o material selecionado possa ser útil aos leitores, seja como uma fonte de informação, como material de referência ou, até mesmo, como inspiração para futuras pesquisas na área de ciências agrárias.

Professora Doutora Elaine Mendonça Bernardes

Professora Assistente Doutora na Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, na Unesp câmpus de Dracena

- 1** Fertilidade do solo, adubação e a sustentabilidade da produção agropecuária
p. 16
Clayton Luís Baravelli de Oliveira, Juliana Bonfim Cassimiro, Juliana Françoso da Silva, Mauricio Bruno Prado da Silva, Carolina dos Santos Batista Bonin e Reges Heinrichs
- 2** Importância e benefícios da adoção de culturas de cobertura na agricultura sustentável
p. 36
Vagner do Nascimento, João Guilherme Martins Zago, Samuel Ferrari, Ronaldo Cintra Lima, Orivaldo Arf e Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho
- 3** Benefícios de coinoculações com microrganismos na nutrição de plantas e produtividade agrícola
p. 46
Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho, Arshad Jalal, Fernando Shintate Galindo, Guilherme Carlos Fenandes, Bruno Horschut de Lima e Vagner do Nascimento
- 4** Tecnologias no tratamento de sementes
p. 58
Pâmela Gomes Nakada-Freitas, Antonio Ismael Inácio Cardoso, Emanuele Possas de Souza e Hugo Cesar Rodrigues Moreira Catão
- 5** Microrganismos associados à fitorremediação de solos agrícolas com o herbicida tebuthiuron
p. 72
Victor Hugo Cruz, Bruno Rafael de Almeida Moreira, Thalia Silva Valério, Munick Beato Aragão, Alexandre Ribeiro Batista e Paulo Renato Matos Lopes
- 6** Inovações no sistema produtivo do arroz de terras altas
p. 90
Samuel Ferrari, Matheus Luis Oliveira Cunha, Luis Fernando dos Santos Cordeiro, João Vitor Cordeiro Malenowtch, Vagner do Nascimento e Enes Furlani Júnior

7
p. 106 **Restauração da
qualidade do solo
utilizando sistema
agroflorestal**
*Melissa Alexandre Santos,
Carolina dos Santos Batista
Bonini, José Augusto Liberato de
Souza, Vitor Corrêa de Mattos
Barretto e Reges Heinrichs*

8
p. 124 **Produção sustentável
de mudas de espécies
florestais e hortícolas**
*Vitor Corrêa de Mattos Barretto,
Diego Cunha Zied, Paulo
Renato Matos Lopes, Lucas da
Silva Alves, Victor Hugo Cruz e
Rafael Barros Postinguel*

9
p. 140 **Complexo crosta negra
em seringueira: o que
sabemos sobre esta
doença atualmente?**
*Ana Carolina Firmino, Louayne
Varini Santos dos Anjos, Elaine
Cristine Piffer Gonçalves, Ivan
Herman Fischer, Erivaldo José
Scaloppi Junior e Edson Luis
Furtado*

10
p. 154 **Calagem na
manutenção da
qualidade da água na
aquicultura**
Marcelo Mattos Pedreira

11
p. 172 **Sustentabilidade na
aquicultura: efeito
poupador de proteína
da dieta em peixes
onívoros**
*Leonardo Susumu Takahashi,
Affonso Gama Souza Pinheiro,
Gabriela Castellani Carli, Hugo
Henrique D'Amore Soares e
Maria Karolaine Moriman
Delgado*

12
p. 188 **Ciclo reprodutivo e
espermatogênese em
teleósteos neotropicais**
*Rosicleire Veríssimo-Silveira,
Giovana Souza Branco, Patricia
Postingel Quirino, Luciane
Gomes da Silva, Elis Marina
da Silva Cabral e Alexandre
Ninhaus-Silveira*

- 13** Óleos essenciais:
aditivos de destaque na
nutrição de frangos de
corte
p. 204
*Valquíria Cação Cruz-
Polycarpo, Caroline Gomes
Azevedo, Bárbara Fernanda
da Silva Barbosa e Gustavo do
Valle Polycarpo*
- 14** Bem-estar animal na
produção de leitões:
demandas e desafios
p. 220
*Rosemeire da Silva Filardi,
Antonio Carlos de Laurentiz,
Danielle Nogueira dos Santos e
Carla Caroline de Souza Furiozo
Rondis*
- 15** Profilaxia das
helmintoses em bovinos
no Brasil
p. 234
*Dayane Sarmiento Romão,
Gabriel Jabismar Guelpa,
Tábata Alves do Carmo,
Fernanda Calazans Pagnozzi,
Maria Flávia Dias de Alencar
e Ricardo Velludo Gomes de
Soutello*
- 16** Importância do
tratamento anti-
helmíntico em bezerros
no período pós-
desmame
p. 258
*Yasmin Soares Dias, Milene
Gomes Vieira da Silva, Mateus
Oliveira Mena, Giordani Mascoli
Favare, Bianca Cristine Duarte
de Matos e Ricardo Velludo
Gomes de Soutello*
- 17** Efeitos do
temperamento na
fisiologia do estresse e
métodos empregados
na avaliação do
temperamento em
bovinos de corte
p. 272
*Barbara Piffero Mello Marinovic
Doro, Dayane Colhados Cabrini,
Leticia de Oliveira, Lucila de
Sousa Vilela, Adriano Felipe
Mendes e Claudia Maria Bertan
Membrive*
- 18** Efeitos do
temperamento na
produção e reprodução
em bovinos de corte
p. 290
*Barbara Piffero Mello Marinovic
Doro, Dayane Colhados
Cabrini, Laura Chuba Machado
Rolniche, Lucas de Oliveira
Bezerra, Adriano Felipe Mendes
e Claudia Maria Bertan
Membrive*

19
p. 314 **Desenvolvimento de
Pacotes para o Sistema
R**

Ricardo da Fonseca

20
p. 328 **Utilização da
ultrassonografia
de carcaça como
ferramenta na seleção
genética de animais da
raça Senepol**

*Wanderley Teixeira Zucoloto,
Letícia de Oliveira, Josiane
Caobianco Dias Zucoloto, Lucila
de Sousa Vilela e Claudia Maria
Bertan Membrive*

21
p. 348 **Uso de diferentes
ácidos graxos em
tecidos reprodutivos
cultivados *in vitro***

*Lucas de Oliveira Bezerra, Laura
Chuba Machado Rolniche,
Valeska de Castro Lourenço,
Adriano Felipe Mendes,
Mariângela Bueno Cordeiro
Maldonado e Claudia Maria
Bertan Membrive*

22
p. 370 **Sistemas
tridimensionais com
hidrogel de alginato
aplicados à produção
in vitro de embriões
bovinos**

*Adriano Felipe Mendes, Dayane
Colhados Cabrini, Lucas de
Oliveira Bezerra, Laura Chuba
Rolniche, Valeska de Castro
Lourenço e Claudia Maria
Bertan Membrive*

23
p. 386 **Participação do
interferon-tau e dos
ISGs na modulação do
sistema imune durante
o início da prenhez em
fêmeas bovinas**

*Isabella Rio Feltrin, Guilherme
Pugliesi e Claudia Maria Bertan
Membrive*

Sobre os organizadores

p. 409



Foto de Fernando Shintate Galindo



PARTE 1

PRODUÇÃO VEGETAL

- 1** Fertilidade do solo, adubação e a sustentabilidade da produção agropecuária
- 2** Importância e benefícios da adoção de culturas de cobertura na agricultura sustentável
- 3** Benefícios de coinoculações com microrganismos na nutrição de plantas e produtividade agrícola
- 4** Tecnologias no tratamento de sementes
- 5** Microrganismos associados à fitorremediação de solos agrícolas com o herbicida tebuthiuron
- 6** Inovações no sistema produtivo do arroz de terras altas

CAPÍTULO 1

FERTILIDADE DO SOLO, ADUBAÇÃO E A SUSTENTABILIDADE DA PRODUÇÃO AGROPECUÁRIA

Clayton Luís Baravelli de Oliveira

Universidade do Oeste Paulista (Unoeste),
Programa de Pós-Graduação em Agronomia,
Laboratório de Solos e Fertilizantes, Presidente
Prudente, São Paulo, Brasil.

Juliana Bonfim Cassimiro

Universidade do Oeste Paulista (Unoeste),
Programa de Pós-Graduação em Agronomia,
Laboratório de Solos e Fertilizantes, Presidente
Prudente, São Paulo, Brasil.

Juliana Françoso da Silva

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Laboratório de Solos e
Fertilizantes, Dracena, São Paulo, Brasil.

Mauricio Bruno Prado da Silva

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Laboratório de Solos e
Fertilizantes, Dracena, São Paulo, Brasil.

Carolina dos Santos Batista Bonini

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Laboratório de Solos e
Fertilizantes, Dracena, São Paulo, Brasil.

Reges Heinrichs*

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Laboratório de Solos e
Fertilizantes, Dracena, São Paulo, Brasil.

***Autor correspondente:**
reges.heinrichs@unesp.br

Resumo

O ecossistema do solo é um sistema muito complexo, criado pela interação de materiais, energia e informações entre o meio ambiente e os vários organismos no solo. O uso sustentável dos solos necessita do seu acompanhamento, análise do seu estado atual, bem como da sua resiliência e suas decisões de reestruturação. Esse monitoramento pode ser feito por meio de indicadores físicos, químicos e biológicos, que permitem avaliar as condições do solo e contribuir para a manutenção da produção sustentável. Atualmente, a agricultura brasileira é responsável por 7% do consumo global de fertilizantes, atrás apenas da China, da Índia e dos Estados Unidos. O processo de construção da fertilidade do solo deve ser planejado e constante, buscando aperfeiçoar o sistema de produção. Contudo, esse novo modelo é um desafio para a agricultura, pois necessita de diversificação de culturas e práticas que nem sempre se adaptam ao mesmo ambiente, suportam as mesmas alterações climáticas, demandam dos mesmos equipamentos e insumos, entre outros fatores, sendo fundamental o planejamento de longo prazo. Na busca pela sustentabilidade, diversas conferências climáticas internacionais são realizadas, com o intuito de debater e propor ações mais concretas para amenizar os impactos decorrentes da exploração dos recursos naturais renováveis e não renováveis de maneira predatória. Concluindo-se que o desafio para atender a demanda mundial de alimentos está sustentado pela produção agrícola eficiente no uso de insumos. A utilização de áreas agrícolas deve ser planejada e apoiada pela técnica, para buscar alta produtividade e minimizar impactos. A fertilidade do solo e a adubação são segmentos estratégicos para a sustentabilidade no sistema de produção agropecuária, com estudo planejado na capacidade de uso do solo, na produção de fertilizantes com menor gasto energético e maior eficiência, no manejo das culturas de acordo com as condições de clima e solo. Foram abordados, neste capítulo, a utilização de fertilizantes na construção da fertilidade do solo, na produtividade agrícola e na gestão ambiental.

1 INTRODUÇÃO

O ecossistema do solo é um sistema muito complexo, criado pela interação de materiais, energia e informações entre o meio ambiente e os vários organismos no solo (FIERER, 2017). Contudo, o equilíbrio da estabilidade do solo ou da rotação de elementos pode facilmente ser quebrado por distúrbios externos, tais como fertilização, sistemas de cultivo (REHMAN *et al.*, 2018; ZHANG *et al.*, 2019), sistemas de gerenciamento, entre outros (KUMAR *et al.*, 2020).

Embora a fertilização acrescente rendimentos nas culturas, quando não manejada corretamente pode trazer uma série de problemas ambientais, como poluição do solo e da água, etc. (FAN *et al.*, 2023). Existe a necessidade do uso sustentável dos solos e do seu acompanhamento, da análise do seu estado atual, bem como da sua resiliência e suas decisões de reestruturação.

Esse monitoramento pode ser feito por meio de indicadores físicos, químicos e biológicos, que permitem avaliar as condições do solo e contribuir para a manutenção da produção sustentável. A má gestão e a intensificação do uso dos solos podem levar à sua degradação gradual e, em alguns casos, irreversível (SILVA *et al.*, 2021).

Atualmente, a agricultura brasileira é responsável por 7% do consumo global de fertilizantes, atrás apenas da China, da Índia e dos Estados Unidos. Além disso, o país se encontra na quarta posição no consumo de nitrogênio, na terceira de fósforo e, também, ocupa o segundo posto no consumo de potássio (ASSOCIAÇÃO NACIONAL PARA DIFUSÃO DE ADUBOS [ANDA], 2018).

As atividades agrícolas são fundamentais para a produção mundial de alimentos. As conclusões do primeiro relatório sobre medidas para mitigar o impacto global das mudanças climáticas sugerem que o mundo precisará aumentar a produção de alimentos em 70% até 2050 para alimentar uma população mundial de cerca de 10 bilhões. Ao mesmo tempo, a atual produção de alimentos exerce uma enorme pressão sobre os bens comuns globais, já que a agricultura responde por 25% de todas as emissões de gases de efeito estufa (GLOBAL ENVIRONMENT FACILITY, 2019).

2 FERTILIZANTES NA CONSTRUÇÃO DA FERTILIDADE DO SOLO

Para atender às atuais demandas da busca pela sustentabilidade, a agricultura está enfrentando muitos desafios, a fim de potencializar a produtividade e minimizar os impactos para produzir alimentos para qualidade de vida da população. Para estabelecer a manutenção, ou melhorar as condições ambientais e o alto potencial produtivo, são requeridos diagnósticos e procedimentos de manejo do solo e das culturas ao longo do tempo, visando prover qualidade química, física e biológica do solo.

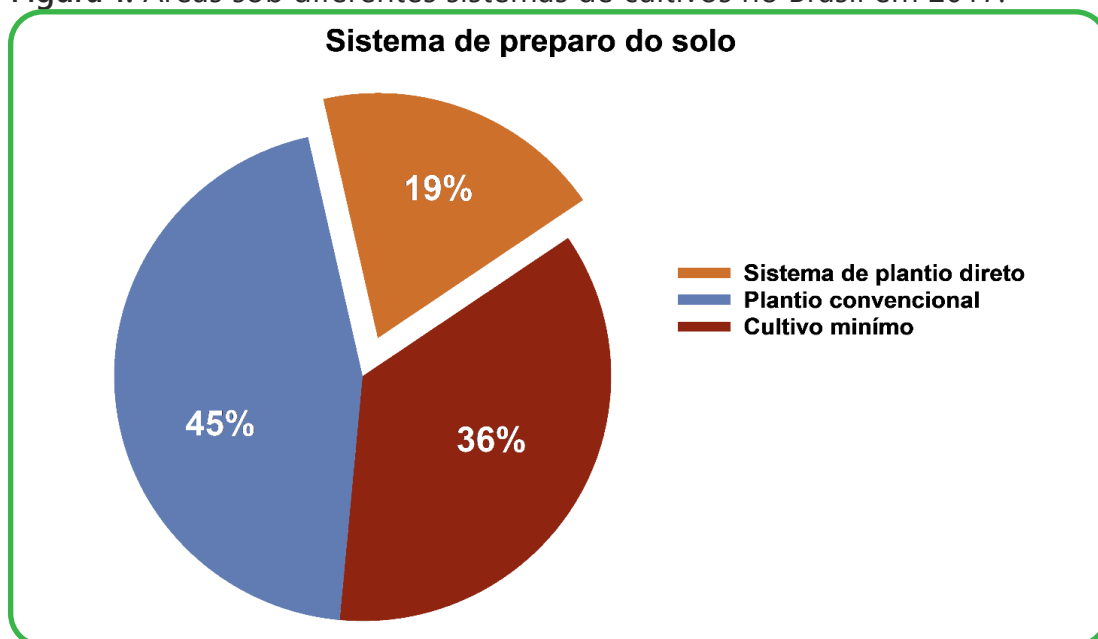
Até a década de 1950, a agricultura brasileira dependia, principalmente, da fertilidade natural dos solos. Na agricultura moderna, as práticas de correção da acidez do solo e adubação favorecem, substancialmente, a melhoria da

fertilidade dos solos (BERNARDI; MACHADO; SILVA, 2002), com destaque para os solos ácidos do cerrado. Todavia, novos desafios surgem, constantemente, na busca da construção da fertilidade do solo e do aumento da eficiência do uso de fertilizantes.

Fornazier e Vieira Filho (2013) descrevem que a disseminação agrícola demandou a “tropicalização” da soja (*Glycine Max*), em que técnicas permitiam inocular bactérias da semente da soja, com o propósito de capturar nitrogênio do ar, favorecendo a produção com menos fertilizantes que, como consequência, diminuiu o preço marginal da terra e a mecanização se expandiu.

Posteriormente, surgiu o plantio direto como uma prática que contribuiria para preservar os recursos naturais e aprimoraria a fertilidade do solo (FORNAZIER; VIEIRA FILHO, 2013). Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2017), o Brasil possui 19% das áreas sob sistema de plantio direto (SPD), 45% em cultivo convencional e 36% de cultivo mínimo (Figura 1).

Figura 1. Áreas sob diferentes sistemas de cultivos no Brasil em 2017.



Fonte: elaborada pelos autores com dados do IBGE (2017).

A utilização de técnicas de condicionamento do perfil do solo com insumos, como calcário, gesso, fosfato e fontes de outros nutrientes, é uma fase imprescindível para incrementar na alta produtividade de uma região. O manejo de construção e a manutenção da fertilidade do solo devem ser seguidos em todas as situações que envolvam cultivo de espécies produtoras de grãos, forragem ou madeira, sobretudo em áreas sujeitas a déficit hídrico acentuado. Quanto menor a oferta climática em termos de quantidade e distribuição de chuvas ao longo do ano e da ocorrência de altas temperaturas, o estado de fertilidade do solo se torna extremamente importante, pois estas condições afetam a disponibilidade de água às raízes, lesando o atendimento

da demanda fisiológica das culturas (RESENDE *et al.*, 2020).

Quanto à recuperação e melhoria da qualidade física e biológica do solo, a consorciação pode ajudar na recuperação do solo, formando bioporos que contribuem para infiltração e agregação (SILVA *et al.*, 2007; PAPADOPOULOS *et al.*, 2014; FLÁVIO NETO *et al.*, 2015; HUANG *et al.*, 2015; CALONEGO *et al.*, 2017; PARIZ *et al.*, 2016; 2017). Ao disponibilizar nutrientes no solo, tem-se como resultado uma fertilidade adequada e maiores rendimentos para as culturas sucessivamente (BORGHI *et al.*, 2013; CRUSCIOL *et al.*, 2015; BALBINOT JUNIOR *et al.*, 2017; PARIZ *et al.*, 2017), garantindo o desenvolvimento sustentável da agricultura (CHEN; WEIL; HILL, 2014; SAFADOUST *et al.*, 2014).

Segundo Neemisha e Rani (2022), na agricultura, o principal objetivo de qualquer sistema de produção agrícola é atender à sustentabilidade do ecossistema com o mínimo de danos ao meio ambiente. O uso inadequado de fertilizantes minerais afeta negativamente o solo e o meio ambiente. O uso de adubos orgânicos pode melhorar os teores de matéria orgânica nos solos agrícolas, sendo uma ferramenta para manter ou melhorar a fertilidade química, física e biológica do solo. O uso de recursos orgânicos ou minerais de forma adequada proporciona uma plataforma para construir um ambiente de produção agrícola mais sustentável.

A adição ou a remoção de fertilizantes orgânicos e inorgânicos no solo apresentam efeitos significativos sobre os nutrientes do solo. Estudos referentes às transformações climáticas e a outros fatores antropogênicos, que estão causando alteração na dinâmica de nutrientes no solo e na fisiologia das plantas, apontam para mudanças no seu funcionamento adequado. A partir dessas observações, é necessária uma visão completa da modificação de fertilizantes e suas consequências para compreender o sustento dos ecossistemas (HUSSAIN *et al.*, 2022). Mesmo em solo no qual a fertilidade foi construída, algumas culturas podem remover uma quantidade de nutrientes presentes no solo, podendo esgotar reservas existentes.

A análise de solo está entre as ferramentas usadas para designar a quantidade necessária de cada insumo a ser aplicado no solo. Há alguns valores de referências, tabelas e fórmulas que foram estabelecidos, de acordo com cada região, com o intuito de aprimorar a condução na construção da fertilidade do solo. É possível afrontar os resultados da análise, com consultas às tabelas ou às fórmulas indicadas nos manuais, para se chegar nas quantidades de corretivos, condicionadores de solo e fertilizantes mais compatíveis em cada situação.

No solo, devem ser incorporados adubos corretivos, como fósforo (P) e potássio (K), e, quando necessário, aplicar micronutrientes. Diversos fatores provocam a carência e a disponibilidade de micronutrientes como: material de origem, textura do solo, práticas corretivas (calagem, gessagem e fosfatagem), entre outros (HEINRICH; SOARES FILHO, 2014).

Por conservadorismo ou desinformação, muitos produtores ainda utilizam quantidades fixas de fertilizantes na adubação em áreas com fertilidade do solo

e potencial de produção muito distintos, uma prática que deve ser abolida. Isso resulta em adubações com doses excessivas ou reduzidas, o que diminuiu a eficiência dos fertilizantes. Para a sustentabilidade da produção agropecuária, devem ocorrer quebras de paradigmas, não apenas em relação às questões ambientais, mas também à viabilidade econômica e social para produzir mais alimentos com menor demanda de insumos. Para tanto, a aproximação da pesquisa e dos seus resultados, já disponíveis, deve ter uma difusão eficiente junto ao elo da produção no campo.

O fertilizante nitrogenado mais utilizado na agricultura brasileira é a ureia, devido ao menor custo e à alta concentração de nitrogênio (N), seguido pelo sulfato ou nitrato de amônio (Tabela 1). O N é um nutriente importante para o crescimento vegetativo, principalmente em culturas que não fazem parte da Família Fabaceae. No entanto, a sua utilização na adubação carece de algumas técnicas de manejo para aumentar a eficiência, especialmente devido à volatilização de amônia para a ureia ou a lixiviação, e à desnitrificação quando da utilização do nitrato de amônio (CASSIMIRO *et al.*, 2020, 2023).

Tabela 1. Produção e importação brasileira dos principais fertilizantes nitrogenados entre os anos de 2016-2020.

| Fertilizante nitrogenado | | | | | | |
|---------------------------------|-------------------|------------|-------------------|------------|----------|------------|
| Ano | Nitrato de Amônio | | Sulfato de Amônio | | Ureia | |
| | Produção | Importação | Produção | Importação | Produção | Importação |
| ----- Milhões de toneladas----- | | | | | | |
| 2016 | 0,52 | 1,18 | 0,26 | 1,92 | 1,33 | 3,96 |
| 2017 | 0,40 | 1,33 | 0,26 | 1,90 | 0,84 | 5,43 |
| 2018 | 0,48 | 1,03 | 0,19 | 1,99 | 0,87 | 5,56 |
| 2019 | 0,36 | 1,24 | 0,12 | 2,16 | 0,43 | 5,59 |
| 2020 | 0,35 | 1,47 | 0,12 | 2,84 | 0,007 | 7,12 |

Fonte: elaborada pelos autores com dados de *Food and Agriculture Organization of the United Nations: Statistics* (FAOSTAT, 2023).

Cada país dispõe de circunstâncias diferentes em relação aos nutrientes do solo. Contudo, o maior consumo de nutrientes ocorre em culturas *commodities* (soja, milho (*Zea Mays*), cana-de-açúcar (*Saccharum Officinarum*) e café (*Coffea Arabica L*)); enquanto em outras culturas, prosseguem explorando a fertilidade natural do solo, seguindo com a degradação do solo e a ameaça à segurança alimentar. A análise dos nutrientes encontrados nos produtos colhidos, junto com a análise do solo, deve ser estabelecida para que seja feita a restituição dos nutrientes removidos no sistema, promovendo uma produção agrícola

sustentável e não de exploração. A partir desse momento, é possível avançar para promover a construção da fertilidade do solo e aumentar a quantidade e qualidade de alimentos produzidos.

O processo de construção da fertilidade do solo deve ser planejado e constante, na busca de aperfeiçoar o sistema de produção. Contudo, esse novo modelo é um desafio para a agricultura, pois necessita de diversificação de culturas e práticas, que nem sempre se adaptam ao mesmo ambiente, suportam as mesmas alterações climáticas, demandam dos mesmos equipamentos e insumos, entre outros fatores, sendo fundamental o planejamento de longo prazo.

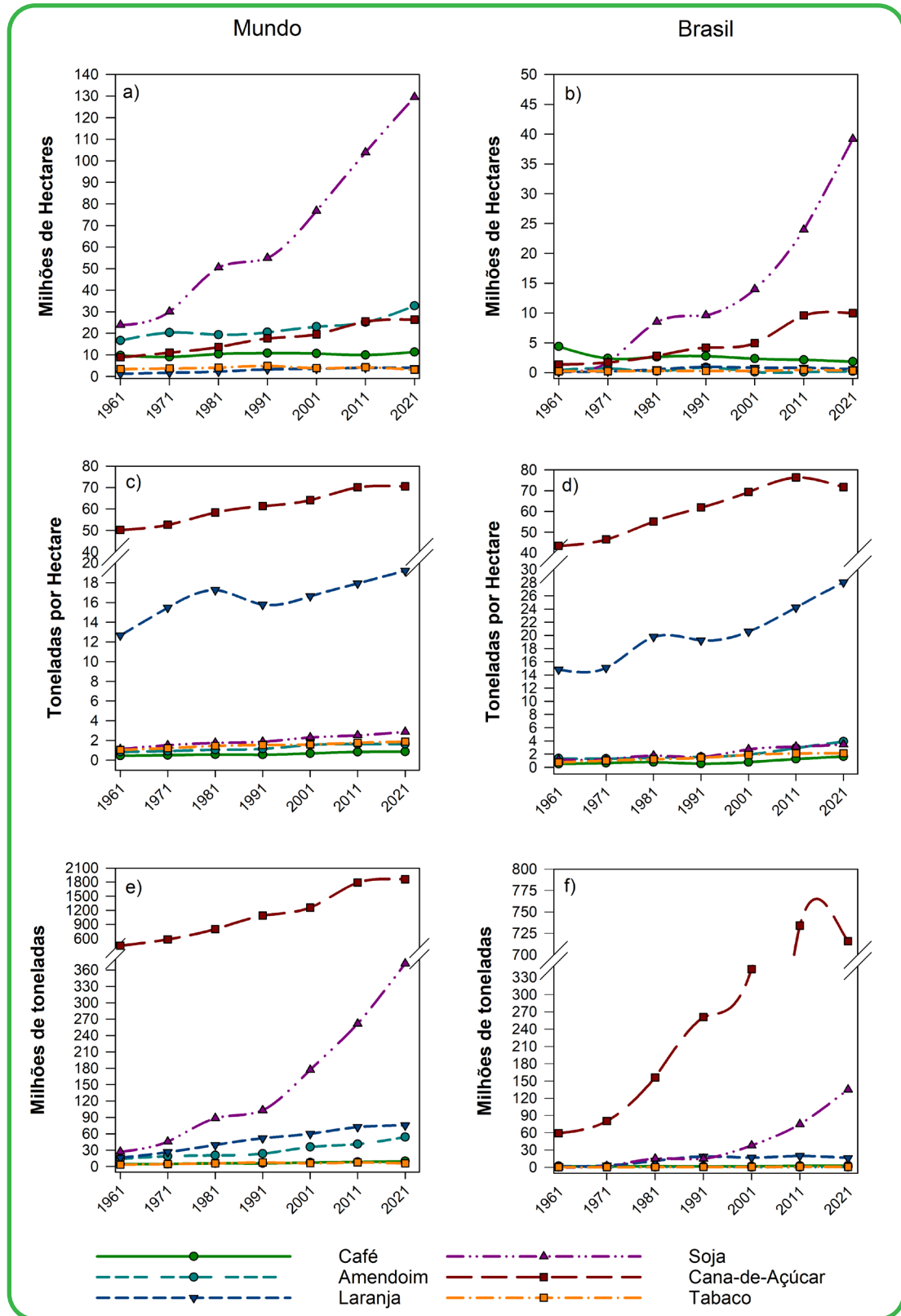
3 O USO DE FERTILIZANTES E A PRODUTIVIDADE AGRÍCOLA

O Brasil se destaca pela sua produção agrícola. Entre os seus maiores cultivos estão: o amendoim, a laranja, o tabaco, o café, a soja e a cana-de-açúcar, sendo esta, uma cultura com destaque internacional na produção de energia renovável e que ocupa uma área mundial de, aproximadamente, 23 milhões de hectares (FAOSTAT, 2023).

O país é o maior produtor de cana-de-açúcar, com área cultivada em torno de 9,9 milhões de hectares e produção anual estimada em 715,65 milhões de toneladas, representando um total de cerca de 38% de toda área cultivada no mundo e 38,5% de toda produção (FAOSTAT, 2023) (Figura 2). Essas informações evidenciam a importância da cultura da cana-de-açúcar na ampliação da matriz energética limpa e renovável (OLIVEIRA *et al.*, 2022).

Além do clima tropical, com possibilidade de até três safras por ano agrícola, outros fatores contribuíram para potencializar a produtividade, como a correção do solo através da calagem, o uso de defensivos, as cultivares melhoradas e, se destaca também, o uso de fertilizantes (Figura 2c, d). No Brasil, com exceção da soja e cana-de-açúcar, as demais culturas não tiveram grandes diferenças na área plantada nos últimos anos. Em alguns casos, houve a diminuição da área de cultivo (Figura 2b), no entanto, não refletiu diretamente na produção brasileira (Figura 2f), o que pode ser atribuído aos maiores índices de produtividade (Figura 3d). Para as culturas do amendoim, do café, da laranja, da soja e do tabaco, os índices de produtividade são muito superiores às médias mundiais, cerca de 136%, 45%, 20% e 13%, respectivamente.

Figura 2. Área de diferentes culturas agrícolas no mundo entre 1961-2021(a), no Brasil (b), produtividade média no mundo entre 1961-2021 (c), no Brasil (d), produção total no mundo entre 1961-2021 (e) e no Brasil (f).



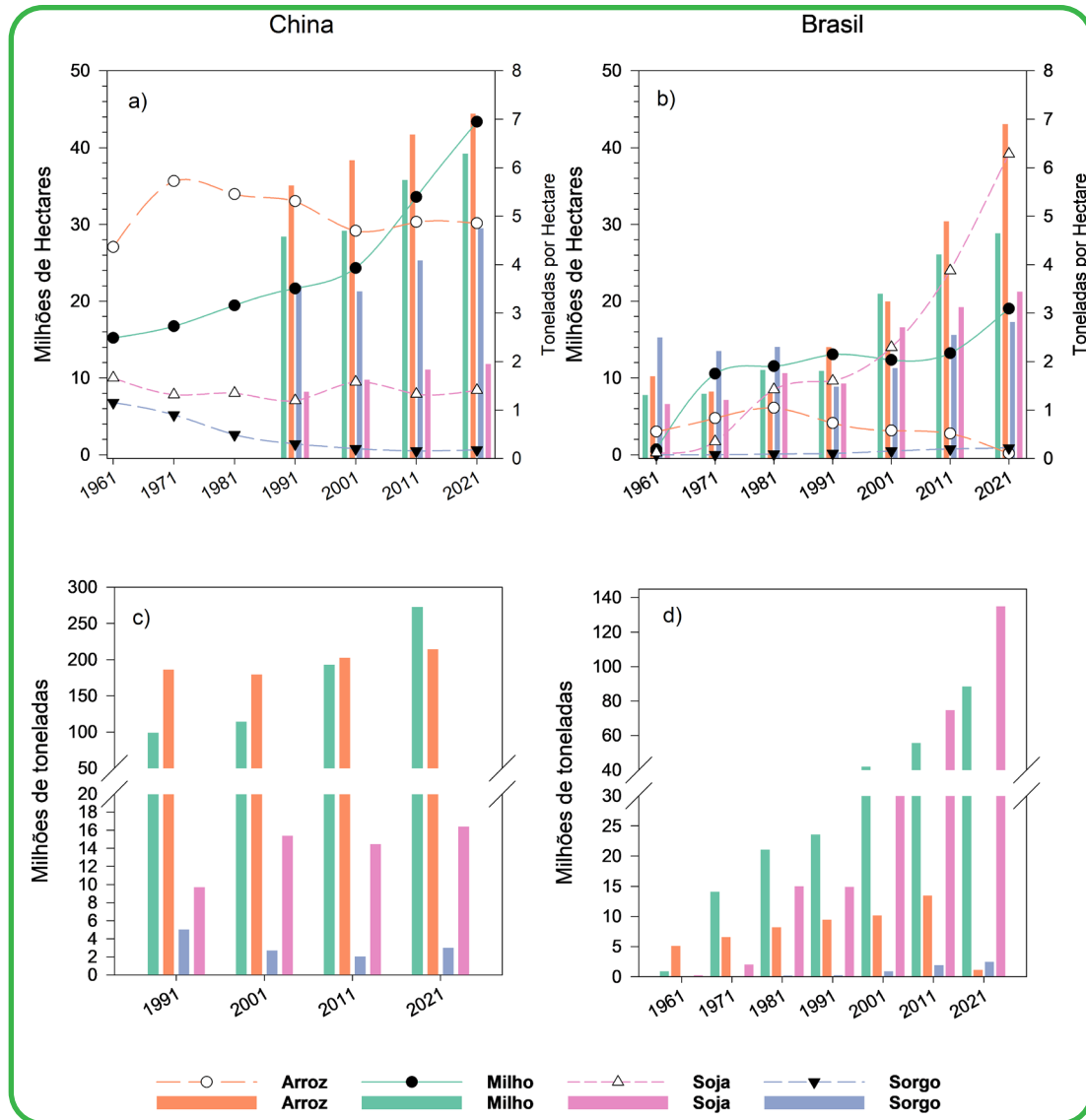
Fonte: elaborada pelos autores com dados de FAOSTAT (2023).

O arroz é o alimento básico para mais da metade da população mundial (KHUSH, 2005). A China, o maior produtor de arroz do mundo, representa, aproximadamente, 28% da produção mundial, com 768 milhões de toneladas por ano (média entre 2016-2018) (FAO, 2020). A produção de arroz na China requer grandes quantidades de insumos agrícolas (YUAN *et al.*, 2017; LYU *et al.*, 2020; YUAN; PENG, 2022), resultando em grande consumo de energia (YUAN; PENG, 2017).

Por sua vez, o aquecimento global tem inúmeros efeitos prejudiciais sobre a sustentabilidade da agricultura, dos ecossistemas e das economias (SONI; TAEWICHIT; SALOKHE, 2013; ZHANG *et al.*, 2015). Além disso, com relação ao atendimento das necessidades de uma população crescente (GERLAND *et al.*, 2014; HORTON *et al.*, 2021), a demanda alimentar projetada pode dobrar até 2050 (LONG; MARSHALL-COLON; ZHU, 2015), o que significa que os insumos energéticos associados e as emissões de gases de efeito estufa (GEE) da produção de arroz podem aumentar ainda mais (YUAN; PENG, 2022). Portanto, o desenvolvimento de um sistema de produção agrícola eficiente em termos energéticos com baixas emissões de GEE poderia ajudar a reduzir o uso de energia e os impactos ambientais (OMER, 2008).

Segundo Silva (2022), a economia agrícola chinesa aumentou graças à industrialização rural promovida pelos governos, que aumentou, significativamente, a irrigação no campo, a importação de fertilizantes minerais e o uso de implementos e máquinas agrícolas, sendo a base do crescimento da produção agrícola e da pecuária nos anos 1980. Em termos de cultivo, a área colhida aumentou em torno de 0,7% por ano desde 1990, ao passo que a produção das principais culturas cresceu mais de 4% durante o mesmo período (WILKES; ZHANG, 2016). A utilização de fertilizantes resultou em uma diminuição das áreas plantadas no país (Figura 3a).

Figura 3. Área com diferentes culturas cultivadas na China entre 1961-2021 e a produção das mesmas entre 1991-2021(a), no Brasil no período de 1961-2021(b), produtividade de diferentes culturas na China entre 1991-2021(c) e no Brasil 1961-19201 (d).



Fonte: elaborada pelos autores com dados de FAOSTAT (2023).

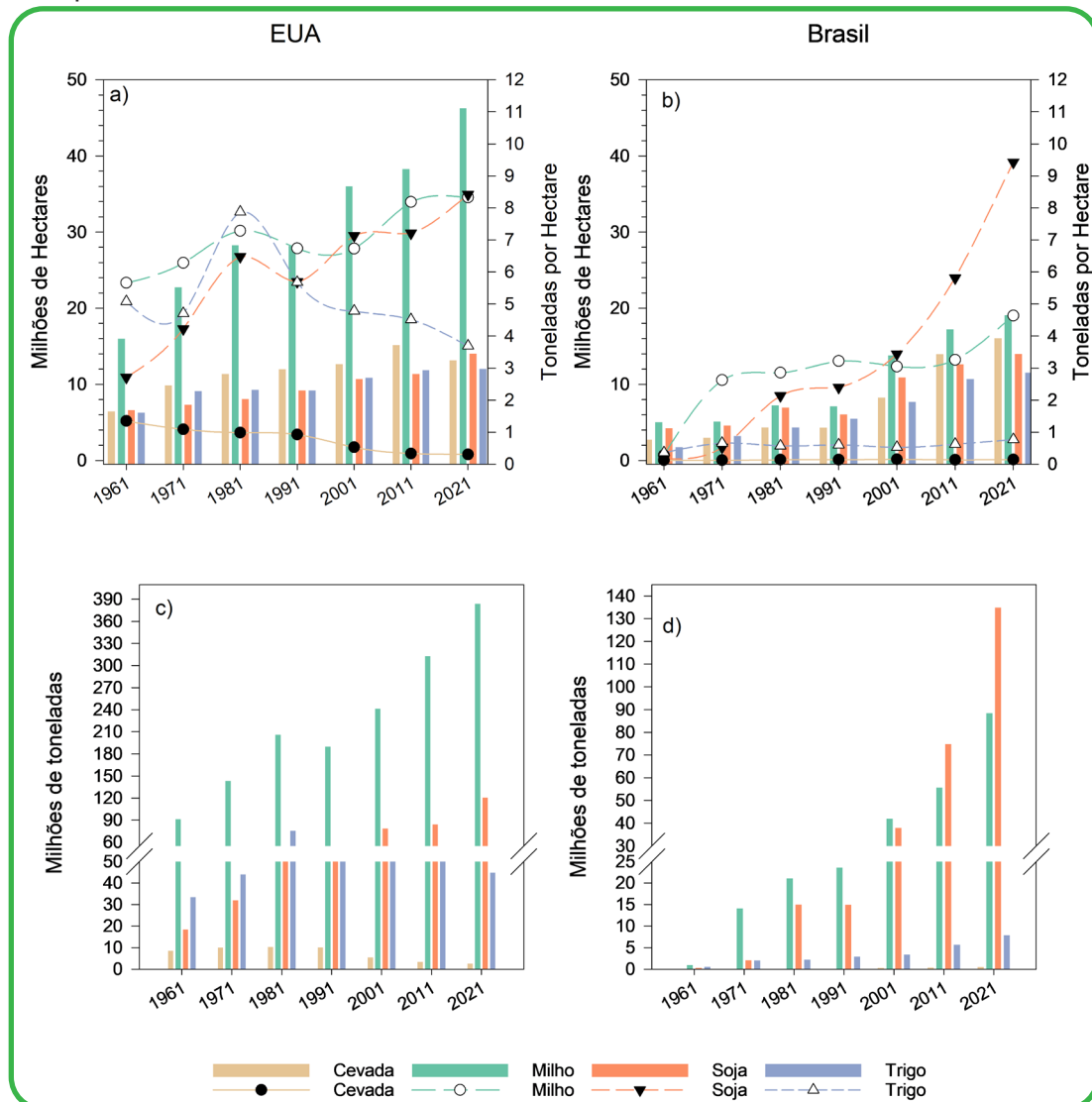
Em 1991, o arroz era cultivado em 3.302 milhões de hectares, ocorrendo redução na área total de 8,7% (Figura 3a), em contrapartida o aumento na produtividade no mesmo período foi de 15,19% (Figura 3c). Outras culturas, como soja e sorgo, seguem a mesma tendência do arroz (Figura 3a, c). Uma cultura que não segue o mesmo panorama é o milho, apesar da produtividade ter crescido 175% (1991-2021), a área cultivada obteve um aumento de 100% no mesmo período (Figura 3a, c), aumento esse explicado pela alta demanda pelo *commodity* para abastecer a crescente procura para alimentação de aves, produtos lácteos e carne suína (WILKES; ZHANG, 2016).

Este crescimento não é acompanhado pelos Estados Unidos (EUA), que

segundo projeções da *United States Department of Agriculture* (USDA, 2023): as culturas do milho, trigo, arroz e sorgo terão diminuição de 4, 10, 21 e 42%, respectivamente, para safra 2022-23, já a soja e cevada terão crescimento de 1 e 19%. Mas diferentemente da China, os EUA começaram antes o processo de uso de fertilizantes minerais em que, segundo Fuglie, MacDonald e Ball (2007), o desenvolvimento ocorreu entres as décadas de 1950 e 1970, com a escassez de mão de obra, obrigando-os a busca por melhoria da qualidade dos insumos, tais como máquinas e produtos químicos com novas formas de aplicação, muitas vezes com efeitos de redução de insumos, sem comprometer o rendimento da cultura (FORNAZIER; VIEIRA FILHO, 2013).

Os valores apresentados na Figura 4b demonstram a evolução da área cultivada no Brasil e da produção por hectare, sendo que as principais *commodities* (milho e soja) obtiveram crescimento tanto em área plantada como em produtividade. O aumento entre 1961 e 2021 foi de 11, 23 e 24 milhões de hectares cultivados, o que representou uma alta de 48 e 219% de todo cultivo de milho e soja, respectivamente. A produtividade (Figura 4c), no mesmo período, teve um aumento de 292,5 e 102,2 milhões de toneladas, o que gerou um aumento de 320 e 553% no rendimento das plantações. A área cultivada do trigo reduziu de 32,63 milhões de hectares, em 1981, para 15 milhões, em 2021 (<54%); nesse mesmo período, a produtividade aumentou 28% (Figura 4a, c).

Figura 4. Área com culturas agrícolas e produtividade nos Estados Unidos entre 1961-2021 (a), no Brasil (b), produção de culturas agrícolas na União Europeia entre 1961-2021(c) e no Brasil (d).



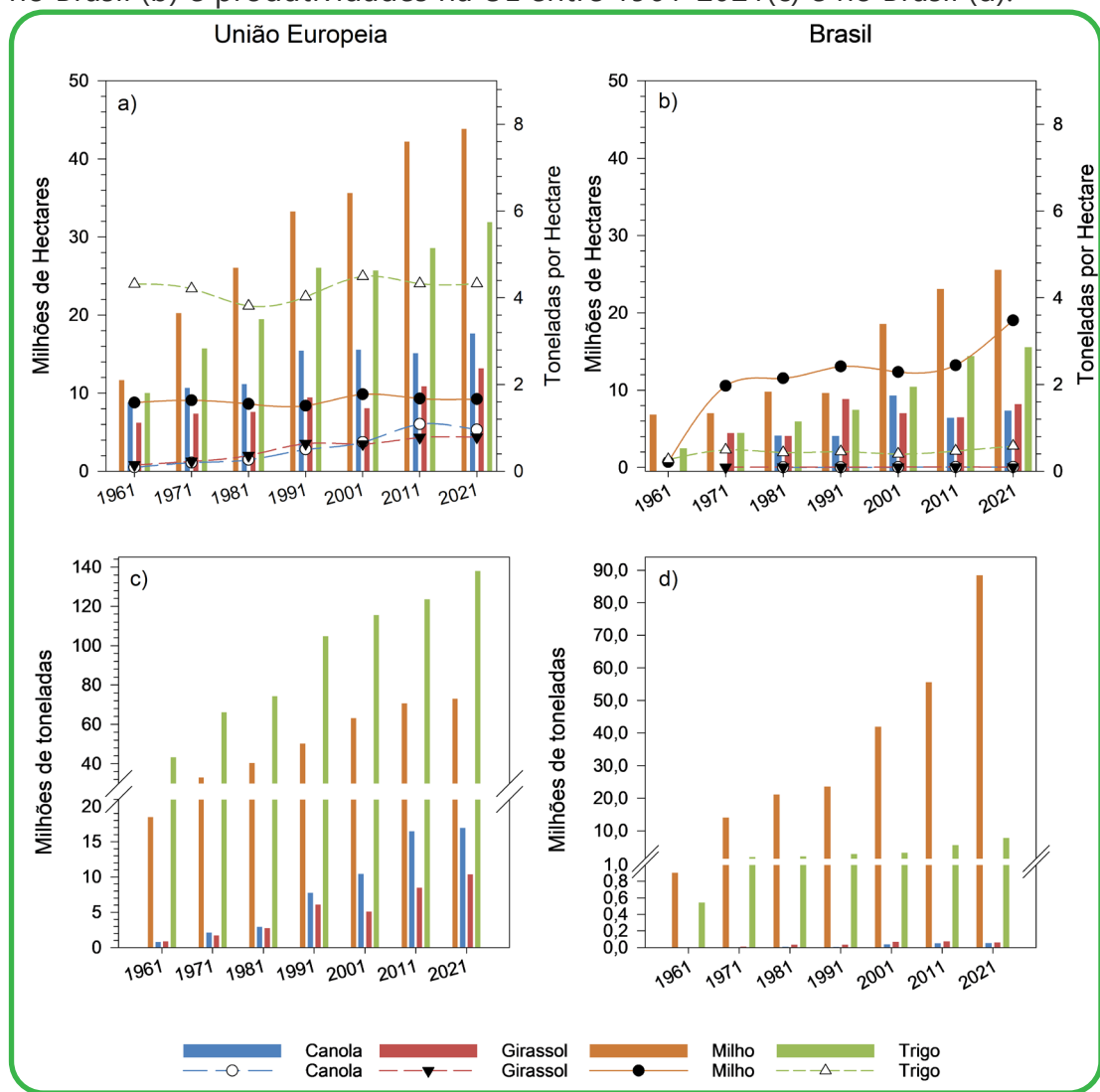
Fonte: elaborada pelos autores com dados de FAOSTAT (2023).

A União Europeia (UE) difere um pouco da China, do Brasil e dos EUA, sendo uma união econômica e política, atualmente com 27 Estados-membros. Esse conjunto de países traz complexidade para analisar os dados, pois seria necessário desmembrar país a país para identificar os efeitos do fertilizante no aumento da produtividade agrícola e, conseqüentemente, na diminuição da área de cultivo. Ao observar os dados obtidos por meio da FAOSTAT (2023), conclui-se que, assim como China, Brasil e EUA, o uso intensivo de adubos na década de 1990 aumentou, significativamente, a produção e a produtividade (Figura 5a, c).

A canola ou colza (*Brassica napus* L.) é pouco cultivada no Brasil, sendo uma importante cultura de oleaginosas e também é utilizada como ração animal e na produção de biodiesel em todo o mundo (ZHU *et al.*, 2023). Com

a aplicação de tecnologia avançada de criação e cultivo, a produção de colza e a qualidade do óleo tem sido grandemente aumentada desde 1994 (ZHENG; LIU, 2022). Com a importância da cultura, o crescimento da área cultivada aumentou nos últimos anos, com apenas 0,51 milhões de hectares em 1961, chegou a 6,04 milhões de hectares em 2011, diminuindo em 2021. Entretanto, mesmo com a diminuição do cultivo, a produção aumentou 16%, refletindo um aumento de 2,77% na produtividade (Figura 5 b, d).

Figura 5. Área com culturas agrícolas e produção na UE entre 1961-2021 (a), no Brasil (b) e produtividades na UE entre 1961-2021(c) e no Brasil (d).



Fonte: elaborada pelos autores com dados de FAOSTAT (2023).

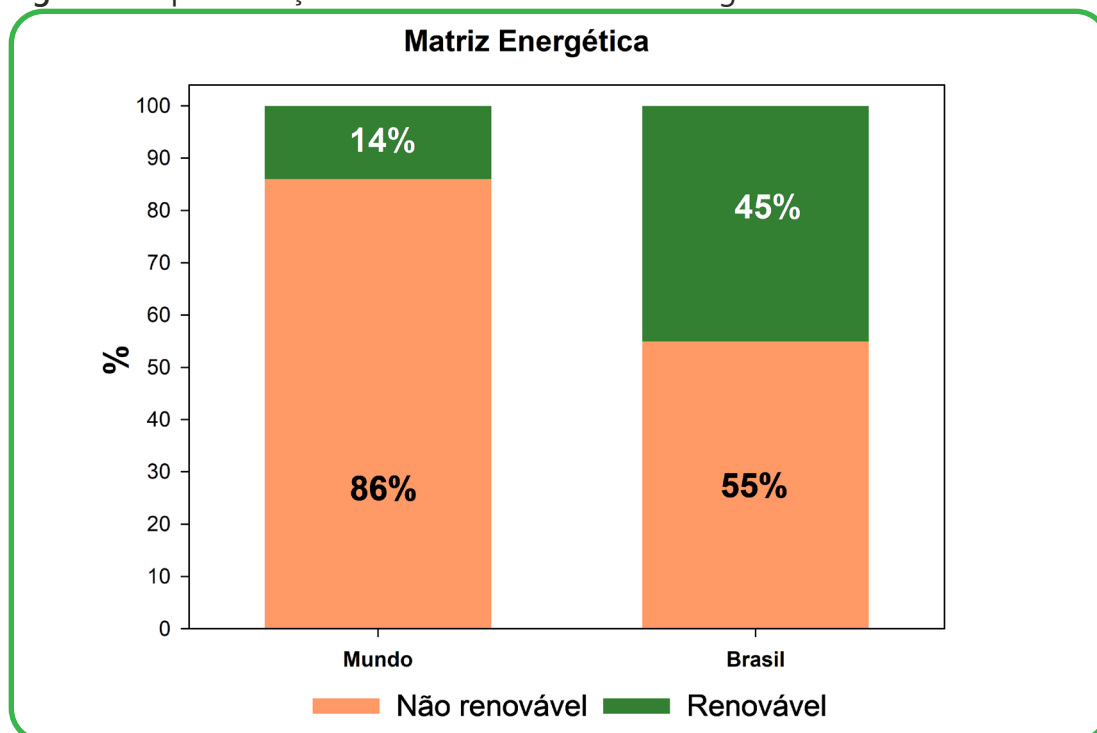
Outra cultura que vem crescendo exponencialmente na UE é o girassol, que na última década (2011-2021) cresceu 22% na produtividade (Figura 5c) e deverá continuar crescendo, uma vez que, segundo a USDA (2023), as projeções para 2022-23 são de alta de 31%. A mesma tendência não ocorre com as culturas do milho e trigo que, para a próxima safra, estima-se queda de 4 e 10%, respectivamente.

4 PRODUTIVIDADE E GESTÃO AMBIENTAL

A escolha da ponta de pulverização, o tamanho de gotas e o volume de aplicação na busca pela sustentabilidade, diversas conferências climáticas internacionais são realizadas, com o intuito de debater e propor ações mais concretas para amenizar os impactos decorrentes da exploração dos recursos naturais renováveis e não renováveis de maneira predatória (BASTE; WATSON, 2022; DEPLEDGE; SALDIVIA; PEÑASCO, 2022).

A matriz energética no Brasil é bastante diversificada e cerca de 45% é de fontes renováveis, em comparação com apenas 14% no mundo (Figura 6). No entanto, os combustíveis fósseis são a principal fonte de energia para a síntese industrial de fertilizantes nitrogenados, como os nitrofosfatos, nitrato de amônio, nitrato de sódio, sulfato de amônio, ureia, água amônia, soluções com nitrogênio e fosfatos de amônio (Monofosfato de Amônia [MAP] e Difosfato de Amônia [DAP]) (VITTI; HEIRINCHS, 2007; ROCHA *et al.*, 2019; CINTRA; MELO; MENEZES, 2020; RAIHAN; TUSPEKOVA, 2022).

Figura 6. Representação do consumo da matriz energética no Brasil e no mundo.



Fonte: elaborada pelos autores com dados de Empresa de Pesquisa Energética (EPE, 2021).

Vitti e Heinrichs (2007) relatam que uma das grandes dificuldades para a obtenção de fertilizantes agrícolas nitrogenados é o mais alto custo energético e financeiro envolvido para realizar a conversão do Nitrogênio do ar atmosférico (N_2) em Amônia (NH_3) em reatores. Nesse processo, ocorre a fixação sintética do gás N_2 do ar e, conseqüente formação da Amônia, por meio de sua fusão com o gás Hidrogênio (H_2) (obtido de diferentes fontes, como gás natural, petróleo ou carvão mineral). Contribuindo, então, com

o aumento dos riscos de, eventualmente, causar danos ao meio ambiente através da contaminação de solos e mananciais com tais fertilizantes à base de nitrogênio e com a continuidade dos processos de queima de combustíveis fósseis – com consequente emissões de gás carbônico (CO₂) para a atmosfera (BEKUN; ALOLA; SARKODIE, 2019; OGUNKUNLE; ADEWUMI; ADEPOJU, 2019; BASTE; WATSON, 2022; RAIHAN; TUSPEKOVA, 2022).

Outros autores relatam em seus estudos a possibilidade de serem utilizados meios alternativos para obtenção de fontes mais sustentáveis de nitrogênio (VITTI; HEIRINCHS, 2007; ALVES *et al.*, 2022; CUNHA-ZERI *et al.*, 2022; MEIRELLES *et al.*, 2022; VIEIRA *et al.*, 2022), como a utilização de outras fontes de H₂ por meio da produção de biodiesel. Também é importante destacar, que é possível encontrar outros meios mais sustentáveis para promover o fornecimento natural do N₂ atmosférico a partir de técnicas de plantio direto que favorecem à fixação biológica, além do aprimoramento de meios para reduzir as perdas de NH₃ por volatilização com adubações mais balanceadas. Atualmente, a utilização de substratos alternativos também pode ser uma opção.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desafio para atender a demanda mundial de alimentos está sustentado na produção agrícola eficiente e no uso de insumos. A utilização de áreas agrícolas deve ser planejada e apoiada pela técnica, para buscar alta produtividade e minimizar impactos. A fertilidade do solo e a adubação são segmentos estratégicos para a sustentabilidade no sistema de produção agropecuária que deve contar com estudo planejado na capacidade de uso do solo, produção de fertilizantes com menor gasto energético e maior eficiência, manejo das culturas de acordo com as condições de clima e solo.

REFERÊNCIAS

ALVES, L. S.; CAITANO, C. E. C.; FERRARI, S.; VIEIRA JÚNIOR, W. G.; HEINRICHS, R.; MOREIRA, B. R. A.; PARDO-GIMÉNEZ, A.; ZIED, D. C. Application of spent sun mushroom substrate in substitution of synthetic fertilizers at maize topdressing. **Agronomy**, [s.l.], v. 12, n. 11, p. 2884, 2022.

ASSOCIAÇÃO NACIONAL PARA DIFUSÃO DE ADUBOS (ANDA). Disponível em: http://anda.org.br/wp-content/uploads/2019/05/Principais_Indicadores_2018.pdf Acesso em: 16 fev. 2021.

BALBINOT JUNIOR, A. A.; SANTOS, J. C. F.; DEBIASI, H.; YOKOYAMA, A. H. Contribution of roots and shoots of Brachiaria species to soybean performance in succession. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 52, n. 8, p. 592-598, 2017.

BASTE, I. A.; WATSON, R. T. Tackling the climate, biodiversity and pollution emergencies by making peace with nature 50 years after the Stockholm Conference. **Global Environmental Change**, [s.l.], v. 73, p. 102466, 2022.

BEKUN, F. V.; ALOLA, A. A.; SARKODIE, S. A. Toward a sustainable environment:

Nexus between CO₂ emissions, resource rent, renewable and nonrenewable energy in 16-EU countries. **Science of The Total Environment**, [s.l.], v. 657, p. 1023-1029, 2019.

BERNARDI, A. C. C.; MACHADO, P. L. O. A.; SILVA, C. A. Fertilidade do solo e demanda por nutrientes no Brasil. In: MANZATTO, C.V.; FREITAS JÚNIOR, E.; PERES, J.R.R. (org.). **Uso agrícola dos solos brasileiros**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2002. p. 61-77.

BORGHI, E.; CRUSCIOL, C. A. C.; NASCENTE, A. S.; SOUSA, V. V.; MARTINS, P.O.; MATEUS, G. P.; COSTA, C. Sorghum grain yield, forage biomass production and revenue as affected by intercropping time. **European Journal of Agronomy**, Conthey, v. 51, p. 130-139, 2013.

CALONEGO, J. C.; RAPHAEL, J. P. A.; RIGON, J. P. G.; OLIVEIRA NETO, L.; ROSOLEM, C. A. Soil compaction management and soybean yields with cover crops under no-till and occasional chiseling. **European Journal of Agronomy**, Conthey, v. 85, p. 31-37, 2017.

CASSIMIRO, J. B.; OLIVEIRA, C. L. B. de; BONI, A. da S.; DONATO, N. de L.; MEIRELLES, G. C.; DA SILVA, J. F.; RIBEIRO, I. V.; HEINRICH, R. Ammonia volatilization and marandu grass production in response to enhanced-efficiency nitrogen fertilizers. **Agronomy**, [s. l.], v. 13, n. 3, p. 1-15, 2023.

CASSIMIRO, J. B.; ROCHETTI, A. C. A.; HEINRICH, R.; CASTILLO, E. O. F. Volatilização da amônia e avaliação do capim-marandu sob doses e fontes de fertilizantes nitrogenados. **Research, Society and Development**, [s. l.], v. 9, n. 8, p. e526985823, 2020.

CHEN, G.; WEIL, R. R.; HILL, R. L. Effects of compaction and cover crops on soil least limiting water range and air permeability. **Soil and Tillage Research**, [s. l.], v. 136, p. 61-69, 2014.

CINTRA, P. H. N.; MELO, O. F. P.; MENEZES, J. O. S.. Produção agrícola: uma revisão bibliográfica sobre as mudanças climáticas e produtividade de plantas graníferas no Brasil. **Revista Agrotecnologia**, Ipameri, v. 11, n. 1, p. 87-94, 2020.

CRUSCIOL, C. A. C.; NASCENTE, A. S.; BORGHI, E.; SORATTO, R. P.; MARTINS, P. O. Improving soil fertility and crop yield in a tropical region with palisadegrass cover crops. **Agronomy Journal**, [s. l.], v. 107, n. 6, p. 2271-2280, 2015.

CUNHA-ZERI, G.; GUIDOLINI, J. F.; BRANCO, E. A.; OMETTO, J. P. How sustainable is the nitrogen management in Brazil?: a sustainability assessment using the Entropy Weight Method. **Journal of Environmental Management**, [s. l.], v. 316, p. 115330, 2022.

DEPLEDGE, J.; SALDIVIA, M.; PEÑASCO, C. Glass half full or glass half empty?: the 2021 Glasgow Climate Conference. **Climate Policy**, Londres, v. 22, n. 2, p. 147-157, 2022.

EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA (EPE). **Balanco Energético Nacional 2021**. Rio de Janeiro: EPE, 2021. Disponível em: <https://www.epe.gov.br/pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/balanco-energetico-nacional-2021>. Acesso em: 31 jan. 2023.

FAN, Z.; LI, R.; GUAN, E.; CHEN, H.; ZHAO, X.; WEI, G.; SHU, D. Fertilization

regimes affect crop yields through changes of diazotrophic community and gene abundance in soil aggregation. **Science of The Total Environment**, [s. l.], v. 866, p. 161359, 2023.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>. Acesso em: 31 jan. 2023.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS: STATISTICS (FAOSTAT). Crops and livestock products. FAO, 2023. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>. Acesso em: 30 jan. 2023.

FIERER, N. Embracing the unknown: disentangling the complexities of the soil microbiome. **Nature Reviews Microbiology**, Londres, v. 15, n. 10, p. 579-590, 2017.

FLÁVIO NETO, J.; SEVERIANO, E. C.; COSTA, K. A. P.; JUNNYOR, W. S. G.; GONÇALVES, W. G.; ANDRADE, R. Biological soil loosening by grasses from genus *Brachiaria* in crop-livestock integration. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 37, n. 3, p. 375-383, 2015.

FORNAZIER, A.; VIEIRA FILHO, J. E. R. **Heterogeneidade estrutural na produção agropecuária**: uma comparação da produtividade total dos fatores no Brasil e nos Estados Unidos. Brasília; Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada, 2013. (Texto para Discussão, v. 1819).

FUGLIE, K. O.; MACDONALD, J. M.; BALL, E. Productivity growth in U.S. Agriculture. **Economic Brief**, Washington, v. 9, p. 7, p. 1-7, 2007.

GERLAND, P.; RAFTERY, A. E.; SEVČÍKOVÁ, H.; LI, N.; GU, D.; SPOORENBERG, T.; ALKEMA, L.; FOSDICK, B. K.; CHUNN, J.; LALIC, N.; BAY, G.; BUETTNER, T.; HEILIG, G.; WILMOTH, J. World population stabilization unlikely this century. **Science**, New York, v. 346, n. 6206, p. 234-237, 2014.

GLOBAL ENVIRONMENT FACILITY. **Safeguarding the Global Commons**: the seventh replenishment of the Global Environment Facility. [S. l.]: Global Environment Facility, 2019. Disponível em: https://www.thegef.org/sites/default/files/publications/GEF_safeguarding_global_commons_May2019_CRA.pdf. Acesso em: 11 fev. 2023.

HEINRICH, R.; SOARES FILHO, C. V. **Adubação e manejo de pastagens**. Birigui: Boreal, 2014.

HORTON, P.; LONG, S. P.; SMITH, P.; BANWART, S. A.; BEERLING, D. J. Technologies to deliver food and climate security through agriculture. **Nature Plants**, Londres, v. 7, n. 3, p. 250-255, 2021.

HUANG, M.; LIANG, T.; WANG, L.; ZHOU, C. Effects of no-tillage systems on soil physical properties and carbon sequestration under long-term wheat-maize double cropping system. **Catena**, [s. l.], v. 128, p. 195-202, 2015.

HUSSAIN, A.; JAMIL, M. A.; ABID, K.; DUAN, W.; CHEN, L.; LI, C. Effects of fertilizers and litter treatment on soil nutrients in Korean pine plantation and its natural forest of Northeast China. **Forests**, Basel, v. 13, n. 10, p. 1560, 2022.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Censo Agro 2017**.

IBGE, 2017. Disponível em: <https://censoagro2017.ibge.gov.br/>. Acesso em: 11 fev. 2023.

KHUSH, G. S. What it will take to Feed 5.0 Billion Rice consumers in 2030. **Plant Molecular Biology**, Boston, v. 59, n. 1, p. 1-6, 2005.

KUMAR, R.; MISHRA, J. S.; RAO, K. K.; MONDAL, S.; HAZRA, K. K.; CHOUDHARY, J. S.; HANS, H.; BHATT, B. P. Crop rotation and tillage management options for sustainable intensification of rice-fallow agro-ecosystem in eastern India. **Scientific reports**, [s.l.], v. 10, n. 1, p. 11146, 2020.

LONG, S. P.; MARSHALL-COLON, A.; ZHU, X.-G. Meeting the global food demand of the future by engineering crop photosynthesis and yield potential. **Cell**, [s.l.], v. 161, n. 1, p. 56-66, 2015.

LYU, Y.; Zhang, X.; Yang, X.; WU, J.; LIN, L.; Zhang, Y.; Wang, G.; Xiao, Y.; Peng, H.; ZHU, X.; YU, X. Performance assessment of rice production based on yield, economic output, energy consumption, and carbon emissions in Southwest China during 2004-2016. **Ecological Indicators**, [s.l.], v. 117, p. 106667, 2020.

MEIRELLES, G. C.; HEINRICHS, R.; LIRA, M.; VIRGÍLIO, I. R.; SANTOS, L. F. M.; CASSIMIRO, J. B.; RUFFO, M. L.; SOARES FILHO, C. V.; MOREIRA, A. Ammonia volatilization and pasture yield of *Urochloa decumbens* fertilized with nitrogen sources. **Archives of Agronomy and Soil Science**, [s.l.], p. 1-9, 2022.

NEEMISHA; RANI, N. Rejuvenating soil health using organic manures for sustainable agriculture. In: SINGH, H. B.; VAISHNAV, A. (ed.). **New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering**. [S.l.]: Elsevier, 2022. p. 181-198.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD); FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **OECD-FAO Agricultural Outlook 2019-2028**. Paris: OECD; Roma: FAO, 2019.

OGUNKUNLE, T. J.; ADEWUMI, A.; ADEPOJU, A. O. Biodiversity: overexploited but underutilized natural resource for human existence and economic development. **Environment & Ecosystem Science**, [s. l.], v. 3, n. 1, p. 26-34, 2019.

OLIVEIRA, C. L. B.; CASSIMIRO, J. B.; LIRA, M. V. S.; BONI, A. S.; DONATO, N. L.; REIS JUNIOR, R. A.; HEINRICHS, R. Sugarcane ratoon yield and soil phosphorus availability in response to enhanced efficiency phosphate fertilizer. **Agronomy**, [s. l.], v. 12, n. 11, p. 2817, 2022.

OMER, A. M. Energy, environment and sustainable development. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [s. l.], v. 12, n. 9, p. 2265-2300, 2008.

PAPADOPOULOS, A.; BIRD, N. R. A.; WHITMORE, A. P.; MOONEY, S. J. Does organic management lead to enhanced soil physical quality? **Geoderma**, [s. l.], v. 213, p. 435-443, 2014.

PARIZ, C. M.; COSTA, C.; CRUSCIOL, C. A. C.; MEIRELLES, P. R. L.; CASTILHOS, A. M.; ANDREOTTI, M.; COSTA, N. R.; MARTELLO, J. M.; SOUZA, D. M.; PROTES, V. M.; LONGHINI, V. Z.; FRANZLUEBBERS, A. J. Production, nutrient cycling and soil compaction to grazing of grass companion cropping with corn and soybean. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, [s. l.], v. 108, p. 35-54, 2017.

PARIZ, C. M.; COSTA, C.; CRUSCIOL, C. A. C.; MEIRELLES, P. R. L.; CASTILHOS, A. M.; ANDREOTTI, M.; COSTA, N. R.; MARTELLO, J. M.; SOUZA, D. M.; SARTO, J. R. W.; FRANZLUEBBERS, A. J. Production and Soil Responses to Intercropping of Forage Grasses with Corn and Soybean Silage. **Agronomy Journal**, [s. l.], v. 108, n. 6, p. 2541-2553, 2016.

RAIHAN, A.; TUSPEKOVA, A. Dynamic impacts of economic growth, energy use, urbanization, tourism, agricultural value-added, and forested area on carbon dioxide emissions in Brazil. **Journal of Environmental Studies and Sciences**, [s. l.], v. 12, p. 794-814, 2022.

REHMAN, A.; OZTURK, L.; ASIF, M.; SIDDIQUE, K. H. M. Zinc nutrition in wheat-based cropping systems. **Plant and Soil**, [s. l.], v. 422, p. 283-315, 2018.

RESENDE, A. V.; GONTIJO NETO, M. M.; BORGHI, E.; SIMÃO, E. P.; GIEHL, J.; ABREU, S. C.; HURTADO, S. M. C.; CAMPANHA, M. M.; COSTA, T. C. C.; MARRIEL, I. E.; VASCONCELLOS, J. H.; SANTANA, D. P.; ALVARENGA, R. C.; VIANA, J. H. M. **Intensificação agropecuária no Cerrado: construção da fertilidade do solo como base para aumento do potencial produtivo e convivência com a seca**. Sete Lagoas: Embrapa, 2020. (Circular Técnica, n. 265).

ROCHA, J. H.; MENEGALE, M. L. C.; RODRIGUES, M.; GONÇALVES, J. L. M.; PAVINATO, P. S.; FOLTRAN, E. C.; HARRISON, R.; JAMES, J. N. Impacts of timber harvest intensity and P fertilizer application on soil P fractions. **Forest Ecology and Management**, [s. l.], v. 437, p. 295-303, 2019.

SAFADOUST, A.; FEIZEE, P.; MAHBOUBI, A. A.; GHARABAGHI, B.; MOSADDEGHI, M. R.; AHRENS, B. Least limiting water range as affected by soil texture and cropping system. **Agricultural Water Management**, [s. l.], v. 136, p. 34-41, 2014.

SILVA, J. V. B. **Dinâmica da economia agrícola da China e de suas províncias e regiões**. Brasília; Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada, 2022. (Nota Técnica, n. 51).

SILVA, M. B.; KLIEMANN, H. J.; SILVEIRA, P. M.; LANNA, A. C. Atributos biológicos do solo sob influência da cobertura vegetal e do sistema de manejo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 12, p. 1755-1761, 2007.

SILVA, M. O.; Santos, M. P.; Sousa, A. C. P.; Silva, R. L. V.; Moura, I. A. A.; Silva, R. S.; Costa, K. D. S. Qualidade do solo: indicadores biológicos para um manejo sustentável. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 7, n. 1, p. 6853-6875, 2021.

SONI, P.; TAEWICHIT, C.; SALOKHE, V. M. Energy consumption and CO2 emissions in rainfed agricultural production systems of Northeast Thailand. **Agricultural Systems**, [s. l.], v. 116, p. 25-36, 2013.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). **Foreign Agricultural Service: Country Summary**. USDA, 2023. Disponível em: <https://ipad.fas.usda.gov/countrysummary/Default.aspx?id=US>. Acesso em: 31 jan. 2023.

VIEIRA, M. A.; BARRETO, I.; LAPAZ, A. M.; BONINI, C. S. B.; SOARES FILHO, C. V.; MOREIRA, A.; HEINRICH, R. Yield and chemical composition of Marandu Grass fertilized with macro-and micronutrients at planting and for pasture maintenance. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, [s. l.], v. 54, n. 9, p. 1-9, 2022.

VITTI, G. C.; HEIRINCHS, R. Formas tradicionais e alternativas de obtenção e utilização do nitrogênio e do enxofre: uma visão holística. *In: Nitrogênio e enxofre na agricultura brasileira*. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2007.

WILKES, A.; ZHANG, L. **Stepping stones towards sustainable agriculture in China**: an overview of challenges, policies and responses. Londres: International Institute for Environment and Development, 2016.

YUAN, S.; NIE, L.; WANG, F.; HUANG, J.; PENG, S. Agronomic performance of inbred and hybrid rice cultivars under simplified and reduced-input practices. **Field Crops Research**, [s. l.], v. 210, p. 129-135, 2017.

YUAN, S.; PENG, S. Food-energy-emission nexus of rice production in China. **Crop and Environment**, [s. l.], v. 1, n. 1, p. 59-67, 2022.

YUAN, S.; PENG, S. Input-output energy analysis of rice production in different crop management practices in central China. **Energy**, [s. l.], v. 141, p. 1124-1132, 2017.

ZHANG, C.; JU, X.; POWLSON, D.; OENEMA, O.; SMITH, P. Nitrogen surplus benchmarks for controlling N pollution in the main cropping systems of China. **Environmental Science & Technology**, [s. l.], v. 53, n. 12, p. 6678-6687, 2019.

ZHANG, X. H.; PAN, H. Y.; CAO, J.; LI, J. R. Energy consumption of China's crop production system and the related emissions. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [s. l.], v. 43, p. 111-125, 2015.

ZHENG, Q.; LIU, K. Worldwide rapeseed (*Brassica napus* L.) research: a bibliometric analysis during 2011-2021. **Oil Crop Science**, [s. l.], v. 7, n. 4, p. 157-165, 2022.

ZHU, J.; Lei, L.; Wang, W.; Jiang, J.; Zhou, X. QTL mapping for seed density per silique in *Brassica napus*. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 13, n. 772, p. 1-8, 2023.

CAPÍTULO 2

IMPORTÂNCIA E BENEFÍCIOS DA ADOÇÃO DE CULTURAS DE COBERTURA NA AGRICULTURA SUSTENTÁVEL

Vagner do Nascimento*

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Dracena, São Paulo, Brasil.

***Autor correspondente:**

vagner.nascimento@unesp.br

João Guilherme Martins Zago

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Dracena, São Paulo, Brasil.

Samuel Ferrari

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Dracena, São Paulo, Brasil.

Ronaldo Cintra Lima

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Dracena, São Paulo, Brasil.

Orivaldo Arf

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Engenharia, Programa de Pós-
Graduação em Agronomia – Sistemas de
Produção, Ilha Solteira, São Paulo, Brasil.

Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Engenharia, Programa de Pós-
Graduação em Agronomia – Sistemas de
Produção, Ilha Solteira, São Paulo, Brasil.

Resumo

Um dos maiores desafios da agricultura tropical e subtropical, com enfoque na sustentabilidade, é a produção de fitomassa ou biomassa em quantidade, uniforme e permanente na superfície do solo em longo prazo. Em geral, nessas regiões, o solo fica mais susceptível à erosão hídrica acelerada e eólica, o que favorece a falência do Sistema Plantio Direto e dos sistemas integrados de produção. A prática de diversificação (rotação) de culturas é constantemente negligenciada, apresentando enfoque somente ao aspecto econômico e desconsiderando os aspectos ambiental e social do Sistema Plantio Direto. Portanto, estratégias como a adoção e a seleção de espécies isoladas e a mistura de espécies de culturas de cobertura com as utilizadas para fins comerciais são essenciais, pois as plantas de cobertura do solo são multifuncionais e podem contribuir para a qualidade do solo, melhorando os atributos físicos, químicos e biológicos do solo. Neste capítulo, serão descritos a importância, os impactos e os benefícios da adoção de culturas de cobertura do solo para a sua qualidade, suas principais espécies, seus aspectos fundamentais na recomendação e no manejo para a agricultura sustentável e econômica dos sistemas de produção.

1 INTRODUÇÃO

Devido ao modelo de agricultura atualmente adotado, vem ocorrendo um grande declínio na qualidade ambiental, na biodiversidade e na produção agrícola de diversas culturas comerciais em consequência das práticas agrícolas convencionais, como o cultivo intensivo do solo, o pousio durante o outono-inverno, a prática de monocultura excessiva que promove baixa quantidade, a desuniformidade e a permanência de fitomassa (resíduos culturais) sobre a superfície do solo, bem como o uso excessivo de fertilizantes inorgânicos e minerais (DABNEY *et al.*, 2010).

Nos últimos anos, novas estratégias de agricultura conservacionista e serviços ecossistêmicos se tornaram muito importantes para melhorar a agricultura de forma sustentável. Dessa maneira, a cobertura vegetal em quantidade, qualidade e persistência no sistema solo-planta, que é uma velha questão prática, está se tornando popular em todo o mundo (ROMDHANE *et al.*, 2019).

Um dos grandes desafios da agricultura tropical e subtropical e dos sistemas integrados de produção é a quantidade cobertura ($t\ ha^{-1}$ de palhada) na superfície do solo com resíduos culturais, no espaço e no tempo de forma uniforme e permanente nos diversos sistemas de produção agrícola para adoção de um Sistema Plantio Direto (SPD) de qualidade na sua plenitude e com foco na sustentabilidade econômica, social e ambiental, principalmente em regiões tropicais onde o desafio é maior devido à elevada velocidade de decomposição de resíduos culturais em relação a regiões de clima temperado.

As culturas de cobertura do solo são espécies de plantas cultivadas para cobrir e melhorar o solo (BENEDICT; COGGER; ANDREWS, 2014). Elas podem ser usadas como uma cobertura viva ou morta em uma superfície do solo, ou podem ser "arados" no solo como adubo verde (BENEDICT; COGGER; ANDREWS, 2014). As culturas de cobertura podem ser qualquer tipo de planta, mas geralmente são das famílias de fabáceas (=leguminosas) ou poáceas (=gramíneas). As culturas de cobertura são utilizadas para melhoria das condições físicas, químicas e biológicas do solo e suas interações, além de serem consideradas como prática conservacionista pela qual as espécies de plantas são cultivadas e, a seguir, incorporadas ou mantidas na superfície do solo, em determinado estágio fenológico com a finalidade de assegurar ou aumentar a capacidade produtiva do solo.

Em estudos realizados por Wutke *et al.* (2014), os autores verificaram que os principais benefícios das espécies de cobertura do solo são: proteger o solo contra a erosão hídrica e eólica; manter elevada a taxa de infiltração de água no solo; promover contínuo aporte de fitomassa seca; aumentar a capacidade de armazenamento de água no solo; mobilizar e reciclar os nutrientes de forma eficaz; promover o aporte de nitrogênio; reduzir a população de plantas daninhas; propiciar condições ambientais favoráveis à vida no solo; proporcionar alelopatia benéfica; estocar carbono no solo; atenuar e controlar as oscilações térmicas; recuperar solos degradados; solubilizar fósforo; reduzir

a lixiviação de nutrientes; aumentar a capacidade de troca de cátions e maior estabilidade de agregados; auxiliar na descompactação do solo; auxiliar no manejo de nematoides parasitas de plantas e patógenos radiculares; melhorar a eficiência de adubos minerais; e auxiliar na alimentação humana e animal.

2 PRINCIPAIS CULTURAS DE COBERTURA DO SOLO

As principais famílias e espécies de cobertura do solo utilizadas pertencem às fabáceas (*Crotalaria spectabilis*, *Crotalaria juncea*, *Crotalaria striata*, *Crotalaria breviflora*, *Crotalaria ochroleuca*, *Mucuna pruriens*, *Mucuna deeringiana*, *Cajanus cajan*, *Glycine max* L., *Canavalia ensiformis*, *Dolichos lablab*, *Stylosanthes* spp., *Vicia sativa*, *Pisum sativum* ssp. *arvense*, *Lupinus albus*, etc.), poaceas (*Pennisetum glaucum*, *Zea mays* L., *Sorghum bicolor* e *S. sudanense*, *Triticum aestivum*, *Secale cereale*, ×*Triticosecale*, *Hordeum vulgare*, *Avena sativa*, *Avena strigosa*, *Lolium multiflorum*, forrageiras tropicais anuais e perenes dos gêneros *Urochloa* spp. e *Megathyrsus* spp., *Eleusine coracana* e *Andropogon gayanus*), crucíferas (*Raphanus sativus*, *Brassica napus* L.); composta (*Helianthus annuus*); poligonácea (*Fagopyrum esculentum*); cariofilácea (*Spergula arvensis*) e Linaceae (*Linum usitatissimum*). Porém, a tendência são os cultivos em consórcio (*Crotalaria* spp. + *Urochloa* spp., *Crotalaria* spp. + *Pennisetum glaucum* e *Sorghum bicolor* L. + *Urochloa* spp.) e misturas de diferentes espécies e famílias.

Nesse sentido, as principais características no momento da escolha das espécies em cultivo solteiro e consorciado são: elevada produtividade de fitomassa seca; produção de sementes de fácil obtenção e colheita; ciclo fisiológico compatível com a cultura comercial; baixa suscetibilidade a doenças e pragas; enraizamento profundo e ramificado; tolerância ao alumínio e à acidez do solo; eficiência na extração e ciclagem de nutrientes; elevada fixação de nitrogênio atmosférico; resistência/tolerância ao estresse hídrico; eficiência no manejo de plantas daninhas e de nematoides parasitas de plantas, bem como promoção de incrementos na produtividade das culturas em sucessão, rotação e consórcios, conforme relatado em estudos realizados por Wutke *et al.* (2014).

3 BENEFÍCIOS DO USO DAS CULTURAS DE COBERTURA NA QUALIDADE DO SOLO

São múltiplos os benefícios do uso das culturas de cobertura do solo nos seus atributos físicos, como o controle de erosão hídrica acelerada e eólica. Ademais, essas culturas minimizam a compactação nas camadas superficiais e subsuperficiais do solo, aumentam a estabilidade de agregados, com maiores taxas de infiltração e percolação de água ao longo do perfil do solo, na redução da temperatura e sua amplitude térmica na superfície do solo. Para os atributos químicos do solo, os benefícios são o aumento no aporte de matéria orgânica, carbono e nitrogênio e outros macro e micronutrientes do solo, além disso, é proporcional à reciclagem de nutrientes no solo. Quanto aos atributos biológicos, eles aumentam a população e a diversidade da macro,

meso e microfauna do solo, conforme relatado por Adetunji *et al.* (2020).

Segundo revisão realizada por Blanco-Canqui *et al.* (2015), as culturas de cobertura do solo podem fornecer inúmeros serviços ecossistêmicos, como controle de erosão hídrica e eólica, melhoria nas propriedades físicas, químicas e biológicas do solo, sequestro de carbono orgânico do solo, ciclagem de nutrientes, supressão de plantas daninhas, melhoria no habitat e diversidade da vida selvagem, potencial fornecimento de forragem para alimentação de bovinos de corte e leite e matéria-prima para a produção de celulose e biocombustíveis, e aumento da produtividade de grãos nas colheitas em regiões com precipitação abundante e desuniforme ao longo do ano.

As misturas de espécies de culturas de cobertura do solo podem ser mais multifuncionais do que uma única espécie, pois cada espécie de planta desempenha funções diferentes e funções específicas no solo. Por exemplo, misturar *Raphanus sativus* + *Secale cereale* pode aliviar a compactação do solo e os riscos de erosão devido ao potencial de penetração e formação de bioporos do sistema radicular do *Raphanus sativus* e abundante cobertura de biomassa produzida por *Secale cereale* (CHEN; WEIL, 2010).

Os serviços ecossistêmicos fornecidos pelas culturas de cobertura do solo não são independentes, entretanto estão todos fortemente inter-relacionados. Um determinado benefício contribui para o próximo benefício. Por exemplo, com o tempo, o acúmulo de carbono orgânico do solo sob culturas de cobertura contribui para melhorar as propriedades do solo, como a estabilidade dos agregados do solo e a macroporosidade do solo, o que concomitantemente pode resultar no aumento da infiltração de água e riscos reduzidos de erosão hídrica acelerada.

Além disso, a maior formação de agregados e estabilidade não só reduz a erosão hídrica e eólica, mas também promove proteção, armazenamento e ciclagem de carbono e nutrientes no solo. Da mesma forma, um aumento na concentração de carbono, que proporciona melhorias na agregação e na redução da densidade do solo, pode, também, reduzir a suscetibilidade de um solo à compactação em longo prazo (BLANCO-CANQUI *et al.*, 2013). Interações entre o solo e seus atributos físicos, químicos e biológicos afetam diretamente o solo, a conservação da água, a fertilidade, a produção agrícola e a qualidade ambiental.

Sistemas alternativos de cultivo para a região do Cerrado estão sendo estudados para maximizar a produtividade das culturas comerciais, melhorando os atributos físicos, químicos e biológicos do solo (PORTES *et al.*, 2000; CARVALHO, 2005), e para compreender as suas intercorrelações (DUFRANC *et al.*, 2004; VILLAR *et al.*, 2004). A consorciação melhora as condições físicas do solo, proporcionando maior produção de resíduos culturais, o que estimula a infiltração de água, permite maior exploração do perfil do solo pelas raízes, reduz erosão e, conseqüentemente, mantém, ou até melhora, a estabilidade do sistema (CHIODEROLI *et al.*, 2012). O sucesso desses sistemas no Cerrado está relacionado aos incrementos de produtividade das culturas comerciais

e aos resíduos acumulados de culturas de cobertura ou forrageiras tropicais (pastagens), que proporcionam um ambiente favorável de recuperação ou manutenção dos atributos do solo (SANTOS *et al.*, 2008). A consorciação tem outros benefícios como, por exemplo, a possibilidade de pastoreio tardio e a rotação de culturas e matéria orgânica produzida pelo sistema.

Existe uma grande variedade de práticas de agricultura conservacionista que são usadas nos trópicos e subtropicais. A agricultura conservacionista conta com premissas de conservação, como cultivo mínimo, rotação/consórcio e cobertura permanente do solo com cultura comercial ou cobertura de resíduos derivados de culturas não comerciais (HOBBS; SAYRE; GUPTA, 2008). Essa modalidade de agricultura pode ser aplicada em sistemas de cultivos anuais e/ou perenes e sua adoção depende das diferenças climáticas regionais, do manejo da cultura, das espécies utilizadas comercialmente e da disposição espacial/temporal das espécies vegetais nas áreas cultivadas (GIL; SIEBOLD; BERGER, 2015; BIELUCZYK *et al.*, 2020). Em geral, as práticas de agricultura conservacionista têm semelhanças com as de outros sistemas convencionais, por isso a transição dos sistemas agrícolas convencionais é relativamente simples e pode ser aplicada e/ou adaptada a grandes áreas (GIL; SIEBOLD; BERGER, 2015).

4 ASPECTOS FUNDAMENTAIS E OS OBJETIVOS NA RECOMENDAÇÃO DE ESPÉCIES DE COBERTURA DO SOLO EM DIVERSOS SISTEMAS DE PRODUÇÃO

Os principais aspectos a serem considerados na recomendação e seleção das espécies de cobertura do solo antes da implantação são: histórico de área (cultivos e adubações anteriores), adaptação das plantas ao clima e solo da região, sistema de produção adotado na propriedade, não interferência nas atividades agropecuárias da propriedade, mínimo custo financeiro, disponibilidade de sementes no mercado e preço acessível, elevada produtividade de fitomassa seca, facilidade de manejo (mecânico e químico) dos resíduos culturais e, por fim, a preferência do agricultor (WUTKE *et al.*, 2014).

A definição do objetivo da cultura de cobertura do solo é fundamental para a sua adoção e recomendação. O objetivo do uso será essencial para a escolha das espécies de culturas de cobertura, como a data de semeadura/plantio, a quantidade de sementes na semeadura, a data de manejo da fitomassa e as alternativas de uso. A seleção e a finalidade de aplicação das culturas de cobertura do solo podem influenciar no sucesso do uso em cada local e manejo específico operacional da espécie. Conforme relatado por Blanco-Canqui *et al.* (2015), as finalidades podem incluir: controle de erosão hídrica e eólica, melhoria na fertilidade e produtividade do solo, manejo para minimizar a compactação superficial do solo, produção de forragem para pastejo ou fenação, dentre outros.

Os sistemas de agricultura conservacionistas mais estudados e comuns, que são adotados nos trópicos, incluem: sistema plantio direto (SPD) com produção

de grãos, plantas de cobertura e rotação de culturas; integração lavoura-floresta (ILF), com produção simultânea de grãos e árvores; integração lavoura-pecuária (ILP), com produção de grãos, forragem e animais; integração pecuária-floresta (IPF), com produção de forragem, animais e árvores; e integração lavoura-pecuária-floresta (ILPF), com produção de grãos, forragem, animais e árvores (CARVALHO *et al.*, 2014; GIL; SIEBOLD; BERGER, 2015; BIELUCZYK *et al.*, 2020).

Esses sistemas podem ser classificados em diferentes níveis de complexidade e intensificação. O SPD é considerado como o menos intensificado e complexo e o ILPF, o mais complexo e intensivo; e os ILP, IPF e ILF como intermediários. Em geral, significa que quanto mais espécies (vegetais e/ou animais) forem introduzidas, quanto mais o agroecossistema se assemelha a um ecossistema natural e as interações entre as espécies se tornam mais complexas, mais biomassa é produzida (BIELUCZYK *et al.*, 2020).

Em todos os sistemas de agricultura conservacionistas descritos acima, existe a oportunidade de inclusão de forrageiras tropicais para servir como culturas de cobertura ou pastagens aos animais. A introdução de espécies forrageiras tropicais é justificada quando fornece serviços ao agroecossistema (FOLEY *et al.*, 2005; CHERR; SCHOLBERG; MCSORLEY, 2006). Esses serviços podem estar relacionados à nutrição, ao fornecimento de maior eficiência de uso de nutrientes, à proteção e da "saúde" do solo, à supressão de plantas daninhas e/ou à melhoria da produção e dos rendimentos da cultura ou da cultura associada; eles também devem ser adequados ao contexto socioeconômico local (CHERR; SCHOLBERG; MCSORLEY, 2006; HORROCKS *et al.*, 2019; PAUL *et al.*, 2020). Algumas características das plantas estão ligadas à prestação desses serviços ecossistêmicos, como a adaptação às condições ambientais tropicais, a baixa fertilidade natural do solo, a alta capacidade de produção de biomassa, recalcitrância da biomassa, morfologia radicular eficiente e exsudação atividade, para citar alguns (CHERR; SCHOLBERG; MCSORLEY, 2006; HORROCKS *et al.*, 2019).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A adoção de diferentes espécies de culturas de cobertura do solo e suas misturas de espécies em rotação, sucessão e consórcio de culturas comerciais tende a aumentar nos próximos anos, em função do baixo custo, da facilidade de adoção e sua aplicação na agricultura moderna, por ser uma tecnologia sustentável e econômica, com potencial de aumento de aporte de acúmulo de resíduos culturais (palhada), matéria orgânica, carbono, nitrogênio, fósforo, enxofre e outros nutrientes no sistema solo-planta. Além disso, propicia um ambiente de produção favorável para uma adequada sucessão e rotação de culturas em diversos sistemas de produção, com possibilidade de incrementos ou manutenção da produtividade de grãos.

Para a sustentabilidade da agricultura tropical e subtropical, são necessárias mais pesquisas sobre culturas de cobertura do solo e suas combinações e arranjos de espécies nos seus mais diversos sistemas de produção, visando resultados mais conclusivos e consistentes.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro de projeto de auxílio regular a pesquisa (Processo nº 2020/00357-0) e à instituição UNESP/FCAT, pela disponibilidade de mão de obra e infraestrutura para elaboração da pesquisa sobre a temática do assunto e o manuscrito.

REFERÊNCIAS

ADETUNJI, A. T.; NCUBEB, B.; MULIDZIC, R.; LEWU, F. B. Management impact and benefit of cover crops on soil quality: a review. **Soil & Tillage Research**, [s. l.], v. 224, p. 1-11, 2020.

BENEDICT, C.; COGGER, C. G.; ANDREWS, N. Methods for successful cover crop management in your home garden. **Washington State University Extension**, Washington, n. FS119E, p. 1-9, 2014.

BIELUCZYK, W.; PICCOLO, M. C.; PEREIRA, M. G.; MORAES, M. T.; SOLTANGHEISI, A.; BERNARDI, A. C.; PEZZOPANE, J. R. M.; OLIVEIRA, P. P. A.; MOREIRA, M. Z.; CAMARGO, P. B.; DIAS, C. T. S.; BATISTA, I.; CHERUBIN, M. R. Integrated farming systems influence soil organic matter dynamics in southeastern Brazil. **Geoderma**, [s. l.], v. 371, p. 114368, 2020.

BLANCO-CANQUI, H.; SHAPIRO, C. A.; WORTMANN, C. S.; DRIJBER, R. A.; MAMO, M.; SHAVER, T. M.; FERGUSON, R. B. Soil organic carbon: the value to soil properties. **Journal of Soil and Water Conservation**, Ankeny v. 68, n. 5, p. 129A-134A, 2013.

BLANCO-CANQUI, H.; SHAVER, T. M.; LINDQUIST, J. L.; SHAPIRO, C. A.; ELMORE, R. W.; FRANCIS, C. A.; HERGERT, G. W. Cover crops and ecosystem services: insights from studies in temperate soils. **Agronomy Journal**, [s. l.], v. 7, n. 6, p. 2449-2274, 2015.

CARVALHO, A. M. **Uso de plantas condicionadoras com incorporação e sem incorporação no solo: composição química e decomposição dos resíduos vegetais: disponibilidade de fósforo e emissão de gases**. 2005. Tese (Doutorado em Ecologia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2005.

CARVALHO, J. L. N.; RAUCCI, G. S.; FRAZÃO, L. A.; CERRI, C. E. P.; BERNOUX, M.; CERRI, C. C. Crop-pasture rotation: a strategy to reduce soil greenhouse gas emissions in the Brazilian Cerrado. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, [s. l.], v. 183, p. 167-175, 2014.

CHEN, G.; WEIL, R. R. Penetration of cover crop roots through compacted soils. **Plant Soil**, Switzerland, v. 331, p. 31-43, 2010.

CHERR, C. M.; SCHOLBERG, J. M. S.; MCSORLEY, R. Green manure approaches to crop production: a synthesis. **Agronomy Journal**, [s. l.], v. 98, n. 2, p. 302-319, 2006.

CHIODEROLI, C. A.; MELLO, L. M. M.; GRIGOLLI, P. J.; FURLANI, C. E. A.; SILVA, J. O. R.; CESARIN, A. L. Atributos físicos do solo e produtividade de soja em sistema de consórcio milho e braquiária. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 16, n. 1, p. 37-43, 2012.

DABNEY, S. M.; DELGADO, J. A.; MEISINGER, J. J.; SCHOMBERG, H. H.; LIEBIG, M. A.; KASPAR, T.; MITCHELL, J.; REEVES, W. Using cover crops and cropping systems for nitrogen management. In: DELGADO, J. A.; FOLLETT, R. F. (ed.). **Advances in nitrogen management for water quality**. [S. l.]: Soil and Water Conservation Society, 2010. p. 231-282.

DUFRANC, G.; DECHEN, S. C. F.; FREITAS, S. S.; CAMARGO, O. A. Atributos físicos, químicos e biológicos relacionados com a estabilidade de agregados de dois Latossolos em plantio direto no Estado de São Paulo. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Viçosa, v. 28, n. 3, p. 505-517, 2004.

FOLEY, J. A.; DEFRIES, R.; ASNER, G. P.; BARFORD, C.; BONAN, G.; CARPENTER, S. R.; CHAPIN, F. S.; COE, M. T.; DAILY, G. C.; GIBBS, H. K.; HELKOWSKI, J. H.; HOLLOWAY, T.; HOWARD, E. A.; KUCHARIK, C. J.; MONFREDA, C.; PATZ, J. A.; PRENTICE, I. C.; RAMANKUTTY, N.; SNYDER, P. K. Global consequences of land use. **Science**, [s. l.], v. 309, n. 5734, p. 570-574, 2005.

GIL, J.; SIEBOLD, M.; BERGER, T. Adoption and development of integrated crop-livestock-forestry systems in Mato Grosso, Brazil. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, [s. l.], v. 199, p. 394-406, 2015.

HOBBS, P. R.; SAYRE, K.; GUPTA, R. The role of conservation agriculture in sustainable agriculture. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, [s. l.], v. 363, n. 1491, p. 543-555, 2008.

HORROCKS, C. A.; ARANGO, J.; AREVALO, A.; NUÑEZ, J.; CARDOSO, J. A.; DUNGAIT, J. A. J. Smart forage selection could significantly improve soil health in the tropics. **Science of the Total Environment**, [s. l.], v. 688, p. 609-621, 2019.

PAUL, B. K.; GROOT, J. C. J.; MAASS, B. L.; NOTENBAERT, A. M. O.; HERRERO, M.; TITTONELL, P. A. Improved feeding and forages at a crossroads: Farming systems approaches for sustainable livestock development in East Africa. **Outlook on Agriculture**, [s. l.], v. 49, n. 1, p. 13-20, 2020.

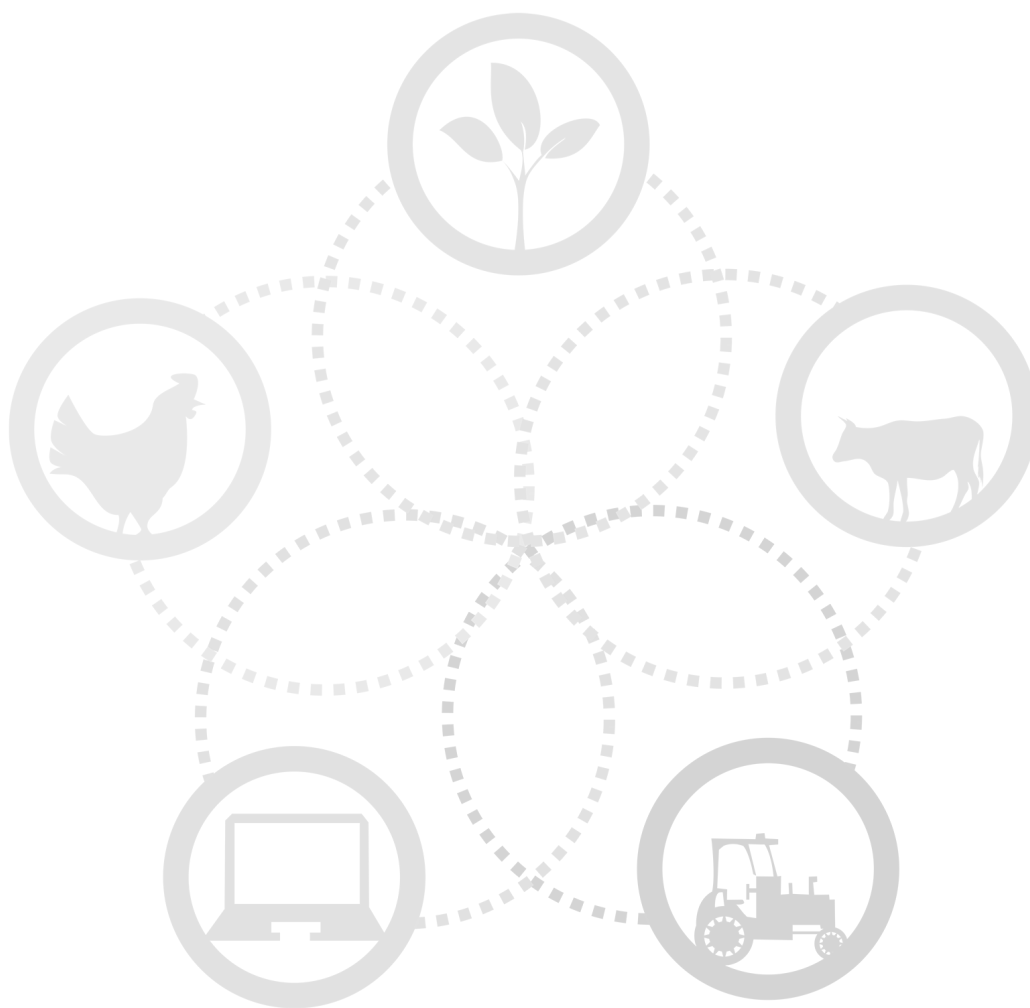
PORTES, T. A.; CARVALHO, S. I. C.; OLIVEIRA, I. P.; KLUTHCOUSKI, J. Análise de crescimento de uma cultivar de braquiária em cultivo solteiro e consorciado com cereais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 7, p. 1349-1358, 2000.

ROMDHANE, S.; SPOR, A.; BUSSET, H.; FALCHETTO, L.; MARTIN, J.; BIZOUARD, F.; BRU, D.; BREUIL, M.C.; PHILIPPOT, L.; CORDEAU, S. Cover crop management practices rather than composition of cover crop mixtures affect bacterial communities in No-Till agroecosystems. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 10, p. 1-11, 2019.

SANTOS, G. G.; SILVEIRA, P. M.; MARCHÃO, R. L.; BECQUER, T.; BALBINO, L. C. Macrofauna edáfica associada a plantas de cobertura em plantio direto em um Latossolo Vermelho do Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 1, p. 115-122, 2008.

VILLAR, M. C.; PETRIKOVA, V.; DÍAZ-RAVIÑA, M.; CARBALLAS, T. Changes in soil microbial biomass and aggregate stability following burning and soil rehabilitation. **Geoderma**, [s. l.], v. 122, n. 1, p. 73-82, 2004.

WUTKE, E. B.; CALEGARI, A.; WILDNER, L. P. Espécies de adubos verdes e plantas de cobertura e recomendações para o uso. In: LIMA FILHO, O. F.; AMBROSANO, E. J.; ROSSI, F.; CARLOS, J. A. D. (ed.). **Adubação verde e plantas de cobertura no Brasil: fundamentos e práticas**. Brasília: Embrapa, 2014. p. 265-306.



CAPÍTULO 3

BENEFÍCIOS DE COINOCULAÇÕES COM MICRORGANISMOS NA NUTRIÇÃO DE PLANTAS E PRODUTIVIDADE AGRÍCOLA

Marcelo Carvalho Minhoto Teixeira Filho*

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Engenharia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Ilha Solteira, São Paulo, Brasil.

***Autor correspondente:**

mcm.teixeira-filho@unesp.br

Arshad Jalal

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Engenharia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Ilha Solteira, São Paulo, Brasil.

Fernando Shintate Galindo

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Dracena, São Paulo, Brasil.

Guilherme Carlos Fenandes

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Engenharia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Ilha Solteira, São Paulo, Brasil.

Bruno Horschut de Lima

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Engenharia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Ilha Solteira, São Paulo, Brasil.

Vagner do Nascimento

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Dracena, São Paulo, Brasil.

Resumo

A prática da inoculação com microrganismos benéficos, tanto em fabáceas (leguminosas) como em poáceas (gramíneas), está consolidada na agricultura brasileira tecnificada e moderna. As pesquisas com bactérias e fungos benéficos de plantas são crescentes a nível mundial, com destaque para as realizadas em campo no Brasil. Na atual “Era da Microrrevolução Verde”, em função dos múltiplos mecanismos de promoção de crescimento de microrganismos benéficos e do potencial de fixação biológica de nitrogênio de bactérias, são necessários mais estudos que utilizem diferentes espécies de microrganismos em conjunto (coinoculação), ou inoculação dos chamados “coquetéis de microrganismos”, para potencializar ou somar o efeito benéfico individual de cada microrganismo, propiciando redução da quantidade de fertilizantes aplicados, adequada nutrição de plantas e maior desenvolvimento e produtividade agrícola. Neste capítulo, serão descritos os principais benefícios da coinoculação com microrganismos na nutrição de plantas e na produtividade agrícola de diversas culturas de interesse econômico.

1 INTRODUÇÃO

Os microrganismos fazem parte dos ecossistemas e desempenham funções e efeitos cruciais que podem ter impacto positivo na fertilidade e sustentabilidade do solo, minimizando o esgotamento de nutrientes e as emissões de gases de efeito estufa (GEE), com redução da degradação da água do solo e de outros recursos essenciais, além de aumentar a produtividade agrícola (WAGG *et al.*, 2014). Existem vários microrganismos benéficos, incluindo bactérias e fungos, que habitam o solo e promovem condições adequadas para o crescimento e desenvolvimento das plantas (ORTIZ; SANSINENEA, 2021). A interação desses micróbios e dessas plantas benéficas inclui a disponibilidade de nutrientes para as culturas, o estímulo e a promoção do crescimento das plantas, a síntese de fitormônios, a resistência a fitopatógenos, a melhoria da estrutura do solo, a bioacumulação de compostos inorgânicos e a biorremediação de solos contaminados por metais pesados (SANSINENEA, 2019).

Os benefícios de fungos e bactérias na agricultura podem ocorrer por múltiplos mecanismos de atuação no crescimento de plantas, como a produção e secreção de fitormônios tal qual o ácido indol-3-acético (AIA), citocininas, giberelinas e etileno; de reguladores de crescimento de plantas (ácido abscísico, óxido nítrico e de poliaminas, como espermidina e espermina); aumento na disponibilidade de nutrientes, na solubilização do fosfato e de outros nutrientes, na atividade da redutase do nitrato e na eficiência de uso do nitrogênio (N); biocontrole de doenças; proteção das plantas contra estresse salino, hídrico e elementos tóxicos do solo; além de fixação biológica de nitrogênio (FBN) (TEIXEIRA FILHO; GALINDO, 2019).

As principais bactérias estudadas são as chamadas bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), com destaque aos gêneros *Azospirillum*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Herbaspirillum* e *Burkholderia*. As BPCP são residentes epifíticas ou endofíticas, não patogênicas, que atuam diretamente promovendo o crescimento ou indiretamente como agentes de controle biológico de doenças de plantas (MARIANO *et al.*, 2004).

Com o avanço do conhecimento científico, a utilização de bactérias associativas, isto é, não nodulíferas, vem sendo pesquisada como complemento à inoculação convencional com rizóbios e bradirizóbios em fabáceas (leguminosas), com a técnica da coinoculação com BPCP (HUNGRIA *et al.*, 2010; RODRIGUES *et al.*, 2012; HUNGRIA; NOGUEIRA; ARAUJO, 2013, BULEGON *et al.*, 2016; GALINDO *et al.*, 2018; MORETTI *et al.*, 2018), a qual tem o intuito de aumentar a capacidade de FBN, propiciar maior absorção de água e nutrientes, beneficiar o desenvolvimento das culturas leguminosas e, conseqüentemente, aumentar a produtividade.

Além disso, está cada vez mais evidente que as bactérias nodulíferas também habitam plantas de outras famílias, por exemplo, as culturas da cana-de-açúcar e do arroz, o que demonstra o papel relevante dessa microbiota associado ao desenvolvimento de diferentes culturas (REIS *et al.*, 2018), evidenciando a enorme importância e necessidade de estudos acerca de

bactérias associativas e nodulíferas no desenvolvimento de culturas leguminosas e não leguminosas de interesse agrícola e ambiental.

Com a intenção de reduzir o uso de fertilizantes minerais para uma agricultura sustentável, são necessárias pesquisas para identificar ferramentas que facilitam a redução de insumos químicos. Alguns microrganismos rizosféricos podem ser utilizados para aumentar a resistência a doenças, promover o crescimento por meio de mecanismos relacionados com a síntese de enzimas e hormônios, que proporcionam um aumento no desenvolvimento do sistema radicular, assim como da absorção de água e nutrientes. Desse modo, a utilização de novas tecnologias sustentáveis, visando aumento na produtividade e qualidade de alimentos, se faz imprescindível na busca de uma agricultura competitiva. Portanto, práticas que busquem mitigar o uso de insumos e/ou otimizar sua utilização são estratégias que devem ser empregadas nos sistemas agrícolas (TEIXEIRA FILHO; GALINDO, 2019).

Os microrganismos benéficos inoculados, capazes de fazerem parte de bioinoculantes, sejam estes biofertilizantes, "biocidas" ou bioestimulantes, podem ser fungos, como *Trichoderma* spp., fungos solubilizadores de fosfato, fungos micorrízicos arbusculares ou, ainda, bactérias rizosféricas ou endofíticas, conhecidas como BPCP (SANTOYO; SÁNCHEZ-YÁÑEZ; SANTOS-VILLALOBOS, 2019; OROZCO-MOSQUEDA *et al.*, 2021; BEGUM *et al.*, 2022).

Diante do exposto, serão reportados resultados científicos sobre os principais benefícios da coinoculação com microrganismos na nutrição de plantas e na produtividade agrícola.

2 MICRORGANISMOS BENÉFICOS ÀS PLANTAS

Os principais microrganismos estudados na atualidade são as chamadas BPCP, com destaque aos gêneros *Azospirillum*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Herbaspirillum* e *Burkholderia*. Entretanto, uma longa lista de inoculantes comerciais contendo bactérias pode ser citada, como: *Agrobacterium radiobacter*, *Azospirillum brasilense*, *Azospirillum lipoferum*, *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus firmus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus mucilaginosus*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus aryabhatai*, *Burkholderia cepacia*, *Delftia acidovorans*, *Paenibacillus macerans*, *Pantoea agglomerans*, *Pseudomonas aureofaciens*, *Pseudomonas chlororaphis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas solanacearum*, *Pseudomonas syringae*, *Serratia entomophila*, *Streptomyces griseoviridis*, *Streptomyces lydicus*, e *Rhizobium* spp. (GLICK, 2012; OROZCO-MOSQUEDA *et al.*, 2021).

No Brasil, além das bactérias, pesquisas com fungos do gênero de *Trichoderma* vêm ganhando destaque nos últimos anos, em especial ao *Trichoderma harzianum*, principalmente na área de controle biológico, graças à ação de três diferentes mecanismos: o antagonismo, o micro parasitismo e a antibiose (ALMEIDA *et al.*, 2022). Ademais aos estudos com o gênero *Trichoderma*, há diversas pesquisas com fungos solubilizadores de fosfato (FSP) e fungos micorrízicos arbusculares (FMA), com intuito de solubilizar

fosfatos existentes ou adicionados ao solo e/ou de aumentar a absorção de nutrientes devido à expansão na área de exploração do solo, incrementando o crescimento das plantas (COUTINHO; MATOS E SILVA; YANO-MELO, 2017). Vale destacar que a lista de inoculantes com novas espécies de BPCP que beneficiam à agricultura sustentável é crescente, com um grande número de novas empresas envolvidas nesse mercado (SANTOS *et al.*, 2021).

3 RESULTADOS DE PESQUISAS DE COINOCULAÇÃO COM MICRORGANISMOS EM PLANTAS DE INTERESSE ECONÔMICO

Em uma pesquisa de meta-análise com 51 experimentos realizados em condições de campo entre 2009 e 2020, Barbosa *et al.* (2021) reportaram que a coinoculação com *A. brasilense* e *Bradyrhizobium* sp. na soja promoveu aumento de 11% na massa seca de raízes, 5,4% no número de nódulos, 10,6% na massa seca de nódulos, 2,8% na concentração de N em parte aérea, 3,6% na concentração de N nos grãos e 3,2% na produtividade de grãos comparativamente à inoculação convencional com *Bradyrhizobium* sp. De acordo com Khan *et al.* (2017), a inoculação com *Azospirillum* promove aumento na produção e no crescimento de raízes, beneficiando as plantas com maior absorção de água e nutrientes que, em combinação com outras bactérias, pode aumentar o N₂ fixado e, conseqüentemente, a produtividade de grãos de leguminosas.

Hungria, Nogueira e Araujo (2013) concluíram que a coinoculação com *Azospirillum brasilense* aumentou a produtividade de grãos na soja (*B. japonicum* + *A. brasilense*) em 14,1 e 6,4% e no feijão-comum (*R. tropici* + *A. brasilense*) em 19,6 e 14,7%, em relação à ausência de inoculação (controle) e à inoculação tradicional apenas com a bactéria simbiótica, respectivamente. Em estudos realizados por Galindo *et al.* (2017), os autores verificaram aumento no número de vagens por planta, massa de 100 grãos e produtividade de grãos de soja com a coinoculação com *A. brasilense*, sendo constatados incrementos na produtividade de grãos em 11,2% e de 14,4% na lucratividade com a cultura. Em estudos com coinoculação de *B. japonicum* com *A. brasilense* associada à utilização de cobalto (Co) e molibdênio (Mo) nas sementes, Galindo *et al.* (2018) observaram aumento na produtividade de grãos comparativamente à inoculação convencional (*B. japonicum*) em 18,1%, com aumento em 20,4% na lucratividade do cultivo da soja.

Em pesquisa realizada por Souza e Ferreira (2017), os autores constataram aumento em 5 e 26% na produtividade do feijão-comum com a coinoculação com *A. brasilense* comparativamente à aplicação de fertilizantes e à inoculação convencional com *R. tropici*, respectivamente. Entretanto, Mortinho *et al.* (2022) verificaram que é possível reduzir a adubação de semeadura com NPK em 50% sem afetar a produtividade de grãos de feijão e acúmulos de N, fósforo (P) e potássio (K) nos grãos com a coinoculação com *Rhizobium tropici*, *A. brasilense* e *P. fluorescens*. Jalal *et al.* (2022) constataram que a biofortificação de cereais com zinco (Zn), associado à inoculação com bactérias diazotróficas em

condições tropicais, é uma solução sustentável contra a deficiência nutricional e “fome oculta”. Ainda de acordo com os autores, a inoculação isolada com *A. brasilense*, *B. subtilis* e *P. fluorescens*, associado às doses de Zn, aumenta a massa de grãos e a produtividade de milho (em até 17%), com aumento no acúmulo de Zn na parte aérea e nos grãos (em até 42%), principalmente, em função da maior eficiência de uso do Zn aplicado.

A coinoculação de *Bacillus megaterium* com *Rhizobium* melhorou a biomassa raiz-caule de feijoeiro, levando ao alívio de estresses bióticos e abióticos, quando comparada com a inoculação única (KORIR *et al.*, 2017). A coinoculação de diferentes cepas de *Bacillus* sp. aumentou a absorção de Zn no sistema de cultivo de trigo-soja, o que levou a um maior crescimento, produtividade e melhor biofortificação de trigo e soja (RAMESH *et al.*, 2014). A coinoculação de sementes de sorgo com *Bacillus mojavensis* e *Bacillus cereus* aumentou a biomassa raiz-parte aérea.

A coinoculação de *Rhizobium* sp. com *Pseudomonas* sp. aumentou a nodulação, o teor de clorofila e a absorção de nutrientes, o que contribuiu para maior crescimento e produtividade de grãos e qualidade de diferentes leguminosas (STAJKOVIC *et al.*, 2011; MISHRA *et al.*, 2012). A coinoculação com *Rhizobium tropici* e *Azospirillum brasilense*, juntamente com doses de nitrogênio, estimula a nodulação radicular, o que contribuiu para maior crescimento e produtividade do feijoeiro em condições tropicais (STEINER; FERREIRA; ZUFFO, 2019). Em outro estudo detalhado em condições de campo, Jalal *et al.* (2021) relataram que a coinoculação de *Rhizobium tropici* com *Azospirillum brasilense*, *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas fluorescens* e a fertilização com Zn no solo foram as combinações mais eficazes para melhorar o crescimento, a produtividade de grãos e a eficiência do uso de nutrientes, além de promover maior acúmulo de Zn na parte aérea e nos grãos. Portanto, isso pode propiciar uma biofortificação e maior ingestão estimada de Zn para benefício humano, especialmente para a população brasileira.

Schultz *et al.* (2012), estudando a inoculação com diversos microrganismos associados (*Gluconacetobacter diazotrophicus* + *Herbaspirillum seropedicae* + *H. rubrisubalbicans* + *A. amazonense* + *Burkholderia tropica*), concluíram que o coquetel de bactérias diazotróficas promoveu incremento de desenvolvimento e produtividade similar à adição de 120 kg ha⁻¹ de N fertilizante à variedade de cana-de-açúcar RB867515. Picazevicz *et al.* (2017) verificaram aumento na massa seca de parte aérea do milho com a coinoculação entre *A. brasilense* e *R. tropici*, com aumento em 21,4 e 15,1% na ausência e presença de N (30 kg ha⁻¹ de N), respectivamente.

Em uma pesquisa com diversas inoculações e coinoculações com BPCP associadas às doses de fósforo, constataram-se efeitos positivos nos atributos químicos do solo, na diagnose foliar, na massa seca de plantas, no acúmulo de nutrientes, na biometria, na produtividade e na qualidade tecnológica da cana-de-açúcar. Sendo indicada a coinoculação de *Azospirillum brasilense* + *Bacillus subtilis* associada à dose de 45 kg ha⁻¹ de P₂O₅ no sulco de plantio da

cana-de-açúcar, visto que esse tratamento incrementou a produtividade de colmos e de açúcar da cana-planta e primeira cana-soca da variedade RB92-579, em um solo com baixo teor de P. Portanto, verificou-se uma economia de 75% da dose recomendada de fósforo, podendo, assim, ser uma alternativa mais eficiente e sustentável para reduzir os custos de produção da cultura da cana-de-açúcar (ROSA, 2020).

Estudos recentes em hortaliças folhosas sob cultivo hidropônico sugerem que a inoculação com alguns microrganismos pode reduzir o teor de $N-NO_3^-$ nas folhas, melhorando a qualidade nutricional, além de promover maior crescimento do sistema radicular, da parte aérea e do acúmulo de nutrientes (MOREIRA *et al.*, 2022; OLIVEIRA *et al.*, 2022). Por exemplo, Oliveira *et al.* (2022) concluíram que a inoculação isolada de *T. harzianum* e *A. brasilense* produziu maior massa fresca de raiz da rúcula. Ainda segundo os autores, as inoculações e a coinoculação de *A. brasilense* e *T. harzianum* melhoraram os componentes produtivos e a nutrição das plantas, reduziram a concentração de nitrato foliar e promoveram a biofortificação das folhas de rúcula com Zn e Fe. Além disso, a inoculação com *T. harzianum* promoveu concentração foliar de P e S. Moreira *et al.* (2022) verificaram que a inoculação com *A. brasilense* e *T. harzianum* aumentou o sistema radicular da alface em 47% e 20%, respectivamente. De acordo com os mesmos autores, a inoculação com *A. brasilense* aumentou o acúmulo foliar de K, P, cálcio (Ca), magnésio (Mg), ferro (Fe), manganês (Mn), cobre (Cu), e Zn, com redução de 40% no teor de nitrato nas folhas.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A coinoculação com microrganismos benéficos (BPCP e fungos) tende a crescer ainda mais nos próximos anos em função do baixo custo, da facilidade de aquisição e aplicação em lavouras comerciais. Ademais, por ser uma tecnologia não poluente, se insere no contexto sustentável, com potencial de FBN em poaceas (gramíneas) e, principalmente, de promover uma adequada nutrição e crescimento de plantas, além de propiciar incrementos de produtividades agrícolas. Ressalta-se, ainda, que alguns microrganismos podem potencializar o efeito benéfico da inoculação com bactérias simbióticas em fabaceas (leguminosas).

Para a sustentabilidade da agricultura moderna, na atual “era da microrrevolução verde”, são necessárias mais pesquisas sobre coinoculações com microrganismos benéficos e multifuncionais, bem como sobre a interação entre genótipos x ambiente x manejo.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de produtividade em pesquisa (Processo nº 311308/2020-1) do autor correspondente.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, N. O.; OLIVEIRA, C. M.; ULHOA, C. J.; CÔRTEZ, M. V. C. B.; LOBO JUNIOR, M.; ROCHA, M. R. *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma asperellum* are potential biocontrol agents of *Meloidogyne javanica* in banana cv. Grande Naine. **Biological Control**, [s. l.], v. 175, p. 105054, 2022.
- BARBOSA, J. Z.; HUNGRIA, M.; SENA, J. V. S.; POGGERE, G.; REIS, A. R.; CORRÊA, R. S. Meta-analysis reveals benefits of co-inoculation of soybean with *Azospirillum brasilense* and *Bradyrhizobium* spp. in Brazil. **Applied Soil Ecology**, [s. l.], v. 163, p. 103913, 2021.
- BEGUM, N.; WANG, L.; AHMAD, H.; AKHTAR, K.; ROY, R.; ISHFAQ KHAN, M.; ZHAO, T. Co-inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and the plant growth-promoting rhizobacteria improve growth and photosynthesis in tobacco under drought stress by up-regulating antioxidant and mineral nutrition metabolism. **Microbial Ecology**, New York, v. 83, n. 4, p. 971-988, 2022.
- BULEGON, L. G.; RAMPIM, L.; KLEIN, J.; KESTRING, D.; GUIMARÃES, V. F.; BATTISTUS, A. G.; INAGAKI, A. M. Componentes de produção e produtividade da cultura da soja submetida à inoculação de *Bradyrhizobium* e *Azospirillum*. **Terra Latinoamericana**, Texcoco, v. 34, n. 2, p. 169-176, 2016.
- COUTINHO, F. P.; MATOS E SILVA, E.; YANO-MELO, A. M. Inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e solubilizadores de fosfato na rizosfera de videira (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon). **Revista Biociências**, Taubaté, v. 23, n. 2, p. 46-53, 2017.
- GALINDO, F. S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; BUZETTI, S.; LUDKIEWICZ, M. G. Z.; ROSA, P. A. L.; TRITAPEPE, C. A. Technical and economic viability of co-inoculation with *Azospirillum brasilense* in soybean cultivars in the Cerrado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 22, n. 1, p. 51-56, 2018.
- GALINDO, F. S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; BUZETTI, S.; SANTINI, J. M. K.; LUDKIEWICZ, M. G. Z.; BAGGIO, G. Modes of application of cobalt, molybdenum and *Azospirillum brasilense* on soybean yield and profitability. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 21, n. 3, p. 180-185, 2017.
- GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. **Scientifica**, [s. l.], v. 2012, p. 963401, 2012.
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, [s. l.], v. 331, p. 413-425, 2010.
- HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: Strategies to improve sustainability. **Biology and Fertility of Soils**, [s. l.], v. 49, p. 791-801, 2013.
- JALAL, A.; GALINDO, F. S.; BOLETA, E. H. M.; OLIVEIRA, C. E. S.; REIS, A. R.; NOGUEIRA, T. A. R.; MORETTI NETO, M. J.; MORTINHO, E. S.; FERNANDES, G. C.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Common bean yield and zinc use efficiency in association with diazotrophic bacteria co-inoculations. **Agronomy**, [s. l.], v. 11, n. 5, p. 959, 2021.

JALAL, A.; OLIVEIRA, C. E. S.; FERNANDES, H. B.; GALINDO, F. S.; SILVA, E. C.; FERNANDES, G. C.; NOGUEIRA, T. A. R.; CARVALHO, P. H. G.; BALBINO, V. R.; LIMA, B. H.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Diazotrophic bacteria is an alternative strategy for increasing grain biofortification, yield and zinc use efficiency of maize. **Plants**, Basel, v. 11, n. 9, p. 1125, 2022.

KHAN, M. S.; ZAIDI, A.; RIZVI, A.; SAIF, S. Inoculation effects of associative plant growth-promoting Rhizobacteria on the performance of legumes. *In*: ZAIDI, A.; KHAN, M.; MUSARRAT, J. (orgs). **Microbes for Legume Improvement**. [S. l.]: Springer Cham, 2017. p. 261-276.

KORIR, H.; MUNGAI, N. W.; THUITA, M.; HAMBA Y.; MASSO, C. Co-inoculation effect of rhizobia and plant growth promoting rhizobacteria on common bean growth in a low phosphorus soil. **Frontiers in Plant Science**, [s. l.], v. 8, p. 141, 2017.

MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; ASSIS, S. M. P.; GOMES, A. M. A.; NASCIMENTO, A. R. P.; DONATO, V. M. T. S. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. **Anais Academia Pernambucana de Ciência Agrônomicas**, Recife, v. 1, p. 89-111, 2004.

MISHRA, P. K.; BISHT, S. C.; MISHRA, S.; SELVAKUMAR, G.; BISHT, J. K.; GUPTA, H. S. Coinoculation of *Rhizobium leguminosarum*-PR1 with a cold tolerant *Pseudomonas* sp. improves iron acquisition, nutrient uptake and growth of field pea (*Pisum sativum* L.). **Journal of Plant Nutrition**, Londres, v. 35, n. 2, p. 243-256, 2012.

MOREIRA, V. A.; OLIVEIRA, C. E. S.; JALAL, A.; GATO, I. M. B.; OLIVEIRA, T. J. S. S.; BOLETA, G. H. M.; GIOLO, V. M.; VITÓRIA, L. S.; TAMBURI, K. V.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Inoculation with *Trichoderma harzianum* and *Azospirillum brasilense* increases nutrition and yield of hydroponic lettuce. **Archives of Microbiology**, [s. l.], v. 204, p. 440, 2022.

MORETTI, L. G.; LAZARINI, E.; BOSSOLANI, J. W.; PARENTE, T. L.; CAIONI, S.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Can additional inoculations increase soybean nodulation and grain yield? **Agronomy Journal**, [s. l.], v. 110, n. 2, p. 715-721, 2018.

MORTINHO, E. S.; JALAL, A.; SILVA OLIVEIRA, C. E.; FERNANDES, G. C.; PEREIRA, N. C. M.; ROSA, P. A. L.; NASCIMENTO, V.; SÁ, M. E.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Co-inoculations with plant growth-promoting bacteria in the common bean to increase efficiency of NPK fertilization. **Agronomy**, [s. l.], v. 12, n. 6, p. 1-15, 2022.

OLIVEIRA, C. E. S.; JALAL, A.; OLIVEIRA, J. R.; TAMBURI, K. V.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Inoculação foliar de *Azospirillum brasilense* e *Trichoderma harzianum* em rúcula hidropônica melhoram os componentes produtivos e nutrição das plantas e reduzem o nitrato foliar. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 52, p. e72755, 2022.

OROZCO-MOSQUEDA, M. D. C.; FLORES, A.; ROJAS-SÁNCHEZ, B.; URTIS-FLORES, C. A.; MORALES-CEDEÑO, L. R.; VALENCIA-MARIN, M. F.; CHÁVEZ-AVILA, S.; ROJAS-SOLIS, D.; SANTOYO, G. Plant growth-promoting bacteria as bioinoculants: attributes and challenges for sustainable crop improvement. **Agronomy**, [s. l.], v. 11, n. 6, p. 1167, 2021.

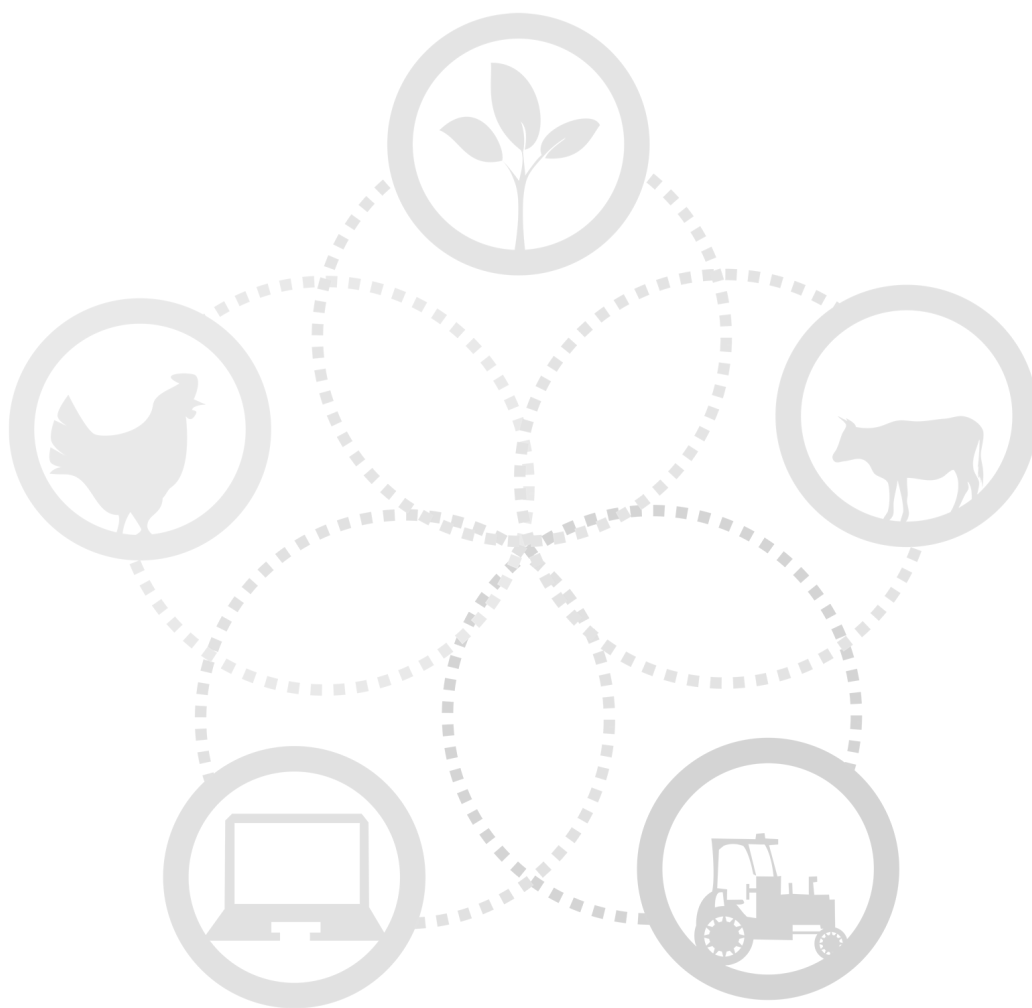
ORTIZ, A.; SANSINENEA, E. Recent advancements for microorganisms and their natural compounds useful in agriculture. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlim, v. 105, n. 3, p. 891-897, 2021.

- PICAZEVICZ, A. A.; KUSDRA, J. F.; MORENO, A. D. L. Maize growth in response to *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium tropici*, molybdenum and nitrogen. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 21, n. 9, p. 623-627, 2017.
- RAMESH, A.; SHARMA, S. K.; SHARMA, M. P.; YADAV, N.; JOSHI, O. P. Inoculation of zinc solubilizing *Bacillus aryabhatai* strains for improved growth, mobilization and biofortification of zinc in soybean and wheat cultivated in Vertisols of central India. **Applied Soil Ecology**, [s. l.], v. 73, p. 87-96, 2014.
- REIS, V. M.; JESUS, E. C.; SCHWAB, S.; OLIVEIRA, A. L. M.; OLIVARES, F. L.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. Fixação biológica de nitrogênio simbiótica e associativa. In: FERNANDES, M. S.; SOUZA, S. R.; SANTOS, L. A. (ed.). **Nutrição Mineral de plantas**. 2 ed. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2018. p. 280-307.
- RODRIGUES, A. C.; ANTUNES, J. E. L.; MEDEIROS, V. V.; BARROS, B. G. F.; FIGUEIREDO, M. V. B. Resposta da co-inoculação de bactérias promotoras de crescimento em plantas e *Bradyrhizobium* sp. em caupi. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, p. 196-202, 2012.
- ROSA, P. A. L.; MORTINHO, E. S.; JALAL, A.; GALINDO, F. S.; BUZETTI, S.; FERNANDES, G. C.; BARCO NETO, M.; PAVINATO, P. S.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M. Inoculation with growth-promoting bacteria associated with the reduction of phosphate fertilization in sugarcane. **Frontiers in Environmental Science**, v. 8, p. 1-18, 2020.
- SANSINENEA, E. *Bacillus* spp.: As plant growth-promoting bacteria. In: SINGH, H. B.; KESWANI, C.; REDDY, M. S.; SANSINENEA, E.; GARCIA-ESTRADA, C. (org). **Secondary metabolites of plant growth promoting rhizomicroorganisms: discovery and applications**. Singapore: Springer Nature, 2019. p. 225-237.
- SANTOS, M. S.; NOGUEIRA, M. A.; HUNGRIA, M. Outstanding impact of *Azospirillum brasilense* strains Ab-V5 and Ab-V6 on the Brazilian agriculture: lessons that farmers are receptive to adopt new microbial inoculants. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 45, p. e0200128, 2021.
- SANTOYO, G.; SÁNCHEZ-YÁÑEZ, J. M.; SANTOS-VILLALOBOS, S. D. L. Methods for detecting biocontrol and plant growth-promoting traits in rhizobacteria. In: REINHARDT, D.; SHARMA, A. K. **Microbes and signaling biomolecules against plant stress**. Singapore: Springer, 2019. p. 133-149.
- SCHULTZ, N.; MORAIS, R. F.; SILVA, J. A.; BAPTISTA, R. B.; OLIVEIRA, R. P.; LEITE, J. M.; PEREIRA, W.; CARNEIRO JUNIOR, J. B.; ALVES, B. J. R.; BALDANI, J. I.; BODDEY, R. M.; URQUIAGA, S.; REIS, V. M. Avaliação agronômica de variedades de cana-de-açúcar inoculadas com bactérias diazotróficas e adubadas com nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 2, p. 261-268, 2012.
- SOUZA, J. E. B.; FERREIRA, E. P. B. Improving sustainability of common bean production systems by co-inoculating rhizobia and azospirilla. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, [s. l.], v. 237, p. 250-257, 2017.
- STAJKOVIC, O.; DELIĆ, D.; JOŠIĆ, D.; KUZMANOVIĆ, Đ.; RASULIĆ, N.; KNEŽEVIĆ-VUKČEVIĆ, J. Improvement of common bean growth by co-inoculation with *Rhizobium* and plant growth-promoting bacteria. **Romanian Biotechnological Letters**, Bucharest, v. 16, n. 1, p. 5919-5926, 2011.

STEINER, F.; FERREIRA, H. C. P.; ZUFFO, A. M. Can co-inoculation of *Rhizobium tropici* and *Azospirillum brasilense* increase common bean nodulation and grain yield? **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 40, n. 1, p. 81-98, 2019.

TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; GALINDO, F. S. Inoculação de bactérias com foco na fixação biológica de nitrogênio e promoção de crescimento vegetal. *In*: Severiano, E. C.; Moraes M. F.; Paula, A. M. (org.). **Tópicos em Ciência do Solo**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo (SBCS), 2019. v. 10, p. 577-648.

WAGG, C.; BENDER, S. F.; WIDMER, F.; VAN DER HEIJDEN, M. G. Soil biodiversity and soil community composition determine ecosystem multifunctionality. **Proceedings of the National Academy of Sciences United States of America**, [s. l.], v. 111, n. 14, p. 5266-5270, 2014.



CAPÍTULO 4

TECNOLOGIAS NO TRATAMENTO DE SEMENTES

Pâmela Gomes Nakada-Freitas*

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Departamento Produção Vegetal, Dracena,
São Paulo, Brasil.

***Autora correspondente:**

pamela.nakada@unesp.br

Antonio Ismael Inácio Cardoso

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrônômicas,
Programa de Pós-Graduação em Agronomia -
Horticultura, Botucatu, São Paulo, Brasil.

Emanuele Possas de Souza

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrônômicas,
Programa de Pós-Graduação em Agronomia -
Horticultura, Botucatu, São Paulo, Brasil.

Hugo Cesar Rodrigues Moreira

Catão

Universidade Federal de Uberlândia, Programa
de Pós-Graduação em Agronomia, Uberlândia,
Minas Gerais, Brasil

Resumo

No atual cenário moderno, a utilização de novas tecnologias vem crescendo em todos os setores, inclusive na agricultura, com o intuito de melhorar a capacidade operacional e o potencial dos insumos, resultando em maior rendimento na produção. Um dos insumos de fundamental importância são as sementes, pois sem elas não haveria produção. Portanto, agregar técnicas no tratamento de sementes resulta em estabelecimento uniforme no estande e desenvolvimento adequado das plantas, além de melhorar a adaptação em maior gama de locais de plantio. Dentre as técnicas, estão: *priming* (acelera a velocidade e uniformidade de emergência); peletização (melhora a capacidade operacional de semeadura, permite adição de defensivos, dentre outros); peliculização (adição de defensivos, material biológico, marcadores para evitar pirataria); inoculação com microrganismos benéficos (auxilia na nodulação e fixação de nitrogênio e outras relações simbióticas); regulador de crescimento (auxilia no enraizamento e crescimento das plantas). Dessa maneira, do ponto de vista do produtor de sementes, poderá agregar valor ao seu insumo na comercialização e, por outro lado, o produtor adquirirá um insumo com maior qualidade para implantação em sua lavoura.

1 PRIMING (CONDICIONAMENTO FISIOLÓGICO)

A utilização de sementes com qualidade é pré-requisito para o estabelecimento rápido e uniforme das plântulas no campo, resultando em um estande sem falhas especialmente em condições ambientais adversas. A germinação lenta, frequentemente, expõe as plântulas a condições ambientais adversas, a patógenos encontrados no solo (principalmente os responsáveis pelo tombamento de pré e pós-emergência) e a menor capacidade de competir com plantas daninhas. Portanto, um lote de sementes com elevada germinação e vigor resulta em melhor população de plantas, maior produção e qualidade do produto a ser colhido.

A qualidade de um lote de sementes depende, basicamente, do manejo em campo de sua produção. No entanto, existem algumas tecnologias que podem melhorar a qualidade das sementes, ressaltando seu vigor, dentre elas o *priming*, ou condicionamento fisiológico, das sementes. Essa técnica envolve a hidratação controlada da semente, suficiente para permitir que os eventos metabólicos pré-germinativos se iniciem, mas insuficiente para permitir a protrusão da raiz primária. Em seguida, são secas ao teor de água que permita o embalamento e comercialização, ou seja, o tratamento de *priming* deve ser interrompido antes que ocorra perda da tolerância à dessecação. Assim, o termo *priming* é usado para descrever um tratamento de sementes concebido para aumentar a velocidade e a uniformidade da germinação, além de favorecer a germinação em uma faixa mais ampla de temperatura (PAPARELLA *et al.*, 2015).

Para isso, inicialmente tem-se que entender o processo de germinação das sementes que pode ser dividido em três fases: a embebição (fase I); a fase de ativação, na qual ocorre o restabelecimento das atividades metabólicas necessárias e o processo de reparação no nível celular (fase II); e, finalmente, a protrusão da raiz após o início dos processos de crescimento (fase III). Portanto, o *priming* consiste em iniciar esse processo de germinação sem que as sementes alcancem a terceira fase de protrusão da raiz (NASCIMENTO; COSTA, 2009).

O *priming* é uma técnica à base de água que permite a reidratação controlada das sementes para desencadear os processos metabólicos, normalmente ativados durante a fase inicial da germinação ('metabolismo pré-germinativo'). As sementes podem ser embebidas em água (hidrocondicionamento ou *hidropriming*); em matrizes sólidas (por exemplo, areia, turfa e vermiculita) e hidratadas (*matric* ou *matrix priming*); em soluções aeradas de baixo potencial hídrico (osmocondicionamento ou *osmopriming*); em reguladores de crescimento vegetal (*priming* hormonal); em bactérias promotoras de crescimento (*biopriming* ou biocondicionamento); em soluções com macro ou micronutrientes (*nutripriming*); ou em alguns extratos naturais à base de plantas.

Os métodos *priming* hormonal e o *biopriming* têm recebido maior atenção nos últimos anos e, em alguns estudos, o biocondicionamento tem sido capaz de controlar o tombamento de mudas em diversas espécies com a incorporação de bactérias benéficas. No entanto, diversas revisões da literatura científica

indicam o condicionamento osmótico (*osmopriming*) como o principal método em sementes, utilizando-se de polietilenoglicol (PEG) como essencial agente osmótico (PAPARELLA *et al.*, 2015; PAWARI; LAWARE, 2018; RHAMAN *et al.*, 2021; ZULFIQAR, 2021). Além do PEG, outras moléculas orgânicas também podem ser utilizadas, como o glicerol, o manitol e o sorbitol ou, então, algumas soluções salinas (KNO_3 , KH_2PO_4 , KCl , NaCl , CaCl_2 ou MgSO_4).

As vantagens do PEG são, principalmente, a ausência de toxicidade às células das sementes em comparação aos sais, além da impossibilidade da molécula do PEG ser absorvida pelo seu elevado tamanho. Porém, o PEG tem custo mais elevado que os sais e é extremamente viscoso, o que limita a oxigenação da solução, obrigando a utilização de sistemas de aeração durante a aplicação do osmocondicionamento (RHAMAN *et al.*, 2021).

O *osmopriming* consiste em colocar as sementes em uma solução aerada com determinada concentração osmótica em busca da hidratação controlada, sendo que a concentração da solução, o tempo de tratamento e a temperatura – e, às vezes, também a luz – são controlados e dependem da espécie e, dentro de cada espécie, da cultivar e do lote. Depois desse processo, as sementes são lavadas em água e novamente secas para poderem ser embaladas e comercializadas.

A nível fisiológico, os efeitos positivos do *priming* se devem às alterações metabólicas específicas induzidas na semente quando se inicia a absorção de água (PAPARELLA *et al.*, 2015). Como consequência da reidratação, desencadeiam-se os principais processos celulares, como a nova síntese de ácidos nucléicos e proteínas, a produção de adenosina trifosfato (ATP), o acúmulo de esteróis e fosfolipídios, a ativação do reparo do DNA e os mecanismos antioxidantes (metabolismo pré-germinativo). Nesse contexto, a resposta de reparo da semente desempenha um papel fundamental na preservação do vigor da semente. As sementes são expostas a estresses ambientais, não apenas durante a maturação na planta “mãe” e armazenamento pós-dispersão, mas também durante a fase inicial da germinação, na qual tais condições levam a extenso dano oxidativo de lipídios, proteínas e ácidos nucléicos. As funções de reparo do DNA devem ser mantidas em níveis adequados no embrião, para preservar o vigor da semente e aumentar as chances de germinação bem sucedida.

Os principais processos bioquímicos (reparação de DNA e RNA danificados, preparação para a divisão celular e aumento da atividade antioxidante) estão envolvidos nos efeitos do tratamento em uma extensão que não é totalmente verificada na literatura. A redução do tempo de armazenamento das sementes é a maior desvantagem do condicionamento fisiológico e a principal restrição à sua difusão, uma vez que a desidratação até a umidade inicial (secagem) é necessária para permitir o armazenamento das sementes.

O comportamento da semente durante a secagem, o papel dos oligossacarídeos da família rafinose na integridade da membrana celular e a expressão de enzimas antioxidantes em sementes em germinação precisam

ser melhor elucidados, para promover um uso mais confiável dessa técnica em um número maior de espécies. Atualmente, o *priming* é usado rotineiramente para tratar sementes de algumas hortaliças e de flores. Essa técnica em sementes de cereais, em larga escala comercial, é menos comum, devido ao grande volume das sementes, à secagem e ao aumento no preço das mesmas, embora as vantagens sejam bem conhecidas (GIROLAMO; BARBANTI, 2012; PAPARELLA *et al.*, 2015).

Alguns dos processos de *priming* em sementes, usados comercialmente, foram patenteados, como: o *EasyPrime* e o *EasyDormex*, utilizados em sementes de tomate, pimentão, berinjela, melão e brássicas; o *Advantage*, o *Xbeet* e o *Emergis*, utilizados em diversas espécies hortícolas; o *Thermocure*, o *Splitkote Special*, o *Promoter* e o *Improver*, utilizados em sementes de alface, chicória, almeirão, cebola, cenoura, tomate e brássicas (PAPARELLA *et al.*, 2015).

Apesar das inúmeras vantagens do condicionamento das sementes, em alguns casos, a dessecação pode alterar os efeitos benéficos do *priming*, que são perdidos durante o armazenamento. De fato, a longevidade reduzida das sementes é uma desvantagem do condicionamento de sementes (RHAMAN *et al.*, 2021).

O sucesso do condicionamento de sementes está fortemente correlacionado com a espécie/genótipo e fisiologia da planta, o lote de sementes e vigor, bem como com o método e tempo de condicionamento aplicado (RHAMAN *et al.*, 2021). As vantagens quanto à melhoria na velocidade e na uniformidade de germinação e emergência compensam os custos de sua aplicação. No entanto, ainda são poucas as empresas que a utilizam rotineiramente. No Brasil, tem sido utilizada em algumas espécies de hortaliças, com destaque para a alface (*Lactuca sativa*), onde reduz o problema com a termodormência, além de aumentar a velocidade e melhorar a uniformidade de germinação. O mercado brasileiro de sementes dessa espécie já é representado, em sua maioria, por sementes que combinam duas tecnologias conjuntamente, o *priming* e a peletização, que será abordada a seguir.

2 PELETIZAÇÃO

As sementes peletizadas são pequenas e revestidas com materiais inertes para aumentar seu tamanho, podendo conter produtos ativos que beneficiam o processo da germinação, do desenvolvimento da planta e da proteção contra pragas. A peletização é mais aplicada em sementes de pequeno tamanho, como as de hortaliças, flores e fumo; por outro lado, pesquisas têm avançado no setor das sementes florestais para fins de reflorestamento (LOPES; NASCIMENTO, 2012; SANTOS, 2016). Essa tecnologia vem sanar problemas, principalmente, quando a semente é muito pequena e com aspereza, melhorando a capacidade operacional no momento da semeadura manual ou mecanizada.

É importante destacar as vantagens da peletização de sementes, tais quais: a melhoria da distribuição manual em bandejas ou maquinário de

semeadoras de sementes; o menor gasto de sementes; a maior eficiência de plantio manual, pois não necessita fazer desbaste de plântulas e, portanto, menor gasto com mão de obra; a fácil identificação das sementes, quando semeadas tanto em bandejas como diretamente a campo; a permissão de incorporar nutrientes, reguladores de crescimento, inoculantes, fungicidas, inseticidas e herbicidas; a segurança no trabalho, pois diminui a exposição e a inalação de defensivos pelos operadores e, também, quanto à proteção ao meio ambiente (SANTOS, 2016).

Porém, esse processo apresenta, igualmente, alguns desafios, como menor velocidade de germinação, devido à presença da barreira física que pode dificultar a emissão da raiz primária e as trocas gasosas, contudo, sementes que já possuem *priming* e peletização podem não sofrer essa interferência devido ao adiantamento da germinação; outro ponto é a questão do pH ao redor das sementes, pois, dependendo do material ativo adicionado, pode promover acidez ou alcalinidade capaz de interferir na germinação (LOPES; NASCIMENTO, 2012).

Nesse processo, são utilizados materiais como: material inerte para promover aumento do tamanho das sementes, também denominado de materiais de enchimento, seguido de um material que promove a junção desse para colar ao redor das sementes, chamado de cimentantes ou adesivos.

Quanto aos materiais de enchimento, é importante que eles sejam uniformes, com tamanho entre 100 a 200 µm, grânulos esféricos, não tóxico, estéril e que não seja meio de reprodução para microrganismos e insolúvel a água, a exemplo do carvão vegetal, caulinita, farinha de osso, gesso, montemorilonita, pó de madeira, polvilho, sílica, talco, vermiculita, terra de diatomáceas, dentre outros (LOPES; NASCIMENTO, 2012; KANGSOPA; HYNES; SIRI, 2018).

Já os cimentantes, ou adesivos, devem ter afinidade com os outros materiais, não serem tóxico e terem adequada solubilidade em água, serem passíveis de secagem e não terem alta viscosidade quando reidratados, permitindo o fácil rompimento do pélete para emissão da raiz primária. Os mais utilizados são: açúcar, celofax, elvanol, etil celulose, gelvatol, goma arábica, metil celulose, polivinil-acetato, polivinil-álcool, dentre outros (LOPES; NASCIMENTO, 2012).

Resultados de pesquisa demonstram o benefício da peletização de sementes, como em sementes de cebola (PANWAR *et al.*, 2021). Panwar *et al.* (2021) estudaram a aplicação de diversas espécies vegetais moídas na formação de péletes, utilizaram goma arábica como adesivo e concluíram que o uso do pó de folha de *Azadirachta indica* (neem: efeito inseticida) + argila e do pó de folha de *Melia azedarach* (cinamomo: efeito antimicrobiano) + argila mostrou efeitos significativos para melhorar a qualidade, o crescimento e o rendimento de bulbos cultivados quando semeados diretamente a campo.

Kangsopa, Hynes e Siri (2018) estudaram diversos materiais de enchimento e concluíram o gesso como o melhor para aumentar o tamanho de sementes

de alface, não interferindo na germinação e no desenvolvimento de plântula comparativamente às sementes sem revestimento e às sementes peletizadas comercialmente.

Nascimento *et al.* (2009), ao estudarem materiais cimentantes e peletizarem em sementes de cenoura com enchimento de microcelulose e areia fina (iguais proporções), concluíram que o acabamento resultou numa camada fina, lisa, uniforme e com ótima aparência externa, quando utilizados os adesivos rhoximat e opadry. Do mesmo modo, aplicaram osmocondicionamento e verificaram aumento na velocidade de germinação.

Em sementes de tomate, por serem de pequeno tamanho e com alto custo de cada unidade, a peletização também é uma vantagem, pois a maioria dos materiais são híbridos e, melhorando a eficiência na semeadura, agrega-se valor a esse insumo de elevada importância. Javed e Afzal (2020) relataram que a peletização com talco:CaO:talco:bentonita (nessa sequência de tratamento) melhorou o potencial de emergência em termos de porcentagem de germinação, resultando em 23% a mais em relação ao controle (sementes não peletizadas), e que esses materiais aglomerantes exigiram menor tempo de embebição. Além do mais, ao analisarem o armazenamento dessas sementes, concluíram uma melhora na proteção contra estresses ambientais em até cinco meses.

3 PELICULIZAÇÃO

A técnica da peliculização - também chamada de revestimento por filme (*film coating*) - consiste em produzir uma fina camada contínua sobre a superfície da semente (AFZAL *et al.*, 2020), em que não há modificação da sua massa e forma de maneira significativa (GIMÉNEZ-SAMPAIO; SAMPAIO, 2009). Essa tecnologia permite benefícios, como a melhoria da eficiência e da distribuição dos produtos sobre a semente, a proteção ao operador contra a contaminação devido aos defensivos agrícolas, a fluidez nos mecanismos de semeadura, a identificação e a rastreabilidade visual (LUDWIG *et al.*, 2011). Diversos produtos sintéticos, naturais ou biológicos, como fungicidas, inseticidas, bioestimulantes, macro e micronutrientes, ou, até mesmo, substâncias marcadoras de combate à pirataria, podem ser incorporados aos revestimentos, favorecendo à germinação das sementes e à emergência das plântulas (TALAMINI; OLIVEIRA, 2011; AFZAL *et al.*, 2020).

São diversas as pesquisas que demonstram os efeitos da peliculização em um grande espectro de espécies e com variada gama de produtos. Sene *et al.* (2020) avaliaram o potencial fisiológico de sementes de arroz, ao realizar um tratamento com fungicida associado a cinco polímeros pela técnica da peliculização. Em seguida, as sementes foram armazenadas por 135 dias, no qual concluíram que os polímeros não interferiram na ação do fungicida e a peliculização não afetou o potencial fisiológico das sementes de arroz por até 90 dias de armazenamento.

No quesito produtos biológicos, Ibanhes Neto *et al.* (2021) verificaram

que a peliculização com *Bacillus subtilis* pode ser utilizada no tratamento de sementes de feijão verde, sem prejudicar a viabilidade do lote.

As sementes de hortaliças também respondem de forma positiva a essa tecnologia com uso de polímeros naturais. Assis (2022) observou que soluções filmogênicas de fécula de mandioca, gelatina e quitosana apresentaram características apropriadas para a obtenção de filmes biopoliméricos, entretanto, o revestimento à base de gelatina foi o mais viável para as sementes de pepino, uma vez que melhorou o seu potencial fisiológico.

Apesar de ser mais comum a utilização da peletização em sementes de alface, pela possibilidade de aumento do seu tamanho, a peliculização, da mesma maneira, demonstra efeitos benéficos para a cultura. Diniz *et al.* (2006) verificaram que a inoculação de sementes de alface com *Trichoderma viride* e com reguladores de crescimento, pela técnica da peliculização, promoveu aumento na porcentagem de emergência e no índice de velocidade de emergência das plântulas.

Os desafios e as futuras perspectivas que envolvem a técnica da peliculização estão relacionados com a melhor definição acerca do prazo de validade e da possível fitotoxicidade das sementes tratadas após o armazenamento. Da mesma forma, maiores conhecimentos sobre a eficácia dos tratamentos biológicos são importantes, tendo em vista a falta de sementes orgânicas no mercado. Esses obstáculos podem ser superados através de parcerias entre a indústria e as instituições de pesquisa, para o desenvolvimento de estratégias viáveis economicamente (AFZAL *et al.*, 2020). A demanda por tecnologias voltadas ao tratamento de sementes é crescente e, se utilizados materiais e métodos corretos, a peliculização tem potencial para trazer muitos benefícios ao desenvolvimento das culturas, principalmente em condições adversas.

4 INOCULAÇÃO COM MICRORGANISMOS BENÉFICOS

O tratamento de sementes se refere à aplicação de produtos eficientes, com diferentes finalidades, a fim de preservar e melhorar a emergência das sementes, para permitir que as culturas expressem todo seu potencial genético (MENTEN; MORAES, 2010). A prática inclui a aplicação de defensivos, como fungicidas e inseticidas, produtos biológicos, inoculantes, micronutrientes, bioestimulantes, entre outros, que agregam efeitos resultantes da atual tecnologia (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

Inoculante é um insumo biológico com microrganismos capazes de desempenhar atividades benéficas e necessárias para o desenvolvimento das plantas. Assim, a inoculação das sementes é uma prática que pode ser realizada por meio do tratamento das sementes, ao estabelecer o contato de bactérias simbióticas com as plântulas, a fim de auxiliar na fixação biológica de nitrogênio (FBN) e suprir as necessidades da cultura. A partir da germinação da semente, estabelece-se a comunicação química entre as plântulas e as bactérias inoculadas, via pelos radiculares, e a infecção bacteriana das raízes, formando nódulos que geram o processo de FBN, ocorrendo em, aproximadamente,

duas horas.

Dentre os microrganismos diazotróficos, o gênero *Rhizobium* apresenta afinidade para soja, enquanto as espécies de *Azospirillum* promovem a fixação do nitrogênio atmosférico para espécies, como gramíneas e leguminosas. As inoculações mistas também apresentam elevada taxa de sucesso. A inoculação com esses dois gêneros aumenta e estimula a nodulação, o número total e peso dos nódulos, a diferenciação das células epidérmicas nos pelos radiculares e a área total da superfície radicular (BASHAN; BASHAN, 2005). Esse sinergismo aumenta a quantidade de compostos promotores de crescimento, auxiliando no desenvolvimento das plantas e na produtividade de grãos.

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), os inoculantes devem apresentar concentração mínima de $1,0 \times 10^9$ de células viáveis por grama ou mL do produto até a data de vencimento e o período de viabilidade deve ser de, no mínimo, seis meses. Esses produtos podem ser encontrados na forma líquida, gel, turfosos e até novas formulações. O inoculante em sua fórmula líquida pode ser aplicado via semente e via sulco de semeadura, já o inoculante à base de turfa pode ser aplicado somente via semente.

Uma das inovações nas pesquisas tem sido a técnica da inoculação de semente por longos períodos, com comunidade bacteriana satisfatória durante a semeadura. Dessa forma, há uma demanda por inoculantes líquidos de fácil aplicação e com eficácia garantida nas sementes pré-inoculadas (HUNGRIA *et al.*, 2020). Os inoculantes longa vida têm a capacidade de preservar a viabilidade das células bacterianas após serem aplicados na semente.

Essa tecnologia inovadora possibilita a inoculação antecipada e sua aplicação no Tratamento Industrial de Sementes (TSI) e seu objetivo principal é facilitar a operação de semeadura. Os pré-inoculantes apresentam altas concentrações de bactérias, contendo o dobro de microrganismos quando comparados aos inoculantes convencionais e à alta compatibilidade com os tratamentos de sementes. Tal compatibilidade ocorre porque os inoculantes longa vida possuem protetores celulares em conjunto com as células bacterianas, que diminui o efeito do tratamento de sementes com fungicidas e inseticidas. Portanto, a utilização de um polímero protetor proporciona maior viabilidade das células bacterianas (STECCA *et al.*, 2018). Os protetores celulares, geralmente, têm formulações com bases lipídicas e substâncias oligossacarídicas, que possibilitam a célula do microrganismo na formação de um microambiente na semente, reduzindo o efeito oxidativo das membranas celulares.

O problema encontrado é em relação a quanto tempo pode ser feita a inoculação antes da semeadura, entendendo que, se houver uma sequência operacional de tratamentos com defensivos, a inoculação sempre deverá ser a última operação (HUNGRIA; CAMPO; MENDES, 2007; CÂMARA, 2015). Schweig, Lourenço e Menegasso (2017), utilizando o inoculante longa vida associado ao tratamento de sementes, verificaram que a antecipação da inoculação em até 25 dias proporcionou produtividades na cultura da soja

semelhantes à inoculação no momento da semeadura. Hungria, Nogueira e Araujo (2015) observaram que não houve redução significativa do número de células viáveis de *Bradyrhizobium* spp. do tratamento padrão (inoculação no dia da semeadura) quando comparado com as inoculações realizadas aos 30, 45 e 60 dias antes da semeadura.

As sementes tratadas com pré-inoculantes recebem o mesmo manejo que as tratadas com os inoculantes convencionais, sendo o plantio e o tratamento fitossanitário iguais. Trabalhos comprovam a eficácia do uso de inoculantes longa vida tanto no desenvolvimento quanto na produtividade das lavouras de soja. Para Câmara (2015), a inoculação tem uma série de vantagens, sendo o preço do inoculante inferior aos dos fertilizantes nitrogenados, a melhor assimilação de nitrogênio fornecido através da fixação simbiótica e o N resultante de fixação biológica não é lixiviado e não provoca acidificação no solo. Para Zuffo *et al.* (2019), a adubação nitrogenada na soja só deverá ser utilizada em casos em que for mais econômico ao produtor comprar adubo formulado, em que N faça parte da composição.

Como dito anteriormente, o tratamento industrial de sementes tem muita aceitação por parte dos produtores devido às diversas vantagens, porém, a aplicação de pré-inoculantes nem sempre é sinônimo de maiores produtividades, mas, sim, de maximização do processo, pelo simples fato de explorar ao máximo os recursos.

5 REGULADORES DE CRESCIMENTO

No tratamento de sementes, também podem ser adicionados reguladores de crescimento, como os bioestimulantes em mistura com outros compostos de natureza bioquímica diferente (aminoácidos, nutrientes, vitaminas, dentre outros). Esses produtos, em pequenas quantidades, favorecem a expressão do potencial genético das plantas, mediante alterações dos processos vitais e estruturais, promovendo um equilíbrio hormonal e estimulando o desenvolvimento vegetal.

Os reguladores de crescimento são substâncias naturais ou sintéticas que podem ser aplicadas em sementes, plantas e no solo, provocando alterações dos processos vitais e estruturais, a fim de aumentar a produtividade e qualidade de sementes (ÁVILA *et al.*, 2008). O seu emprego é uma técnica agrônômica cada vez mais comum para otimizar a produção de diversas culturas. Segundo Castro e Vieira (2001), os reguladores de crescimento, quando aplicados exogenamente, possuem ações similares aos grupos de hormônios vegetais (auxinas, giberelinas e citocininas) e podem contribuir no incremento da produtividade. O uso de reguladores de crescimento, como giberelinas (BEVILAQUA *et al.*, 1993) e citocininas (CUNHA; CASALI, 1989), na fase de germinação, pode melhorar o desempenho de sementes de várias espécies, principalmente sob condições adversas.

Tais bioestimulantes, no entanto, podem ser utilizados para vários outros

objetivos, dentre eles a aplicação em fases iniciais da cultura para melhorar a germinação, a emergência e o desenvolvimento inicial das plantas, pois, quando a lavoura está se estabelecendo em campo, diversos fatores podem influenciar negativamente seu desempenho, como desuniformidade de germinação, crescimento lento e insuficiente desenvolvimento do sistema radicular.

Abrantes (2008) relatou que o uso de reguladores de crescimento promoveu maior expressão do vigor em sementes de feijoeiro pelo aumento da porcentagem de plântulas fortes (classificação do vigor de plântulas) com a concentração de 0,80 L ha⁻¹ do produto comercial. O mesmo autor observou que com a aplicação foliar do produto em 3,0 mL L⁻¹ houve aumento na massa das vagens e de grãos do feijoeiro cultivar IAC-Carioca Tybatã, quando o produto foi aplicado via sementes (ABRANTES, 2008). A pesquisa ainda relata que, na concentração de 5,4 mL kg⁻¹ de sementes, a aplicação produziu os mesmos resultados.

No tratamento de sementes de soja com biorreguladores, foi observada melhoria na qualidade das sementes e nos incrementos de produtividade superior a 92% por meio da aplicação do produto via foliar (ÁVILA *et al.*, 2008). Lana *et al.* (2009) verificaram que a combinação da aplicação em conjunto de reguladores de crescimento via semente e foliar resultou em maior produtividade na cultura do feijoeiro.

O uso de reguladores aplicados via sementes proporcionou aumento do diâmetro do colmo das plantas de milho, número de grãos por fileira e número de grãos por espiga, resultando em rendimento de 20% a 27% maior na produção de grãos (DOURADO NETO *et al.*, 2014).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos relatos das tecnologias no tratamento de sementes abordados, tais como o *priming*, a peletização, a peliculização, a inoculação com microrganismos benéficos e os reguladores de crescimento, é de suma importância agregar um ou mais de um deles para contribuir no uniforme estabelecimento das plântulas e seu crescimento, refletindo no potencial máximo da cultura. Vale destacar que são necessárias, ainda, muitas pesquisas nesse setor, pois o tratamento pode variar muito dependendo da espécie, da cultivar e, até mesmo, entre lotes da mesma cultivar. Portanto, parcerias entre instituições públicas e privadas são de fundamental importância.

REFERÊNCIAS

ABRANTES, F. L. **Efeito de bioestimulante sobre a produtividade e qualidade fisiológica de dois cultivares de feijão cultivados no inverno.** 2008. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Ilha Solteira, 2008.

AFZAL, I.; JAVED, T.; AMIRKHANI, M.; TAYLOR, A. G. Modern seed technology: seed coating delivery systems for enhancing seed and crop performance. **Agriculture**,

[s. l.], v. 10, n. 11, p.1-20, 2020.

ASSIS, M. C. P. **Potencial fisiológico de sementes de pepino (*Cucumis sativus* L.) revestidas com fécula de mandioca, gelatina e quitosana**. 2022. Dissertação (Mestrado em) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal Rural do Semi-árido, Mossoró, 2022.

ÁVILA, M. R.; BRACCINI, A. L.; SCAPIM, C. A.; ALBRECHT, L. P.; TONIN, T. A.; STÜLP, M. Bioregulator application, agronomic efficiency, and quality of soybean seeds. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 65, n. 6, p. 604-612, 2008.

BASHAN, Y.; BASHAN, L. E. Plant growth-promoting. **Encyclopedia of soils in the environment**, [s. l.], v.1, n. 1, p. 108-112, 2005.

BEVILAQUA, G. A. P.; PESKE, S. T.; SANTOS FILHO, B. G.; BAUDET, L. Desempenho de sementes de arroz irrigado tratadas com regulador de crescimento. II. Efeito na germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 15, n. 1, p. 75-80, 1993.

CÂMARA, G. M. S. Preparo do solo e plantio. In: SEDIYAMA, T.; SILVA, F.; BORÉM, A. (org.). **Soja: do plantio à colheita**. Viçosa: Editora UFV, 2015. p. 66-109.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4. ed. Jaboticabal: Funep, 2000.

CASTRO, P. R. C.; VIEIRA, E. L. Ação de bioestimulante na germinação de sementes, vigor das plântulas, crescimento radicular e produtividade de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 23, n. 2, p. 222-228, 2001.

CUNHA, R.; CASALI, V. W. Efeito de substâncias reguladoras do crescimento sobre a germinação de sementes de alface. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 1, p.121-132, 1989.

DINIZ, K. A.; OLIVEIRA, J. A.; GUIMARÃES, R. M.; CARVALHO, M. L. M.; MACHADO, J. C. Incorporação de microrganismos, aminoácidos, micronutrientes e reguladores de crescimento em sementes de alface pela técnica de peliculização. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 28, n. 3, p.37-43, 2006.

DOURADO NETO, D.; DARIO, G. J. A.; BARBIERI, A. P. P.; MARTIN, T. N. Ação de bioestimulante no desempenho agrônômico de milho e feijão. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. sup. 1, p. 371-379, 2014.

GIMÉNEZ-SAMPAIO, T. G.; SAMPAIO, N. V. Recobrimento de sementes de hortaliças. In: NASCIMENTO, W. M. (ed). **Produção de sementes de hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2009. p. 275-306.

GIROLAMO, G.; BARBANTI, L. Treatment conditions and biochemical processes influencing seed priming effectiveness. **Italian Journal of Agronomy**, [s. l.], v. 7, n. 2, p. 178-188, 2012.

HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro**. Londrina: Embrapa Soja, 2007. (Documentos, n. 283).

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Alternative methods and time for soybean inoculation to overcome adverse conditions at sowing. **African Journal**

of Agricultural Research, [s. l.], v. 10, n. 23, p. 2329-2338, 2015.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; CAMPOS I. J. M.; MENNA, P.; BRANDI, F.; RAMOS, Y. G. Seed pre-inoculation with *Bradyrhizobium* as time-optimizing option for large-scale soybean cropping systems. **Agronomy Journal**, [s. l.], v. 112, n. 6, p. 5222-5236, 2020.

IBANHES NETO, H. F.; SILVA, A. C.; SUMIDA, C. H.; GOUVEIA, M. S.; PELLIZZARO, V.; TAKAHASHI, L. S. A. Physiological potential of green bean seeds treated with *Bacillus subtilis*. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 43, e202143016, p.1-12, 2021.

JAVED, T.; AFZAL, I. Impact of seed pelleting on germination potential, seedling growth and storage of tomato seed. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SEED, TRANSPLANT AND STAND ESTABLISHMENT OF HORTICULTURAL CROPS, 8., 2018, Istanbul, Turkey. **Proceedings** [...]. Katwijk aan Zee: Drukkerij Duocore, 2020. p. 417-424.

KANGSOPA, J.; HYNES, R. K.; SIRI, B. Lettuce seeds pelleting: A new bilayer matrix for lettuce (*Lactuca sativa*) seeds. **Seed Science and Technology**, Oxford, v. 46, n. 3, p. 521-531, 2018.

LANA, A. M. Q.; LANA, R. M. Q.; GOZUEN, C. F.; BONOTTO, I.; TREVISAN, L. R. Aplicação de reguladores de crescimento na cultura do feijoeiro. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 25, n. 1, p. 13-20, 2009.

LOPES, A. C. A.; NASCIMENTO, W. M. **Peletização de sementes de hortaliças**. Brasília, DF: Embrapa, 2012. (Documentos, n. 137).

LUDWIG, M. P.; LUCCA FILHO, O. A.; BAUDET, L.; DUTRA, L. M. C.; AVELAR, S. A. G.; CRIZEL, R. L. Qualidade de sementes de soja armazenadas após recobrimento com aminoácido, polímero, fungicida e inseticida. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 33, n. 3, p. 395-406, 2011.

MENTEN, J. O.; MORAES, M. H. D. Tratamento de sementes: histórico, tipos, características e benefícios. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 20, n. 3, p. 52-53, 2010.

NASCIMENTO, W. M.; COSTA, C. J. Condicionamento osmótico de sementes de hortaliças. In: NASCIMENTO, W. M. (ed.) **Tecnologia de sementes de hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2009. p. 345-396.

NASCIMENTO, W. M.; SILVA, J. B. C.; SANTOS, P. E. C.; CARMONA, R. Germinação de sementes de cenoura osmoticamente condicionadas e peletizadas com diversos ingredientes. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 12-16, 2009.

PANWAR, A.; THAKUR, A. K.; SHARMA, P.; NEGI, S.; NALWA, C.; BISHT, A. Effect of sowing dates and botanical seed pelleting on plant growth, bulb yield and quality of onion (*Allium cepa* L.). **Agricultural Science Digest**, [s. l.], v. 41, n. esp., p. 169-174, 2021.

PAPARELLA, S.; ARAUJO, S. S.; ROSSI, G.; WIJAYASINGHE, M.; CARBONERA, D.; BALESTRAZZI, A. Seed priming: state of the art and new perspectives. **Plant and Cell Reporter**, [s. l.], v. 34, p. 1281-1293, 2015.

PAWARI, V. A.; LAWARE, S. L. Seed priming: a critical review. **International Journal**

of Scientific Research in Biological Sciences, [s. l.], v. 5, p. 94-101, 2018.

RHAMAN, M. S.; IMRAN, S.; RAUF, F.; KHATUN, M.; BASKIN, C. C.; MURATA, Y.; HASANUZZAMAN, M. Seed priming with phytohormones: an effective approach for the mitigation of abiotic stress. **Plants**, Basel, v. 10, n. 1, p. 1-17, 2021.

SANTOS, S. R. G. Peletização de sementes florestais no Brasil: uma atualização. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v. 23, n. 2, p. 286-294, 2016.

SCHWEIG, L. A.; LOURENÇO, E. S. O.; MENEGASSO, G. D. Inoculante de longa vida na cultura da soja sob plantio direto. **Revista Faz Ciência**, Francisco Beltrão, v. 19, n. 30, p. 99-112, 2017.

SENE, M. R. S.; PEREIRA, C. E.; FLÔRES, J. A.; KIKUTI, A. L. P. Tratamento fungicida e peliculização de sementes de arroz armazenadas. **Magistra**, [s. l.], v. 31, p. 789-798, 2020.

STECCA, J. D. L.; MARTIN, T. N.; LÚCIO, A. D.; DEAK, E. A.; FIPKE, G. M.; BRUNING, L. A. Inoculation of soybean seeds coated with osmoprotector in diferents soil pH's. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 41, n. 39482, 2018.

TALAMINI, V.; OLIVEIRA, F. A. **Sementes com alta tecnologia?:** o futuro da lavoura. Jardins: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2011. p. 1-3.

ZUFFO, A. M.; STEINER, F.; BUSCH, A.; SANTOS, D. M. S. Adubação nitrogenada na soja inibe a nodulação e não melhora o crescimento inicial das plantas. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, Maringá, v. 12, n. 2, p. 333-349, 2019.

ZULFIQAR, F. Effect of seed priming on horticultural crops. **Scientia Horticulturae**, [s. l.], v. 286, p. 110197, 2021.

CAPÍTULO 5

MICROORGANISMOS ASSOCIADOS À FITORREMEDIAÇÃO DE SOLOS AGRÍCOLAS COM O HERBICIDA TEBUTHIURON

Victor Hugo Cruz

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Dracena, São Paulo, Brasil.

Bruno Rafael de Almeida Moreira

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias,
Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

Thalia Silva Valério

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Dracena, São Paulo, Brasil.

Munick Beato Aragão

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Dracena, São Paulo, Brasil.

Alexandre Ribeiro Batista

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Dracena, São Paulo, Brasil.

Paulo Renato Matos Lopes*

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Dracena, São Paulo, Brasil.

***Autor correspondente:**

prm.lopes@unesp.br

Resumo

Um dos principais fatores que afeta o rendimento produtivo dos canaviais é a presença de plantas daninhas. Tais agentes competem por luminosidade, água e nutrientes, além da possibilidade de liberar substâncias alelopáticas no solo, prejudicando a cultura energética. Uma alternativa de controle é a utilização de herbicidas, com destaque ao tebuthiuron pela frequente aplicação em canaviais. Contudo, essa molécula apresenta características que podem causar impactos nos ecossistemas aquáticos e terrestres como, por exemplo, alta solubilidade em água, longa persistência no ambiente e elevada toxicidade. Logo, a implementação de técnicas da biorremediação em áreas contaminadas se torna uma estratégia eficiente com o uso de agentes biológicos no restabelecimento ambiental. Nesse contexto, podem ser utilizadas plantas tolerantes aos pesticidas ou poluentes que auxiliam em tal tratamento, cujo processo é denominado fitorremediação. Ainda assim, esse método pode ser otimizado pela associação com microrganismos a partir da bioaugmentação. Portanto, o intuito deste capítulo é apresentar essas técnicas de biorremediação aplicadas em solos agrícolas, principalmente com tebuthiuron, destacando suas vantagens econômicas, ecológicas e sustentáveis.

1 INTRODUÇÃO

O tebuthiuron é um herbicida sistêmico, não seletivo, pertencente à família das fenilureias, que tem sido, frequentemente, aplicado em canaviais (FANG; SHEN; CHEN, 2012; QIAN *et al.*, 2017). No entanto, características físico-químicas específicas desse herbicida, tais como a alta solubilidade em água (2,50 g L⁻¹), a fácil disseminação entre os perfis edáficos e a elevada persistência ambiental (até 18 meses), podem causar contaminação dos ecossistemas aquáticos e terrestres (PESTICIDE PROPERTIES DATA BASE [PPDB], 2023), o que afeta negativamente organismos não-alvos (SARAPIROM *et al.*, 2022). Por tais motivos, a implementação da biorremediação é necessária (FERREIRA *et al.*, 2022).

A biorremediação é uma técnica que usufrui de atividades biológicas para eliminar quaisquer pesticidas, seja ele em meio aquoso ou sólido (LUO *et al.*, 2017). Nesse sentido, a atenuação natural executada pela microbiota indígena é a principal via de dissipação dos herbicidas do fotossistema II (MERCURIO *et al.*, 2015). Embora essa técnica seja naturalmente eficaz para degradar os pesticidas, algumas adversidades bióticas ou abióticas podem interferir negativamente na eficiência da taxa de degradação, sendo necessário o uso de estratégias suplementares (ZANGANEH *et al.*, 2022).

Segundo Lima *et al.* (2022), a fitorremediação é uma das estratégias mais úteis para remediar solos contaminados com herbicida tebuthiuron. Espécies vegetais, como *Canavalia ensiformis* L., *Cajanus cajan* (L.) Millsp, *Mucuna pruriens* L. var. *Pruriens*, *Pennisetum typhoides* (Burm.f.) Stapf & C.E.Hubb e *Stizolobium aterrimum* Piper & Tracy, mostraram ser tolerantes ao tebuthiuron e suficientemente capazes de remediar solos contaminados por ele (BELO *et al.*, 2007; FERREIRA *et al.*, 2021b; MENDES *et al.*, 2021; PIRES *et al.*, 2008).

Sendo assim, alguns autores (AMMERI *et al.*, 2022; PARWEEN *et al.*, 2018; SUSARLA; MEDINA; MCCUTCHEON, 2002) definiram que a fitorremediação pode ser dividida em sete categorias: fitoextração, rizofiltração, fitoestabilização, rizodegradação, fitovolatilização, fitoestimulação e fitodegradação. No entanto, a fitorremediação pode não ser tão eficiente quanto o esperado, sendo necessário o uso de estratégias combinadas como, por exemplo, a bioaumentação (ANDREOLLI *et al.*, 2015; LOPES *et al.*, 2022).

Na bioaumentação, cepas microbianas de fungos e/ou bactérias são adicionadas no solo para aumentar a taxa de degradabilidade dos pesticidas (ANDREOLLI *et al.*, 2015). Os microrganismos devem ser caracterizados por tais funcionalidades: alta resistência às concentrações elevadas de pesticidas; adaptabilidade às condições de estresse, bem como alterações de pH e variações de temperatura; baixa ou nenhuma competição com a microbiota nativa; e, principalmente, eficiente na degradação de pesticidas (AYOTAMUNO; KOGBARA; AGORO, 2009; KHAN *et al.*, 2013).

Apesar desses benefícios, poucos estudos foram encontrados na literatura que relacionam as técnicas de fitorremediação e bioaumentação para remover pesticidas, especialmente com o herbicida tebuthiuron. Normalmente, as

pesquisas focam na sua dispersão em sistemas aquáticos e nos efeitos agudos ou crônicos causados em diversos animais (CCANCCAPA *et al.*, 2016; MERCURIO *et al.*, 2015, 2016). Dessa maneira, a combinação de fitorremediação com bioaumentação pode aumentar a degradabilidade de pesticidas no solo, diminuindo, portanto, as limitações de cada técnica. Além disso, utilizar plantas bioindicadoras e realizar bioensaios ecotoxicológicos podem ser úteis para avaliar o nível de toxicidade ambiental que o tebuthiuron oferece ao ecossistema após o processo de biorremediação (ROCHA *et al.*, 2018; FERREIRA *et al.*, 2021b).

2 CULTURA DA CANA-DE-AÇÚCAR

Cultivada em mais de 200 países ao redor do mundo, a cana-de-açúcar é uma importante cultura agrícola, responsável pela produção de açúcar e etanol (HUANG *et al.*, 2020). No entanto, sua alta produtividade está relacionada aos constantes e atualizados manejos adotados (BASSEY *et al.*, 2021). Logo, as condições climáticas e o surgimento de patógenos, pragas e plantas daninhas devem ser frequentemente monitorados (BANDOPADHYAY *et al.*, 2018) para não reduzir a sua produção.

As plantas daninhas (também denominadas de ervas daninhas, plantas invasoras ou plantas espontâneas), em virtude do seu alto poder de dispersão, rusticidade e resistência (SILVA *et al.*, 2018), são imbróglis enfrentados cotidianamente por agricultores. Quando estão em alta densidade populacional, essas plantas podem competir com a cultura por espaço, luminosidade, nutrientes e água. Além disso, algumas espécies podem exsudar substâncias alelopáticas (MOSSIN *et al.*, 2019) e serem hospedeiras de doenças ou insetos-pragas (NAZIR; JARIKO; JUNEJO, 2013). Por isso, adotar medidas prévias, como o controle químico, pode evitar que as plantas daninhas afetem severamente o cultivo. Segundo Silva *et al.* (2022), o controle químico com os herbicidas é o método mais utilizado em lavouras canavieiras.

3 HERBICIDA TEBUTHIURON

Os herbicidas representam uma das ferramentas mais utilizadas no setor sucroenergético (ZHOU; WANG; LUO, 2020), devido à sua eficácia, praticidade, eficiência, diferentes períodos de controle, com uma gama de mecanismos de ação, grupos químicos e princípios ativos (GUIMARÃES *et al.*, 2022).

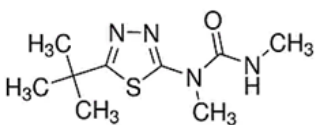
Dentre as diversas moléculas disponíveis no mercado, encontra-se o tebuthiuron, um herbicida inibidor do fotossistema II (PSII) indicado para controlar ervas daninhas herbáceas, lenhosas, anuais e perenes durante a sua pré-emergência (WANG *et al.*, 2019). Tal herbicida é uma molécula orgânica de ação sistêmica, pertencente ao grupo químico das fenilureias (QIAN *et al.*, 2017). Após pulverizado no solo, pode ser absorvido pelas raízes das plantas (LI *et al.*, 2019), translocado e acumulado em tecidos ou órgãos vegetais (PULLAGURALA *et al.*, 2018). Dentro do mecanismo do PSII, as moléculas de

tebuthiuron se ligam a um local específico da plastoquinona Qb sobre a proteína D1, bloqueando o transporte de elétrons da quinona Qa para a Qb (OLIVEIRA JÚNIOR, 2011). Essa ação resulta na paralização fixativa de dióxido de carbono (CO₂) e na produção de adenosina trifosfato (ATP) e nicotinamida adenina dinucleotídeo hidrogenofosfato (NADPH₂), que são elementos fundamentais para o crescimento e desenvolvimento das plantas (THOMAS *et al.*, 2020). Assim, acarreta no aparecimento de necroses foliar, que evolui para seca e morte integral das plantas (SILVA *et al.*, 2014).

Apesar das vantagens agronômicas, o uso contínuo do tebuthiuron pode causar sérios danos ambientais. Conforme demonstrado no **Quadro 1**, o herbicida é altamente solúvel em água (MERCURIO *et al.*, 2016) e pode ser transportado, facilmente, entre os perfis do solo (ROSSETTO; SANTIAGO, 2022). Além disso, tal molécula se apresenta com índice reduzido de sorção no solo, devido ao seu baixo Kd. O coeficiente de sorção linear (Kd) representa a relação entre a fração sorvida e a fração em solução de uma determinada molécula, não considerando o efeito da concentração do pesticida (MATALLO *et al.*, 2005), cuja característica sustenta a biodisponibilidade e mobilidade do herbicida, porém, facilita a percolação e/ou lixiviação do produto (MATALLO *et al.*, 2005). Portanto, quanto maior o valor de Kd, menor será a proporção de pesticida contido na solução do solo (QIAN *et al.*, 2017).

Somado a isso, o período residual do respectivo pesticida é longo (Quadro 1), cuja característica é vantajosa no controle de plantas daninhas. Contudo, pode intoxicar culturas utilizadas na rotação com a cana-de-açúcar (MEHDIZADEH *et al.*, 2019).

Quadro 1. Características físico-químicas do herbicida tebuthiuron.

| Características | Componentes |
|--|--|
| Estrutura molecular |  |
| Nome IUPAC | 1-(5-tert-butyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)-1,3-dimethylurea |
| Fórmula molecular | C ₉ H ₁₆ N ₄ OS |
| Massa molecular | 228,32 g mol ⁻¹ |
| Ponto de fusão | 162-164 °C |
| Solubilidade em água (Sw) | 2,50 g L ⁻¹ a 20 °C |
| Pressão de vapor | 3,0 x 10 ⁻⁷ mm Hg a 25 °C |
| Coeficiente de partição octanol/água (log Kow) | 1,79 |
| Efeito residual | 12 a 18 meses |
| Constante de dissociação (pKA) | 1,20 |
| Coeficiente de sorção (Kd) | 0,1 e 0,7 mL g ⁻¹ |

Fonte: National Center for Biotechnology Information (2021).

4 BIORREMEDIAÇÃO

De acordo com Mercurio *et al.* (2016), a principal via de dissipação de herbicidas PSII é por processos microbiológicos, fato esse evidenciado por Mercurio *et al.* (2015), no qual bactérias nativas demonstraram o potencial em degradar diuron, atrazina, hexazinona e tebuthiuron em ambientes aquáticos por meio de reações hidrolíticas. Tal processo se denomina atenuação natural (LOPES *et al.*, 2022).

No entanto, para solos agrícolas, são escassas as investigações aprofundadas sobre as rotas de metabolização microbiológica do tebuthiuron. Uma justificativa para isso é o alto grau de resistência do herbicida a processos microbiológicos com risco significativo e prolongado a organismos não-alvos (DAM *et al.*, 2004). Ainda assim, trabalhos recentes relacionados à atenuação natural mostraram que o microbioma é capaz de dissipar, paulatinamente, o herbicida tebuthiuron (FARIA *et al.*, 2019a, 2019b; LIMA *et al.*, 2022; NANTES *et al.*, 2022; NEVES *et al.*, 2021).

5 FITORREMEDIAÇÃO

Embora a atenuação natural seja capaz de dissipar os pesticidas, o processo microbiológico pode ser demorado e, em alguns casos, ineficaz, sendo necessária a complementação com outras estratégias, como a fitorremediação. Esse processo utiliza plantas para remover, imobilizar ou decompor moléculas nocivas ao ambiente (GARCÍA-DELGADO *et al.*, 2020). A popularidade de tal estratégia é devido a sua fácil adoção em ambientes contaminados (BANDOPADHYAY *et al.*, 2018), que expressam uma abordagem interessante econômica e ecologicamente (BROWN *et al.*, 2017), além de que a maioria das plantas evitam poluições secundárias (WEI *et al.*, 2021).

De acordo com Cheng *et al.* (2017) e Sarapirom *et al.* (2022), a fitorremediação pode ser dividida em mecanismos, como:

1. Fitoextração: absorção e acúmulo de poluentes em seus órgãos e tecidos
2. Fitoestabilização: imobilização de poluentes por meio de exsudados vegetais ou pelas próprias raízes, reduzindo a disponibilidade da molécula no solo
3. Fitovolatilização: absorção e liberação de poluentes na atmosfera por meio da transpiração
4. Fitodegradação: absorção e metabolização de poluentes por processos enzimáticos
5. Rizodegradação: absorção e metabolização de poluentes por processos enzimáticos nos sistemas radiculares em conjunto com a comunidade microbiana edáfica

Portanto, antes de implementar qualquer esquema fitorremediador, é preciso ter um pré-conhecimento das espécies que serão utilizadas (JUWARKAR; JAMBHULKAR, 2008). Segundo Wei *et al.* (2021), plantas potencialmente

fitorremediadoras devem possuir as seguintes características:

1. Tolerância a altas concentrações da molécula poluente em questão
2. Rápida taxa de crescimento
3. Resistência aos déficits hídricos, às pragas e às doenças
4. Capacidade de melhoria na qualidade química, física e biológica do solo

Diante disso, diversos autores testaram espécies vegetais (leguminosas, gramíneas e arbóreas), para avaliar a sua eficiência em remediar solos contaminados com tebuthiuron. Nota-se que, na maioria desses estudos, as espécies leguminosas foram as que mais se destacaram na fitorremediação do herbicida (Quadro 2). Tais plantas são normalmente utilizadas como adubos verdes para a recuperação ambiental, tanto no quadro florístico quanto faunístico (TOZSER; MAGURA; SIMON, 2017).

Todavia, apesar dos inúmeros benefícios agronômicos e ambientais, a fitorremediação também tem suas desvantagens, como:

1. Longo período de despoluição ambiental (MAHAR *et al.*, 2016)
2. Dificuldade de imobilização de alguns pesticidas (ODOH *et al.*, 2019)
3. Não é recomendada a sua implementação em caso de contaminação severa (SARAPIROM *et al.*, 2022)
4. Baixa eficiência aos sistemas de produção na entressafra (FERREIRA *et al.*, 2021b)

Quadro 2. Espécies eficientes na fitorremediação do herbicida tebuthiuron em solos agrícolas.

| Nome científico | Categorização | Autores |
|--|---------------|--------------------------------|
| <i>Cecropia hololeuca</i> Miq. | Arbórea | Bicalho e Langenbach (2013) |
| <i>Pennisetum glaucum</i> L. R.Br. | Gramínea | Ferreira <i>et al.</i> (2021b) |
| <i>Mucuna pruriens</i> L. cv <i>pruriens</i> | Leguminosa | Ferreira <i>et al.</i> (2021b) |
| <i>Canavalia ensiformis</i> L. | Leguminosa | Mendes <i>et al.</i> (2021) |
| | | Pires <i>et al.</i> (2005) |
| <i>Lupinus albus</i> L. | Leguminosa | Pires <i>et al.</i> (2005) |
| <i>Stizolobium aterrimum</i> Piper & Tracy | Leguminosa | Mendes <i>et al.</i> (2021) |
| | | Pires <i>et al.</i> (2003) |

Fonte: elaborado pelos autores.

Portanto, para corrigir esses inconvenientes e melhorar a eficiência do processo, muitos pesquisadores têm aprimorado métodos consorciados, bem como a adição de inoculantes microbianos (GIRODKAR; THAWALE; JUWARKAR, 2021). O uso *in situ* de microrganismo na remediação de ambientes é denominado bioaugmentação (LOPES *et al.*, 2022). Tal estratégia utiliza a microbiota (autóctone, alóctone ou geneticamente modificada) para aumentar

a biodegradação dos pesticidas no ambiente (GOSWAMI *et al.*, 2018). Desse modo, a popularidade da bioaumentação dá-se pela simplicidade de seu uso (LIU *et al.*, 2018), pelo custo relativamente baixo e pelo mínimo impacto ambiental (REHAN *et al.*, 2014).

Segundo Nwankwegu *et al.* (2022), o processo de bioaumentação se inicia através da identificação, seleção e reprodução de microrganismos existentes no local contaminando. Concluída essas etapas, a inoculação microbiana pode ser realizada. Outra forma de acelerar o tratamento é a inserção de microrganismos selvagens no local contaminado (PERRUCHON *et al.*, 2017). Ambas as situações são utilizadas, desde que não ocasionem um desequilíbrio ecológico a partir da introdução de novas células microbianas no ecossistema.

Atenta-se que na literatura científica não há relatos da prática de bioaumentação em solo com tebutiuron. No entanto, foram encontrados alguns estudos que identificam quais microrganismos atuam na biodegradação desse herbicida, além de possíveis rotas metabólicas formadas. De acordo com Sheldon *et al.* (1996), o gênero bacteriano *Streptomyces* tem a capacidade de degradar o tebutiuron. Mostafa e Helling (2003) também descobriram que os gêneros bacterianos *Methylobacterium*, *Rhodococcus*, *Paenibacillus* e *Microbacterium* podem degradar essa molécula.

Portanto, cada estratégia possui variabilidades funcionais ao efetuar a restauração ambiental e a combinação da fitorremediação com a bioaumentação torna-se uma alternativa sustentável para uma remediação de solos agrícolas com o herbicida tebutiuron.

6 COMPORTAMENTO AMBIENTAL DE PESTICIDAS

Embora as estratégias de biorremediação sejam soluções sustentáveis à recuperação ambiental, a dissipação dos pesticidas não pode ser comprovada somente por um único método analítico, pois essas moléculas podem ser convertidas em compostos intermediários ainda mais tóxicos do que a molécula original no decorrer dos processos de degradação (HESHMATI *et al.*, 2020).

Em virtude disso, os efeitos deletérios da sua presença antes, durante e após a biorremediação devem ser mensurados, visto que essas análises auxiliam na tomada de decisão sobre os procedimentos a serem adotados (PANICO *et al.*, 2022). Os métodos de análise mais comuns realizados são o cultivo *in situ* de plantas bioindicadoras e a realização de bioensaios ecotoxicológicos, utilizando organismos-teste.

Normalmente, o cultivo de plantas bioindicadoras (plantas sentinela) inicia-se após o término da biorremediação. Caso o vegetal demonstre efeitos fitotóxicos em suas estruturas, ainda há indícios da presença do pesticida no ambiente. Nesse contexto, foram encontradas algumas espécies sensíveis ao tebutiuron que podem ser aplicadas nesses ensaios (Quadro 3).

Quadro 3. Espécies sensíveis ao herbicida tebuthiuron.

| Nome comum | Nome científico | Autores |
|-------------|--|--------------------------------|
| Alface | <i>Lactuca sativa</i> L. | Ferreira <i>et al.</i> (2021a) |
| Amendoim | <i>Arachis hypogaea</i> L. | Ferreira <i>et al.</i> (2021a) |
| Aveia | <i>Avena sativa</i> L. | Ferreira <i>et al.</i> (2021a) |
| Aveia-preta | <i>Avena strigosa</i> L. | Pires <i>et al.</i> (2005) |
| Braquiária | <i>Urochloa brizantha</i> (Hochst.) Stapf. | Ferreira <i>et al.</i> (2021a) |
| Crotalária | <i>Crotalaria juncea</i> L. | Pires <i>et al.</i> (2008) |
| Pepino | <i>Cucumis sativus</i> L. | Faria <i>et al.</i> (2018) |
| Soja | <i>Glycine max</i> L. Merr. | Pires, Procópio e Souza (2006) |
| Sorgo | <i>Sorghum bicolor</i> L. Moench. | Ferreira <i>et al.</i> (2021b) |

Fonte: elaborado pelos autores.

Por outro lado, o efeito residual de contaminantes e seus possíveis metabólitos podem ser mensurados a partir da avaliação ecotoxicológica, cujos bioensaios se baseiam na exposição de organismos-teste a esses compostos (AZEVEDO; CHASIN, 2004; BOOCK; NETO, 2000; MARTÍNEZ *et al.*, 2019; SOBRERO; RONCO, 2004). Preferencialmente, esse ser vivo tem que ser sensível à molécula em questão, além de apresentar fácil manejo e rápida obtenção de resultados. A duração da sua exposição ao contaminante pode ser curta (aguda), intermediária (sub-crônica) ou longa (crônica). Assim, são criterizadas as principais vias de entrada dos pesticidas, tais como órgãos, tecidos ou células-alvo; e, por fim, são realizadas avaliações nos organismos testados quanto aos seus efeitos no desenvolvimento, na reprodução e/ou no comportamento (SŁAWSKI; SŁAWSKA, 2020; VECHIA *et al.*, 2021).

Para isso, existem protocolos padronizados por várias instituições destinados à realização de bioensaios de ecotoxicidade em diferentes condições, para fins de estabelecimento experimental e de comparação de resultados, como os da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE), da Organização Internacional de Normalização (ISO), da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA), dentre outros.

7 BIORREMEDIAÇÃO DE TEBUTHIURON EM SOLO

Alguns trabalhos já vincularam o uso de estratégias de biorremediação do herbicida tebuthiuron em solo para a realização de bioensaios ecotoxicológicos. Faria *et al.* (2019a) avaliaram a toxicidade do solo de manejo convencional em áreas de cana-de-açúcar pelo processo de atenuação natural. Os autores concluíram que a dose indicada pelo produto comercial não afetou negativamente o desenvolvimento do organismo-teste (*Lactuca sativa*). Os autores ressaltaram que o sistema convencional, possivelmente, mitigou os efeitos prejudiciais do herbicida para a germinação de sementes e o

desenvolvimento das plântulas do organismo-teste, uma vez que esse manejo utiliza diversas formas de aumentar a fertilidade do solo, a partir de compostos minerais e resíduos orgânicos do setor sucroenergético. Resultados semelhantes também foram encontrados por Neves *et al.* (2021), que analisaram o solo da produção orgânica de cana-de-açúcar. Segundo os autores, a presença da vinhaça foi determinante para a redução da ecotoxicidade de amostras em sementes de alface.

Nantes *et al.* (2022) mostraram, a partir de bioensaios, que a atenuação natural em conjunto com a vinhaça foi capaz de reduzir o impacto ecotoxicológico do herbicida tebuthiuron e do inseticida tiametoxam no solo ao longo das análises temporais. Já Ferreira *et al.* (2021b) validaram a eficácia da fitorremediação (mucuna-cinza e milheto) e da bioestimulação (vinhaça) no solo pelo menor impacto obtido por essa associação na presença de tebuthiuron.

Em pesquisa recente, Lima *et al.* (2022) evidenciaram que foi possível diminuir o impacto ocasionado por esse herbicida em solos agrícolas, a partir de microrganismos isolados de área de cultivo de cana-de-açúcar. Seus resultados demonstraram a capacidade das linhagens bioprospectadas de degradar a molécula contaminante, além de reduzir os efeitos deletérios ao organismo-teste utilizado.

Portanto, a combinação das técnicas de biorremediação com testes de ecotoxicidade é fundamental para compreender a dinâmica dos pesticidas no ambiente e para acelerar a recuperação ambiental em agroecossistemas. A partir da investigação do estado-da-arte das metodologias de remoção de tebuthiuron em solos agrícolas, não foram encontrados trabalhos combinando os processos de fitorremediação e bioaumentação, o que evidencia a importância deste capítulo para futuras abordagens científicas na área. Destaca-se, ainda, o potencial sustentável dessas estratégias de elevada viabilidade econômica e ecológica que também se fundamenta dentro dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável da Organização das Nações Unidas (ONU), em especial ao objetivo 2 (Fome zero e agricultura sustentável), ao 12 (Consumo e produção responsável) e ao 15 (Vida terrestre).

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O conhecimento de diferentes estratégias de tratamento de solos agrícolas com tebuthiuron é essencial para a adoção de práticas sustentáveis em sistemas de produção agrícola. Nesse sentido, a combinação dos processos biológicos de fitorremediação e bioaumentação, associados à avaliação ecotoxicológica, permite o desenvolvimento de uma potencial alternativa para a remediação de tais áreas.

Logo, torna-se fundamental o desenvolvimento de estudos inovadores, com o propósito de conhecer a dinâmica dos pesticidas no solo, a partir de diferentes sistemas produtivos. Assim, o manejo da cultura pode auxiliar diretamente na melhoria da qualidade do solo, com o intuito de aumentar a produtividade e manter boas condições ecológicas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (Processo nº 313530/2021-1), e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (Processos nº 2021/01884-6 e nº 2021/09838-3).

REFERÊNCIAS

- AMMERI, R. W.; HASSEN, W.; HIDRI, Y.; DI RAUSO SIMEONE, G.; HASSEN, A. Macrophyte and indigenous bacterial co-remediation process for pentachlorophenol removal from wastewater. **International Journal of Phytoremediation**, Philadelphia, v. 24, n. 3, p. 271-282, 2022.
- ANDREOLLI, M.; LAMPIS, S.; BRIGNOLI, P.; VALLINI, G. Bioaugmentation and biostimulation as strategies for the bioremediation of a burned woodland soil contaminated by toxic hydrocarbons: a comparative study. **Journal of Environmental Management**, London, v. 153, p. 121-131, 2015.
- AYOTAMUNO, J. M.; KOGBARA, R. B.; AGORO, O. S. Biostimulation supplemented with phytoremediation in the reclamation of a petroleum contaminated soil. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v. 25, n. 9, p. 1567-1572, 2009.
- AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. **As bases toxicológicas da ecotoxicologia**. São Carlos: Rima, 2004.
- BANDOPADHYAY, S.; MARTIN-CLOSAS, L.; PELACHO, A. M.; DEBRUYN, J. M. Biodegradable plastic mulch films: impacts on soil microbial communities and ecosystem functions. **Frontiers in Microbiology**, Switzerland, v. 9, p. 1-7, 2018.
- BASSEY, M. S.; KOLO, M. G. M.; DANIYA, E.; ODOFIN, A. J. Trash mulch and weed management practice impact on some soil properties, weed dynamics and sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) genotypes plant crop productivity. **Sugar Tech**, India, v. 23, n. 2, p. 395-406, 2021.
- BELO, A. F.; SANTOS, E. A.; SANTOS, J. B.; FERREIRA, L. R.; SILVA, A. A.; CECON, P. R.; SILVA, L. L. Efeito da umidade do solo sobre a capacidade de *Canavalia ensiformis* e *Stizolobium aterrimum* em remediar solos contaminados com herbicidas. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 25, p. 239-249, 2007.
- BICALHO, S. T. T.; LANGENBACH, T. The fate of tebuthiuron in microcosm with riparian forest seedlings. **Geoderma**, Amsterdam, v. 207-208, p. 66-70, 2013.
- BOOCK, M. V.; NETO, J. G. M. Estudos toxicológicos do oxicloreto de cobre para tilápia vermelha (*OREOCHROMIS* sp.). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 67, n. 2, p. 215-221, 2000.
- BROWN, D. M.; OKORO, S.; van GILS, J.; van SPANNING, R.; BONTE, M.; HUTCHINGS, T.; LINDEN, O.; EGBUCHE, U.; BRUUN, K. B.; SMITH, J. W.N. Comparison of landfarming amendments to improve bioremediation of petroleum hydrocarbons in Niger Delta soils. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 596-597, p. 284-292, 2017.
- CCANCCAPA, A.; MASIÁ, A.; NAVARRO-ORTEGA, A.; PICÓ, Y.; BARCELÓ, D.

Pesticides in the Ebro River basin: occurrence and risk assessment. **Environmental Pollution**, Barking, v. 211, p. 414-424, 2016.

CHENG, J.; LEE, X.; GAO, W.; CHEN, Y.; PAN, W.; TANG, Y. Effect of biochar on the bioavailability of difenoconazole and microbial community composition in a pesticide-contaminated soil. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 121, p. 185-192, 2017.

DAM, R. A.; CAMILLERI, C.; BAYLISS, P.; MARKICH, S. J. Ecological risk assessment of tebuthiuron following application on tropical Australian wetlands. **Human and Ecological Risk Assessment**, New York, v. 10, n. 6, p. 1069-1097, 2004.

FARIA, A. T.; SOUZA, M. F.; ROCHA DE JESUS PASSOS, A. B.; DA SILVA, A. A.; SILVA, D. V.; ZANUNCIO, J. C.; ROCHA, P. R. R. Tebuthiuron leaching in three Brazilian soils as affected by soil pH. **Environmental Earth Sciences**, Heidelberg, v. 77, n. 5, p. 214, 2018.

FARIA, M. A.; LOPES, P. R. M.; BIDOIA, E. D.; FERREIRA, L. C.; MONTAGNOLLI, R. N.; PRADO, E. P.; FERRARI, S. Influence of tebuthiuron and vinasse under soil microbiota activity in sugarcane crop. **International Journal of Development Research**, [s. l.], v. 9, n. 7, p. 28861-28865, 2019a.

FARIA, M. A.; LOPES, P. R. M.; BIDOIA, E. D.; FERREIRA, L. C.; VIANA, R. S.; PRADO, E. P.; BONINI, C. S. B. B.; TOMAZ, R. S. Vinasse and tebuthiuron application to sugarcane soil and its effects on bacterial community and ecotoxicity after natural attenuation. **International Journal of Development Research**, [s. l.], v. 9, n. 8, p. 28898-28904, 2019b.

FANG, Y.; SHEN, X.; CHEN, Y. Weed control and influence of the following crops with tebuthiuron in sugarcane fields. **Agrochemicals**, [s. l.], v. 12, n. 12, p. 919-922, 2012.

FERREIRA, C. S. S.; SEIFOLLAHI-AGHMIUNI, S.; DESTOUNI, G.; GHAJARNIA, N.; KALANTARI, Z. Soil degradation in the European Mediterranean region: processes, status and consequences. **Science of The Total Environment**, Amsterdam, v. 805, p. 1-17, 2022.

FERREIRA, J. H. S.; QUEIROZ, M. C. M.; SILVA, I. P. F. E; MELO, C. A. D. Seleção de espécies bioindicadoras da presença de tebuthiuron no solo. **Agrarian**, Dourados, v. 14, n. 52, p. 203-212, 2021a.

FERREIRA, L. C.; MOREIRA, B. R. A.; MONTAGNOLLI, R. N.; PRADO, E. P.; VIANA, R. S.; TOMAZ, R. S.; CRUZ, J. M.; BIDOIA, E. D.; FRIAS, Y. A.; LOPES, P. R. M. Green manure species for phytoremediation of soil with tebuthiuron and vinasse. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, Lausanne, v. 8, p. 1-13, 2021b.

GARCÍA-DELGADO, C.; MARÍN-BENITO, J. M.; SÁNCHEZ-MARTÍN, M. J.; RODRÍGUEZ-CRUZ, M. S. Organic carbon nature determines the capacity of organic amendments to adsorb pesticides in soil. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 390, p. 1-9, 2020.

GIROLKAR, S.; THAWALE, P.; JUWARKAR, A. Bacteria-assisted phytoremediation of heavy metals and organic pollutants: challenges and future prospects. *In*: SAXENA, G.; SHAH, M. P.; KUMAR, V. (eds). **Bioremediation for environmental sustainability**. United States America: Elsevier, 2021. p. 247-267.

GOSWAMI, M.; CHAKRABORTY, P.; MUKHERJEE, K.; MITRA, G.; BHATTACHARYYA, P.; DEY, S.; TRIBEDI, P. Bioaugmentation and biostimulation: a potential strategy for environmental remediation. **Journal of Microbiology and Experimentation**, Budapest, v. 6, n. 5, p. 223-231, 2018.

GUIMARÃES, A. C. D.; DE PAULA, D. F.; MENDES, K. F.; SOUSA, R. N.; ARAÚJO, G. R.; INOUE, M. H.; TORNISIELO, V. L. Can soil type interfere in sorption-desorption, mobility, leaching, degradation, and microbial activity of the ¹⁴C-tebuthiuron herbicide? **Journal of Hazardous Materials Advances**, Amsterdam, v. 6, p. 1-12, 2022.

HESHMATI, A.; KOMACKI, H. A.; NAZEMI, F.; KHANEGHAH, A. M. Persistence and dissipation behavior of pesticide residues in parsley (*Petroselinum crispum*) under field conditions. **Quality Assurance and Safety of Crops and Foods**, Wageningen, v. 12, n. 3, p. 55-65, 2020.

HUANG, J.; KHAN, M. T.; PERECIN, D.; COELHO, S. T.; ZHANG, M. Sugarcane for bioethanol production: potential of bagasse in Chinese perspective. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, United Kingdom, v. 133, p. 1-14, 2020.

JUWARKAR, A. A.; JAMBHULKAR, H. P. Phytoremediation of coal mine spoil dump through integrated biotechnological approach. **Bioresource Technology**, Essex, v. 99, n. 11, p. 4732-4741, 2008.

KHAN, S.; AFZAL, M.; IQBAL, S.; KHAN, Q. M. Plant–bacteria partnerships for the remediation of hydrocarbon contaminated soils. **Chemosphere**, Oxford, v. 90, n. 4, p. 1317-1332, 2013.

LI, Y.; SALLACH, J. B.; ZHANG, W.; BOYD, S. A.; LI, H. Insight into the distribution of pharmaceuticals in soil-water-plant systems. **Water research**, New York, v. 152, p. 38-46, 2019.

LIMA, E. W.; BRUNALDI, B. P.; FRIAS, Y. A.; ALMEIDA MOREIRA, B. R.; DA SILVA ALVES, L.; LOPES, P. R. M. A synergistic bacterial pool decomposes tebuthiuron in the soil. **Scientific Reports**, London, v. 12, p. 1-12, 2022.

LIU, L.; LI, W.; SONG, W.; GUO, M. Remediation techniques for heavy metal-contaminated soils: Principles and applicability. **Science of The Total Environment**, Amsterdam, v. 633, p. 206-219, 2018.

LOPES, P. R. M.; CRUZ, V. H.; DE MENEZES, A. B.; GADANHOTO, B. P.; MOREIRA, B. R. de A.; MENDES, C. R.; MAZZEO, D. E. C.; DILARRI, G.; MONTAGNOLLI, R. N. Microbial bioremediation of pesticides in agricultural soils: an integrative review on natural attenuation, bioaugmentation and biostimulation. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, Amsterdam, v. 21, p. 851-876, 2022.

MAHAR, A.; WANG, P.; ALI, A.; AWASTHI, M. K.; LAHORI, A. H.; WANG, Q.; LI, R.; ZHANG, Z. Challenges and opportunities in the phytoremediation of heavy metals contaminated soils: a review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Cambridge, v. 126, p. 111-121, 2016.

MARTÍNEZ, L. C.; PLATA-RUEDA, A.; GONÇALVES, W. G.; FREIRE, A. F. P. A.; ZANUNCIO, J. C.; BOZDOĞAN, H.; SERRÃO, J. E. Toxicity and cytotoxicity of the insecticide imidacloprid in the midgut of the predatory bug, *Podisus nigrispinus*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Cambridge, v. 167, p. 69-75, 2019.

- MATALLO, M. B.; SPADOTTO, C. A.; LUCHINI, L. C.; GOMES, M. A. Sorption, degradation, and leaching of tebuthiuron and diuron in soil columns. **Journal of Environmental Science and Health**, Philadelphia, v. 40, n. 1, p. 39-43, 2005.
- MEHDIZADEH, M.; IZADI-DARBANDI, E.; NASERI POUR YAZDI, M. T.; RASTGOO, M.; MALAEKEH-NIKOUEI, B.; NASSIRLI, H. Impacts of different organic amendments on soil degradation and phytotoxicity of metribuzin. **International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture**, Tehran, v. 8, p. 113-121, 2019.
- MENDES, K. F.; MASET, B. A.; MIELKE, K. C.; SOUSA, R. N. De; MARTINS, B. A. B.; TORNISIELO, V. L. Phytoremediation of quinclorac and tebuthiuron-polluted soil by green manure plants. **International Journal of Phytoremediation**, Philadelphia, v. 23, n. 5, p. 474-481, 2021.
- MERCURIO, P.; MUELLER, J. F.; EAGLESHAM, G.; FLORES, F.; NEGRI, A. P. Herbicide persistence in seawater simulation experiments. **PLOS ONE**, San Francisco, v. 10, n. 8, p. 1-19, 2015.
- MERCURIO, P.; MUELLER, J. F.; EAGLESHAM, G.; O'BRIEN, J.; FLORES, F.; NEGRI, A. P. Degradation of herbicides in the tropical marine environment: influence of light and sediment. **PLOS ONE**, San Francisco, v. 11, n. 11, p. 1-21, 2016.
- MOSSIN, C. B.; HIJANO, N.; NEPOMUCENO, M. P.; CARVALHO, L. B.; ALVES, P. L. C. A. Interference relationships between weeds and sugarcane in the 'Plene' System. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 37, p. 1-7, 2019.
- MOSTAFA, F. I. Y.; HELLING, C. S. Isolation and 16S DNA characterization of soil microorganisms from tropical soils capable of utilizing the herbicides hexazinone and tebuthiuron. **Journal of Environmental Science and Health**, Philadelphia, v. 38, n. 6, p. 783-797, 2003.
- NANTES, L. S.; ARAGÃO, M. B.; MOREIRA, B. R. A.; FRIAS, Y. A.; VALÉRIO, T. S.; LIMA, E. W.; SILVA VIANA, R.; LOPES, P. R. M. Synergism and antagonism in environmental behavior of tebuthiuron and thiamethoxam in soil with vinasse by natural attenuation. **International Journal of Environmental Science and Technology**, Iran, p. 1-10, 2022.
- NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **PubChem Compound Summary for CID 5383, Tebuthiuron**. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Tebuthiuron>. Acesso em: 30 ago. 2021.
- NAZIR, A.; JARIKO, G. A.; JUNEJO, M. A. Factors affecting sugarcane production in Pakistan. **Pakistan Journal of Commerce and Social Sciences**, Lahore, v. 7, n. 1, p. 128-140, 2013.
- NEVES, A. B. R.; CRUZ, V. H.; MOREIRA, B. R. A.; VIANA, R. S.; LOPES, P. R. M. Viabilidade da atenuação natural em solo de manejo orgânico contaminado com tebuthiuron. **Energia na Agricultura**, Botucatu, v. 36, n. 2, p. 261-272, 2021.
- NWANKWEGU, A. S.; ZHANG, L.; XIE, D.; ONWOSI, C. O.; MUHAMMAD, W. I.; ODOH, C. K.; SAM, K.; IDENYI, J. N. Bioaugmentation as a green technology for hydrocarbon pollution remediation. Problems and prospects. **Journal of Environmental Management**, London, v. 304, p. 1-12, 2022.
- ODOH, C. K.; ZABBEY, N.; SAM, K.; EZE, C. N. Status, progress and challenges of phytoremediation-An African scenario. **Journal of Environmental Management**,

London, v. 237, p. 365-378, 2019.

OLIVEIRA JÚNIOR, R. S. Mecanismos de ação de herbicidas. *In*: OLIVEIRA JÚNIOR, R. S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba: Omnipax, 2011. p.141-192.

PANICO, S. C.; PANICO, S. C.; van GESTEL, C. A.; VERWEIJ, R. A.; RAULT, M.; BERTRAND, C.; BARRIGA, C. A. M.; MICHAEL, C.; FRITSCH, C.; GIMBERT, F.; PELOSI, C. Field mixtures of currently used pesticides in agricultural soil pose a risk to soil invertebrates. **Environmental Pollution**, Barking, v. 305, p. 1-11, 2022.

PARWEEN, T.; BHANDARI, P.; SHARMA, R.; JAN, S.; SIDDIQUI, Z. H.; PATANJALI, P. K. Bioremediation: a sustainable tool to prevent pesticide pollution. *In*: OVES, M.; KHAN, M. Z.; ISMAIL, I. M. I. (eds.). **Modern age environmental problems and their remediation**. New York: Springer International Publishing, 2018. p. 215-227.

PERRUCHON, C.; PANTOLEON, A.; VEROUTIS, D.; GALLEGRO-BLANCO, S.; MARTIN-LAURENT, F.; LIADAKI, K.; KARPOUZAS, D. G. Characterization of the biodegradation, bioremediation and detoxification capacity of a bacterial consortium able to degrade the fungicide thiabendazole. **Biodegradation**, Dordrecht, v. 28, n. 5-6, p. 383-394, 2017.

PESTICIDE PROPERTIES DATA BASE (PPDB). **Tebuthiuron (Ref: EL 103)**. United Kingdom: University of Hertfordshire, 2023. Disponível em <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/614.htm#2>. Acesso em: 24 fev. 2023.

PIRES, F. R.; PROCÓPIO, S. O.; SANTOS, J. B.; SOUZA, C. M.; DIAS, R. R. Avaliação da fitorremediação de tebuthiuron utilizando *Crotalaria juncea* como planta indicadora. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 39, n. 2, p. 245-250, 2008.

PIRES, F. R.; PROCÓPIO, S. O.; SOUZA, C. M. Adubos verdes na fitorremediação de solos contaminados com o herbicida tebuthiuron. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 19, n. 1, p. 92-97, 2006.

PIRES, F. R.; SOUZA, C. M.; CECON, P. R.; SANTOS, J. B.; TÓTOLA, M. R.; PROCÓPIO, S. O.; SILVA, A. A.; SILVA, C. S. W. Inferências sobre atividade rizosférica de espécies com potencial para fitorremediação do herbicida tebuthiuron. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 29, n. 4, p. 627-634, 2005.

PIRES, F. R.; SOUZA, C. M.; SILVA, A. A.; PROCÓPIO, S. O.; FERREIRA, L. R. Fitorremediação de solos contaminados com herbicidas. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 21, n. 2, p. 335-341, 2003.

PULLAGURALA, V. L. R.; RAWAT, S.; ADISA, I. O.; HERNANDEZ-VIEZCAS, J. A.; PERALTA-VIDEA, J. R.; GARDEA-TORRESDEY, J. L. Plant uptake and translocation of contaminants of emerging concern in soil. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 636, p. 1585-1596, 2018.

QIAN, Y.; MATSUMOTO, H.; LIU, X.; LI, S.; LIANG, X.; LIU, Y.; ZHU, G.; WANG, M. Dissipation, occurrence and risk assessment of a phenylurea herbicide tebuthiuron in sugarcane and aquatic ecosystems in South China. **Environmental Pollution**, Barking, v. 227, p. 389-396, 2017.

REHAN, M.; KLUGE, M.; FRÄNZLE, S.; KELLNER, H.; ULLRICH, R.; HOFRICHTER, M. Degradation of atrazine by *Frankia alni*, ACN14a: gene regulation, dealkylation, and dechlorination. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlim, v. 98, n. 13, p.

6125-6135, 2014.

ROCHA, R. S.; BEATI, A. G. F.; VALIM, R. B.; STETER, J. R.; BERTAZZOLI, R.; LANZA, M. R. V. Avaliação dos subprodutos de degradação do herbicida ametrina obtidos via processos oxidativos avançados. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, Tupã, v. 12, n. 1, p. 52-67, 2018.

ROSSETTO, R.; SANTIAGO, A. D. **Adubação**: resíduos alternativos. Brasília: Embrapa Cana, 2022. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/cana/producao/correcao-e-adubacao/diagnose-das-necessidades-nutricionais/recomendacao-de-correcao-e-adubacao/adubacao-residuos-alternativos>. Acesso em: 12 dez. 2022.

SARAPIROM, P.; WIRIYAAMPAIWONG, P.; RUEANGSAN, K.; PLANGKLANG, P.; TEERAKUN, M. The combination technique of bioaugmentation and phytoremediation on the degradation of paraquat in contaminated soil. **Asia-Pacific Journal of Science and Technology**, Khon Kaen, v. 27, n. 3, p. 1-9, 2022.

SHELDON, P. J.; JOHNSON D. J.; AUGUST, P. R.; LIU, H.W.; SHERMAN, D.H. Characterization of a Mitomycin-binding drug resistance Mechanism from the producing organism. **Bacteriol**, [s. l.], v. 179, n. 5, p. 1796-1804, 1996.

SILVA, A. A.; D'ANTONIO, L.; VIVIAN, R.; OLIVEIRA JUNIOR, R. S. Comportamento de herbicidas no solo. In: MONQUERO, P. A. (ed.). **Aspectos da biologia e manejo das plantas daninhas**. São Carlos: Rima, 2014. p. 167-216.

SILVA, D. A. M.; SILVA, S. A. M.; SILVA, S. T.; FÉLIX, H. R. M.; PESSOA, G. G. F. A.; ARAÚJO, J. R. E. S.; SILVA, J. H. B.; BULHÕES, L. E. L.; SANTOS, J. P. O. Riscos para a saúde do trabalhador e boas práticas de segurança do trabalho na aplicação de herbicidas em cana-de-açúcar. **Sistemas & Gestão**, Niterói, v. 17, n. 1, p. 80-88, 2022.

SILVA, D. A.; ALBUQUERQUE, J. D. A. A.; ALVES, J. M. A.; ROCHA, P. R. R.; MEDEIROS, R. D.; FINOTO, E. L.; MENEZES, P. H. S. Caracterização de plantas daninhas em área rotacionada de milho e feijão-caupi em plantio direto. **Scientia Agropecuária**, Piracicaba, v. 9, p. 7-15, 2018.

SŁAWSKI, M.; SŁAWSKA, M. Collembolan assemblages response to wild boars (*Sus scrofa* L.) rooting in pine forest soil. **Forests**, Switzerland, v. 11, n. 11, p. 1-12, 2020.

SOBRERO, M. C.; RONCO, A. Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.). In: MORALES, G. C. (ed). **Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas**: standerización, intercalibración, resultados y aplicaciones. Mexico: IMTA, 2004. p. 71-79.

SUSARLA, S.; MEDINA, V. F.; MCCUTCHEON, S. C. Phytoremediation: an ecological solution to organic chemical contamination. **Ecological Engineering**, Oxford, v. 18, n. 5, p. 647-658, 2002.

THOMAS, M. C.; FLORES, F.; KASERZON, S.; FISHER, R.; NEGRI, A. P. Toxicity of ten herbicides to the tropical marine microalgae *Rhodomonas salina*. **Scientific Reports**, London, v. 10, n. 1, p. 1-16, 2020.

TOZSER, D.; MAGURA, T.; SIMON, E. Heavy metal uptake by plant parts of willow species: A meta-analysis. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 336, p. 101-109, 2017.

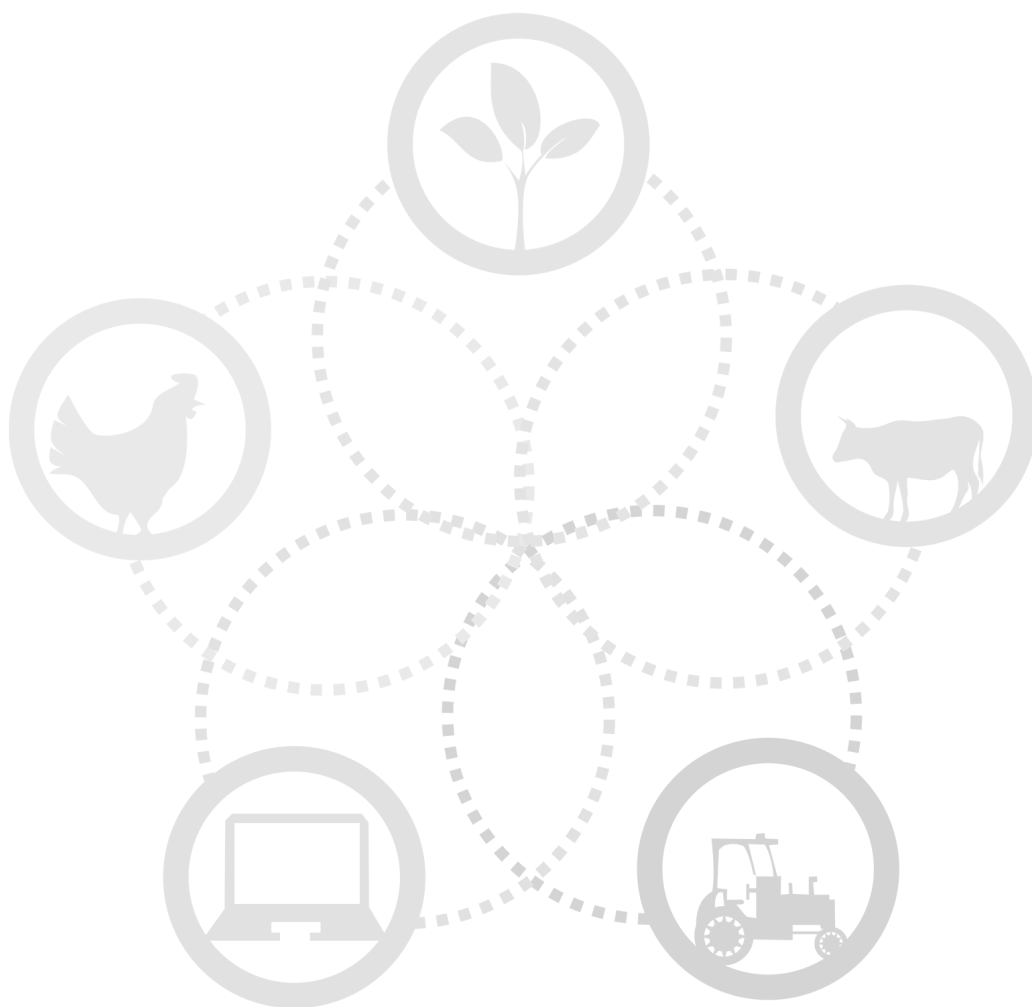
VECHIA, J. F. D.; PERES, L. R. S.; CASTRO, P. P.; CRUZ, C. Determinação de plantas indicadoras de resíduos de bentazona, atrazina e clomazona no solo. **Ciência e cultura**, Barretos, v. 17, p. 1-7, 2021.

WANG, J.; AWAYA, J.; ZHU, Y.; MOTOOKA, P. S.; NELSON, D. A.; LI, Q. X. Tests of hexazinone and tebuthiuron for control of exotic plants in Kauai, Hawaii. **Forests**, Switzerland, v. 10, n. 7, p. 1-11, 2019.

WEI, Z.; van LE, Q.; PENG, W.; YANG, Y.; YANG, H.; GU, H.; LAM, S. S.; SONNE, C. A review on phytoremediation of contaminants in air, water and soil. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 403, p. 1-8, 2021.

ZANGANEH, F.; HEIDARI, A.; SEPEHR, A.; ROHANI, A. Bioaugmentation and bioaugmentation–assisted phytoremediation of heavy metal contaminated soil by a synergistic effect of cyanobacteria inoculation, biochar, and purslane (*Portulaca oleracea* L.). **Environmental Science and Pollution Research**, Berlin, v. 29, n. 4, p. 6040-6059, 2022.

ZHOU, Z.; WANG, C.; LUO, Y. Meta-analysis of the impacts of global change factors on soil microbial diversity and functionality. **Nature communications**, United Kingdom, v. 11, p. 1-10, 2020.



CAPÍTULO 6

INOVAÇÕES NO SISTEMA PRODUTIVO DO ARROZ DE TERRAS ALTAS

Samuel Ferrari*

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Departamento de Produção Vegetal, Dracena,
São Paulo, Brasil.

***Autor correspondente:**

samuel.ferrari@unesp.br

Matheus Luis Oliveira Cunha

Universidade de São Paulo (USP), Câmpus
Luiz de Queiroz, Programa de Pós-Graduação
em Ciências – Centro de Energia Nuclear na
Agricultura (CENA), Piracicaba, São Paulo,
Brasil.

Luis Fernando dos Santos Cordeiro

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Departamento de Produção Vegetal, Dracena,
São Paulo, Brasil.

João Vitor Cordeiro Malenowtch

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Departamento de Produção Vegetal, Dracena,
São Paulo, Brasil.

Vagner do Nascimento

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Departamento de Produção Vegetal, Dracena,
São Paulo, Brasil.

Enes Furlani Júnior

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Engenharia, Programa de Pós-
Graduação em Agronomia, Ilha Solteira, São
Paulo, Brasil.

Resumo

Os grãos de arroz estão entre as fontes primárias de nutrientes da população mundial e os mais importantes na dieta da população brasileira, além de apresentar produtos com alto valor nutricional. Uma das formas para expandir a produção de arroz é com a busca de cultivares adaptados a diferentes ambientes de produção. Contudo, devido à crescente desnutrição da população mundial, os novos cultivares devem levar em conta a riqueza nutricional dos grãos, contribuindo para uma adequada nutrição da população. No cultivo do arroz, é importante o fornecimento equilibrado de todos os nutrientes que se encontram em baixo teor no solo, pois, tanto o fornecimento demasiado quanto a sua ausência, acarretam em limitação de produtividade pelas plantas. Outro importante aspecto a ser levado em conta na rizicultura é a utilização de microrganismos promotores de crescimento, tecnologia essa que se encontra em crescente estudo, uma vez que existe grande interação desses organismos com as variedades de arroz utilizadas, assim como em relação à forma de inoculação, às doses do inoculante, à condição edafoclimática no momento da aplicação e ao estado sanitário da cultura. Portanto, devem ser divulgadas pesquisas que visem melhorar o ambiente de cultivo do arroz de terras altas e fornecer subsídios para os produtores aumentarem as suas produtividades.

1 INTRODUÇÃO

O arroz (*Oriza sativa* L.) é um dos principais cereais cultivados no mundo, consistindo em alimento básico para quase 2,5 bilhões de pessoas. Na safra 2021/2022, a produção mundial de arroz foi de 503 milhões de toneladas e o Brasil contribuiu com cerca de 10,78 milhões de toneladas. Desse total, cerca de 1,40 milhão de toneladas de arroz foram destinadas para a exportação (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO [CONAB], 2022). No Brasil, a produtividade do arroz se situa na faixa de 6.282 kg ha⁻¹, sendo que o sistema de cultivo predominante é o de inundação controlada, seguido pelo sistema de arroz de terras altas (SILVA; WANDER; FERREIRA, 2019).

A produção de arroz de terras altas, que era de 1,42 milhão de toneladas em 2009, reduziu para 482 mil toneladas em 2018, o que demonstra uma diminuição significativa de utilização do sistema pelos produtores. Esse resultado pode ser um reflexo da baixa produtividade do arroz de terras altas que, no período de 2009 até 2018, teve um incremento de 1.860 kg ha⁻¹ para 2.352 kg ha⁻¹, enquanto que o arroz produzido em inundação controlada teve um incremento de 6.924 para 7.649 kg ha⁻¹ (SILVA; WANDER; FERREIRA, 2019).

Tais resultados consistem em um importante indicativo de que o sistema de produção de arroz de terras altas necessita de suporte tecnológico para melhoria dos níveis de produtividade, seja na área de nutrição mineral e adubação, manejo de pragas e doenças, lançamento de novos cultivares, utilização de microrganismos promotores de crescimento, entre outras adaptações tecnológicas.

2 BIOFORTIFICAÇÃO GENÉTICA DO ARROZ: ESTRATÉGIA PARA REDUZIR A DESNUTRIÇÃO E AUMENTAR A SAÚDE HUMANA

O arroz é um dos três cereais mais importantes do mundo e constitui a dieta básica de mais de 2,7 bilhões de pessoas, sendo fonte de nutrientes, como magnésio, fósforo, manganês, selênio, ferro, ácido fólico, tiamina e niacina (FUKAGAWA *et al.*, 2019). Estima-se que até 2050 a população mundial pode chegar a 9 bilhões de pessoas e, portanto, a produção desse cereal deverá aumentar mais de 50% para atender a demanda das pessoas por alimentos (FERRARI *et al.*, 2022). Dessa forma, novas tecnologias e práticas culturais deverão ser desenvolvidas ou aprimoradas para aumentar a produtividade de arroz nas lavouras ao redor do mundo (CUNHA *et al.*, 2022).

Aliada ao crescimento populacional, a desnutrição tem aumentado significativamente nos últimos anos, especialmente com o agravamento severo durante a pandemia da covid-19. A desnutrição afeta todos os grupos inseridos na sociedade, mas os bebês e as mulheres grávidas são os mais vulneráveis. A deficiência de ferro (Fe) e zinco (Zn) é um problema de saúde global, sendo uma das principais deficiências nutricionais em todo o mundo (HAIDER *et al.*, 2020).

Uma das causas possíveis para a ocorrência da desnutrição nas pessoas

é o cultivo das culturas agrícolas em solos com baixo teor nutricional, o que resulta em menor absorção e translocação desses nutrientes para os grãos. Uma forma de reduzir esse problema é através da utilização de genótipos que são eficientes em absorver e translocar os nutrientes para os grãos, melhorando a qualidade dos alimentos. Os estudos de biofortificação genética de genótipos de arroz, com foco em maiores teores nutricionais, começaram há aproximadamente 15 anos, mostrando importantes conquistas para Fe, selênio (Se) e Zn (JIANG *et al.*, 2008; REIS *et al.*, 2018; FERRARI *et al.*, 2022).

A biofortificação é o processo de enriquecimento de culturas comestíveis com nutrientes minerais, que leva em consideração as estratégias de manejo, as variações genótípicas intra e interespecíficas e o melhoramento genético, que aumentam a disponibilidade de nutrientes nas partes comestíveis das plantas (REIS *et al.*, 2018; FERRARI *et al.*, 2022). Portanto, mesmo um pequeno aumento nos micronutrientes biodisponíveis nos grãos de arroz teria um impacto significativo na saúde humana, especialmente nos países em desenvolvimento. Uma ampla variação genotípica na concentração de micronutrientes está presente nas espécies vegetais. Essa variação é uma ferramenta de extrema importância para programas de melhoramento genético, principalmente para o melhoramento convencional com o objetivo de aumentar a densidade de micronutrientes nas partes comestíveis.

A biofortificação genética em genótipos de arroz, visando aumentar os níveis de Zn nos grãos, tem sido amplamente reportada na literatura como um sucesso na obtenção de grãos mais nutritivos. Diversos estudos relataram a variação genotípica para concentração de Zn em grãos de arroz, como, por exemplo, os resultados encontrados por Gregorio (2002) (15,3 – 58,4 mg kg⁻¹, n = 1138), Kumar *et al.* (2012) (9,9 – 39,4 mg kg⁻¹, n = 20), Patil *et al.* (2015) (3,32 – 42,49 mg kg⁻¹, n = 60) e outros estudos compilados na Tabela 1.

O Zn é um elemento importante na saúde humana e sua deficiência pode levar ao retardo do crescimento, à anorexia e a outros sintomas em humanos. Assim, a seleção de genótipos de arroz com maior concentração de Zn nos grãos é importante para aumentar a ingestão desse nutriente pela população e reduzir os problemas relacionados à deficiência.

A biofortificação genética também tem sido comumente relatada como uma boa ferramenta para elevar os teores de Fe nos grãos. Maganti, Swaminathan e Parida (2020) verificaram grande variação na concentração de Fe nos grãos de diferentes genótipos de arroz (6,0 - 22,3 mg kg⁻¹, n = 159), enquanto Cakmak *et al.* (2010) (29,0 – 41,0 mg kg⁻¹, n = 2) e Patil *et al.* (2015) (3,3 – 36,9 mg kg⁻¹, n = 60), sendo que também encontraram alta variabilidade genotípica para o acúmulo de Fe nos grãos de diferentes genótipos de arroz (Tabela 1). A principal causa de deficiência de Fe em humanos é a anemia (SHUBHAM *et al.*, 2020) que, segundo a Organização Mundial da Saúde (ONU), afeta cerca de um quarto da população mundial, sendo metade dos casos atribuída à deficiência de Fe.

Tabela 1. Compilação de diferentes resultados do acúmulo de micronutrientes nos grãos em diferentes genótipos de arroz de terras altas.

| Espécie vegetal | Fe | Zn | Mn | Genótipos | Referências |
|------------------------|--------------------------------|--------------|------------|------------------------------|--------------------------------------|
| |mg kg ⁻¹ | | | | |
| <i>Oryza sativa</i> | 6,0 - 22,3 | 14,5 - 35,3 | - | n = 159 | Maganti, Swaminathan e Parida (2020) |
| | 29,0 - 41,0 | 23,0 - 37,0 | - | n = 2 | Cakmak <i>et al.</i> (2010) |
| | 6,6 - 16,7 | 7,1 - 28,0 | - | n = 192 | Nachimuthu <i>et al.</i> (2014) |
| | 13,2 - 45,8 | 18,6 - 38,0 | - | n = 26 | Raza <i>et al.</i> (2019) |
| | 14,4 - 32,3 | 6,4 - 25,6 | 3,6 - 34,1 | n = 50 | Nasiri <i>et al.</i> (2019) |
| | 0,98 - 26,7 | 13,3 - 43,6 | 4,8 - 25,9 | n = 274 | Jiang <i>et al.</i> (2008) |
| | 0,4 - 147,0 | 15,1 - 124,0 | 6,7 - 26,6 | n = 628 | Zeng <i>et al.</i> (2010) |
| | 3,3 - 36,9 | 3,3 - 42,4 | - | n = 60 | Patil <i>et al.</i> (2015) |
| | 10,0 - 20,0 | - | - | n = 15 | Prom-u-thai <i>et al.</i> (2007) |
| | 9,6 - 44,0 | 9,9 - 39,4 | - | n = 20 | Kumar <i>et al.</i> (2012) |
| 6,3 - 24,4 | 15,3 - 58,4 | - | n = 1138 | Gregorio (2002) | |
| 15,0 - 30,7 | 27,5 - 37,2 | - | n = 8 | Ferrari <i>et al.</i> (2022) | |

Fonte: elaborada pelos autores.

O surgimento ou a seleção de genótipos com boas características agrônômicas são fundamentais para atingir altas produtividades, ao considerar o crescimento populacional mundial e a necessidade de aumentar a produção de alimentos, com destaque para o arroz, bem como do ponto de vista em que a produtividade dos genótipos de arroz cultivados em sistema de terras altas é baixa se comparada com a do arroz cultivado por inundação controlada.

3 ATUALIDADES EM ADUBAÇÃO MINERAL NO ARROZEIRO

A adubação mineral na cultura do arrozeiro irá variar de acordo com o sistema de produção, que pode ser cultivado em terras altas (sequeiro e irrigado) ou por inundação controlada, sendo que a absorção de nutrientes não necessariamente varia de acordo com a arquitetura e produtividade da cultivar (CRUSCIOL *et al.*, 2016).

O arrozeiro, mesmo que possa ser utilizado em áreas de início de cultivo por tolerar solos ácidos e de baixa fertilidade, quando cultivado em ambientes de produção favoráveis e manejo adequado, consegue-se alta produtividade de grãos. A cada tonelada de grãos produzida é absorvido 38; 4,6; 59; 34; 12,7; 12,5 kg t⁻¹ de grão de N; P; K; Ca; Mg e S respectivamente, podendo haver pequena variação de acordo com a cultivar avaliada (CRUSCIOL *et al.*, 2016).

Um dos principais nutrientes na produção de arroz é o nitrogênio (N), pois tem função importante no desenvolvimento vegetativo e na atividade fotossintética e, ainda, por fazer parte dos aminoácidos que formarão a proteína.

Nos trabalhos atuais, o arrozeiro obtém resposta de aplicação entre 90 e 170 kg ha⁻¹ de N, sendo as maiores respostas esperadas com arrozeiro cultivado sobre gramíneas e ambientes de produção que apresentam condições ideais para o bom desenvolvimento da cultura (FERRARI *et al.*, 2020; TIAN *et al.*, 2021).

O parcelamento do N pode ser realizado em até três aplicações, sendo a primeira no sulco de semeadura, a segunda e a terceira no estágio V3-V4 e V7-V8, respectivamente, utilizando preferencialmente fonte amoniacal, uma vez que apresenta maior eficiência de aproveitamento pela cultura, pois é a forma na qual a planta gasta menos energia para assimilar esse N em outros compostos orgânicos (MORO *et al.*, 2017).

O potássio (K) tem grande importância na translocação de carboidratos, na condutância estomática (tolerância à seca) e na ativação enzimática das plantas. Em busca de avaliar a interação entre N e K, um experimento mostrou um efeito sinérgico entre os dois nutrientes com respostas de até 120 kg ha⁻¹ de potássio (K₂O), atingindo mais de 7 t ha⁻¹ de grãos de arroz (XU *et al.*, 2023). Já em trabalho conduzido em solo com teor médio a alto de fertilidade, houve incremento de produtividade com aplicação de até 70 kg ha⁻¹ de K₂O (OJHA *et al.*, 2021). Portanto, a dose a ser aplicada irá variar de acordo com o sistema de produção, fertilidade do solo e potencial produtivo da cultura.

O fósforo (P) atua no crescimento radicular e faz parte das moléculas de energia das plantas, portanto, torna-se indispensável a planta estar bem nutrida com esse macronutriente. Além disso, o P pode ser fornecido à cultura de várias formas, seja através de fertilizante mineral, fosfatos naturais ou compostos orgânicos. As maiores produtividades do arrozeiro se obtêm desde a aplicação de adubações por reposição, quando cultivado em solo com alto teor de P, até a aplicação de 100 kg ha⁻¹ de P₂O₅, quando cultivado sobre solo com baixo teor (menor que 15 mg dm⁻³ – resina) (ZHANG *et al.*, 2021).

Mesmo sabendo que a cultura do arrozeiro absorve pouco P (4,6 kg t⁻¹ de grãos) em comparação com o nitrogênio e o potássio (CRUSCIOL *et al.*, 2016), são aplicadas doses semelhantes, devido à baixa eficiência do fertilizante aplicado via solo, em que é aproveitado até 25% pelas plantas no primeiro ano de aplicação (ROBERTS; JOHNSTON, 2015).

A calagem é uma prática de suma importância nos sistemas de produção de grãos, principalmente em áreas de baixa fertilidade e acidez elevada. Essa prática, além de elevar o pH do solo a níveis adequados, é importante para fornecer cálcio e magnésio às plantas, bem como por aumentar a disponibilidade de outros nutrientes (CHANG; SUNG, 2004).

Os principais fatores limitantes de produtividade dos Latossolos (a maior parte dos solos brasileiros são constituídos por esse tipo) são o pH do solo, a indisponibilidade de cálcio, de magnésio e de fósforo e a presença de alumínio tóxico; fatores que podem ser minimizados pela aplicação de calcário (FAGERIA; BALIGAR, 2008).

Ainda que a cultura do arroz seja tolerante à acidez do solo, apresenta resposta em produtividade com incremento do pH em 6,2 (H₂O), sendo a

saturação por bases do solo para atingir a máximas produtividades de 50 a 60% (FAGERIA; BALIGAR, 2008). Portanto, a dose adequada deve ser calculada de acordo com as condições de solo de cada local, do mesmo modo, é de suma importância a escolha correta do calcário para fornecer de forma equilibrada cálcio e magnésio para a cultura, já que existem calcários com diferentes concentrações de óxidos de cálcio e magnésio.

A aplicação de gesso agrícola também é uma tecnologia que pode ser utilizada na cultura do arroz, tanto para o fornecimento de cálcio e enxofre quanto para condicionar subsuperfície para o melhor crescimento das raízes do arrozeiro e tornar a cultura menos sensível às intempéries climáticas. Quando o objetivo for somente o fornecimento de enxofre, essa fonte pode ser substituída por outras, como sulfato de amônio, superfosfato simples ou, até mesmo, enxofre elementar; porém, não terá os efeitos de condicionamento de subsuperfície. De tal forma que vários trabalhos mostram incremento de produtividade quando aplicado esse produto nas lavouras (PEMA *et al.*, 2022; GOIBA *et al.*, 2022).

Atualmente, com variedades cada vez mais produtivas e exigentes em fertilidade do solo, torna-se importante a aplicação de micronutrientes a fim de maximizar a produtividade do arrozeiro. Os dois principais micronutrientes que acarretam a limitação de produtividade às gramíneas são o boro (B) e o Zn: o B importante na formação da parede celular das plantas (ROSOLEM; BOGIANI, 2014) e no auxílio do transporte de carboidratos das folhas aos drenos (ZHAO; OOSTERHUIS, 2002); o Zn tem função importante na ativação enzimática e na relação direta com a produção de alguns hormônios vegetais, além de aumentar a eficiência fotossintética das plantas (HASSAN *et al.*, 2020).

A aplicação de B em solos que contêm baixo teor desse nutriente ($<0,2 \text{ mg dm}^{-3}$) é de suma importância para maximizar a produtividade do arrozeiro. A melhor forma de fornecer tal nutriente é via solo, encontrando resposta com a aplicação de até $1,5 \text{ kg ha}^{-1}$ de B (HUSSAIN *et al.*, 2012), sendo que, em caso de cultivo de arroz em regiões que apresentam altas temperaturas, a aplicação de B é uma boa estratégia para minimizar essa condição não ideal para o desenvolvimento da cultura, pois aumenta a viabilidade dos grãos de pólen (SHAHID *et al.*, 2018).

O fornecimento de Zn pode ser realizado com aplicações via sementes, foliar e solo, de modo que a última maneira é a mais indicada quando o teor no solo for baixo, no qual é encontrado resposta de até 10 kg ha^{-1} de Zn (FAROOQ *et al.*, 2018).

O cobre manganês e o ferro são nutrientes importantes nos processos bioquímicos das plantas que, conseqüentemente, influencia na taxa fotossintética. Na maioria das áreas, o teor desses nutrientes no solo é adequado, porém, nos sistemas de cultivos atuais, sem ou com o menor revolvimento mínimo do solo, a calagem é realizada superficialmente. Assim, o pH do solo na camada de 0-5 cm fica próximo a 7, causando indisponibilidade dos nutrientes metálicos nessa camada do solo (FAGERIA; BALIGAR, 2008) e podendo haver respostas

de micronutrientes metálicos, como cobre, manganês e ferro, além do Zn que apresenta baixo teor na maioria dos solos, independentemente do sistema de cultivo.

4 MICRORGANISMOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO: BACTÉRIAS E FUNGOS

A procura por aumentar os índices produtivos na agricultura pode gerar problemas de ordem econômica e ambiental, isso em consequência das altas quantidades de fertilizantes químicos utilizados no sistema produtivo. A influência das chuvas pode agravar esse fator, devido aos fertilizantes utilizados e, até mesmo, aos agroquímicos serem facilmente levados pelas chuvas através de lixiviação e erosão, carregando consigo parte do lucro e da sanidade ambiental (DIAS; SANTOS, 2022).

Com isso, há demanda por pesquisas voltadas à utilização de métodos naturais que possam ser implantados na agricultura e que, aliados com as tecnologias já existentes, possam proporcionar um sistema produtivo mais responsivo e ecologicamente viável. A utilização de microrganismos promotores de crescimento de plantas apresenta crescente demanda no setor produtivo, em razão do seu grande leque de possibilidades de utilização e das diversas funções que podem ser utilizadas para melhorar o desempenho da planta. Por diminuição dos efeitos do estresse hídrico e de salinidade do solo, pode-se exemplificar a fitoextração de metais pesados, o balanço hormonal, o biocontrole de fitopatógenos, a mineralização e a fixação de nutrientes (DIAS; SANTOS, 2022).

Os microrganismos, promotores de crescimento, têm como característica ser de vida livre, na qual podem influenciar direta ou indiretamente as plantas e possuem capacidade de se adentrarem em tecidos vegetais ou de colonizarem a superfície da rizosfera da planta, provocando uma ação simbiótica com a mesma, em que geram benefícios mútuos (GLICK, 2012). A ação direta tem função de facilitar a absorção de nutrientes e síntese de fitormônios que afetam diretamente o desenvolvimento vegetal (NOVO *et al.*, 2018). Já a ação indireta consiste em uma série de eventos biológicos, que atua no controle de fitopatógenos por meio de produção de compostos antagônicos ou de indução de uma resistência sistêmica (SARAF; PANDYA; THAKKAR, 2014).

Um exemplo, é a utilização de alguns grupos de bactérias que são produtoras de hormônios vegetais, como o ácido indolacético (responsável pelo crescimento vegetal na região meristemática da planta), as citocininas (têm função de reduzir a senescência dos órgãos vegetais, tendo sobrevida nos mecanismos fotossintéticos), e, também, as bactérias produtoras de giberelina (induz o alongamento celular, proporciona quebra da dormência e do desenvolvimento das folhas e frutos) (TAIZ *et al.*, 2017).

Na busca por melhoria do sistema produtivo do arroz, são realizadas pesquisas com o *Trichoderma*, um fungo hemibiotrófico eficaz no controle

de fitopatógenos (SOUZA, 2014), como promotor de crescimento e indutor de crescimento (LOUZADA *et al.*, 2009). Segundo Souza (2014), a aplicação de *Trichoderma* por inoculação no arroz proporcionou aumento de 46% na produção de biomassa vegetal em comparação com o tratamento controle. Observou, ainda, melhora na intensidade de troca gasosa, maior absorção de nutrientes e supressão da brusone. Doni *et al.* (2014) observaram, também, desenvolvimento superior da parte vegetativa com o uso de *Trichoderma*, além de maior comprimento de raiz.

Outra importante estratégia no desenvolvimento de gramíneas é com o uso de *Azospirillum brasilense*, que pertence a classe alfaproteobacterias, considerado de vida livre (BALDANI; BALDANI, 2005). Esse microrganismo é capaz de fixar nitrogênio, além de apresentar outras finalidades, como a liberação de reguladores de crescimento auxinas, citocininas e giberelina (PALDI; BURDMAN; OKON, 2012). Segundo Guimarães (1998), dependendo da cultivar de arroz, o aumento na produção de grãos pode chegar a 50%.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste capítulo, buscou-se destacar a importância da pesquisa no desenvolvimento de novos cultivares de arroz de terras altas, visto a grande demanda mundial por grãos, além de grãos biofortificados. Ademais, que a rizicultura moderna busca o fornecimento equilibrado de nutrientes, promovendo uma lavoura saudável e produtiva.

A utilização de microrganismos promotores de crescimento é recente na cultura do arroz. Porém, apresenta grande potencial de utilização e expansão, nas quais pesquisas em diversas áreas da rizicultura devem ser estimuladas, para o aumento da área cultivada, bem como da produtividade.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (Processos nº 2014/20351-5 e nº 2018/18895-8).

REFERÊNCIAS

- BALDANI, J. I.; BALDANI, V. L. D. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: special emphasis on the Brazilian experience. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 77, n. 3, p. 549-579, 2005.
- CAKMAK, I.; KALAYCI, M.; KAYA, Y.; TORUN, A. A.; AYDIN, N.; WANG, Y.; ARISOY, Z.; ERDEM, H.; YAZICI, A.; GOKMEN, O.; OZTURK, L.; HORST W.J. Biofortification and localization of zinc in wheat grain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 58, n. 16, p. 9092-9102, 2010.
- CHANG, C. S.; SUNG, J. M. Nutrient uptake and yield responses of peanuts and rice to lime and fused magnesium phosphate in an acid soil. **Field Crops Research**. [s. l.], v. 89, n. 2-3, p. 319-325, 2004.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **AgroConab**, Brasília, v. 1, n. 11, 2022.

CRUSCIOL, C. A. C.; FERNANDES, A. M.; CARMEIS FILHO, A. C. D. A.; ALVAREZ, R. D. C. F. Macronutrient uptake and removal by upland rice cultivars with different plant architecture. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 40, p. 1-20, 2016.

CUNHA, M. L. O.; OLIVEIRA, L. C. A.; SILVA, V. M.; MONTANHA, G. S.; REIS, A. R. Selenium increases photosynthetic capacity, daidzein biosynthesis, nodulation and yield of peanuts plants (*Arachis hypogaea* L.). **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 190, p. 231-239, 2022

DIAS, A. S.; SANTOS, C. C. **Bactérias promotoras de crescimento de plantas: conceitos e potencial de uso**. Nova Xavantina: Pantanal, 2022.

DONI, F.; ISAHAK, A.; CHE MOHD ZAIN, C. R.; WAN YUSOFF, W. M. Physiological and growth response of rice plants (*Oryza sativa* L.) to *Trichoderma* spp. inoculants. **Amb Express**, [s. l.], v. 4, p. 1-7, 2014.

FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C. Ameliorating soil acidity of tropical Oxisols by liming for sustainable crop production. **Advances in agronomy**, [s. l.], v. 99, p. 345-399, 2008.

FAROOQ, M.; ULLAH, A.; REHMAN, A.; NAWAZ, A.; NADEEM, A.; WAKEEL, A.; NADEEM, F.; SIDDIQUE, K. H. Application of zinc improves the productivity and biofortification of fine grain aromatic rice grown in dry seeded and puddled transplanted production systems. **Field Crops Research**, [s. l.], v. 216, p. 53-62, 2018.

FERRARI, S.; CORDEIRO, L. F. S.; CARARA, L. G. D.; NASCIMENTO, V.; LOPES, P. R. M.; PRADO, E. P.; VIANA, R. S. Effect of Trinexapac-ethyl associated with nitrogen fertilization on upland rice nutritional status and grain yield. **Research, Society and Development**, Vargem Grande Paulista, v. 9, n. 11, p. 1-16, 2020.

FERRARI, S.; CUNHA, M. L. O.; POLYCARPO, G. do V.; ZIED, D. C.; OLIVEIRA, L. C. A.; FURLANI JÚNIOR, E. Genotypic variation in grain nutritional content and agronomic traits of upland rice: strategy to reduce hunger and malnutrition. **Cereal Research Communications**, Switzerland, v. 50, p. 1155-1163, 2022.

FUKAGAWA, N. K.; ZISKA, L. H. Rice: importance for global nutrition. **Journal of nutritional science and vitaminology**, Tokyo, v. 65, n. Supp., p. S2-S3, 2019.

GLICK, B. R. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. **Scientifica**, Cairo, v. 2012, p. 1-15, 2012.

GOIBA, P. K.; PRAKASH, N. B.; DHUMGOND, P.; SHRUTHI, G. S. Application of slag based gypsum in rice crop and its effect on growth, yield and nutrient availability in acidic, neutral and alkaline soils. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, [s. l.], v. 54, n. 11, p. 1510-1524, 2022

GREGORIO, G. B. Progress in breeding for trace minerals in staple crops. **The Journal of Nutrition**, New York, v. 132, n. 3, p. 500S-502S, 2002.

GUIMARÃES, S. L.; GRAÇA, C. O.; SILVA, R. A.; SANTOS, C. C. R.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I.; DÖBEREINER, J. Efeito da inoculação de bactérias diazotróficas endofíticas na cultura de arroz sob condições de campo. *In*: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 23.; REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 7.; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 5.; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 2., 1998, Caxambu. **Anais** [...]. Lavras: UFLA; SBCS; SBM, 1998. p. 791.

HAIDER, M. U.; HUSSAIN, M.; FAROOQ, M.; NAWAZ, A. Zinc nutrition for improving the productivity and grain biofortification of mungbean. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, [s. l.], v. 20, n. 3, p. 1321-1335, 2020.

HASSAN, M. U.; AAMER, M.; CHATTHA, M. U.; HAIYING, T.; SHAHZAD, B.; BARBANTI, L.; NAWAZ, M.; RASHEED, A.; AFZAL, A.; LIU, Y.; GUOQIN, H. The critical role of zinc in plants facing the drought stress. **Agriculture**, [s. l.], v. 10, n. 9, p. 1-20, 2020.

HUSSAIN, M.; KHAN, M. A.; KHAN, M. B.; FAROOQ, M.; FAROOQ, S. Boron application improves growth, yield and net economic return of rice. **Rice Science**, [s. l.], v. 19, n. 3, p. 259-262, 2012.

JIANG, S. L.; WU, J. G.; TANG, N. B.; FENG, Y.; YANG, W. E.; SHI, C. H. Genotypic variation of mineral elements contents in rice (*Oryza sativa* L.). **European Food Research and Technology**, [s. l.], v. 228, p. 115-122, 2008.

KUMAR, J.; CHAWLA, A.; KUMAR, P.; JAIN, R. K. Iron and zinc variability in twenty rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. **Annals of Biology**, [s. l.], v. 28, n. 2, p. 90-92, 2012.

LOUZADA, G. A. S.; CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M.; LOBO JÚNIOR, M.; MARTINS, I.; BRAUNA, L. M. Antagonist potential of *Trichoderma* spp. from distinct agricultural ecosystems against *Sclerotinia sclerotiorum* and *Fusarium solani*. **Biota Neotropica**, Campinas, v. 9, n. 3, p. 145-149, 2009.

MAGANTI, S.; SWAMINATHAN, R.; PARIDA, A. Variation in iron and zinc content in traditional rice genotypes. **Agricultural research**, [s. l.], v. 9, p. 316-328, 2020.

MORO, E.; CRUSCIOL, C. A. C.; NASCENTE, A. S.; CANTARELLA, H.; BROETTO, F.; MORO, A. L. Nitrate reductase, micronutrients and upland rice development as influenced by soil pH and nitrogen sources. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, London, v. 48, n. 22, p. 1-10, 2017.

NACHIMUTHU, V. V.; ROBIN, S.; SUDHAKAR, D.; RAJESWARI, S.; RAVEENDRAN, M.; SUBRAMANIAN, K. S.; TANNIDI, S.; PADIAN, B. A. Genotypic variation for micronutrient content in traditional and improved rice lines and its role in biofortification programme. **Indian Journal of Science and Technology**, [s. l.], v. 7, n. 9, p. 1414-1425, 2014.

NASIRI, E.; SABOURI, A.; FORGHANI, A.; ESFAHANI, M. Grouping of rice genotypes based on grain iron, zinc, manganese and protein and performance measurement of linked microsatellite markers. **Plant Genetic Researches**, [s. l.], v. 5, n. 2, p. 73-84, 2019.

NOVO, L. A. B.; CASTRO, P. M. L.; ALVARENGA, P.; SILVA, E. F. Plant growth-promoting rhizobacteria-assisted phytoremediation of mine soils. **Bio-geotechnologies for Mine Site Rehabilitation**, [s. l.], v. 16, p. 281-295, 2018.

OJHA, R. B.; SHRESTHA, S.; KHADKA, Y. G.; PANDAY, D. Potassium nutrient response in the rice-wheat cropping system in different agro-ecozones of Nepal. **PloS one**, [s. l.], v. 16, n. 3, 2021.

PALDI, S. F.; BURDMAN, S.; OKON, Y. Key physiological properties contributing to rhizosphere adaptation and plant growth promotion abilities of *Azospirillum brasilense*. **FEMS Microbiology Letters**, [s. l.], v. 326, p. 99-108, 2012.

- PATIL, R.; DIWAN, J. R.; NIDAGUNDI, J. M.; LOKESHA, R.; RAVI, M. V. BORANAYAK, M. B.; DIKSHITH, S. Genetic diversity of brown rice for iron and zinc content. **Electronic Journal of Plant Breeding**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 196-203, 2015.
- PEMA, K. G.; NAGABOVANALLI, P. B.; PRABHUDEV, D.; LINGAPPA, M.; HAMSA, N.; SHRENIVAS, A. Comparison of slag-based gypsum with commercial gypsum as a nutrient source on soil properties, nutrient uptake and yield of rice (*Oryza sativa* L.) under aerobic and wetland conditions. **Archives of Agronomy and Soil Science**, [s. l.], v. 69, n. 4, p. 491-506, 2022.
- PROM-U-THAI, C.; SHU, F.; GODWIN, I. D.; HUANG, L. B. Genotypic variation of iron partitioning in rice grain. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s. l.], v. 87, n. 11, p. 2049-2054, 2007.
- RAZA, Q.; SAHER, H.; SHAHZADI, F.; RIAZ, A.; BIBI, T.; SABAR, M. Genetic diversity in traditional genotypes for grain iron, zinc and beta-carotene contents reveal potential for breeding micronutrient dense rice. **Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences**, [s. l.], v. 7, n. 2, p. 194-203, 2019
- REIS, H. P. G.; BARCELOS, J. P. de Q.; FURLANI JÚNIOR, E.; SANTOS, E. F.; SILVA, V. M.; MORAES, M. F.; PUTTI, F. F.; REIS, A. R. Agronomic biofortification of upland rice with selenium and nitrogen and its relation to grain quality. **Journal of Cereal Science**, [s. l.], v. 79, p. 508-515, 2018.
- ROBERTS, T. L.; JOHNSTON, A. E. Phosphorus use efficiency and management in agriculture. **Resources, conservation and recycling**, [s. l.], v. 105, p. 275-281, 2015.
- ROSOLEM, C. A.; BOGIANI, J. C. Nutrição e estresses nutricionais em algodoeiro. *In: O algodoeiro e os estresses abióticos: temperatura, luz, água e nutrientes*. 1. ed. Cuiabá: Instituto Mato-Grossense do Algodão, 2014. p. 103-121.
- SARAF, M.; PANDYA, U.; THAKKAR, A. Role of allelochemicals in plant growth promoting rhizobacteria for biocontrol of phytopathogens. **Microbiology Research**, [s. l.], v. 169, n. 1, p. 18-29, 2014.
- SHAHID, M.; NAYAK, A. K.; TRIPATHI, R.; KATARA, J. L.; BIHARI, P.; LAL, B.; GAUTAM, P. Boron application improves yield of rice cultivars under high temperature stress during vegetative and reproductive stages. **International Journal of Biometeorology**, [s. l.], v. 62, n. 8, p. 1375-1387, 2018.
- SHUBHAM, K.; ANUKIRUTHIKA, T.; DUTTA, S.; KASHYAP, A. V.; MOSES, J. A.; ANANDHARAMAKRISHANAN, C. Iron deficiency anemia: a comprehensive review on iron absorption, bioavailability and emerging food fortification approaches. **Trends in Food Science & Technology**, [s. l.], v. 99, p. 58-75, 2020.
- SILVA, O. F.; WANDER, A. E.; FERREIRA, C. M. Cultivo do arroz: estatística de produção. **Embrapa Arroz e Feijão**, Santo Antonio de Goiás, 2019. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/arroz/pre-producao/socioeconomia/estatistica-de-producao>. Acesso em: 9 maio 2023.
- SOUZA, A. C. A. **Interação entre silicato de cálcio e magnésio e bioagentes na supressão de brusone foliar**. 2014. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento**

vegetal. Porto Alegre: Artmed, 2017. v. 6.

TIAN, C.; ZHOU, X.; DING, Z.; LIU, Q.; XIE, G.; PENG, J.; RONG, X.; ZHANG, Y.; YANG, Y.; EISSA, M. A. Controlled-release N fertilizer to mitigate ammonia volatilization from double-cropping rice. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, [s. l.], v. 119, n. 1, p. 123-137, 2021.

XU, W.; LI, J.; FENG, J.; SHAO, Z.; HUANG, Y.; HOU, W.; GAO, Q. Nitrogen and potassium interactions optimized asynchronous spikelet filling and increased grain yield of japonica rice. **PeerJ**, [s. l.], v. 11, p. 1-20, 2023.

ZENG, Y.; ZJANG, H.; WANG, L; PU, X.; DU, J.; YANG, S.; LIU, J. Genotypic variation in element concentrations in brown rice from Yunnan landraces in China. **Environmental Geochemistry and Health**, [s. l.], v. 32, p. 165-177, 2010.

ZHANG, Y.; ZHANG, W.; WU, M.; LIU, G.; ZHANG, Z.; YANG, J. Effects of irrigation schedules and phosphorus fertilizer rates on grain yield and quality of upland rice and paddy rice. **Environmental and Experimental Botany**, [s. l.], v. 186, p. 1-12, 2021.

ZHAO, D.; OOSTERHUIS, D. M. Cotton carbon exchange, nonstructural carbohydrates, and boron distribution in tissues during development of boron deficiency. **Field Crops Research**, [s. l.], v. 78, n. 1, p. 75-87, 2002.

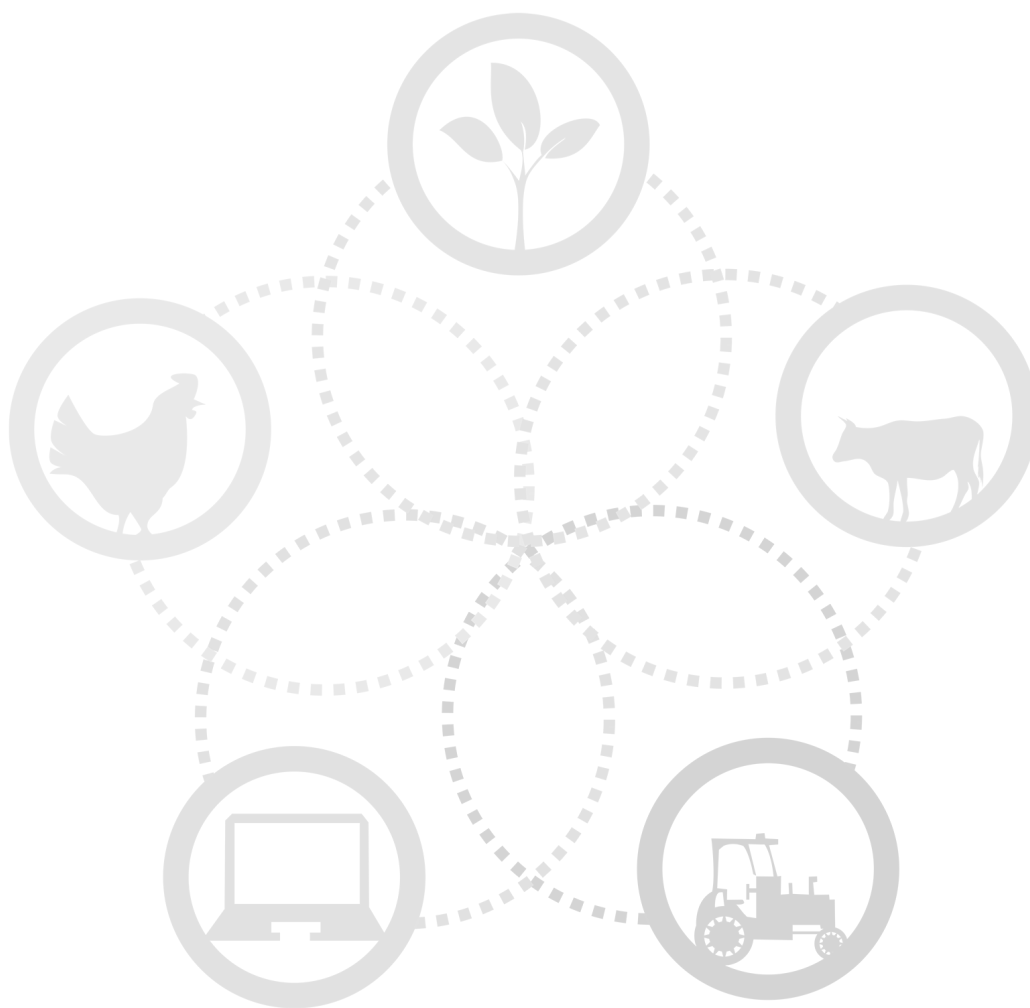




Foto de Felix Mittermeier em Pexels
(<https://www.pexels.com/pt-br/foto/worms-eyevew-of-green-trees-957024/>)



PARTE 2

RECURSOS FLORESTAIS

- 7** Restauração da qualidade do solo utilizando sistema agroflorestal
- 8** Produção sustentável de mudas de espécies florestais e hortícolas
- 9** Complexo crosta negra em seringueira: o que sabemos sobre esta doença atualmente?

CAPÍTULO 7

RESTAURAÇÃO DA QUALIDADE DO SOLO UTILIZANDO SISTEMA AGROFLORESTAL

Melissa Alexandre Santos

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira,
Programa de Pós-Graduação em Agronomia -
Sistemas de Produção, Ilha Solteira, São Paulo,
Brasil.

Carolina dos Santos Batista Bonini*

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Departamento de Produção Vegetal, Dracena,
São Paulo, Brasil.

***Autora correspondente:**

carolina.bonini@unesp.br

José Augusto Liberato de Souza

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira,
Programa de Pós-Graduação em Agronomia -
Sistemas de Produção, Ilha Solteira, São Paulo,
Brasil.

Vitor Corrêa de Mattos Barretto

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Departamento de Produção Vegetal, Dracena,
São Paulo, Brasil.

Reges Heinrichs

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Departamento de Produção Vegetal, Dracena,
São Paulo, Brasil.

Resumo

Sistemas com base agroecológica se mostram mais eficazes em relação às demandas de segurança alimentar e nutricional, fortalecendo as mudanças nos sistemas tradicionais do setor agropecuário. Diante de discussões sobre os métodos de cultivo e produção de alimentos, os sistemas agroflorestais são uma das estratégias que têm se destacado como alternativa em contramão à agricultura convencional. Como alternativa de produção, tais sistemas também têm se mostrado como possíveis mitigadores das consequências causadas pela agricultura convencional realizada de forma inadequada, além de promoverem resultados positivos quanto à qualidade do solo e ambiental, estabilidade ecológica e aproximação com a condição natural desse. A qualidade física e química dos solos agrícolas pode ser afetada pelo sistema de manejo utilizado, sendo que o uso intensivo do solo promove modificações em seus atributos, principalmente na estrutura que, durante vários anos, podem degradar os solos, reduzindo a produtividade e aumentando os custos de produção, refletindo, assim, na diminuição da qualidade do solo. Com essas reflexões, apresentamos este capítulo, que irá abordar resultados de pesquisas sobre a qualidade do solo em sistema agroflorestal em restauração.

1 INTRODUÇÃO

Entre as atividades que mais causam impactos ambientais a nível mundial, está a agricultura. A agricultura utiliza, aproximadamente, 80% da água doce disponível, impacta diretamente os processos naturais e, quando as práticas de manejo não são realizadas de maneira adequadas, pode provocar erosões e contaminações ambientais em grande escala (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS [FAO], 2016).

O sistema convencional de agricultura atual associa a monocultura à utilização de máquinas para o preparo de solo. Tal sistema, realizado de forma inadequada, tem como resultado um solo com modificações negativas quanto a sua qualidade. O desmatamento e a implantação de monoculturas em grandes áreas - sem a adoção de práticas conservacionistas, como a utilização de matéria orgânica e, para além disso, o uso excessivo de insumos sintéticos para adubação, correção do pH, herbicidas, entre outros - resultam na aniquilação de boa parte dos microrganismos presentes no solo, restando poucas espécies que auxiliam no equilíbrio dos nutrientes (PRIMAVESI, 2016).

A agricultura familiar tem apresentado grande relevância diante do cenário macroeconômico do Brasil. Nos dados do plano safra 2017/2020, elaborado pelo Ministério de Desenvolvimento Agrário (BRASIL, 2017), no país há, aproximadamente, 4,4 milhões de famílias agricultoras, o que representa 84% dos estabelecimentos rurais brasileiros; ademais, 38% do valor bruto da produção agropecuária é originada desse setor, representa mais de 50% do constituinte dos alimentos da cesta básica e, ainda, sete a cada dez empregos no setor agropecuário são providos por meio dessa categoria.

O estudo da agricultura, em seus mais diversos espectros, questões sociais e globais, é essencial para que haja a compreensão de que o seu desenvolvimento é o resultado de um conjunto de fatores e que, através dessas novas informações e percepções, será possível almejar a verdadeira agricultura sustentável. Para isso, a agroecologia tem sido utilizada como base para alcançar uma visão unidimensional dos agroecossistemas, focando, não apenas nesse nicho, mas nas inter-relações humanas, ambientais, sociais, políticas, culturais e econômicas (ALTIERI, 2012).

A funcionalidade do solo dentro do ecossistema, seja manejado pelo homem ou naturalmente, resulta em sua qualidade, isto é, representa que ali há capacidade de manutenção da atividade biológica e qualidade ambiental, proporcionando condições para o crescimento e desenvolvimento da fauna e da flora.

O solo, por ser um organismo vivo e complexo, possui diversos componentes para realizar suas funções, como, por exemplo, a fertilidade. Assim, o manejo e o uso do solo podem influenciar diretamente em seus atributos, sejam eles físicos, químicos e/ou biológicos. Por isso, é de suma importância avaliar com frequência o efeito que o manejo, ou a ausência dele, pode provocar em sua estrutura. Esses efeitos podem ser avaliados através de indicadores quantitativos e/ou qualitativos para determinação da qualidade

do solo e, assim, diagnosticar o nível de sustentabilidade dos sistemas.

A utilização consciente e sustentável dos recursos naturais é uma preocupação crescente na atualidade. Por isso, técnicas que favoreçam a biodiversidade vêm sendo estudadas a fim de valorizar sistemas alternativos de produção, visando a racionalização de área e também a conservação do solo e da água.

2 SISTEMAS AGROFLORESTAIS COMO ALTERNATIVA PARA A RECUPERAÇÃO E A CONSERVAÇÃO DO SOLO

Os sistemas agrícolas integrados são semelhantes aos ecossistemas naturais, porém mais complexos quanto ao sistema de cultivo, cujo objetivo é ampliar os rendimentos e intensificar o uso do solo para aumentar a área de produção do campo sustentavelmente (MORAES *et al.*, 2019). Além disso, tais sistemas abrangem interações entre espaço e tempo, em diversas escalas, com manejos realizados na mesma área ou entre áreas em escala territorial (MORAES *et al.*, 2019).

A utilização de árvores com diferentes usos (frutíferas, florestais, etc.), interagindo com culturas, pastagem e espécies animais, em regiões áridas e semiáridas, é predominante em sistemas agroflorestais. Ao acrescentar árvores no sistema produtivo, o manejo se torna mais diversificado e complexo, em decorrência das relações positivas, negativas e neutras entre as espécies de plantas situadas no mesmo ambiente (PEZZOPANE *et al.*, 2017).

A legislação brasileira trata dos sistemas agroflorestais (SAF) em distintos instrumentos, como na Instrução Normativa 4 de 2009, do Ministério do Meio Ambiente, e na Resolução CONAMA nº 425, de 2010 (BRASIL, 2009, 2010). No Decreto nº 7.830, de 17 de outubro de 2012, artigo 2º, inciso XVI, tais sistemas são definidos como:

Sistema de uso e ocupação do solo em que plantas lenhosas perenes são manejadas em associação com plantas herbáceas, arbustivas, arbóreas, culturas agrícolas, forrageiras em uma mesma unidade de manejo, de acordo com arranjo espacial e temporal, com alta diversidade de espécies e interações entre estes componentes. (BRASIL, 2012).

Os SAF sobressaem os diferentes modelos de produção e sugerem a sustentabilidade, pois partem dos conceitos básicos da agroecologia. Além disso, somam os conhecimentos tradicionais e históricos do local onde o sistema está implantado, projetando, assim, sistemas adaptados para o potencial natural desse lugar (GÖTSCH, 1995).

Ainda que existam muitos sistemas de cultivo com base agroflorestal, há particularidades em cada sistema, tornando-o único e diferente de outros que utilizam as mesmas bases, pois, apesar das práticas serem semelhantes, as características regionais, sociais, culturais e ambientais são distintas em cada SAF (NAIR; VISWANATH; LUBINA, 2016).

São diversos os termos e as divisões de categorias de sistemas agroflorestais, tais divisões objetivam o desenvolvimento de ações para melhorar o manejo e obter melhores resultados na produção. Dentre as categorias - termos agrupados de acordo com sua estruturação -, estão os grupos mais usuais entre os agricultores: a silvicultura (inserção de pastagem e animais junto com espécies arbóreas) e a agrossilvicultura (inserção de culturas anuais, pastagem e animais junto com espécies arbóreas) (NAIR, 1991).

Apesar das classificações serem conhecidas e muito utilizadas, não representam todos os modelos agroflorestais existentes. Isso porque é necessário conhecer e se inspirar no ecossistema original no qual se pretende inserir o sistema, além de compreender outros fatores essenciais, como as interações dos elementos ambientais e a realidade da região (GÖTSCH, 1995; TORQUEBIAU, 2000).

Os SAF possuem o potencial de realizar uma diminuição nos impactos negativos em relação ao solo, auxiliando no equilíbrio entre os componentes naturais: solo, água, ar, microclima, paisagem, fauna e flora (MCGRATH *et al.*, 2000).

Além de auxiliar no equilíbrio dos recursos naturais, os SAF colaboram na proteção e manutenção da biodiversidade, e na mitigação dos impactos dos gases do efeito estufa e aquecimento global. Esses sistemas também podem promover o equilíbrio do ciclo hidrológico, a diminuição de erosão e assoreamento do solo, a ciclagem de nutrientes e têm potencial de elevar a fertilidade do solo, colaborando positivamente nas propriedades físicas, biológicas e químicas do solo (MICCOLIS, 2016).

A qualidade do solo é afetada diretamente pelos SAF, tanto no aumento da qualidade quanto na manutenção desta. A estruturação do solo pode ser influenciada positivamente, proporcionando sua melhora, devido ao acréscimo de material orgânico proveniente de fontes, como as podas das árvores, a inserção de material vegetal urbano (folhas secas), os resíduos de roçagem (gramíneas), entre outros. A ação das raízes, dos macros e microrganismos do solo também promove tais modificações positivas, contribuindo para a diminuição da erosão, a regulação da quantidade e disponibilidade de água, a melhoria da qualidade da água, o aumento da recarga das águas subterrâneas e o fornecimento de proteção do solo (NAIR; KUMAR; NAIR, 2009; TOBELLA *et al.*, 2014; PAVLIDIS; TSIHRINTZIS, 2017).

Em trabalhos sobre a avaliação dos impactos de sistemas agroflorestais com diferentes períodos de implantação, sendo um com 7 e outro com 9 anos, Pezarico *et al.* (2013) analisaram os atributos físicos, químicos e biológicos como indicadores de qualidade do solo em relação a outros sistemas produtivos (Ervat, em sistema silvicultural, Lavoura, com soja e Mata, como referência da condição original do solo), e constataram a melhoria da qualidade do solo, estando próximo ao tratamento referencial, no caso a mata nativa, quando utilizados os sistemas agroflorestais estudados.

3 QUALIDADE DO SOLO E SEUS INDICADORES

O solo é um dos recursos naturais essenciais para a sobrevivência, uma vez que é fundamental para o ecossistema como um todo. Segundo a FAO (2015), estima-se que 33% de todo o solo global estão comprometidos, devido aos processos de degradação. Dessa forma, questões relacionadas à qualidade do solo estão cada vez mais presentes nas discussões sobre as maneiras de mitigar e desacelerar esses processos.

O solo é um dos recursos naturais mais suscetíveis ao processo de degradação causado pelo homem, tendo suas características naturais alteradas devido à exploração inadequada. A história do uso do solo mostra que essa alteração sempre dá lugar a um novo sistema ecológico não sustentável; desse modo, solos utilizados intensamente e de forma inadequada são levados à degradação (ALVES; SOUZA, 2008).

Ao visar a produção agropecuária e, ao mesmo tempo, a preservação do meio ambiente, se faz necessária a manutenção da qualidade do solo, que pode, inclusive, apresentar melhorias, sendo fundamental para a sustentabilidade dos agroecossistemas (DORAN; JONES, 1996). Para a avaliação e o monitoramento da qualidade do solo, é necessário avaliar, principalmente, a capacidade do solo e o seu estado atual, bem como em períodos distintos, realizando uma comparação com o solo sob condição natural - como uma área nativa, por exemplo - ou através de parâmetros disponíveis na literatura, considerados como ideais de acordo com o tipo de solo (DORAN; PARKIN, 1994).

Assim, é fundamental compreender os efeitos que ocorrem nos sistemas integrados e na estrutura física do solo para avaliar as vantagens e desvantagens de sua utilização (REIS *et al.*, 2021). A estrutura física do solo é influenciada através de processos dinâmicos (matéria orgânica, trocas gasosas, transferências de calor, taxa de infiltração de água e transporte de solutos), que são influenciados por intervenções antropogênicas ou naturais, promovendo alterações na arquitetura dos poros, macroagregados e microagregados.

Dessa forma, pesquisar sobre as alterações que ocorrem no solo é crucial para entender o comportamento da porosidade sob distintos manejos agrícolas (JURY; HORTON, 2004; ARMINDO; WENDROTH, 2016; BORGES *et al.*, 2019; GALDOS *et al.*, 2019). É necessário que novas tecnologias e manejos adequados sejam buscados para o desenvolvimento apropriado do sistema, visando o todo e a racionalização das alternativas agronômicas que auxiliem em uma agricultura desejada (OLIVEIRA, 2015).

Solos arenosos, por muitas vezes, são grandes vilões para agricultores que buscam cultivar determinados terrenos, devido à falta de matéria orgânica necessária para a maioria dos cultivos e a alta suscetibilidade de erosão (TORDIN, 2015).

Os atributos físicos, químicos e biológicos do solo - responsáveis pela estruturação, fertilidade e biodiversidade da vida presente - podem ser influenciados, diretamente, através do manejo e da utilização. Tais atributos compõem um conjunto essencial para que o solo desempenhe suas funções

e projete respostas quanto aos fatores de produtividade e qualidade do solo em questão, se fazendo importante o acompanhamento das práticas realizadas (PRIMAVESI, 2016).

Não é possível avaliar a qualidade do solo de forma direta, ou com poucas variáveis. É necessário existir uma quantidade possível para que se possa responder sobre a qualidade do solo e, para além disso, não é possível realizar essa avaliação de forma direta, mas estimá-la através de indicadores de qualidade do solo (KARLEN; STOTT, 1994; KARLEN *et al.*, 1997; ANDREWS; KARLEN; CAMBARDELLA, 2004).

Os indicadores auxiliam na avaliação dos fatores citados com relação ao solo, utilizando tanto para parâmetros quantitativos quanto qualitativos, para que, assim, as funções relevantes e relativas aos atributos do solo possam avaliar a sustentabilidade dos diferentes agroecossistemas, sejam cultivados ou naturais (ARAÚJO *et al.*, 2012).

Para descrever a qualidade do solo, alguns atributos físicos são essenciais e outros levados em consideração. Entre eles estão: a porosidade e densidade do solo, a condutividade hidráulica, a infiltração de água no solo, a distribuição dos poros por tamanho, a distribuição e o tamanho de partículas e a profundidade em que as raízes crescem (REICHERT; REINERT; BRAIDA, 2003).

As mudanças nas propriedades físicas são muitas, pode-se citar a diminuição da taxa de infiltração do solo, que é influenciada pela redução dos macroporos, o que leva à redução na área da seção transversal para o fluxo de água (SENA, 2016). A agregação do solo é um atributo físico importante para o desenvolvimento das plantas e afeta de modo direto a infiltração de água, a biodiversidade dinâmica da biomassa, a comunidade microbiana, o nutriente, a erosão do solo e a disponibilidade de oxigênio para as raízes (NASCENTE; LI; CRUSCIOL, 2015). Segundo Reichardt e Timm (2004), é essencial conhecer a capacidade de infiltração de água no solo e sua relação com os demais atributos, para que o manejo adotado seja eficiente e dê resultados positivos quanto à qualidade do solo e produtividade.

Em trabalho realizado por Santos (2022), foram utilizados quatro tratamentos de sistema agroflorestal com base agroecológica: área manejada com sistema agroflorestal desde 2014; área manejada com sistema agroflorestal desde 2018; área de mata nativa às margens do Rio Paraná; e área de pastagem que está em pousio desde 2017. Santos (2022) verificou que os valores obtidos em todos os tratamentos estão próximos aos valores de taxa de infiltração de Brandão *et al.* (2012), os quais indicam que solos de textura média apresenta infiltração constante entre 38,1 a 111,8 cm.h^{-1} (Tabela 1), pois em solos de textura arenosa, quando utilizadas para pastagem, é recomendável que a taxa de infiltração esteja na faixa de 38,1 até 111,8 cm.h^{-1} e 38,1 até 94,0 cm.h^{-1} para áreas cultivadas. Bertol *et al.* (2001) constataram redução significativa da infiltração de água no solo, reflexo da diminuição da densidade e da macroporosidade, quando esse se apresenta em pastagens compactadas, devido ao intenso pisoteio animal.

Tabela 1. Valores de CV (%) e teste F a 5% de probabilidade e valores médios da taxa de infiltração da água no solo. Panorama - SP. Dezembro de 2021.

| Tratamento | Taxa de infiltração (cm/h) |
|-------------|----------------------------|
| MATA NATIVA | 41,85 c |
| SAF 2014 | 63,88 bc |
| SAF 2018 | 75,27 ab |
| POUSIO | 98,68 a |
| F trat | 0,00* |
| CV (%) | 16,89 |

*significativo a 5% de probabilidade. Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Santos (2022).

O processo de degradação física do solo propicia seu selamento e, influenciado pelo impacto das gotas da chuva, resulta na redução da taxa de infiltração (LAL, 1974). Souza e Alves (2003) citam que a adoção de técnicas conservacionistas está dentre as alternativas para a diminuição do efeito causado pelo impacto das gotas da chuva e/ou irrigação, isso porque tais técnicas priorizam uma menor mobilização do solo e propiciam elevada proteção da superfície com os resíduos culturais.

Uma das funções principais da matéria orgânica é a agregação do solo, atuando como agente de ligação capaz de estabilizar os agregados (OKOLO *et al.*, 2020), que promove a retenção dos nutrientes e efeitos positivos na comunidade bacteriana (DING *et al.*, 2013; MHETE *et al.*, 2020). Além disso, quando se compara as áreas manejadas com as áreas de campo nativo, nota-se maior concentração de microagregados em áreas manejadas, devido ao fato das áreas de campo nativo terem predominância de grande quantidade de matéria orgânica e raízes, na qual favorece a formação de agregados, através da aproximação das partículas do solo (SOUZA *et al.*, 2019).

Os materiais vegetais, que são dispostos na superfície do solo, podem contribuir na estabilização e diminuição da temperatura nas camadas superficiais, além de influenciar a estrutura do solo, que, quando aplicado junto ao manejo adequado, pode resultar no aumento da porosidade do solo e da estabilidade dos agregados (ALBUQUERQUE *et al.*, 2001; SALTON; MIELNICZUK, 1995). A matéria orgânica está relacionada diretamente à qualidade do solo, além de ser considerada como um bom indicador, essa também tem grande influência sobre outros indicadores (REICHERT; REINERT; BRAIDA, 2003; BAYER; MIELNICZUK, 2008).

A compactação é um dos problemas mais agravantes das áreas degradadas, influenciando no crescimento das espécies vegetais e na capacidade da fauna do solo sobreviver nessas áreas que se tornam inabitáveis. Sendo assim, uma das primeiras medidas físicas a ser aplicada nessas áreas degradadas está relacionada à diminuição da densidade do solo, seja por meio do manejo com máquinas pesadas ou da aplicação de matéria orgânica (KITAMURA, 2007).

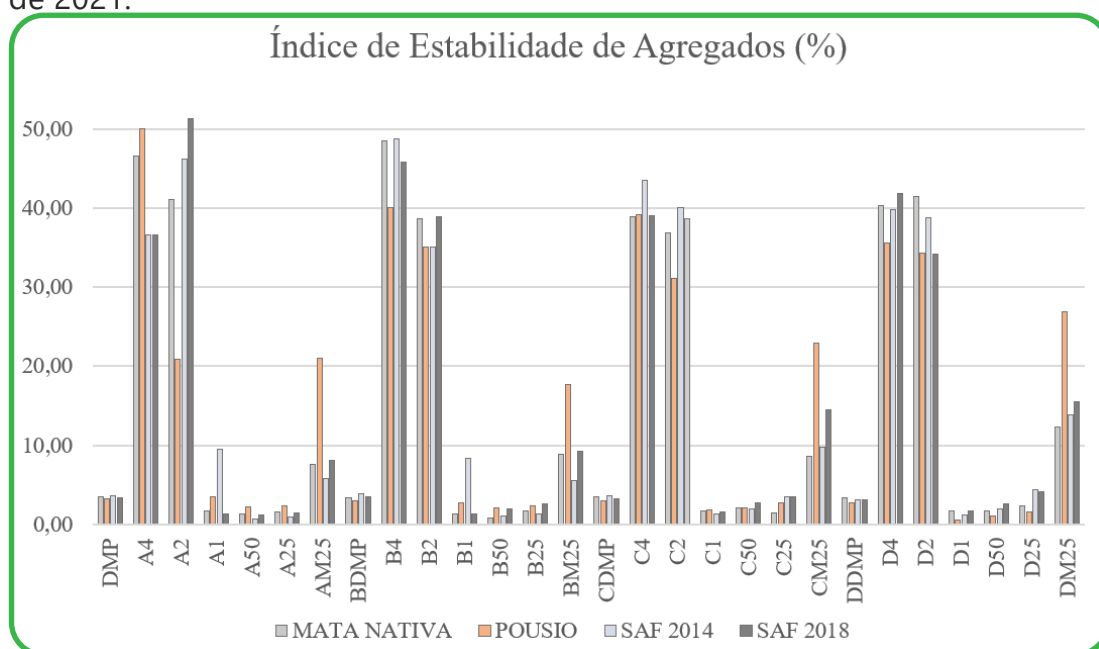
A redução da macroporosidade causada pela compactação influencia negativamente o desenvolvimento radicular, tanto diminuindo o crescimento das raízes principais que possuem maior diâmetro quanto aumentando a quantidade de raízes laterais que possuem menor diâmetro, essas capazes de penetrar os poros menores que resultam em prejuízos no desenvolvimento geral da planta (GOMES, 2014).

Segundo Silva (2003), os solos que apresentam maior macroporosidade permitem elevada movimentação de água no solo, devido à área de transporte ser mais extensa. Considerando, também, a relação ao movimento de água no solo, que não é somente o tamanho do poro, mas a continuidade dos mesmos, pois pequenos poros podem conduzir mais água quando são contínuos.

De acordo com Cavalcante *et al.* (2019), quando a cobertura presente na superfície do solo se mostra eficaz na redução - podendo inclusive evitar o impacto das gotas de chuva, ao proporcionar uma rugosidade hidráulica e diminuir o escoamento superficial de água (HUI *et al.*, 2010; ZHAO *et al.*, 2016; CANTALICE *et al.*, 2017) -, a presença de cobertura, assim como a copa das árvores, auxilia na conservação da umidade no solo, propiciando um ambiente favorável à agregação desse (COSTA *et al.*, 2015).

Na Figura 1, Santos (2022) apresenta o resultado do índice de estabilidade de agregados, no qual verificou a predominância de agregados com diâmetro menor que 2 mm no tratamento Pousio, que apresentou maior valor em todas as camadas.

Figura 1. Gráfico de colunas referente ao índice de estabilidade de agregados do solo, para cada tamanho entre os tratamentos. Panorama - SP, dezembro de 2021.



Legenda: DMP – diâmetro médio ponderado; A – camada 0,00 – 0,05m; B – camada 0,05 – 0,10m; C – camada de 0,10 – 0,20m; D – camada de 0,20 – 0,40m. 4, 2, 1, 0.5, 0.25 e DM25 correspondem ao tamanho dos agregados em mm.

Fonte: Santos (2022).

Ao priorizar a utilização de manejos que realizam práticas conservacionistas, como a proteção da camada superficial, a inclusão de biodiversidade, a redução do revolvimento do solo, entre outros, é possível alcançar resultados positivos quanto ao armazenamento e à distribuição de água para as plantas, além de aumentar a quantidade de matéria orgânica e promover melhoria dos atributos físicos do solo (SÉGUY; BOUZINAC, 1995).

Sistemas que auxiliam na recuperação do solo em áreas degradadas estão, cada vez mais, sendo aplicados ao modelo de agricultura mais sustentável. Entre esses sistemas, os que adicionam espécies florestais junto a outras culturas vêm ganhando mais adeptos, pois, além de contribuírem na fertilidade, na fixação biológica do N atmosférico e na ciclagem de nutrientes, também elevam o teor de matéria orgânica, otimizando e melhorando as propriedades físicas e biológicas do solo (YOUNG, 1989; FRANCO; FARIA, 1997; GAMA-RODRIGUES; BARROS; MENDONÇA, 1999; GAMA-RODRIGUES *et al.*, 2008; SALTON *et al.*, 2008; HOUGHTON, 1994).

Para além dos benefícios já citados, ao incluir espécies arbóreas ao sistema de produção, ainda há a diminuição de erosões causadas pela água, tanto pela redução do impacto da chuva sobre o solo quanto pelo carregamento de solo, auxiliando também no aumento da infiltração de água, no efeito de agregação das partículas do solo e na manutenção do teor de matéria orgânica (HOUGHTON, 1994).

O grau de floculação é a relação entre a argila naturalmente dispersa e a argila total, sendo obtida após a dispersão, indicando a fração de argila que se encontra floculada, assim como o grau de estabilidade dos agregados no solo.

Dentre as características intrínsecas do solo estão a textura e a densidade de partículas, isso significa que tais propriedades não são afetadas pelo manejo utilizado em um curto período (STEFANOSKI *et al.*, 2013). No entanto, para que a caracterização do solo seja realizada de forma adequada e eficaz, é de grande importância avaliar esses indicadores no estudo dos demais atributos, uma vez que tais características influenciam as propriedades físicas do solo, como a densidade do solo, a estabilidade de agregados e a porosidade do solo, dentre outras (PALM *et al.*, 2007). O manejo aplicado pode interferir, diretamente, na matéria orgânica do solo (MOS), já que essa apresenta alta sensibilidade e pode ser modificada em maior ou menor grau (BARRETO *et al.*, 2008).

Na Tabela 2, estão dispostos os dados referentes ao carbono orgânico, avaliado pelo fracionamento físico da matéria orgânica do solo.

Tabela 2. Valores de CV (%) e teste F a 5% de probabilidade e valores médios do carbono orgânico (CO) do solo. Panorama - SP. Dezembro de 2021.

| Tratamento | CO (g.kg-1) |
|-------------|-------------|
| MATA NATIVA | 6,68 a |
| SAF 2014 | 2,95 b |
| SAF 2018 | 2,63 b |
| POUSIO | 3,70 ab |
| F trat | 0,008* |
| CV (%) | 19,2 |

*significativo a 5% de probabilidade. Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Santos (2022).

Estudos relatam que a fração pesada (FP) é pouco transformada pelo uso e manejo do solo em curto espaço de tempo. Desse modo, o CO da Mata Nativa apresentou uma ciclagem de nutriente mais lenta, afirmando o dado de Bayer *et al.* (2004) e Santos *et al.* (2012). Em consequência disso, o conteúdo de CO pode estar em alto grau de decomposição e estabilização, especialmente pelas interações entre as partículas minerais (BALDOCK; SKJEMSTAD, 2000). O tratamento Mata Nativa não sofreu interferências antrópicas e o acúmulo de matéria orgânica (MO) proveniente da serrapilheira, podendo ter favorecido o maior teor de CO em comparação aos demais tratamentos.

Os trabalhos realizados por Silva e Mendonça (2007) indicam que os sistemas submetidos a poucos processos de revolvimento do solo se beneficiam com o incremento do CO da FP-areia no ambiente, sendo essa fração formada por diversos resíduos vegetais ou proveniente de outros materiais que se adeririam à superfície das partículas, tornando-o facilmente propenso à ação de microrganismos em comparação com as demais FP.

Os tratamentos com SAFs implantados apresentaram menores médias em comparação com os demais tratamentos, uma das possibilidades que explicam a redução de CO é a atividade microbológica relacionada à redução da MO. Os microrganismos realizam a oxidação dos materiais orgânicos que foram expostos através do manejo cultural, como é o caso desses sistemas onde há irrigação de manuseio dos canteiros que, de acordo com Cardelli, Marchini e Saviozzi (2012), assim como o conteúdo e a qualidade da MO, a bioquímica é afetada, especialmente quando o sistema natural é modificado para pastagem ou demais culturas.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para assegurar a manutenção do ecossistema, existe uma demanda quanto a utilização do solo, tal uso deve ser realizado de forma consciente. Para isso, é importante que fatores como o tipo de solo, considerando sua fragilidade (textura, agregação, etc.), sejam levados em consideração ao aplicarem determinados manejos.

Foi possível observar, a partir dos dados de pesquisa apresentados, que áreas de pousio podem ser evitadas em solos arenosos, visto que sistemas onde há maiores teores de materiais orgânicos resultam em melhorias na conservação do solo, ou seja, menor perda de C do solo; maior capacidade de estocar água, devido à proteção do solo com cobertura vegetal na superfície; e tendência ao aumento da atividade microbiana e atividade enzimática, propiciada pela presença de substrato, indicando o favorecimento quanto à qualidade do solo.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. Bolsa concedida para a primeira autora.

À Luciana Teruel e ao Rancho Y-Îara, por cederem a área como objeto de estudo deste trabalho.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, J. A.; SANGOI, L.; ENDER, M. Efeitos da integração lavoura-pecuária nas propriedades físicas do solo e características da cultura do milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 25, n. 3, p. 717-723, 2001.
- ALTIERI, M. A. **Agroecologia: bases científicas para uma agricultura sustentável**. 3. ed. São Paulo: Expressão Popular; Rio de Janeiro: AS-PTA, 2012.
- ALVES, M. C.; SOUZA, Z. M. Recuperação de área degradada por construção de hidroelétrica com adubação verde e corretivo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 32, n. 6, p. 2505-2516, 2008.
- ANDREWS, S. S.; KARLEN, D. L.; CAMBARDELLA, C. A. The soil management assessment framework: a quantitative soil quality evaluation method. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v. 68, n. 6, p. 1945-1962, 2004.
- ARAÚJO, E. A.; KER, J. C.; NEVES, J. C. L.; LANI, J. L. Qualidade do solo: conceitos, indicadores e avaliação. **Applied Research & Agrotechnology**, Guarapuava, v. 5, n. 1, p. 187-206, 2012.
- ARMINDO, R. A.; WENDROTH, O. Physical soil structure evaluation based on hydraulic energy functions. **Soil Science Society of American Journal**, Madison, v. 80, n. 5, p. 1167-1180, 2016.
- BALDOCK, J. A.; SKJEMSTAD, J. O. Role of the soil matrix and minerals in protecting natural organic materials against biological attack. **Organic Geochemistry**, Oxford, v. 31, n. 7-8, p. 697-710, 2000.
- BARRETO, A. C.; FREIRE, M. B. G. S.; NACIF, P. G. S.; ARAÚJO, Q. R.; FREIRE, F. J.; INÁCIO, E. S. B. Fracionamento químico e físico do carbono orgânico total em um solo de mata submetido a diferentes usos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 32, n. 4, p. 1471-1478, 2008.
- BAYER, C.; MARTIN-NETO, L.; MIELNICZUK, J.; PAVINATO, A. Armazenamento de carbono em frações lábeis da matéria orgânica de um Latossolo Vermelho sob

plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 7, p. 677-683, 2004.

BAYER, C.; MIELNICZUK, J. Dinâmica e função da matéria orgânica. In: SANTOS, G. A.; SILVA, L. S.; CANELLAS, L. P.; CAMARGO, F. A. O. (ed.). **Fundamentos da matéria orgânica do solo**: ecossistemas tropicais e subtropicais. Porto Alegre: Metrópole, 2008. p. 7-18.

BERTOL, I.; BEUTLER, J.F.; LEITE, D.; BATISTELA, O. Propriedades físicas de um cambissolo húmico afetadas pelo tipo de manejo do solo. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, n. 3, p. 555-560, 2001.

BORGES, J. A. R.; PIRES, L. F.; CASSARO, F. A. M.; AULER, A. C.; ROSA, J. A.; HECK, R. J.; ROQUE, W. L. X-ray computed tomography for assessing the effect of tillage systems on topsoil morphological attributes. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 189, p. 25-35, 2019.

BRANDÃO, V. S.; CECILIO, R. A.; PRUSKI, F. F.; SILVA, D. D. **Infiltração da água no solo**. 3. ed. Viçosa, MG: UFV, 2012.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Agrário. **Plano safra 2017/2020**: fortalecer o campo para desenvolver o Brasil. Brasília: MDA, 2017. Disponível em: www.mda.gov.br/sitemda/plano-safra-daagricultura-familiar-20172020. Acesso em: 27 fev. 2022.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Instrução Normativa 4, de 08 de setembro de 2009**. Dispõe sobre procedimentos técnicos para a utilização da vegetação da Reserva Legal sob regime de manejo florestal sustentável, e dá outras providências. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente, 8 set. 2009.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Resolução Conama nº 425/10**. Dispõe sobre critérios para a caracterização de atividades e empreendimentos agropecuários sustentáveis do agricultor familiar, empreendedor rural familiar, e dos povos e comunidades tradicionais como de interesse social para fins de produção, intervenção e recuperação de Áreas de Preservação Permanente e outras de uso limitado. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente, 25 maio 2010.

BRASIL. Casa Civil. **Decreto nº 7.830, de 17 de outubro de 2012**. Dispõe sobre o Sistema de Cadastro Ambiental Rural, o Cadastro Ambiental Rural, estabelece normas de caráter geral aos Programas de Regularização Ambiental, de que trata a Lei nº 12.651, de 25 de maio de 2012, e dá outras providências. Brasília, DF: Casa Civil, 17 out. 2012. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2011-2014/2012/Decreto/D7830.htm. Acesso em: 13 fev. 2022.

CANTALICE, J. R. B.; SILVEIRA, F. P. M.; SINGH, V. P.; SILVA, Y. J. A. B.; CAVALCANTE, D. M.; GOMES, C. Interrill erosion and roughness parameters of vegetation in rangelands. **Catena**, Amsterdam, v. 148, p. 111-116, 2017.

CARDELLI, R.; MARCHINI, F.; SAVIOZZI, A. Soil organic matter characteristics, biochemical activity and antioxidant capacity in Mediterranean land use systems. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 120, p. 8-14, 2012.

CAVALCANTE, D. M.; CASTRO, M. F.; CHAVES, M. T. L.; SILVA, I. R.; OLIVEIRA, T. S. Effects of rehabilitation strategies on soil aggregation, C and N 84 distribution and carbon management index in coffee cultivation in mined soil. **Ecological Indicators**, Amsterdã, v. 107, n. 5, p. 1-13, 2019.

COSTA, N. R.; ANDREOTTI, M.; LOPES, K. S. M.; YOKOBATAKE, K. L.; FERREIRA, J. P.; PARIZ, C. M.; BONINI, C. S. B.; LONGHINI, V. Z. Atributos do solo e acúmulo de carbono na integração lavoura-pecuária em sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 39, n. 3, p. 852-863, 2015.

DING, G. C.; PRONK, G. J.; BABIN, D.; HEUER, H.; HEISTER, K.; KOGEL-KNABNER, I.; SMALLA, K. Mineral composition and charcoal determine the bacterial community structure in artificial soil. **FEMS Microbiology Ecology**, Oxford, v. 86, n. 1, p. 15-25, 2013.

DORAN, J. W.; JONES, A. J. **Methods for assessing soil quality**. Madison: SSSA, 1996.

DORAN, J. W.; PARKIN, T. B. Defining and assessing soil quality. *In*: DORAN, J. W.; COLEMAN, D. C.; BEZDICEK, D. F.; STEWART, B. A. (ed.). **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison: Soil Science Society of America, 1994. p. 1-20.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **The state of world fisheries and aquaculture 2016**: contributing to food security and nutrition for all. Roma: FAO, 2016.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **Status of the world's soil resources**: main report. Roma: FOA, 2015. Disponível em: <http://www.fao.org/documents/card/en/c/c6814873-efc3-41db-b7d3-2081a10ede50/>. Acesso em: 6 jun. 2022.

FRANCO, A. A.; FARIA, S. M. The contribution of N₂-fixing tree legumes to land reclamation and sustainability in the tropics. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 29, n. 6-7, p. 897-903, 1997.

GALDOS, M.; PIRES, L. F.; COOPER, H. V.; CALONEGO, J. C.; ROSOLEM, C. A.; MOONEY, S. J. Assessing the long-term effects of zero-tillage on the macroporosity of Brazilian soils using X-ray Computed Tomography. **Geoderma**, Amsterdã, v. 337, p. 1126-1135, 2019.

GAMA-RODRIGUES, A. C.; BARROS, N. F.; MENDONÇA, E. S. Alterações edáficas sob plantios puros e misto de espécies florestais nativas do Sudeste da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 23, n. 3, p. 581-592, 1999.

GAMA-RODRIGUES, E. F.; GAMA-RODRIGUES, A. C.; PAULINO, G. M.; FRANCO, A. A. Atributos químicos e microbiológicos de solos sob diferentes coberturas vegetais no norte do estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 32, p.1521-1530, 2008

GOMES, D. S. **Estoque de carbono e nitrogênio em classes de agregados e em solos sob diferentes sistemas florestais no Norte Fluminense**. 2014. Trabalho de Graduação (Graduação em Agronomia) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Rio de Janeiro, 2014.

GÖTSCH, E. **Break-through in agriculture**. Rio de Janeiro: AS-PTA, 1995.

HOUGHTON, R. A. As florestas e o ciclo de carbono global: armazenamento e emissões atuais. *In*: SEMINÁRIO EMISSÃO X SEQÜESTRO DE CO₂, 1994, Rio de Janeiro. **Anais [...]**. Rio de Janeiro: Companhia Vale do Rio Doce, 1994. p.39-76.

HUI, E. Q.; HU, X.; JIANG, C. B.; MA, F.; ZHU, Z. A study of drag coefficient

related with vegetation based on the flume experiment. **Journal of Hydrodynamics**, Amsterdã, v. 22, n. 3, p. 329-337, 2010.

JURY, W. A.; HORTON, R. **Soil Physics**. 6. ed. Hoboken: Wiley, 2004.

KARLEN, D. L.; MAUSBACH, M. J.; DORAN, J. W.; CLINE, R. G.; HARRIS, R. F.; SCHUMAN, G. E. Soil quality: a concept, definition, and framework for evaluation (A guest editorial). **Soil Science Society of America Journal**, [s. l.], v. 61, p. 4-10, 1997.

KARLEN, D. L.; STOTT, D. A framework for evaluating physical and chemical indicators. *In*: DORAN, J. W.; COLEMAN, D. C.; BEZDICEK, D. F.; STEWART, B. A. (ed.). **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison: Soil Science Society American, 1994. p. 53-72.

KITAMURA, E. M. **Recuperação de um subsolo de cerrado com cultivo de plantas nativa e introduzidas**. 2007. Tese (Doutorado em Sistemas de Produção) - Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Ilha Solteira, 2007.

LAL, R. Role of mulching techniques in tropical soil and water management. **IITA Technical Bulletin**, Ibadan, v. 1, p. 1-38, 1974.

MCGRATH, D. A.; COMERFORD, N. B.; DURYEA, M. L. Litter dynamics and monthly fluctuations in soil phosphorus availability in an Amazonian agroforest. **Forest Ecology and Management**, [s. l.], v. 131, n. 1-3, p. 167-181, 2000.

MHETE, M.; EZE, P. N.; RAHUBE, T. O.; AKINYEMI, F. O. Soil properties influence bacterial abundance and diversity under different land-use regimes in semi-arid environments. **Scientific African**, Amsterdã, v. 7, p. 1-13, 2020.

MICCOLIS, A.; PENEIREIRO, F. M.; MARQUES, H. R.; VIEIRA, D. L. M.; ARCO-VERDE, M. F.; HOFFMANN, M. R.; REHDER, T.; PEREIRA, A. V. B. **Restauração ecológica com sistemas agrofloretais**: como conciliar conservação com produção-opções para cerrado e caatinga. Brasília: Instituto Sociedade, População e Natureza: Centro Internacional de Pesquisa Agroflorestral, 2016.

MORAES, A. CARVALHO, P. C. F.; CRUSCIOL, C. A. C.; LANG, C. R.; PARIZ, C. M.; DEISS, L.; SULC, R. M. Integrated crop-livestock systems as a solution facing the destruction of pampa and cerrado biomes in South America by intensive monoculture systems. *In*: LEMAIRE, G.; CARVALHO, P. C. F.; KRONBERG, S.; RECOUS, S. **Agroecosystem diversity**: reconciling contemporary agriculture and environmental quality. Amsterdã: Elsevier, 2019. p. 257-273.

NAIR, P. K. R.; KUMAR, B. M.; NAIR, V. D. Agroforestry as a strategy for carbon sequestration. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Weinheim, v. 172, n. 1, p. 10-23, 2009.

NAIR, P. K. R. State-of-the-art of agroforestry systems. **Forest ecology and management**, Amsterdã, v. 45, n. 1-4, p. 5-29, 1991.

NAIR, P. K. R.; VISWANATH, S.; LUBINA, P. A. Cinderella agroforestry systems. **Agroforestry Systems**, Dordrecht, v. 91, n. 5, p. 901-917, 2016.

NASCENTE, A. S.; LI, Y.; CRUSCIOL, C. A. And soil bulk density as affected by cover crop species in a not-tillage system. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 39, n. 3, p. 871-879, 2015.

OKOLO, C. C.; GEBRESAMUEL, G.; ZENEBE, A.; HAILE, M.; EZE, P. N. Accumulation of organic carbon in various soil aggregate sizes under different land use systems in a semi-arid environment. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdã, v. 297, p. 1-13, 2020.

OLIVEIRA, R. A. **Plantas de cobertura em pré-safra e adubação nitrogenada no milho em plantio direto**. 2015. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2015.

PALM, C.; SANCHEZ P.; AHAMED, S.; AWITI, A. Soils: a contemporary perspective. **Annual Review of Environment and Resources**, Palo Alto, v. 32, n. 1, p. 99-129, 2007.

PAVLIDIS, G.; TSIHRINTZIS, V. A. Environmental benefits and control of pollution to surface water and groundwater by agroforestry systems: a review. **Water Resources Management**, Dordrecht v. 32, p. 1-29, 2017.

PEZARICO, C. R.; VITORINO, A. C. T.; MERCANTE, F. M.; DANIEL, O. Indicadores de qualidade do solo em sistemas agroflorestais. **Revista de Ciências Agrárias**, [s. l.], v. 56, n. 1, p. 40-47, 2013

PEZZOPANE, J. R. M.; BERNARDI, A. C. C.; BOSI, C.; OLIVEIRA, P. P. A.; MARCONATO, M. H.; PEDROSO, A. F. SN Forage productivity and nutritive value during pasture renovation in integrated systems. **Agroforestry Systems**, Dordrecht, v. 93, p. 39-49, 2017.

PRIMAVESI, A. **Manual do solo vivo: solo sadio, planta sadia, ser humano sadio**. 2. ed. São Paulo: Expressão Popular, 2016.

REICHARDT, K.; TIMM, L. C. **Solo, planta e atmosfera: conceitos, processos e aplicações**. Barueri: Manole, 2004.

REICHERT, J. M.; REINERT, D. J.; BRAIDA, J. A. Qualidade do solo e sustentabilidade de sistemas agrícolas. **Revista Ciência Ambiental**, [s. l.], v. 27, p. 29-48, 2003.

REIS, A. M. H.; AULER, A. C.; ARMINDO, R. A.; COOPER, M.; PIRES, L. F.; Micromorphological analysis of soil porosity under integrated crop-livestock management systems. **Soil and Tillage Research**, Amsterdã, v. 205, p. 1-9, 2021.

SALTON, J. C.; MIELNICZUK, J.; BAYER, C.; BOENI, M.; CONCEIÇÃO, P. C.; FABRÍCIO, A. C.; MACEDO, M. C. M.; BROCH, D. L. Agregação e estabilidade de agregados do solo em sistemas agropecuários em Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, Viçosa, v. 32, n. 1, p. 11-21, 2008.

SALTON, J. C.; MIELNICZUK, J. Relações entre sistemas de preparo, temperatura e umidade de um Podzólico Vermelho-Escuro de Eldorado do Sul - RS. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 19, p. 313-319, 1995.

SANTOS, D. C.; LIMA, C. L. R.; KUNDE, R. J.; CARVALHO, J. S.; ABEIJON, L. M.; PILLON, C. N. Agregação e proteção física da matéria orgânica em planossolo háplico sob diferentes sistemas de manejo. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, Sup. 1, p. 54-63, 2012.

SANTOS, M. A. **Restauração da qualidade do solo utilizando sistema agroflorestal com base agroecológica**. 2022. Dissertação (Mestrado em

Agronomia) - Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Ilha Solteira, 2022.

SÉGUY, L.; BOUZINAC, S. O plantio direto no cerrado úmido. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 69, n. 1, p. 1-4, 1995.

SENA, K. N. **Comportamento do carbono orgânico e de atributos químicos, físicos e microbiológicos de um solo arenoso em área de conversão pastagem-Eucalipto**. 2016. Dissertação (Mestrado em Sistemas de Produção) - Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Ilha Solteira, 2016.

SILVA, I. R.; MENDONÇA, E. S. Matéria Orgânica do Solo. *In*: NOVAIS, R. F.; ALVAREZ V. V. H.; BARROS, N. F.; FERREIRA, R. L.; CANTARUTTI, R. B.; NEVES, J. C. L. (ed.). **Fertilidade do Solo**. 1 ed. Viçosa-MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 275-374.

SILVA, W. R. A importância das interações planta-animal nos processos de restauração. *In*: KAGEYAMA, P. Y.; OLIVEIRA, R. E.; MORAES, L. F. D.; ENGEL, V. L.; GANDARA, F. B. (org.). **Restauração ecológica de ecossistemas naturais**. Botucatu: FEPAF, 2003. p. 79-88.

SOUZA, E. C.; SALMAN, A. K. D.; CRUZ, P. G.; VEIT, H. M.; CARVALHO, G. A.; SILVA, F. R. F.; SCHMITT, E. Thermal comfort and grazing behavior of Girolando heifers in integrated crop-livestock (ICL) and crop-livestock-forest (ICLF) systems. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 41, p. 1-10, 2019.

SOUZA, Z. M.; ALVES, M. C. Movimento de água e resistência à penetração em um Latossolo Vermelho distrófico de Cerrado, sob diferentes usos e manejos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 7, n. 1, p. 18-23, 2003.

STEFANOSKI, D. C.; Santos, G. G.; Marchão, R. L.; Petter, F. A.; Pacheco, L. P. Uso e manejo do solo e seus impactos sobre a qualidade física. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 17, n. 12, p. 1301-1309, 2013.

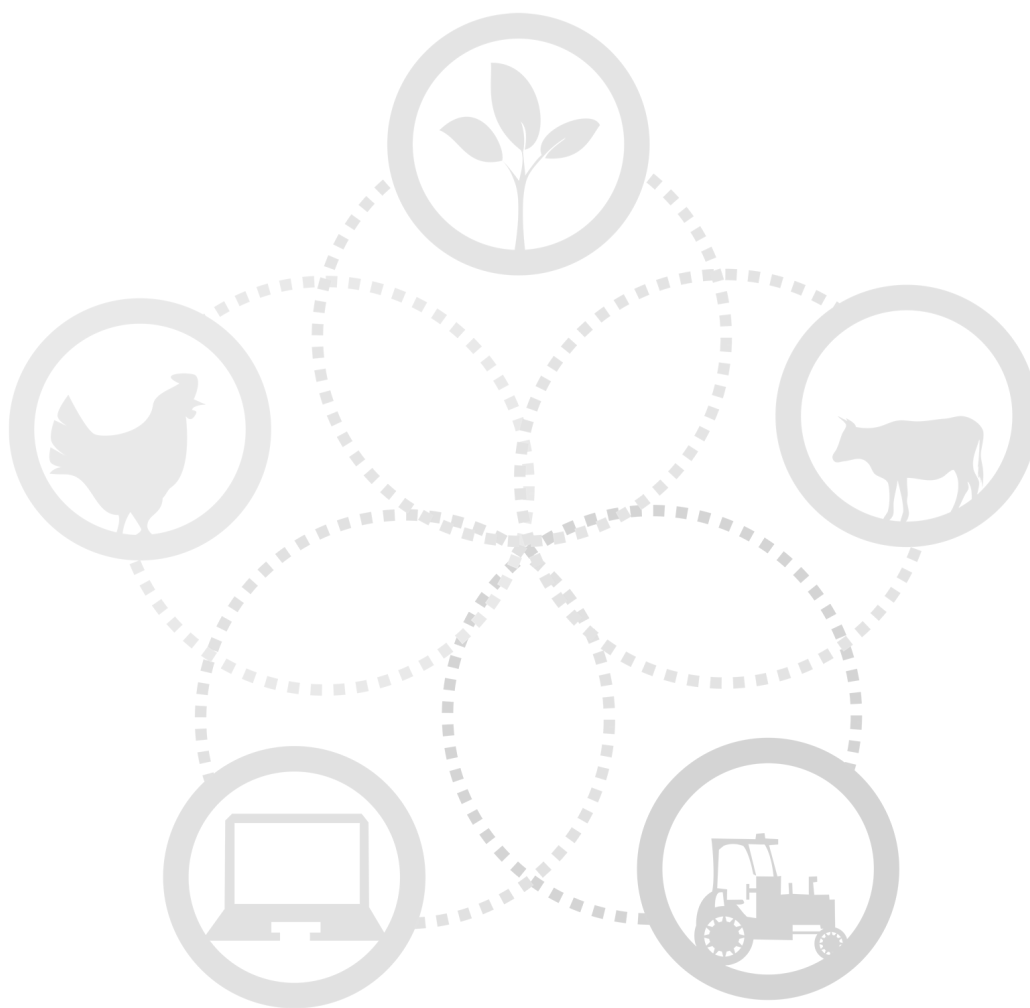
TOBELLA, A. B.; REESE, H.; ALMAW, A.; BAYALA, J.; MALMER, A.; LAUDON, H.; ILSTEDT, U. The effect of trees on preferential flow and soil infiltrability in an agroforestry parkland in semiarid Burkina Faso. **Water Resources Research**, Hoboken, v. 50, n. 4, p. 3342-3354, 2014.

TORDIN, C. Equipe avalia uso sustentável de solos arenosos. **Embrapa**, Brasília, 3 jul. 2015. Disponível em: https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/3542342/equipe-avalia-uso-sustentavel-de-solos-arenosos?p_auth=sGbL9ioQ. Acesso em: 22 dez. 2021.

TORQUEBIAU, E. F. A renewed perspective on agroforestry concepts and classification. **Life Sciences**, Paris, v. 323, n. 11, p. 1009-1017, 2000.

YOUNG, A. **Agroforestry for soil conservation**. Wallingford: CAB International; ICRAF, 1989.

ZHAO, C.; GAO, J.; HUANG, Y.; WANG, G.; ZHANG, M. Effects of vegetation stems on hydraulics of overland flow under varying water discharges. **Land Degradation & Development**, Oxford, v. 27, n. 3, p. 748-757, 2016.



CAPÍTULO 8

PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL DE MUDAS DE ESPÉCIES FLORESTAIS E HORTÍCOLAS

Vitor Corrêa de Mattos Barretto*

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Dracena, São Paulo, Brasil.

***Autor correspondente:**

vitor.barretto@unesp.br

Diego Cunha Zied

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Microbiologia
Agropecuária, Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

Paulo Renato Matos Lopes

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Dracena, São Paulo, Brasil.

Lucas da Silva Alves

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Microbiologia
Agropecuária, Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

Victor Hugo Cruz

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Dracena, São Paulo, Brasil.

Rafael Barros Postinguel

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Dracena, São Paulo, Brasil.

Resumo

A produção de mudas de espécies arbóreas nativas ou comerciais e hortícolas em viveiros pode utilizar diferentes resíduos agroindustriais ou agropecuários na composição de substratos em substituição ao substrato comercial. Entretanto, existe ainda a necessidade de realização de pesquisas para determinar e/ou comprovar a adoção de certos subprodutos na formulação de substratos para obtenção de mudas com maior qualidade e com menor custo. Nesse contexto, alguns materiais são bem conhecidos e possuem comprovações, como o vermicomposto e a fibra de coco, e outros não muito conhecidos, como os compostos exauridos de cogumelo e de tabaco de cigarro contrabandeado. O vermicomposto é extremamente rico em macro e micronutriente, conseqüentemente, diminui a dependência de fertilização organomineral. A fibra de coco verde é um material inerte e promove alta porosidade e capacidade de reter líquido. O composto exaurido de cogumelo é rico em macronutrientes, proteínas e substâncias húmicas e promove melhorias nas características físicas do substrato. E, por fim, tem-se o composto de tabaco de cigarro contrabandeado, à base de tabaco de cigarros e restos de gramíneas e dejetos de animais (ovinos), o qual permite boa drenagem e é rico em nutrientes. Desse modo, este capítulo tem por objetivo apresentar informações sobre resíduos orgânicos do composto exaurido de cogumelo, a fibra de coco e vermicomposto e de composto de tabaco de cigarro contrabandeado, bem como informar os principais resultados encontrados com a mistura destes materiais.

1 INTRODUÇÃO

A fase de viveiro para produção de mudas de espécies vegetais possui elevada importância para conseguir padrões de qualidade das mudas, sejam florestais ou hortícolas.

O fator que mais interfere na qualidade das mudas é o **tipo** e a **qualidade** do substrato, (WENDLING; DUTRA, 2017), uma vez que proporciona alta uniformidade, boa velocidade de germinação e adequado desenvolvimento das plantas (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012; DUTRA *et al.*, 2012). Quanto ao tipo, existem muitos materiais que podem ser utilizados na composição de substratos, como vermiculita, casca de arroz carbonizada, moinha de carvão vegetal (inertes) e orgânicos, como turfa, fibra de coco, esterco bovino, de aves, de suínos, cascas de pinus ou eucaliptos e compostos derivados de resíduos orgânicos (WENDLING; DUTRA, 2017).

Os substratos podem ser compostos por uma única matéria prima ou pela formulação de diferentes tipos de materiais e, aliado ao fato de que há ampla variedade de opções, não existe um substrato que possa ser indicado como adequado para todas as espécies e condições (WENDLING; GATTO, 2002).

A qualidade do substrato está relacionada com as características físicas e químicas dos resíduos reutilizados. Dentre elas, têm-se a consistência, a estrutura, a porosidade e a capacidade de retenção de água (CALDEIRA *et al.*, 2013). Deve-se conhecer o índice de acidez (pH), a capacidade de troca de catiônica (CTC), a salinidade e o teor e disponibilidade de nutrientes no substrato (KÄMPF; FERMINO, 2000). E, por fim, a facilidade de aquisição na região, o baixo custo e a ausência de patógenos (SILVA; PEIXOTO; JUNQUEIRA, 2001).

Em concordância com tais informações citadas anteriormente, ressalta-se a importância da realização de pesquisas para determinar e/ou comprovar a adoção de produtos na formulação de substratos para obtenção de mudas com maior qualidade e com menor custo.

2 RESÍDUOS ALTERNATIVOS AOS SUBSTRATOS COMERCIAIS

2.1 COMPOSTOS EXAURIDOS DE COGUMELOS COMESTÍVEIS

A produção agroindustrial gera quantidades significativas de resíduos ao longo do tempo e, concomitantemente, promove a contaminação ambiental, a partir do descarte incorreto desses subprodutos. É um desafio para a sociedade, particularmente para os produtores e pesquisadores, depositar esses resíduos de maneira adequada no meio ambiente.

Dentre algumas áreas agroindustriais, a fungicultura é um setor de produção que gerencia diversos resíduos agroindustriais (como caroços, tortas e farelos) para a produção de basidiomas, entretanto, também gera o substrato pós-colheita, conhecido como composto exaurido de cogumelos (CEC).

De acordo com Zied *et al.* (2021), para cada quilograma de cogumelo produzido, são gerados cerca de 5 kg de CEC. Esse resíduo tem como base da sua

composição micélio e substrato, e pode ser empregado como bioaumentador da diversidade microbiana do solo e indutor de resistência em plantas (LOPES *et al.*, 2015). É caracterizado, também, como um resíduo rico em macronutrientes, proteínas e substâncias húmicas (OWAID; ABED; AL-SAEEDI, 2017), além de melhorar as características físicas do solo (NAKATSUKA *et al.*, 2016).

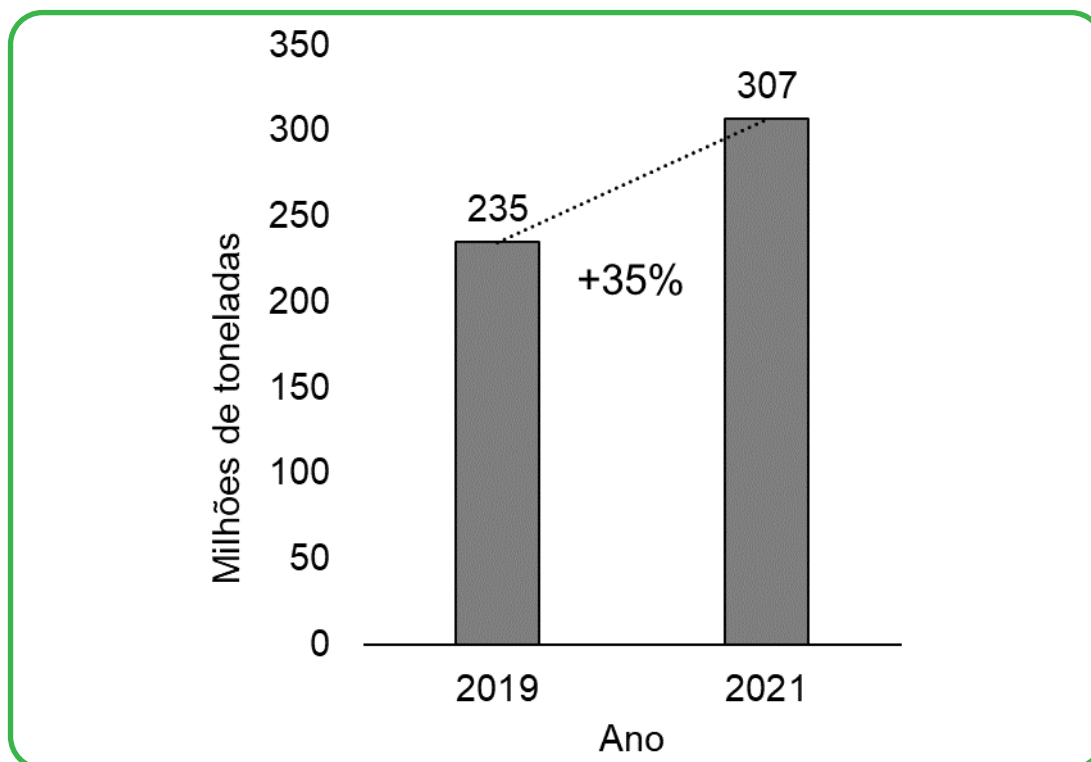
Também são reportadas evidências científicas do CEC como substrato para plantas. Lopes *et al.* (2015) e Paredes *et al.* (2016) encontraram incrementos produtivos em mudas de tomate e alface. Uma alternativa seria a utilização do CEC como substrato para mudas de espécies florestais comerciais ou nativas.

Uma espécie florestal importante para a produção de corantes, muito plantada no Brasil, é o urucum. Entretanto, há poucos estudos sobre esta espécie. Nesse sentido, Oliveira *et al.* (2022) testaram diferentes combinações entre dois CEC (Shitake e Cogumelo do Sol) e substrato comercial (marca Carolina Soil) na produção de mudas de urucum. Os autores concluíram que os compostos de exauridos apresentam potencial para o uso na produção de mudas, podendo substituir ou diminuir a quantidade de substrato comercial e promover a sustentabilidade ambiental.

2.2 COMPOSTO DE TABACO DE CIGARRO CONTRABANDEADOS

A excessiva quantidade de cigarros apreendidos durante fiscalizações da Polícia Federal Brasileira (PFB), na zona fronteirista entre Brasil, Paraguai e Bolívia, tem causado grandes problemas, não somente ambientais, mas, também, nas vertentes sanitárias, econômicas e sociais (ROCHA; ROCHA; LUSTOSA, 2017), em virtude do destino-final de tais produtos lícitos, visto que, comumente, eles são destruídos por meio de incineração (PEGORARO, 2016). De acordo com os dados da Secretaria da Receita Federal (SRF), entre 2019 e 2021, houve um aumento de 35% de maços apreendidos nas fronteiras entre Brasil e Paraguai (Figura 1).

Figura 1. Quantidade de maços de cigarro apreendidos pela Polícia Federal Brasileira.



Fonte: Brasil (2022).

Além disso, a maioria dos cigarros contrabandeados apresenta baixa qualidade, o que podem afetar severamente a saúde do tabagista e do meio ambiente. Ao analisar diversas marcas contrabandeadas, Silva *et al.* (2016) e Silva, Voigt e Campos (2014) identificaram altos níveis de arsênio (As), cádmio (Cd), chumbo (Pb), cobalto (Co), cobre (Cu), cromo (Cr), ferro (Fe), manganês (Mn), níquel (Ni), prata (Ag) e zinco (Zn), além de quantidades acima do permitido de umidade, cinzas, pH, impurezas e compostos estranhos.

Se não houver um tratamento adequado para tais materiais, os compostos lixiviados (chorume) engendrados de sua decomposição podem ser fonte de contaminação terrestre e aquática. E, mesmo que exista a eliminação integral por meio de sua incineração, tal método não é considerado o mais adequado do ponto de vista ambiental, pois o resultado de sua combustão pode emanar quantidades acima do permitido de gases extremamente nocivos, em especial o monóxido de carbono (CO), dióxido de carbono (CO₂), dióxido de enxofre (SO₂), ácido clorídrico (HCl), ácido fluorídrico (HF), além de compostos cancerígenos, como dioxinas, furanos e hidrocarbonetos (NEGRÃO; ALMEIDA, 2010).

Em objeção ao contextualizado, é de grande interesse social elaborar alternativas ambientalmente viáveis ao descarte irregular de cigarros ou tratá-los adequadamente a fim de aproveitá-los posteriormente. Logo, a compostagem surge como uma oportunidade de eliminar sustentavelmente tais materiais e, no fim, gerar um substrato nutricionalmente rico e com alto

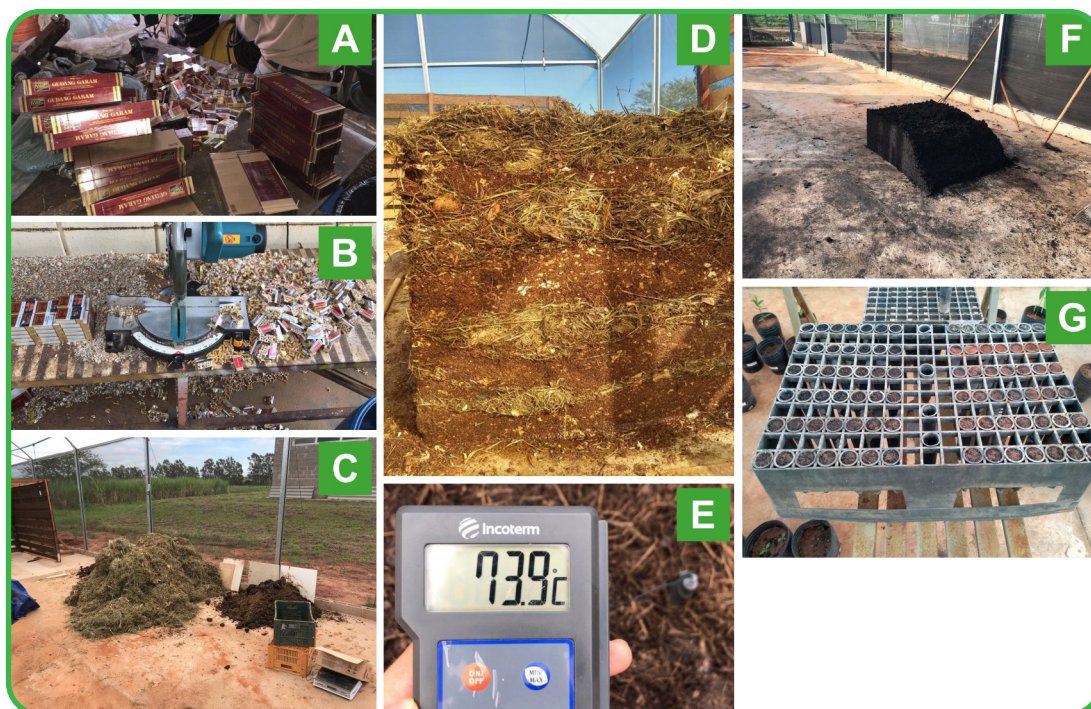
valor agregado (GAJALAKSHMI; ABBASI, 2008). No entanto, a formação de uma composteira funcional (em leiras, pilhas ou reatores) e de seu sistema operacional não é algo tão simples, pois necessita de alguns cuidados indispensáveis. Primeiramente, a instalação deve ser bem planejada com locais de coleta do produto lixiviável, a fim evitar riscos ambientais posteriores e atender aos padrões internacionalmente exigidos (OVIEDO-OCAÑA *et al.*, 2015). Além disso, recomenda-se que, durante o processo de compostagem, deve-se monitorar constantemente os parâmetros como temperatura, umidade, pH, relação C/N e estabilidade nutricional-estrutural (ZITTEL *et al.*, 2018).

Desse modo, na compostagem do tabaco, os microrganismos advindos de ambientes internos e/ou externos consomem compostos ricos em carbono, tais como os monossacarídeos, os amidos, as proteínas e os lipídios (AGUIAR *et al.*, 2007). Além disso, para aumentar a eficiência degradativa dos respectivos materiais, podem ser adicionados outros tipos de componentes ricos em nitrogênio e/ou carbono, bem como resíduos agropecuários, por ser uma alternativa sustentável no reaproveitamento desse material (HEROLD, 2020). Ao final do processo, o composto maturado deverá estar estruturalmente estável e ser capaz de suprir as necessidades nutricionais das plantas (OVIEDO-OCAÑA *et al.*, 2015).

Com objetivo de solucionar os imbróglios ambientais causados pela incineração de cigarros contrabandeados, pesquisadores da Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas (FCAT), da Universidade Estadual Paulista (Unesp), desenvolveram um substrato aplicado à produção vegetal por meio de compostagem. Uma patente foi registrada por Lopes *et al.* (2019), na qual produziu-se um substrato maturado à base de tabaco de cigarros apreendidos, e outros aditivos, como restos de gramíneas e dejetos de animais, para produção de mudas de eucalipto.

Herold (2020) conduziu em experimento, no qual monitorou o processo de compostagem de tabaco de cigarros inteiros (IN) e triturados (TT), bem como temperatura média das leiras, umidade e pH. As características químicas, físicas e biológicas do composto maturado também foram avaliadas, bem como sua relação C/N e ecotoxicidade. De acordo com o autor, os parâmetros do processo de compostagem foram semelhantes ao IN e TT. Em relação à razão C/N, o composto de tabaco IN e TT atingiram faixa adequada para utilização na produção vegetal. Os bioensaios ecotoxicológicos evidenciaram que o TT estava parcialmente estabilizado e com maior fitotoxicidade do que o IN, enquadrando-se como um composto inadequado para uso agrícola. A figura 2 ilustra o processo de formação do composto de tabaco para a produção de mudas florestais.

Figura 2. Processo de produção do composto de tabaco de cigarros contrabandeados



Legenda: A. Recebimento do cigarro contrabandeado; B. Separação do tabaco e do filtro; C. Aditivos para adicionar nas leiras; D. Formação da leira; E. Monitoramento da temperatura da leira; F. Composto de tabaco pronto para uso; G. Deposição do composto de tabaco nos tubetes.

Fonte: Herold (2020).

3 PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL DE MUDAS DE ESPÉCIES HORTÍCOLAS

Grande parte dos produtores de mudas de espécies hortícolas utiliza a turfa, material orgânico extraído da natureza, encontrado principalmente em regiões de baixo relevo e alagadiças. A extração desse material ocasiona um desequilíbrio do ecossistema (PASCUAL *et al.*, 2018). A substituição de turfa por materiais ecossustentáveis é constantemente reportada na literatura.

Dentre alguns substratos alternativos, cita-se o uso de casca de arroz, casca e borra de café, fibra de coco, esterco animal curtido, bagaço e engaço de uva, composto exaurido do cogumelo, composto de lodo de esgoto, composto de restaurantes e resíduos urbanos; reportados o uso em hortícolas, como alecrim, alface, tomate, cebola, manjeriço, agrião e melão (GRUDA, 2022).

Ressalta-se que o uso desses substratos alternativos pode ser restrito à substituição total ou parcial da turfa. Diversas fontes orgânicas precisam ser pré-tratadas antes de serem utilizadas (secagem, compostagem e/ou vermicompostagem), para que substâncias inibitórias não prejudiquem o crescimento vegetal inicial (PASCUAL *et al.*, 2018). Por isso, deve-se considerar aspectos específicos ao implementar a substituição de substratos convencionais, como a disponibilidade e acessibilidade do material, o incremento (ou redução) da qualidade da muda produzida e os requisitos específicos do produtor e

da sociedade (GRUDA, 2022). O quadro 1 apresenta características e casos do uso de algumas fontes orgânicas alternativas em substituição da turfa para mudas de hortaliças.

Quadro 1. Diferentes fontes orgânicas para a substituição do uso de turfa na produção de mudas hortícolas.

| Origem | Características | Casos de uso |
|----------------------|---|---|
| Fibra madeireira | Baixa densidade aparente, aerado, baixa capacidade de retenção de água e pH entre 4,5 e 6,0 | Melhorar a aeração. Suprimir patógenos como Pythium |
| Fibra de coco | Baixa densidade aparente, baixa capacidade de retenção de água, pH situa-se entre 5.5 e 6.8 e possui teores de P, K e Na | Melhorar a aeração. Usar como componente volumoso em mistura com turfa |
| Casca de arroz | Subproduto barato, tem capacidade de retenção de água moderada e taxa lenta de decomposição | Elevar o componente volumoso em mistura com turfa. |
| Compostos (diversos) | Material diverso, com nutrientes e microrganismos, alta capacidade de retenção de água e o pH varia de acordo com a fonte | Aumentar o teor de nutrientes, promover crescimento e suprimir doenças se beneficiado adequadamente |

Fonte: adaptado de Pascual *et al.* (2018).

Para substratos de mudas de hortícolas, destacamos aqui o potencial de utilização do composto exaurido de cogumelo (CEC). Abreu *et al.* (2020) avaliaram o efeito do composto exaurido de *Agaricus bisporus* para mudas de pimentas e obtiveram o melhor Índice de Qualidade de Dickson (IQD), ao substituir 100% do substrato comercial, resultando em menor custo de produção da muda.

O composto exaurido de *A. bisporus* também foi objeto de estudo em Collela *et al.* (2019), que mensuraram o efeito na produção de mudas do tomate híbrido Paronset®. Os autores encontraram que as mudas produzidas com o resíduo apresentaram maior velocidade de emergência e taxa de germinação, diferindo qualitativamente do controle.

O uso do composto exaurido como substrato de mudas, do mesmo modo, pode melhorar características comercialmente desejadas, como o maior tamanho da cabeça da alface americana. Essa característica foi incrementada com a presença de composto exaurido de *Agaricus subrufescens* ao substrato comercial (MARQUES *et al.*, 2014).

4 PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL DE MUDAS DE ESPÉCIES FLORESTAIS

Para produzir mudas de espécies florestais de forma sustentável, pode-

se utilizar diferentes matérias primas como vermicomposto, fibra de coco, composto de tabaco de cigarro (CTCC) e composto exaurido de cogumelo (CEC).

O vermicomposto é um substrato orgânico oriundo da desagregação de resíduos orgânicos realizados por animais da mesofauna terrestre, como, por exemplo, os anelídeos (Figura 3). Em virtude das características, o substrato se torna muito interessante ao setor florestal, em especial à produção de eucalipto (STEFFEN *et al.*, 2011). O vermicomposto é extremamente rico em macro e micronutriente, conseqüentemente, diminui a dependência de fertilização organomineral (DORES-SILVA; LANDGRAF; REZENDE, 2013). Entretanto, é necessário atentar-se às características do vermicomposto, que são variadas, de acordo com as fontes de materiais fornecidas às minhocas e ao manejo da produção (VALENZUELA; GALLARDO; KAMPF, 2008), bem como relacionada à espécie testada (CALDEIRA *et al.*, 2011). Por isso, é indicado o uso entre 20 e 40% de vermicomposto misturado com outro componente (terra de subsolo), conforme estudos de Caldeira *et al.* (2013).

Além disso, o substrato apresenta estrutura porosa e é capaz de reter umidade, reduzindo o estresse físico e biológico da planta (SILVA *et al.*, 2011). Em virtude da carga orgânica, a atividade biológica do substrato tende a aumentar, tornando a rizosfera da planta protegida às adversidades externas (NADAI *et al.*, 2015).

Figura 3. Vermicomposto oriundo de resíduos organoalimentares, pronto para ser utilizado na produção de mudas



Fonte: elaborada pelos autores.

Outro importante resíduo é a fibra de coco verde, que é comumente descartado pela agroindústria e tem enorme potencial como substrato (Figura 4). Essa matéria-prima se destaca na produção de mudas, devido à alta porosidade e capacidade reter líquido (ROSA *et al.*, 2002). Ademais, a fibra

de coco é um resíduo inerte, pois, quando entra em contato com a água, não sofre alterações físicas, químicas e/ou biológicas, mantendo-se estática por longo período (CARRIJO *et al.*, 2002).

Figura 4. Substrato de fibra de coco maturado, pronto para ser utilizado na produção de mudas.



Fonte: elaborada pelos autores.

Nesse contexto, alguns estudos têm sido desenvolvidos, a fim de explorar o potencial dos substratos alternativos na produção vegetal. Ferreira *et al.* (2020) e Ferreira *et al.* (2021) avaliaram se os parâmetros físico-químicos do vermicomposto e fibra de coco influenciam positivamente no desempenho qualitativo e/ou quantitativo das mudas de *Corymbia citriodora*. Segundo os autores, de modo geral, os substratos alternativos condicionaram uma emergência totalitária às mudas que, posteriormente, atingiram desenvolvimento adequado ao diâmetro e à altura. Além disso, os substratos testados demonstraram ser aptos ao uso florestal em virtude da estabilidade químico-estrutural, como a alta porosidade, a retenção de água e a distribuição paulatina de macro e micronutrientes.

Com o intuito de avaliar o desenvolvimento de mudas de eucalipto híbrido *Eucalyptus urophylla x E. grandis*, sob diferentes proporções de CEC de Cogumelo Paris (100, 75, 25 e 0% de CEC), misturados com o substrato comercial (Carolina Soil®) com adubação e sem adubação das mudas, pesquisadores do Centro de Estudos em Cogumelos (CECOG), da FCAT/UNESP (Câmpus de Dracena), verificaram que as mudas de eucalipto cresceram, indiferentemente, entre as diferentes proporções de CEC testadas com e sem adubação (Tabela 1).

Tabela 1. Índice de Qualidade de Dickson (IQD) de mudas de Eucalipto cultivada em substrato sob diferentes proporções de CEC, com e sem adubação.

| Adubação | Proporções de CEC | | | | | Média |
|----------|-------------------|----------|-----------|-----------|-----------|---------|
| | 0% | 25% | 50% | 75% | 100% | |
| | IQD | | | | | |
| Com | 0,049 Aa | 0,049 Aa | 0,053 Aa | 0,043 Aa | 0,053 Aa | 0,048 a |
| Sem | 0,026 Bb | 0,044 Aa | 0,038 ABb | 0,033 ABa | 0,043 ABa | 0,037 b |
| Média | 0,037 A | 0,046 A | 0,047 A | 0,037 A | 0,048 A | |
| C.V. | 14,45 | | | | | |

*Letras maiúsculas se diferem na linha e minúsculas se diferem na coluna segundo Teste de Tukey a 0.05.

Fonte: elaborada pelos autores.

A adubação promoveu a obtenção de mudas com melhor qualidade, como mostram as médias, sendo que os tratamentos adubados apresentaram índices maiores com valor de (0,048); enquanto que os tratamentos sem adubação, (0,037). Ressalta-se, também, os resultados da interação entre os tratamentos, uma vez que o uso de 25% de CEC sem fertilizantes minerais ocasionou incrementos de IQD cerca de 40% comparados ao controle, tornando-se uma excelente alternativa para a redução de fertilizantes sintéticos em mudas de eucalipto. Isso pode ser explicado pela composição química dos materiais utilizados (Tabela 2).

Tabela 2. Análise química do substrato de CEC de *Agaricus bisporus* e do comercial Carolina Soil®

| Substrato | Macronutrientes (g kg ⁻¹) | | | | | Micronutrientes (mg kg ⁻¹) | | | | | |
|----------------|---------------------------------------|-----|------|------|-----|--|----|-----|------|-----|-----|
| | N | P | K | Ca | Mg | S | B | Cu | Fe | Mn | Zn |
| CEC | 30,4 | 6,8 | 20,6 | 51,8 | 6,9 | 18,9 | 34 | 14 | 110 | 27 | 64 |
| Carolina Soil® | 10,4 | 1,6 | 7,2 | 9,8 | 8,6 | 6,1 | 33 | 151 | 2998 | 224 | 190 |

Fonte: elaborada pelos autores.

Na tabela 2, observa-se que os teores de cálcio (Ca) com 51,8 g/kg, nitrogênio (N) com 30,4 g/kg, potássio (K) com 20,6 g/kg, enxofre (S) com 18,9 g/kg e fósforo (P) com 6,8 g/kg estão em maiores quantidades no resíduo quando comparados com o substrato comercial, sendo de fundamental importância esses teores, visto que, com a mineralização, ocorrerá a liberação dos nutrientes da forma orgânica para a mineral. O magnésio (Mg) é o único dos macronutrientes que se apresenta em menor quantidade no resíduo, com valor de 6,9 g/kg, enquanto que no substrato comercial, 8,6 g/kg.

Ao analisar os teores de micronutrientes, nota-se que a quantidade de boro (B) é parecida em ambos. Os demais micronutrientes estão em maiores quantidades somente no substrato comercial (testemunha).

Pela primeira vez, se relatou, cientificamente, que o uso de CEC como

substrato incrementa a qualidade de mudas de eucalipto. A substituição de 100% de substrato comercial pelo CEC geraria um destino correto aos resíduos e à valorização de um subproduto, tornando a produção de mudas de eucalipto mais sustentável.

Em outro trabalho, avaliando a qualidade de mudas da espécie *Adenanthera pavonina* - árvore ornamental e muito usada em arborização urbana, em composto oriundo de tabaco de cigarro contrabandeado (CTCC) e solo -, Barretto *et al.* (2021) verificaram que a maior altura das plantas (17,4 cm) foi no tratamento com 50% de CTCC e solo, não se diferenciando dos tratamentos com 75% de solo e 25% de CTCC e com 100% de CTCC, apenas da testemunha (solo), além de ter promovido maiores quantidades de folhas e aumento na relação à altura e ao diâmetro do coleto.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O reaproveitamento de resíduos gerados nas regiões de produção agroindustrial ou agropecuária deve ser incentivado, uma vez que existem muitas opções com grande potencial de uso e com a possibilidade de substituição total ou parcial dos substratos comerciais, os quais oneram muito a cadeia produtiva.

Os resultados das pesquisas mencionados neste capítulo comprovam essa possibilidade, podendo-se substituir substratos que contenham, na sua composição, materiais de valor elevado e não renovável, como turfa de *Sphagnum*, pelo composto exaurido de cogumelo (CEC).

Além do mais, os materiais testados (vermicomposto, fibra de coco, CEC e CTCC) como alternativas para a formulação de substratos apresentam atributos químicos, físicos e biológicos satisfatórios, o que promove a produção altamente sustentável de mudas florestais e hortícolas. Portanto, a definição de determinados materiais para compor um substrato alternativo deve ser baseada em uma caracterização de cada produto, dos atributos físicos, químicos e biológicos e de outros aspectos, como a facilidade de obtenção e de custos.

REFERÊNCIAS

ABREU, C. G.; COSTA, L. M. A. S.; COLLELA, C. F.; CASTRO, C. P.; ZIED, D. C.; DIAS, E. S. Spent mushroom substrate *Agaricus bisporus* in the production of pepper seedlings. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v. 19, n. 2, p. 161-167, 2020.

AGUIAR, A.; FERRAZ, A.; CONTRERAS, D.; RODRÍGUEZ, J. Mecanismo e aplicações da reação de fenton assistida por compostos fenólicos redutores de ferro. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 3, p. 223-228, 2007.

BARRETTO, V. C. M.; SEGATELLI, M. S.; OLIVEIRA, L.; BOGAS, C. L. P.; LOPES, P. R. M.; FERREIRA, P. H. F.; SILVA, G. O. S.; ARAÚJO, M. S. Crescimento de *Adenanthera pavonina* em diferentes proporções de composto produzidos a partir de tabaco de cigarros. In: CONGRESSO ONLINE INTERNACIONAL FLORESTAL, 1., 2021. **Anais** [...]. Vitória, ES: Congresse.me, 2021. p. 65-66.

BRASIL. Receita Federal. **Receita Federal registra recorde histórico na destruição de cigarros apreendidos**. Receita Federal, 31 out. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/receitafederal/pt-br/assuntos/noticias/2022/janeiro/receita-federal-registra-recorde-historico-na-destruicao-de-cigarros-apreendidos>. Acesso em: 1 fev. 2023.

CALDEIRA, M. V. W.; DELARMELINA, W. M.; FARIA, J. C.; JUVANHOL, R. S. Substratos alternativos na produção de mudas de *Chamaecrista desvauxii*. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 37, n. 1, p. 31-39, 2013.

CALDEIRA, M. V. W.; WENDLING, I.; PENCHEL, R. M.; GONÇALVES, E. O.; KRATZ, D.; TRAZZI, P. A. Principais tipos e componentes de substratos para produção de mudas de espécies florestais. In: CALDEIRA, M. V. W.; GARCIA, G. O.; GONÇALVES, E. O.; ARANTES, M. D. C.; FIEDLER, N. C. **Contexto e Perspectivas da Área Florestal no Brasil**. Porto Alegre: Suprema, 2011. p. 51-101.

CARRIJO, O. A.; LIZ, R. S. D.; MAKISHIMA, N. Fibra da casca do coco verde como substrato agrícola. **Horticultura brasileira**, Vitória da Conquista, v. 20, n. 4, p. 533-535, 2002.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Jaboticabal: FUNEP, 2012.

COLLELA, C. F.; COSTA, L. M. A. S.; MORAES, T. S. J. D.; ZIED, D. C.; RINKER, D. L.; DIAS, E. S. Potential utilization of spent *Agaricus bisporus* mushroom substrate for seedling production and organic fertilizer in tomato cultivation. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 43, p. 1-7, 2019.

DORES-SILVA, P. R.; LANDGRAF, M. D.; REZENDE, M. O. D. O. Processo de estabilização de resíduos orgânicos: vermicompostagem versus compostagem. **Química Nova**, São Paulo, v. 36, n. 5, p. 640-645, 2013

DUTRA, T. R.; MASSAD, M. D.; SARMENTO, M. F. Q.; OLIVEIRA, J. C. Emergência e crescimento inicial da canafístula em diferentes substratos e métodos de superação de dormência. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 25, n. 2, p. 65-71, 2012.

FERREIRA, P. H. F.; BARRETTO, V. C. M.; MONTAGNOLLI, R. N.; LOPES, P. R. M. Production of *eucalyptus* seedlings using alternative substrates. **Engenharia na Agricultura**, Viçosa, v. 29, p. 236-244, 2021.

FERREIRA, P. H. F.; BARRETTO, V. C. M.; TOMAZ, R. S.; FERRARI, S.; VIANA, R. S.; LOPES, P. R. M. Vermicompost and coconut fiber as sustainable substrates in the production of seedlings from *Corymbia citriodora*. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 6, n. 9, p. 70262-70274, 2020.

GAJALAKSHMI, S.; ABBASI, S. A. Solid waste management by composting: state of the art. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, [s. l.], v. 38, n. 5, p. 311-400, 2008.

GRUDA, N. S. Advances in soilless culture and growing media in today's horticulture: an editorial. **Agronomy**, [s. l.], v. 12, n. 11, p. 1-6, 2022.

HEROLD, G. **Reuso de tabaco de cigarros contrabandeados para produção de composto orgânico**. 2020. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Agrônoma) –Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Dracena, 2020.

KÄMPF, A. N.; FERMINO, M. H. (ed.). **Substrato para plantas: a base da produção vegetal em recipientes**. Porto Alegre: Gênese, 2000.

LOPES, P. R. M.; ZIED, D. C.; BARRETTO, V. C. M.; HEROLD, G.; NANTES, L. S. **Processo de produção de composição de substrato para mudas de eucalipto e composição de substrato obtida**. Depositante: Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho". INPI. BR 10 2019 023358 3. Depósito: 6 nov. 2019. Concessão: 18 maio 2021.

LOPES, R. X.; ZIED, D. C.; MARTOS, E. T.; SOUZA, R. J.; SILVA, R.; DIAS, E. S. Application of spent *Agaricus subrufescens* compost in integrated production of seedlings and plants of tomato. **International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture**, [s. l.], v. 4, n. 3, p. 211-218, 2015.

MARQUES, E. L. S.; MARTOS, E. T.; SOUZA, R. J.; SILVA, R.; ZIED, D. C.; DIAS, E. S. Spent mushroom compost as a substrate for the production of lettuce seedlings. **Journal of Agricultural Science**, [s. l.], v. 6, n. 7, p. 138-143, 2014.

NADAI, F. B.; MENEZES, J. B. C.; CATÃO, H. C. R. M.; ADVÍNCULA, T.; COSTA, C. A. Produção de mudas de tomateiro em função de diferentes formas de propagação e substratos. **Revista Agro@ambiente On-line**, Boa Vista, v. 9, n. 3, p. 261-267, 2015.

NAKATSUKA, H.; ODA, M.; HAYASHI, Y.; TAMURA, K. Effects of fresh spent mushroom substrate of *Pleurotus ostreatus* on soil micromorphology in Brazil. **Geoderma**, [s. l.], v. 269, p. 54-60, 2016.

NEGRÃO, M.; ALMEIDA, A. A. **Incineração de resíduos: contexto e riscos associados**. Paris: Fundação France Libertés, 2010. v. 15.

OLIVEIRA, G. A.; BARRETTO, V. C. M.; DONATO, R. L.; BASSO, R. D.; RABELO, J. A. S. Compostos exauridos de cogumelos para produção de mudas de urucum. In: CONGRESSO INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNESP, 34., 2022, Atibaia. **Anais** [...]. Atibaia: Unesp, 2022. Disponível em: <https://www.even3.com.br/anais/xxxivcicunesp/606743-compostos-exauridos-de-cogumelos-comestiveis-para-producao-de-mudas-de-urucum/>. Acesso em: 23 fev. 2023.

OVIEDO-OCAÑA, E. R.; TORRES-LOZADA, P.; MARMOLEJO-REBELLON, L. F.; HOYOS, L. V.; GONZALES, S.; BARRENA, R.; D. KOMILIS ^ç, A.; SANCHEZ, A. Stability and maturity of biowaste composts derived by small municipalities: Correlation among physical, chemical and biological indices. **Waste Management**, [s. l.], v. 44, p. 63-71, 2015.

OWAID, M. N.; ABED, I. A.; AL-SAEEDI, S. S. S. Applicable properties of the biofertilizer spent mushroom substrate in organic systems as a byproduct from the cultivation of *Pleurotus* spp. **Information Processing in Agriculture**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 78-82, 2017.

PAREDES, C.; MEDINA, E.; BUSTAMANTE, M. A.; MORAL, R. Effects of spent mushroom substrates and inorganic fertilizer on the characteristics of a calcareous clayey-loam soil and lettuce production. **Soil Use and Management**, [s. l.], v. 32, n. 4, p. 487-494, 2016.

PASCUAL, J. A.; CEGLIE, F.; TUZEL, Y.; KOLLER, M.; KOREN, A.; HITCHINGS, R.; TITTARELLI, F. Organic substrate for transplant production in organic nurseries: a review. **Agronomy Sustainable Development**, [s. l.], v. 38, n. 35, 2018.

PEGORARO, A. Quase 70% do contrabando que entra no Brasil é de cigarros vindos do Paraguai. **Folha do Mate**, Venâncio Aires, 18 out. 2016. Disponível em: <https://folhadomate.com/noticias/quase-70-do-contrabando-que-entra-no-brasil-e-de-cigarros-vindos-do-paraguai/>. Acesso em: 25 jan. 2023.

ROCHA, S. M.; ROCHA, R. R. C.; LUSTOSA, K. B. Política brasileira de resíduos sólidos: reflexões sobre a geração de resíduos e sua gestão no município de Palmas-TO. **Revista ESMAT**, Palmas, v. 9, n. 13, p. 29-42, 2017.

ROSA, M. D. F.; BEZERRA, F. C.; CORREIA, D.; SANTOS, F. D. S.; ABREU, F. A. P.; FURTADO, A. A. L.; NORÕES, E. R. V. **Utilização da casca de coco como substrato agrícola**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2002. (Comunicado técnico, n. 52).

SILVA, C. P.; ALMEIDA, T. E.; ZITTEL, R.; DOMINGUES, C. E.; OLIVEIRA STREMEL, T. R.; FREITAS BARBOLA, I.; CAMPOS, S. X. Determination of smuggled cigarette characteristics in Brazil and their potential risk to the human health. **Orbital: The Electronic Journal of Chemistry**, Campo Grande, v. 8, n. 3, p. 127-137, 2016.

SILVA, C. P.; VOIGT, C. L.; CAMPOS, S. X. Determinação de íons metálicos em cigarros contrabandeados no Brasil. **Revista Virtual de Química**, [s. l.], v. 6, n. 5, p. 1249-1259, 2014.

SILVA, E. A.; OLIVEIRA, A. C.; MENDONÇA, V.; SOARES, F. M. Substratos na produção de mudas de mangabeira em tubetes. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 41, n. 2, p. 279-285, 2011.

SILVA, R. P.; PEIXOTO, J. R.; JUNQUEIRA, N. T. V. Influência de diversos substratos no desenvolvimento de mudas de maracujazeiro azedo (*Passiflora edulis* Sims f. flavicarpa DEG). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 2, p. 377-381, 2001.

STEFFEN, G. P. K.; ANTONIOLLI, Z. I.; STEFFEN, R. B.; SCHIEEDECH, G. Utilização de vermicomposto como substrato na produção de mudas de *Eucalyptus grandis* e *Corymbia citriodora*. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 31, n. 66, p. 75-82, 2011.

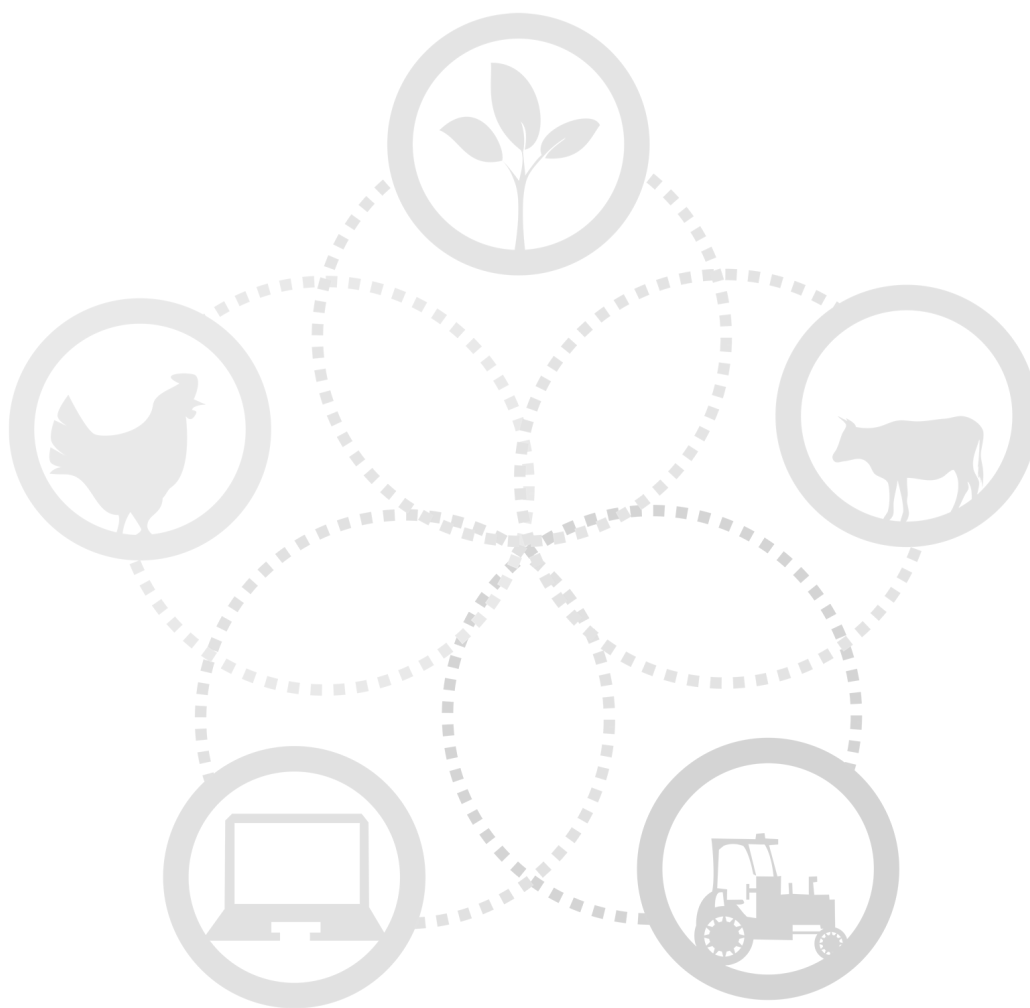
VALENZUELA, O. R.; GALLARDO, C. S.; KAMPF, A. N. Regional components used as growing media in Argentina. **Acta Horticulturae**, [s. l.], v. 779, p. 643-648, 2008.

WENDLING, I.; DUTRA, L. F. Produção de mudas de eucalipto por sementes. In: WENDLING, I. DUTRA, L. F. (ed.). **Produção de mudas de eucalipto**. 2. ed. Brasília: Embrapa, 2017. p. 13-46.

WENDLING, I.; GATTO, A. **Substratos, adubação e irrigação na produção de mudas**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2002.

ZIED, D. C.; ABREU, C. G.; ALVES, L. S.; PRADO, E. P.; PARDO-GIMENEZ, A.; MELO, P. C.; DIAS, E. S. Influence of the production environment on the cultivation of lettuce and arugula with spent mushroom substrate. **Journal of Environmental Management**, Londres, v. 281, p. 1-6, 2021.

ZITTEL, R.; SILVA, C. P.; DOMINGUES, C. E.; OLIVEIRA STREMEL, T. R.; ALMEIDA, T. E.; DAMIANI, G. V.; CAMPOS, S. X. Treatment of smuggled cigarette tobacco by composting process in facultative reactors. **Waste Management**, New York, v. 71, p. 115-121, 2018.



CAPÍTULO 9

COMPLEXO CROSTA NEGRA EM SERINGUEIRA: O QUE SABEMOS SOBRE ESTA DOENÇA ATUALMENTE?

Ana Carolina Firmino*

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
em Agronomia, Dracena, São Paulo, Brasil.

***Autora correspondente:**

ana.firmino@unesp.br

Louyne Varini Santos dos Anjos

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Engenharia, Programa de Pós-
Graduação em Agronomia, Ilha Solteira, São
Paulo, Brasil.

Elaine Cristine Piffer Gonçalves

Agência Paulista de Tecnologia dos
Agronegócios (APTA), Pólo Regional da Alta
Mogiana, São Paulo, Brasil.

Ivan Herman Fischer

Agência Paulista de Tecnologia dos
Agronegócios (APTA), Centro Regional Centro-
Oeste, Bauru, São Paulo, Brasil.

Erivaldo José Scaloppi Junior

Agência Paulista de Tecnologia dos
Agronegócios (APTA), Centro de Seringueira
e Sistemas Agroflorestais, Votuporanga, São
Paulo, Brasil.

Edson Luis Furtado

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrônômicas, Programa
de Pós-Graduação em Proteção de Plantas,
Botucatu, São Paulo, Brasil.

Resumo

A seringueira (*Hevea brasiliensis*) é amplamente cultivada no Brasil, estando presente em locais com diferentes condições ambientais. Isso pode levar a ocorrência de várias doenças, como a crosta negra, que tem se tornando preocupante, uma que causa a queda precoce das folhas das plantas. Além disso, o que vem agravando a ocorrência dela no campo é sua associação com outra doença foliar, a antracnose. Até alguns anos atrás, a crosta negra era associada aos fungos *Phyllachora huberi* e *Rosenscheldiella heveae*, que podem ocorrer de forma isolada ou em conjunto. Porém, estudos recentes mostram que essa doença pode estar associada também ao *Cladosporium* spp. O controle da crosta negra é bastante limitado, mas estudos recentes, em jardim clonal, mostraram que alguns clones da série IAC 500 são resistentes a essa doença. Em relação à influência do ambiente no desenvolvimento do fungo, nos trabalhos desenvolvidos com os fungos *Cladosporium* sp. e *R. heveae* verificaram-se que o período de molhamento foliar, umidade relativa do ar e temperatura menor que 20 a 30 °C influenciam de maneira positiva o desenvolvimento do fungo. Pelo fato dessa doença ter sido tratada com baixa importância em seringais, estudos relacionados à crosta negra são escassos. Assim, com este capítulo iremos atualizar as informações sobre a crosta negra e, assim, possibilitar o desenvolvimento de mais estudos, visando minimizar os danos causados pela doença.

1 INTRODUÇÃO

A seringueira (*Hevea brasiliensis*) faz parte da família Euphorbiaceae, tendo como centro de origem a região amazônica. Sua importância econômica está ligada à produção de látex, do qual se obtém a borracha natural (ALVARENGA; CARMO, 2008). Apesar da seringueira ser originária da Amazônia e do Brasil e possuir áreas de cultivo distribuídas em diferentes estados, ainda há a necessidade de importação, que levam a reflexos negativos na balança comercial do país (CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL [CNA]; SERVIÇO NACIONAL DE APRENDIZAGEM RURAL [SENAR], 2022).

Atualmente, o Brasil responde por apenas 1% da produção mundial, o que supre somente 40% de sua demanda. Segundo a CNA e o Senar (2022), baseado nos dados da Secretaria de Comércio Exterior (Secex), o Brasil importou 233,9 mil toneladas de borracha natural em 2021, representando um aumento de 35,5% em relação a 2020 (172,6 mil toneladas). Os principais países fornecedores estão localizados no sudeste asiático, com destaque para a Tailândia e a Indonésia (CNA; SENAR, 2022).

No Brasil, a seringueira é cultivada em diferentes estados, desde a região Norte até o norte do Paraná (GASPAROTTO *et al.*, 2012). O estado de São Paulo é o principal produtor de borracha natural do país, representando 60% da borracha natural brasileira (SCALOPPI JUNIOR, 2015; OLIVEIRA; GONÇALVES, 2019). Esse setor, além de possuir grande importância social, pois é o responsável pela geração de cerca de 80 mil postos de trabalho no país, também é importante do ponto de vista ambiental, uma vez que é uma cultura sequestradora de carbono da atmosfera em quantidades equivalentes ao de uma floresta natural (CARMO; MANZATTO; ALVARENGA, 2007; SCALOPPI JUNIOR, 2015; BRAGA, 2016 *apud* AGROLINK, 2016).

Apesar de se mostrar uma cultura importante, a expansão do plantio de seringueira no território brasileiro vem enfrentando muitas barreiras, nas quais estão os problemas fitossanitários. Dentre as doenças foliares mais importantes da seringueira e encontradas com maior frequência nas áreas de cultivo, pode-se citar a antracnose causada por *Colletotrichum ssp.* (FURTADO; GASPAROTTO; PEREIRA, 2016).

A crosta-negra também é uma doença que acomete as folhas de seringueiras, porém, sempre foi considerada de pouca importância (GASPAROTTO *et al.*, 2012; FURTADO; GASPAROTTO; PEREIRA, 2016). Entretanto, no decorrer dos últimos anos, a ocorrência vem se tornando cada vez mais frequente, passando a causar prejuízos, devido à queda precoce das folhas dessas plantas (GONÇALVES; GOES, 2017; VIRGENS FILHO *et al.*, 2022).

2 CARACTERÍSTICAS DA DOENÇA E DE SEUS AGENTES CAUSAIS

Antes da expansão do plantio de seringueiras, a queda das folhas com sintomas de crosta negra era atribuída mais à senescência natural da planta do que ao patógeno. Após a década de 1980, com o aumento do cultivo,

explorando diferentes condições ecológicas, o patógeno disseminou-se e os sintomas vistos no campo tornaram-se mais frequentes. Estudos realizados com o clone IAN717 com sete anos de idade, na região de Manaus (AM), mostraram que a doença completa seu ciclo de dois a três meses após a troca de folhas da planta e que ainda ela pode causar uma desfolha nos períodos chuvosos. Com isso, a planta emite novas folhas em épocas com condições favoráveis à ocorrência de outras doenças, como o mal das folhas e a antracnose (GASPAROTO *et al.*, 2012).

Em visitas técnicas em vários estados entre o período de 2018 a 2022, foi observado uma desfolha causada por essa doença antes da senescência natural das plantas, independentemente da sua idade (Figura 1). Ainda, notou-se que as folhas que não caíram tinham uma grande parte de sua área foliar afetada, o que pode levar a uma diminuição da taxa fotossintética da planta. Na Bahia, essa doença reduziu 38% da produção de borracha entre os anos de 2017 e 2020 (VIRGENS FILHO *et al.*, 2022).

Figura 1. Seringueiras apresentando desfolha, devido à ocorrência intensa de crosta negra.



Fonte: Arquivo pessoal da autora Ana Carolina Firmino (2022).

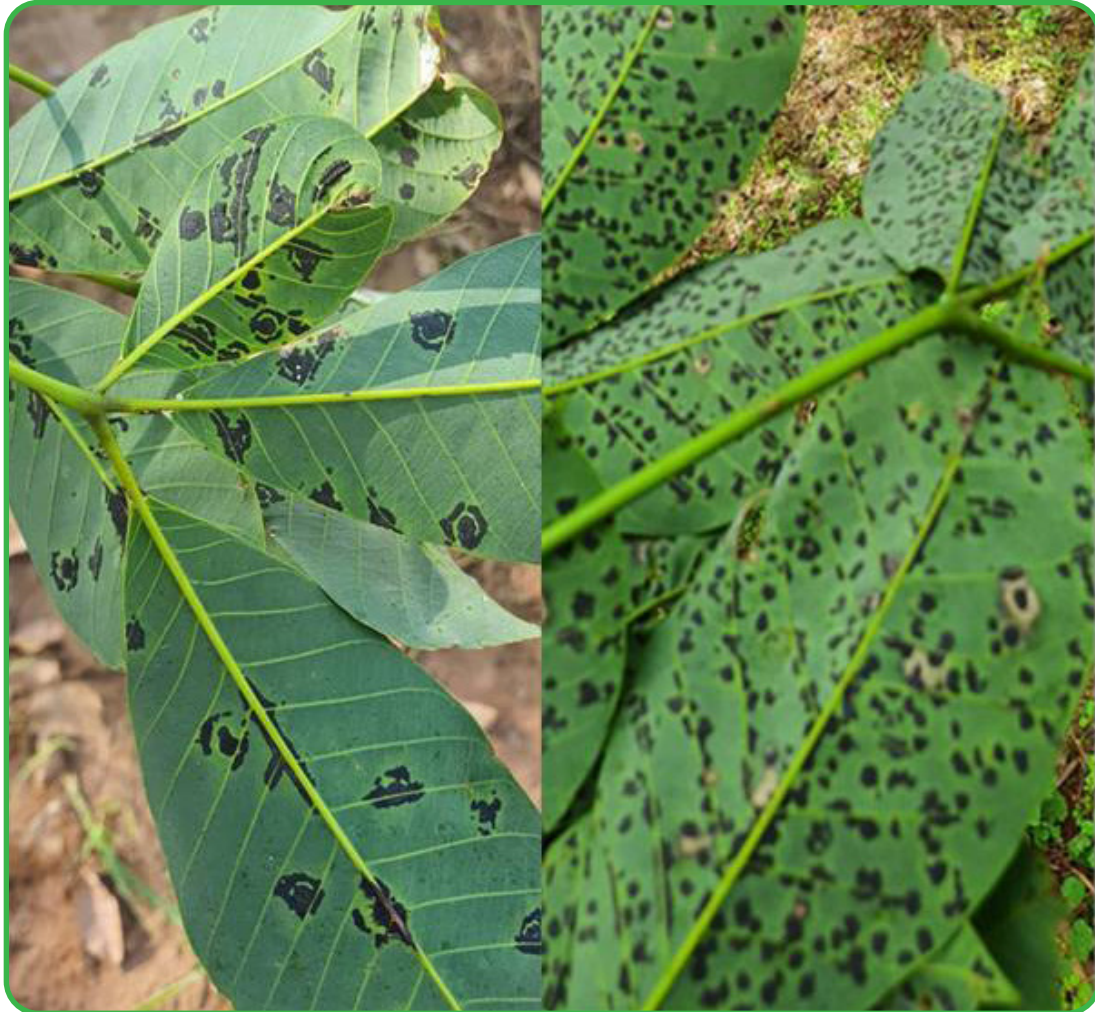
Na América do Sul, essa doença já foi relatada em vários países: Brasil, Venezuela, Trinidad e Tobago, Colômbia, Bolívia, Peru e Suriname. No Brasil, ela era frequentemente encontrada no Acre, Amapá, Amazonas, Pará, Rondônia e Mato Grosso, porém, em 2011, a crosta negra foi registrada em São Paulo, na

região de Tupã. No ano de 2012, ela foi observada na região de Votuporanga e, em 2017, diferentes regiões, também no estado de São Paulo, foram atacadas pela doença. Segundo Gonçalves e Goes (2017), foram relatados casos em: Palestina, Olímpia, Barretos, Colômbia, Colina, Guaraci, Guaíra, São José do Rio Preto, Paulo de Faria, Tanabi, Bebedouro, Bálsamo, José Bonifácio, Ipiranga, Mirassolândia e Mendonça. Nas visitas técnicas, do mesmo modo, foram observados a ocorrência da crosta negra na região de Marília, Pirajuí, Garça, Pindorama e Ilha Solteira (GOMES, 2023).

Na Bahia, foi constatada a presença de crosta negra no ano de 2017, provocando danos em viveiro e jardim clonal de seringueira no município de Igrapiúna (HONORATO JUNIOR; HONORATO, 2019). A partir desse momento, a doença se disseminou rapidamente nos seringais de Igrapiúna, Ituberá e nos municípios das sub-regiões do baixo sul e litoral sul, conforme levantamento realizado pela Agência de Defesa Agropecuária da Bahia (ADAB, 2021). Tal disseminação rápida da crosta negra em seringais comerciais também vem sendo relatada em outros países, como na Colômbia, principalmente na região de Caquetá (STERLING; RODRIGUEZ, 2018).

Os sintomas na parte adaxial da folha são áreas amareladas e as manchas necróticas, que correspondem às placas circulares, são negras na parte abaxial da folha, coincidente com as incrustações estromáticas do fungo, sendo esses os sintomas e sinais característicos dessa doença (Figura 2) (GASPAROTO *et al.*, 2012, SANTOS *et al.*, 2016).

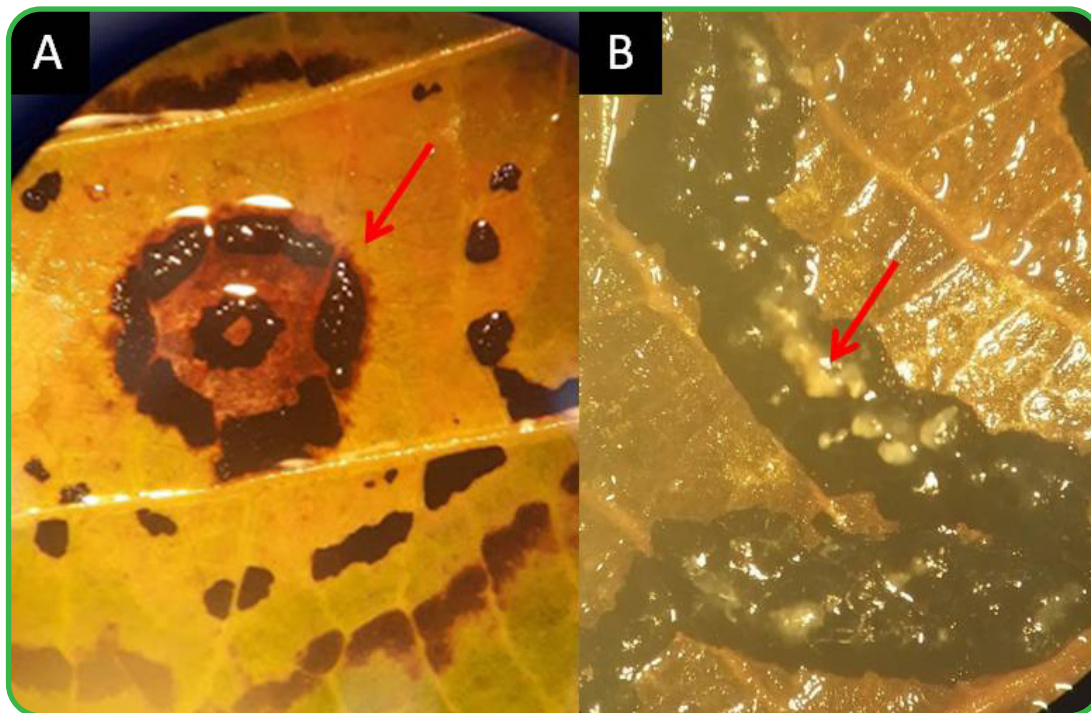
Figura 2. Sintomas de crosta negra em folhas de seringueira na região de Votuporanga.



Fonte: Arquivo pessoal da autora Ana Carolina Firmino (2021).

Durante o período de desfolha, o fungo sobrevive como estroma nas folhas que caem no chão e os ascósporos tornam-se a principal fonte de inoculação para microrganismo começar, mais uma vez, o ciclo nas folhas recém-formadas (Figura 3).

Figura 3. Sintomas de crosta negra nas folhas com os detalhes do estroma formado pelo fungo (A) e Ascósporos liberados por ele (B).



Fonte: Arquivo pessoal da autora Ana Carolina Firmino (2021).

A ocorrência de crosta negra em seringueira também facilita a entrada de outros patógenos, como *Colletotrichum*, já que, com o passar do tempo, as placas negras ressecam, provocando a ruptura do tecido foliar (PEARCE *et al.*, 1999; GASPAROTO *et al.*, 2012) e agravando, dessa maneira, a situação sanitária da cultura.

Em 1899, o fungo *P. huberi* foi o primeiro associado à crosta negra na cultura da seringueira no Brasil, na região amazônica. Em 1990, *R. heveae* foi associado à mesma doença (JUNQUEIRA; BEZERRA, 1990). Esses autores chegaram a citar o isolamento do fungo *Cladosporium*, a partir de estromas nas lesões de crosta negra e sua possível associação com a forma assexuada de *R. heveae*, mas não houve estudos aprofundados sobre o assunto. A partir desse momento, poucas informações foram atualizadas sobre a doença, possivelmente por ela ter sido tratada como secundária (GASPAROTTO *et al.*, 2012; FURTADO; GASPAROTTO; PEREIRA, 2016).

Gomes (2023), após análise de amostras coletadas nos estados de Minas Gerais e São Paulo, isolou diferentes espécies do fungo *Cladosporium* dos estromas de crosta negra em seringueira. Posterior à análise morfológica e à análise filogenética, utilizando sequências parciais da região do ITS-5.8S rDNA, da α -elongase e da actina, os isolados foram identificados como *C. pseudocladosporioides*, *C. tenuissimum*, *C. cladosporioides*, *C. perangustum* e *C. xanthochromaticum*. Nos testes de patogenicidade em mudas de seringueira, com as espécies de fungos encontradas por essa autora, ocorreram sintomas,

como a morte apical, a lesão na haste, a desfolha intensa e a produção de crostas negras nas hastes e folhas. Após um tempo, houve a formação de estromas, que permitiu associar esse fungo com a fase assexuada de *R. heveae*, devido às características dos ascos bitunicados (GOMES, 2023). Desse modo, a visão sobre a doença deve ser reavaliada, sendo mais prudente chamarmos de complexo crosta negra, pois sabemos que o seu ciclo no campo pode envolver diferentes espécies de fungos.

Os estudos relacionados ao efeito da temperatura e ao período de molhamento sobre o avanço da doença verificaram que os esporos de *Cladosporium* sp. tiveram seu desenvolvimento rápido, pois foi possível verificar a germinação e a penetração dos conídios, nas temperaturas de 10 a 20 °C, quatro horas após a inoculação (ANJOS, 2023). Verificou-se, nessa fase (10 a 25 °C), a formação de fiálides a partir de seis horas após a inoculação, indicando que o fungo já estava em período reprodutivo. No que diz respeito a *R. heveae*, a partir das quatro horas após a inoculação, foi possível verificar a formação de pequenas protuberâncias que devem ter sido o início da formação dos estromas (10 e 20 °C). Essas pontuações negras, nessas temperaturas, evoluem, no decorrer dos períodos avaliados, para manchas negras protuberantes circulares, similares aos sintomas de crosta negra, com aparente formação de esporos sobre elas. Tanto *Cladosporium* quanto *R. heveae* mostraram bom crescimento nas temperaturas de 20 a 30 °C, com desenvolvimento diretamente proporcional ao tempo de molhamento da folha (ANJOS, 2023).

Firmino *et al.* (2022), ao correlacionarem o comportamento de diferentes clones de seringueira afetados pela crosta negra com dados climatológicos, observaram que houve maior severidade da doença, quando se teve maior amplitude térmica e médias de temperaturas abaixo de 30 °C no campo, novamente corroborando com as observações realizadas por Anjos (2023).

3 MÉTODOS DE CONTROLE DA DOENÇA

Trabalhos relacionados ao controle da crosta negra em seringueira são escassos. No Brasil, não há produtos químicos registrados para o controle dessa doença nessa cultura (AGROFIT, 2022). Mesmo assim, estudos apontam para a eficácia da aplicação de alguns fungicidas no controle dessa doença. Como exemplo, podemos citar a aplicação em jardins clonais dos fungicidas benomyl (0,075%) e triadimefon (0,025%) (TRINDADE *et al.*, 1999) e o fungicida composto por uma estrobirulina, uma azoxistrobirulina e um triazol (CABRAL JÚNIOR, 2020 *apud* VIRGENS FILHO *et al.*, 2022). No caso controle químico de doenças de seringueira, é importante ressaltar que sempre se deve verificar se há produtos registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

O uso de materiais resistentes seria a melhor alternativa para o manejo da crosta negra. Guen, Seguin e Mattos (2000) avaliaram 200 clones quanto à resistência à crosta negra no campo. Segundo os autores, 42 clones se mostraram resistentes, sendo eles derivados de *H. brasiliensis* e *H. benthamiana*. Porém, alguns materiais resistentes se tornavam suscetíveis durante o período de

avaliação. Essa variação na reação à doença foi devido à interação do genótipo com o ambiente. Nesse sentido, monitoramentos do desenvolvimento dos sintomas de crosta negra em 16 clones, por pelo menos três anos na Guiana Francesa (RIVANO, 1992 *apud* GUEN; SEGUIN; MATTOS, 2000), mostraram que houve variação da resistência do clone conforme o local do plantio, pois os clones IRCA 519 e RO 38, que demonstraram resistência à crosta negra no Mato Grosso, foram suscetíveis na Guiana Francesa.

Firmino e colaboradores (2022), há mais de um ano, avaliam a resistência de seringueira em jardim clonal na cidade de Votuporanga, baseando-se nos mesmos clones estudados por Antonio *et al.* (2021), que encontraram materiais resistentes à antracnose. Os resultados parciais mostraram que os clones resistentes à antracnose (IAC507, IAC502 e IAC505) também se mostraram resistentes à crosta negra. Esses dados são promissores, pois, caso tenha um material resistente a mais de uma doença, representaria uma economia para o produtor que não precisaria aplicar fungicidas no controle de tais doenças em nenhuma etapa da produção das mudas e no campo.

No caso da crosta negra, existem alguns relatos de seu controle biológico. Segundo Furtado, Gasparotto e Pereira (2016), existem casos que podem se dar naturalmente por fungos hiperparasitas, como *Cylindrosporium* sp. e *Dicyma pulvinata*. Esse fato é interessante, já que estudos recentes apontam que os fungos endofíticos isolados da microfauna foliar podem restringir tanto o crescimento *in vitro* quanto o *in vivo* de patógenos de diferentes culturas, inclusive de seringueira. Logo, diminui os danos e destaca o seu status como uma nova fonte de agentes de controle biológico contra fitopatógenos de plantas tropicais (GAZIS; CHAVERRI, 2010; ABRAHAM *et al.*, 2013). Além disso, endófitos de plantas tropicais constituem um conjunto ecológico rico em espécies de microrganismos que deve ser incluído em qualquer programa destinado a rastrear novos metabólitos para uso na agricultura (RUNGJINDAMAI *et al.*, 2008; TEJESVI *et al.*, 2009). Portanto, estudos sobre a identificação desses microrganismos endofíticos e sua ação no controle de doenças de plantas podem gerar novos produtos e novas patentes.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para o desenvolvimento ou adoção de um método eficaz de manejo da crosta negra em seringueiras, é imprescindível a realização de estudos sobre quais espécies ocorrem e quais prevalecem, bem como qual a variabilidade da população do patógeno associada à doença em uma determinada região. Além disso, a maior compreensão sobre a epidemiologia da crosta negra em seringais e sua relação com diferentes clones possibilita minimizar os danos, contribuindo com uma maior produtividade das plantas e um melhor atendimento às demandas de borracha natural no mercado brasileiro.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), referente aos processos nº 2020/11518-4 e nº 2020/14082-2, e a todos os alunos e professores envolvidos na pesquisa desse patossistema.

REFERÊNCIAS

ABRAHAM, A.; PHILIP, S.; JACOB, C. K.; JAYACHANDRAN, K. Novel bacterial endophytes from *Hevea brasiliensis* as biocontrol agent against *Phytophthora* leaf fall disease. **BioControl**, [s. l.], v. 58, p. 675-684, 2013.

AGÊNCIA ESTADUAL DE DEFESA AGROPECUÁRIA DA BAHIA (ADAB). **Distribuição geográfica da ocorrência da crosta-negra na Bahia em novembro de 2021**: mapa da Crosta-negra na Bahia. Salvador: SEAGRI; ADAB, 2021.

AGROFIT. **Sistema de agrotóxicos fitossanitários**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2022. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 9 mar. 2022.

AGROLINK. Seringueiros contribuem para a geração de emprego e renda. **Agrolink**, [s. l.], 3 mar. 2016. Disponível em: https://www.agrolink.com.br/noticias/seringueiroscontribuem-para-a-geracao-de-emprego-e-renda_347620.html. Acesso em: 9 mar. 2022.

ALVARENGA, A. A.; CARMO, C. A. F. **Seringueira**. Viçosa: EPAMIG, 2008.

ANJOS, L. V. S. **Complexo crosta-negra em seringueira: influência da temperatura e período de molhamento no desenvolvimento da doença em folíolos de seringueira**. 2023. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", Ilha Solteira, 2023.

ANTONIO, G. L.; SCALOPPI JUNIOR, E. J.; JR.; FISCHER, I. H.; FURTADO, E. L.; FIRMINO, A. C. Clonal resistance of rubber tree to *Colletotrichum* spp. **Forest Pathology**, [s. l.], v. 51, n. 3, p. 1-6, 2021.

CARMO, C. A. F. S.; MANZATTO, C. V.; ALVARENGA, A. P. Contribuição da seringueira para o sequestro de carbono. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 28, n. 237, p. 24-31, 2007.

CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL (CNA); SERVIÇO NACIONAL DE APRENDIZAGEM RURAL (SENAR). Preços de borracha natural são fortemente influenciados por comportamento do mercado externo. **Campo Futuro: Silvicultura**, [s. l.], 2022. Disponível em: https://cnabrasil.org.br/storage/arquivos/files/ativos_silvicultura-setembro_2022.pdf. Acesso em: 10 fev. 2023.

FIRMINO, A. C.; ANTONIO, G. L.; MATTOCHECK, T. A.; SCALOPPI JUNIOR, E. J.; FISHER, I. H.; PIFFER GONÇALVES, E. C.; FURTADO, E. L. Black crust on rubber tree: initial selection of resistant clones. *In*: INTERNATIONAL UNION OF FOREST RESEARCH ORGANIZATIONS CONFERENCE DIVISION 7 - FOREST HEALTH, 2022, Lisboa. **Resumos** [...]. Lisboa: IUFRO, 2022. p. 217. Disponível em: https://drive.google.com/file/d/1IJXSA8k1OgxVPRNwH2Pe4l_dUmHBAqjn/view. Acesso em: 10 de fev. 2023.

FURTADO, E. L.; GASPAROTTO, L.; PEREIRA, J. C. R. Doenças da seringueira. *In*: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; CAMARGO, L. F. A. (org). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2016. p. 647-656.

GASPAROTTO, L.; FERREIRA, F. A.; SANTOS, A. F.; PEREIRA, J. C. R.; FURTADO, E. L. Doenças das folhas. *In*: GASPAROTTO, L.; REZENDE PEREIRA, J. C. (org.) **Doenças da seringueira no Brasil**. 2. ed. Brasília: Embrapa, 2012. p. 35-176.

GAZIS, R.; CHAVERRI, P. Diversity of fungal endophytes in leaves and stems of wild rubber trees (*Hevea brasiliensis*) in Peru. **Fungal Ecology**, v. 3, n. 3, p. 240-254, 2010.

GOMES, M. E. **Crosta negra em seringueira**: identificação e caracterização de agente causal. 2023. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Ilha Solteira, 2023.

GONÇALVES, E. C. P; GOES, A. Ocorrência de crosta-negra na cultura da seringueira no estado de São Paulo. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 50., 2017, Uberlândia. **Resumos** [...]. Uberlândia: CBF, 2017. Disponível em: http://anais.infobibos.com.br/CBFito/50/Resumos/Resumo50CBFito_0674.pdf. Acesso em: 10 fev. 2023.

GUEN, V.; SEGUIN, M.; MATTOS, C. R. Qualitative resistance of *Hevea* to *Phyllachora huberi* P. Henn. **Euphytica**, [s. l.], v. 11, p. 211-217, 2000.

HONORATO JÚNIOR, J.; HONORATO, S. C. O percevejo de renda em seringueiras no baixo sul da Bahia: seis anos depois. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE HEVEICULTURA, 6., 2019, Belo Horizonte. **Anais** [...]. Belo Horizonte: [s. l.], 2019. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/337652214>. Acesso em: 10 fev. 2023.

JUNQUEIRA, N. T.; BEZERRA, J. Nova doença foliar em seringueira (*Hevea* spp.), causada por *Rosenscheldiella heveae* sp. (Loculoascomycetes, Dothideales, Stigmataceae). **Fitopatologia Brasileira**, [s. l.], v. 15, p. 24-28, 1990.

OLIVEIRA, M. D. O.; GONÇALVES, E. C. P. Custo de produção e rentabilidade da cultura da seringueira: safra 2018/19. **Análises e Indicadores do Agronegócio**, [s. l.], v. 14, n. 2, p. 1-7, 2019. Disponível em: <http://www.iea.sp.gov.br/ftp/iea/AIA/AIA-09-2019.pdf>. Acesso em: 20 mar. 2019.

PEARCE, C. A.; REDDELL, P.; HYDE, K. D. A revision of *Phyllachora* (Ascomycotina) on hosts in the angiosperm family Asclepiadaceae, including *P. gloriana* sp. nov., on *Tylophora benthamii* from Australia. **Fungal Diversity**, [s. l.], v. 3, p. 123-138, 1999.

RUNGJINDAMAI, N.; PINRUAN, U.; CHOYEKLIN, R.; HATTORI, T.; JONES, E. B. G. Molecular characterization of basidiomycetous endophytes isolated from leaves, rachis and petioles of the oil palm, *Elaeis guineensis*, in Thailand. **Fungal Diversity**, [s. l.], v. 33, p.139-162, 2008.

SANTOS, M. D. M.; NORONHA FONSECA, M. E.; SILVA BOITEUX, L.; CÂMARA, P. E. A.; DIANESE, J.C. ITS phylogeny and taxonomy of *Phyllachora* species on native Myrtaceae from the Brazilian Cerrado. **Mycologia**, Abingdon, v. 108, n. 6, p. 1141-1164, 2016.

SCALOPPI JÚNIOR, E. J. O poder público precisa olhar para os seringais. *In*: INFORMA ECONOMICS FNP (org.). **Agriannual 2015**: anuário da agricultura brasileira. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 2015. p. 403-404.

STERLING, A.; RODRÍGUEZ, C. **Estrategias de manejo para las principales enfermedades y plagas del cultivo del caucho con énfasis en la Amazonia colombiana**. Bogotá: Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas-SINCHI, 2018.

TEJESVI, M. V.; TAMHANKAR, S. A.; KINI, K. R.; RAO, V. S.; PRAKASH, H. S. Phylogenetic analysis of endophytic *Pestalotiopsis* species from ethnopharmacologically important medicinal trees. **Fungal Diversity**, [s. l.], v. 38, p. 167-183, 2009.

TRINDADE, D. R.; POLTRONIERI, L. S.; ALBUQUERQUE, F. C.; POLTRONIERI, M. C.; BENCHIMOL, R. L. **Crosta negra causada por *Phylachora schizolobiicola* subsp. schizolobiicola em Paricá, no estado do Pará**. Belém: Embrapa, 1999. (Comunicado Técnico, n. 98). Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/376241/1/CPATUComTec98.pdf>. Acesso em: 20 mar. 2019.

VIRGENS FILHO, A. D. C. V.; CABRAL JÚNIOR, I. C.; HONORATO JÚNIOR, J.; BEZERRA, J. L. Ocorrência da crosta-negra em seringais do sudeste da Bahia. **Agrotropica**, Ilhéus, v. 34, p. 67-80, 2022.



PARTE 3

PRODUÇÃO ANIMAL

- 10** Calagem na manutenção da qualidade da água na aquicultura
- 11** Sustentabilidade na aquicultura: efeito poupador de proteína da dieta em peixes onívoros
- 12** Ciclo reprodutivo e espermatogênese em teleósteos neotropicais
- 13** Óleos essenciais: aditivos de destaque na nutrição de frangos de corte
- 14** Bem-estar animal na produção de leitões: demandas e desafios
- 15** Profilaxia das helmintoses em bovinos no Brasil
- 16** Importância do tratamento anti-helmíntico em bezerros no período pós-desmame
- 17** Efeitos do temperamento na fisiologia do estresse e métodos empregados na avaliação do temperamento em bovinos de corte
- 18** Efeitos do temperamento na produção e reprodução em bovinos de corte

CAPÍTULO 10

CALAGEM NA MANUTENÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA NA AQUICULTURA

Marcelo Mattos Pedreira

Universidade Federal dos Vales do
Jequitinhonha e Mucuri, Laboratório de
Aqüicultura e Ecologia Aquática, Diamantina,
Minas Gerais, Brasil.

Resumo

A calagem vem sendo utilizada na aquicultura para melhorar o ambiente de cultivo. Aplicada na água e/ou no solo, atua sobre o organismo direta ou indiretamente de diversas formas. Tradicionalmente, tem sido realizada com a aplicação de cal agrícola, calcítico ou dolomítico em tanques escavados em terra para o cultivo de organismos aquáticos, em que vem mostrando eficiência, ao melhorar a qualidade do ambiente e aumentar a produção a um baixo custo. Contudo, devido à intensificação e à diversificação dos sistemas aquícolas, outros produtos também vêm sendo demandados. Portanto, este texto apresenta uma breve revisão de alguns produtos empregados para a calagem, suas características e efetividades, formas de aplicação e ação, associados às características dos sistemas de cultivo, a fim de permitir ao leitor inferir qual produto se adequaria melhor ao tipo de sistema.

1 INTRODUÇÃO

A prática da calagem tem sido utilizada, há mais de um século, para transformar águas superficiais acidificadas e naturalmente ácidas em produtivas para a pesca (HELFRICH; NEVES; PARKHURST, 2001). Também tem sido empregada na aquicultura, já há algum tempo, para aumentar a produtividade associada ao uso de fertilizantes, como o potássio, fósforo, nitrogênio e carbono (NEESS, 1948), produtos esses que a calagem afeta, por alterar a condição do cultivo (BOYD; TUCKER, 2012).

Para tal finalidade, usualmente tem se empregado o calcário calcítico, calcário dolomítico, bicarbonato e carbonato (BOYD; TUCKER, 2012; BOYD, 2019), além do cloreto de cálcio (MATOS, 2020) e silicatos (BOYD, 2014), que estabilizam o ambiente de cultivo, aumentam o pH, a alcalinidade e a dureza (BOYD; TUCKER, 2012; BOYD, 2019). Em condições e concentrações específicas, ainda podem ser usadas a cal virgem e a hidratada, que, no entanto, elevam bruscamente o pH da água, podendo matar os peixes (SCHELEDER; SKROBOT, 2016).

A seleção do produto tem sido baseada na efetividade e no preço, sendo o calcário agrícola o mais empregado em tanques escavados em terra (BOYD, 2019). Contudo, com a diversificação de sistemas de cultivo, outras formas de calagem podem ser mais adequadas. É o caso do calcário agrícola, que pode não ser efetivo para diminuir a turbidez (SINK; WARWICK; SILVY, 2021), e até mesmo aumentá-la, logo após sua aplicação (HELFRICH *et al.*, 2001); turbidez que não é desejada em um sistema de recirculação com água clara.

Outro motivo para diversificação de produtos nos sistemas intensivos é a demanda de reações seguras e mais rápidas, que empreguem menores produtos de calagem, o que tem sido obtido em sistemas de bioflocos, com o bicarbonato de sódio e hidróxido de cálcio (MARTINS *et al.*, 2017) e em sistemas com recirculação, com o bicarbonato de sódio (EBELING; TIMMONS, 2012) e com uma mistura de cal hidratada com gesso agrícola e areia fina (LIMA *et al.*, 2016).

Portanto, é importante entender como interagem os diferentes produtos de calagem nos diversos ambientes e organismos cultivados.

2 CALAGEM

A calagem é definida no *Cambridge Dictionary* (2022) como a ação de “[...] espalhar a substância cal em um pedaço de terra”, onde, para dar entendimento à palavra, é citada a frase: “[...] a calagem reduz a acidez do solo e aumenta a disponibilidade de certos nutrientes para as plantas”. Na descrição, o uso de calcários em solo tem como fim a agricultura. Contudo, essa terminologia tem sido aplicada com o mesmo objetivo na aquicultura, que, devido às peculiaridades, tanto do meio como dos organismos, implica em pequenas diferenças na descrição e no entendimento. Cabe destacar que a calagem na aquicultura é realizada tanto no solo como na água.

A calagem tem demonstrado diversos benefícios diretos e indiretos sobre os peixes. Dentre os de ação direta, ela pode ser fonte de sais, que são captados diretamente da água através das brânquias, como o cálcio, para os ossos (FLIK; VERBOST, 1993), e magnésio, para os músculos (BIJVELDS *et al.*, 1998), melhorando os efeitos de uma dieta com baixo teor desses sais (FLIK; VERBOST, 1993; BIJVELDS *et al.*, 1998). Do mesmo modo, a calagem pode atuar indiretamente, alterando a qualidade da água que terá efeito sobre o peixe, bem como as condições da comunidade, zoo e fitoplâncton, que poderão servir de alimento ou interferir na qualidade da água (ESTEVES, 1998; SCHELEDER; SKROBOT, 2016).

Dentre esses benefícios, a calagem incrementa o pH, a alcalinidade e a dureza da água, aumentando o efeito tampão, tornando-a mais estável (BOYD, 2019), o que evita as variações diárias de pH, devido à fotossíntese (QUEIROZ; BOEIRA; NICOLELLA, 2016), e as oscilações que, se abruptas, estressam os peixes, podendo ocasionar mortandade (SCHELEDER; SKROBOT, 2016). Ainda assim, a calagem pode disponibilizar fosfatos inorgânicos, que favorecem o crescimento das plantas e do microbiano, responsável pela decomposição e mineralização da matéria orgânica nos sedimentos, e clarificam as águas turvas, pela floculação e precipitação dos colóides e da argila. Ademais, quando a calagem é feita com cal virgem ou hidratada sobre o fundo do tanque, promove a assepsia do viveiro (VINATEA; MALPARTIDA; ANDREATTA, 2004; SCHELEDER; SKROBOT, 2016). Para tanto, usualmente, têm-se empregado produtos, como o calcário calcítico, o calcário dolomítico, o bicarbonato e o carbonato (BOYD, 2019), além de alguns produtos alternativos, como o cloreto de cálcio (MATOS, 2020) e os silicatos (BOYD, 2014).

3 PRODUTOS UTILIZADOS NA CALAGEM

O agente mais comum para neutralizar a acidez em corpos d'água é o calcário agrícola, seguido da cal virgem (óxido de cálcio ou óxido de cálcio e magnésio) e da cal hidratada (hidróxido de cálcio ou hidróxido de cálcio e magnésio) (BOYD, 2019).

O calcário (calcário agrícola) é formado, principalmente, por carbonato de cálcio (CaCO_3). Ele pode ser classificado como calcário calcítico, quando a concentração de magnésio é abaixo de 5%, calcário magnesiano, quando tem entre 5 a 12% de magnésio e calcário dolomítico ($\text{CaCO}_3 \cdot \text{MgCO}_3$), com mais de 12% de magnésio (QUEIROZ; BOEIRA, 2006; SCHELEDER; SKROBOT, 2016). Podem, também, ser classificados somente como calcítico ou dolomítico (BOYD; TUCKER, 2012), calcário filler, se for finamente moído (BURATTO *et al.*, 2017), dentre outras classificações.

A cal virgem (CaO) é um óxido fortemente alcalino que eleva bruscamente o pH da água, podendo matar os peixes, por isso, não deve ser aplicada diretamente na água de cultivo e utilizada em menores quantidades, se comparada ao calcário (SCHELEDER; SKROBOT, 2016).

A cal hidratada ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) é um hidróxido que apresenta alta capacidade de reação e, assim como a cal virgem, não deve ser adicionada diretamente na água e em quantidades menores do que as do calcário (SCHELEDER; SKROBOT, 2016).

O bicarbonato de sódio (NaHCO_3) também pode ser empregado para neutralizar a acidez, apesar de normalmente ser mais caro (BOYD, 2019). Contudo, em sistemas intensivos onde os volumes são menores, produtos - como o bicarbonato de sódio, que teria um custo maior - têm se tornado viáveis e desejáveis, já que aumentam a alcalinidade, são de rápida dissolução, além de serem seguros tanto para os animais como para o tratador. Para manter adequados os níveis de pH e a alcalinidade no cultivo de tilápias em bioflocos, foi necessária uma menor quantidade de bicarbonato de sódio do que de carbonato de cálcio, produto esse que gerou uma maior quantidade dos sólidos totais em suspensão, ambiente que resultou em um menor crescimento das tilápias, possivelmente representando uma perda econômica (MARTINS *et al.*, 2017).

Tais resultados indicaram que os melhores alcalinizantes para os sistemas intensivos, devido às suas características, podem ser outros que não aqueles tradicionalmente utilizados em tanques escavados em terra.

3.1 PRODUTOS ALTERNATIVOS

Os silicatos podem ser produtos de calagem na aquicultura, pois têm a capacidade de elevar a alcalinidade do pH sem serem tóxicos aos peixes, como o silicato de sódio (PESSOT *et al.*, 2014) e silicato de cálcio (BOYD, 2014). Comparado com o carbonato de cálcio e o calcário dolomítico, o silicato de cálcio proporcionou a alcalinidade abaixo do carbonato de cálcio, mas, ligeiramente, superior ao do dolomítico, sendo o pH igual ao do carbonato de cálcio e superior ao do dolomítico, mostrando-se um produto adequado para a calagem (PEDREIRA *et al.*, 2017a). Entretanto, o calcário é mais barato e facilmente encontrado, além de ter maior valor de neutralização (BOYD, 2014), o que não deve inibir o emprego dos silicatos, que têm sido ofertados como material de calagem pelas empresas e demonstrado diversas finalidades.

Para sistemas de recirculação, têm sido usadas pastilhas - combinação de cal hidratada com gesso agrícola e areia fina misturado com água -, que, quando colocadas nos tanques, liberam lentamente os íons para a coluna de água, evitando flutuações bruscas e mantendo a alcalinidade, o pH e a dureza favoráveis para o cultivo. A sua cal hidratada eleva o pH e é fonte de íons Ca^{2+} e Mg^{2+} , o gesso agrícola objetiva elevar os valores de dureza e reduzir a turbidez. A areia fina dá a porosidade da pastilha, permitindo a passagem da água e dissolução gradativa da cal hidratada e do gesso. Cada pastilha de 30 g tem sido indicada para elevar o pH de 5,0 para 7,0 de um tanque de até 200 litros (LIMA *et al.*, 2016).

Nas larviculturas de pacamã e de tilápia, em sistemas fechados com

recirculação de água clara, as conchas calcárias vêm sendo utilizadas como substrato de filtro biológico, liberando o calcário de forma lenta e contínua, mantendo os níveis de amônia baixos e o pH próximo à neutralidade, mesmo que funcione como filtro mecânico, retirando partículas em suspensão e diminuindo a turbidez (PEDREIRA *et al.*, 2009; DUARTE *et al.*, 2013). Esse filtro tem apresentado rendimento similar ao filtro com substrato de cerâmica (PEDREIRA *et al.*, 2016), que é reconhecidamente eficaz.

3.2 COMPARAÇÃO ENTRE PRODUTOS DE CALAGEM

Devido às características de cada material e às condições de cultivo, os produtos de calagem podem ser sugeridos para fins diferentes. Scheleder e Skrobot (2016) indicam a aplicação de calcário diretamente na água para a correção de pH, alcalinidade e dureza em tanques escavados em terra. Quando a aplicação for no fundo do tanque vazio, a correção do pH pode ser feita com calcário, cal virgem ou cal hidratada e, se for para desinfecção, deve-se aplicar a cal virgem ou cal hidratada. Tanto a cal virgem quanto a hidratada não foram indicadas para serem aplicadas diretamente na água, devido à alta capacidade de reação desses produtos, que pode afetar negativamente os peixes.

Sabendo dessa restrição, Martins *et al.* (2017) utilizaram o hidróxido de cálcio, em baixas concentrações, e o indicaram por resultar em melhor crescimento da tilápia do que com carbonato de cálcio ou bicarbonato de sódio, mas, nesse caso, cultivada em sistema intensivo de bioflocos. Já em sistema de recirculação com água clara, para atingir a alcalinidade desejada, o bicarbonato de sódio tem sido adicionado por ser seguro e de rápida resposta, se comparado com os produtos convencionais (EBELING; TIMMONS, 2012).

Comparando a eficiência entre os calcários, o calcário calcítico proporciona uma maior alcalinidade do que o dolomítico, devido ao calcário dolomítico ser menos solúvel e ter menor capacidade de neutralizar elementos ácidos - um valor neutralizante, se comparado ao calcário calcítico (BOYD; TUCKER, 2012) -, apesar de ambos demorarem semanas se dissolvendo na água até atingirem um equilíbrio (SILAPAJARN; SILAPAJARN; BOYD, 2005; BOYD, 2012).

Verifica-se que os produtos convencionais, geralmente, são eficientes e mais baratos. Contudo, em sistemas intensivos, o bicarbonato de sódio tem se mostrado seguro e de resposta rápida, como requerem tais sistemas. Já o óxido de cálcio (cal virgem) e o hidróxido de cálcio (cal hidratada), reagem fortemente, o que pode trazer problemas tanto para o tratador como para o peixe, devendo ser empregados com mais prudência.

3.3 VALOR DE NEUTRALIZAÇÃO

O valor de neutralização é um índice que aponta a capacidade do produto em neutralizar a acidez, comparado ao poder de neutralização de acidez do carbonato de cálcio puro. O carbonato de cálcio (CaCO_3) tem um valor de neutralização de ácido de 100%, a cal virgem (CaO) de 179%, a cal hidratada

($\text{Ca}(\text{OH})_2$) de 135%, o bicarbonato de sódio (NaHCO_3) de 59% e o silicato de cálcio (CaSiO_3) de 86% de CaCO_3 equivalente (BOYD; TUCKER, 2012).

O valor de neutralização pode ser calculado relacionando-se o peso molecular do carbonato de cálcio CaCO_3 (100 g) sobre o do produto que se quer comparar, como no caso do hidróxido de cálcio (74 g), em que $\text{CaCO}_3/\text{Ca}(\text{OH})_2$, que é 100/74, gera um valor expresso em porcentagem - conhecido como valor de neutralização -, nesse caso, de 135%. Essa comparação direta entre massas só é possível porque, ao dissociar-se o $\text{Ca}(\text{OH})_2$, gera-se $(\text{OH})_2^{2-}$ que neutralizará dois íons de hidrogênio (H^+), similarmente ao observado na dissolução do CaCO_3 , que gerará uma partícula CO_3^{2-} que, também, neutralizará dois íons de hidrogênio (H^+). No caso do bicarbonato de cálcio, NaHCO_3 , de peso molecular de 84 g, são necessárias duas moléculas (2×84) para neutralizar dois íons de hidrogênio, já que o HCO_3^{-1} é -1. Nesse caso, para se realizar o cálculo do valor de neutralização, são necessários $100/(2 \times 84)$, que será de 59%.

Cálculos semelhantes podem ser feitos para qualquer composto puro de composição conhecida. Entretanto, compostos impuros, como o calcário agrícola, que geralmente tem um valor de neutralização de ácido de 90-100% CaCO_3 , demandam cálculos específicos (BOYD, 2019).

3.4 FATORES QUE INTERFEREM NA EFICIÊNCIA DO PRODUTO

A efetividade da calagem é afetada por diversos fatores. Além da composição e da pureza do produto, também determinam a sua eficiência: a granulometria, a circulação da água, a frequência de calagem e as reações químicas.

A dissolução do carbonato pode ser aumentada pela presença do gás carbônico que reage com a água, produzindo o ácido carbônico que irá reagir com o calcário, e do carbonato de cálcio, dando origem ao bicarbonato de cálcio (SCHÄFER, 1985; BOYD; TUCKER, 2012). Portanto, o fitoplâncton - organismos fotoautotróficos -, apesar de elevarem o pH durante o dia, acidificam a água ao respirem durante a noite, quando realizam a fotossíntese assimilando o CO_2 . Assim, quanto maior a biomassa vegetal, maiores e mais rápidas serão as alterações de pH em 24 horas, pois, frequentemente, as águas têm baixa alcalinidade. Os organismos heterotróficos (bactérias e animais) também abaixam o pH, ao realizarem decomposição e respirarem liberando CO_2 , formando ácido carbônico e íons hidrogênio (ESTEVES, 1998). Outra via de diminuição do pH da água é pelas bactérias autotróficas, ao oxidarem os nutrientes, como no processo de oxidação da amônia a nitrato (BOYD; TUCKER, 2012).

A granulometria é outra característica que interfere na eficiência da calagem, sendo que os materiais finamente moídos reagem mais rápido e o efeito é mantido por menos tempo do que os de partículas grosseiras, que reagem mais devagar, devido à menor área de contato. Assim, grandes aplicações com calcário de maior granulometria apresentam efeito residual prolongado para a correção da acidez (BURATTO *et al.*, 2017). Apesar da dissolução das partículas finas ser mais rápida, a eficiência da calagem pode ser

comprometida por um processo conhecido como blindagem, onde óxidos de ferro, de manganês, dentre outros, podem revestir as superfícies das partículas, reduzindo sua solubilidade (BOYD; TUCKER, 2012).

Outro fator que interfere na eficiência da calagem é a movimentação da água, que pode suspender e levar a uma maior disponibilidade do calcário. A aeração aumentou a capacidade tamponante do silicato de cálcio, quando comparado aos observados em aquários sem aeração (PEDREIRA *et al.*, 2017b). Por fim, a disponibilidade e a efetividade também podem ser incrementadas com uma maior frequência da calagem (ROJAS *et al.*, 2004).

4 CALAGEM E TURBIDEZ

A calagem, da mesma maneira, tem sido empregada para diminuir a turbidez, utilizando-se do calcário, do gesso (sulfato de cálcio) ou da mistura de cal hidratada com sulfato de alumínio.

A cal agrícola é comumente empregada para diminuir a turbidez da água nos tanques. Entretanto, é um fraco floculante e o seu sucesso prolongado é menor do que 20%, em aplicações nas quais se desconhece a composição química da água. Contudo, sua eficácia é aumentada quando as concentrações de dureza e alcalinidade são baixas (<50 ppm) e estão próximas de uma proporção de 1:1 (SINK; WARWICK; SILVY, 2021).

Devido à baixa solubilidade, boa parte do calcário afundará, perdendo sua eficiência, mesmo que homogêneo em água e pulverizado na superfície do tanque (PROVIN; PITT, 2013). A baixa eficiência também está relacionada com a pouca afinidade da ligação entre os íons de cálcio (Ca^{2+}) com a carga positiva, a argila de carga negativa, a ligação responsável pela floculação e o afundamento das partículas. Nesse caso, muitas vezes, é necessário mais de duas toneladas e meia de calcário por hectare (SINK; WARWICK; SILVY, 2021). De fato, tem se verificado que a aplicação de grande quantidade de calcário agrícola pode não influenciar em curto prazo, 4 a 5 dias, na precipitação de argila (QUEIROZ; BOEIRA; NICOLELLA, 2016), sendo que, devido à suspensão de partículas de calcário na coluna de água, logo após a calagem, a turbidez pode até aumentar (HELFRICH; NEVES; PARKHURST, 2001).

O gesso (sulfato de cálcio) também apresenta uma fraca ligação do cálcio com a argila, demandando quantidades similares às do calcário para diminuir a turbidez. A sua eficiência é maior quando a alcalinidade está acima de 50 mg/L e a dureza abaixo de 37,5 mg/L, ou quando a proporção entre dureza e alcalinidade é de 0,75:1 ou inferior (SINK; WARWICK; SILVY, 2021). Contudo, o emprego de 2.5000 a 5.000 kg de gesso agrícola/hectare tem sido considerado uma prática eficiente e barata (KUBITZA, 1998).

Outra opção é o sulfato de alumínio, produto muito eficaz para a floculação de argila (SINK; WARWICK; SILVY, 2021), devendo ser aplicado em concentrações de 150 a 250 kg/hectare (KUBITZA, 1998). Entretanto, pode baixar rapidamente o pH e a alcalinidade, prejudicando, ou até mesmo, matando peixes. Portanto, recomenda-se aplicar juntamente com a cal hidratada na proporção de 0,43

por 1 de sulfato de alumínio, em tanques com alcalinidade superior a 50 mg/L (SINK; WARWICK; SILVY, 2021). Cabe lembrar que os produtos devem ser dissolvidos antes da aplicação para evitar bruscas alterações no ambiente de cultivo.

4.1 CALAGEM, pH E ALCALINIDADE

O pH das águas naturais, geralmente, varia entre 5,0 e 9,0, porém, valores inferiores e superiores podem ocorrer, sendo que, às vezes, as calagens não são necessárias (BOYD, 2013). Banerjea (1967) já descrevia que os tanques tendem a ser produtivos sob pH neutro (6,5-7,5), e com águas ácidas (pH 5,5-6,5), ou altamente alcalinas (pH > 8,5), são improdutivos. O autor, complementarmente, descreveu que uma alcalinidade total muito baixa (<20 ppm) indica ambientes com baixa produção.

Com o objetivo de melhorar a produtividade, a calagem do fundo dos tanques é comum entre períodos de cultivo, a fim de neutralizar a acidez e estimular a decomposição microbiana da matéria orgânica (BOYD; MASSAUT, 1999). Tanques com solos ácidos e de baixa alcalinidade não respondem bem à adubação e devem receber calagem para disponibilizar nutrientes dos fertilizantes, levando ao aumento da abundância dos organismos alimento e da produção de peixes. O aumento de alcalinidade também evita amplas flutuações diárias do pH e o estresse nos organismos cultivados (BOYD, 2012), o que compromete o crescimento dos peixes (MARTINS *et al.*, 2017). Entretanto, tanques com boa alcalinidade podem não necessitar de calagem (BOYD, 2012). Cabe ressaltar, ainda, que nem sempre as maiores alcalinidades irão resultar em melhor rendimento, como no caso larvas de curimba, que apresentou maiores comprimento total e peso, em relação às submetidas à alcalinidade intermediária de 32,4 mg/L CaCO₃ (ROJAS; ROCHA; AMARAL, 2001).

4.2 ALCALINIDADE E DUREZA

A alcalinidade e a dureza, apesar de serem medidas em CaCO₃ (mg/L) e estarem bastante relacionadas, uma vez que ambas têm seus valores elevados com a calagem, o que gera uma confusão de entendimento e interpretação entre elas, são suas características distintas. A alcalinidade total indica a quantidade integral de bases tituláveis presentes na água, principalmente bicarbonatos e carbonatos, que podem ser de cálcio ou de uma combinação de cálcio com magnésio. Já a dureza é a concentração de sais bivalentes, como o cálcio, o magnésio, o ferro etc., mas que, basicamente, está associada com as concentrações dos sais de cálcio e magnésio (WURTS; MASSER, 2013).

A confusão é ainda maior, pois a dureza e a alcalinidade são índices oriundos de combinações de diversos elementos (BOYD; TUCKER; SOMRIDHIVEJ, 2016), sendo grande parte da dureza dada por sais de cálcio e magnésio, combinados com bicarbonato e carbonato (dureza temporária) (WETZEL, 2001), bem como porque, na maioria das águas, as concentrações desses parâmetros

são próximas. Há exceções em águas muito ácidas, onde o bicarbonato é neutralizado pela acidez, mas os íons que determinam a dureza permanecem, fazendo com que a dureza seja maior do que a alcalinidade. Outra situação é a de regiões áridas, onde os carbonatos tendem a precipitar com o aumento da salinidade, fazendo com que a alcalinidade seja menor do que a dureza (QUEIROZ; BOEIRA, 2006).

Apesar de muitas vezes os efeitos dessas variáveis serem interpretados separadamente, deve ser considerado, também, se as diferentes relações entre elas têm distintas ações sobre as espécies (BOYD; TUCKER; SOMRIDHIVEJ, 2016). Alguns trabalhos têm indicado que a relação dureza/alcalinidade pode influenciar no crescimento, como observado no da tilápia (CAVALCANTE, 2014), assim como nos manejos de qualidade da água e na eficiência do carbonato de cálcio na diminuição da turbidez, que é maior quando a proporção é de 1:1 entre a alcalinidade e a dureza (SINK; WARWICK; SILVY, 2021). Com o objetivo de ajustar essa relação, o gesso agrícola tem sido empregado por aumentar a dureza e por adicionar íons de cálcio, sem aumentar a alcalinidade (BENDHACK, 2004; LIMA *et al.*, 2016; SINK; WARWICK; SILVY, 2021).

4.2.1 Dureza e seu efeito benéfico

A dureza apresenta um efeito protetor aos organismos aquáticos. Mesmo que exista uma faixa ideal para a espécie e a fase de desenvolvimento, águas mais duras, normalmente, diminuem o efeito negativo de algumas substâncias.

O principal efeito da dureza parece resultar do Ca^{2+} , apesar da importância do Mg^{2+} . Esse efeito protetor é observado na maioria dos teleósteos de água doce, que apresenta maior sobrevivência em águas duras do que em águas moles, tanto em águas ácidas como alcalinas (PARRA; BALDISSEROTTO, 2019).

A elevação da dureza com a adição de cálcio tem diversas vantagens. A tilápia absorve uma significativa quantidade de cálcio diretamente da água seja ela adulta (FLIK *et al.*, 1986), larva ou juvenil (TSAI; HWANG, 1998), mesmo em águas com baixo teor de cálcio, compensando os baixos níveis de cálcio obtidos no alimento desbalanceado. Maiores níveis de dureza, pela adição de sulfato de cálcio, diminuíram os níveis de cortisol de matrinxãs (*Brycon cephalus*), reduzindo o estresse no transporte (BENDHACK, 2004). Analisando os parâmetros hematológicos e bioquímicos de pacus (*Piaractus mesopotamicus*) expostos ao pH ácido (5,5) ou alcalino (9,0), verificou-se que os altos níveis de dureza (120 mg/L CaCO_3) produziram efeito protetor. No entanto, sob pH neutro (7,5), mudanças de dureza (50 e 120 mg/L) não refletiram em alterações (COPATTI *et al.*, 2019). A incubação dos ovos de teleósteos também depende da disponibilidade de cálcio na água, como verificado para bacalhau *Gadus morhua* e para o linguado *Pleuronectes platesa* (CRAIK, 1986). Chatakondi e Torrans (2012), observando oito espécies, verificaram que a dureza adequada para a incubação, em média, oscilou de 60 a 70 mg/L CaCO_3 , e que a eclosão de ovos de bagres híbridos foi maior em uma dureza de cálcio de 75 mg/L CaCO_3 .

4.2.2 Dureza no crescimento

O nível de dureza também pode afetar o crescimento. Juvenis de jundiás (*Rhamdia quelen*), sob combinações de durezas 0; 25 e 50 mg/L CaCO₃ com pH 6, 7 e 8, apresentaram melhor sobrevivência e crescimento quando submetidos a 25-50 mg/L CaCO₃ (COPATTI *et al.*, 2011). Apesar dos trabalhos geralmente indicarem que o aumento da dureza melhora as condições, o efeito da relação dureza com alcalinidade também tem de ser avaliada para o crescimento dos peixes. Tilápias, sob diferentes relações de dureza cálcica/alcalinidade, de 1/2, 1/1 e 5/1, combinadas com duas alcalinidades (50 e 100 mg/L CaCO₃), apresentaram maiores peso, taxa de crescimento específico e biomassa na relação de 1/1, seguido de 1/2 e 5/1 (CAVALCANTE, 2014).

4.2.3 Dureza e substâncias tóxicas

O cálcio tende a bloquear a absorção de metais pelos peixes, diminuindo a toxicidade (BOYD; TUCKER; SOMRIDHIVEJ, 2016). O aumento de íons de Ca²⁺ e Mg²⁺ acirra a competição com os metais tóxicos pelos sítios de ligação e, ao ocuparem os locais, as lamelas branquiais são protegidas (WELCH; JACOBY, 2004).

O aumento da dureza diminui a solubilidade dos metais, tornando-os menos tóxicos (RATHOR; KHANGAROT, 2003), bem como diminui a toxicidade do cobre e do zinco sobre *Capoeta fusca* (EBRAHIMPOUR; ALIPOUR; RAKHSHAH, 2010) e do cobre sobre larvas de peixe-zebra (*Danio rerio*) (LINBO *et al.*, 2009). Porém, deve ser considerada, também, a interação da dureza com a alcalinidade. O aumento da relação dureza/alcalinidade diminuiu a toxicidade do ácido peracético para embriões de zebra fish *D. rerio* (LIU *et al.*, 2021). Já o aumento, em 50 vezes da dureza, resultou em uma diminuição na toxicidade do urânio; entretanto, quando a alcalinidade aumentou 25 vezes, mantendo a dureza constante, não foi verificada diferença na toxicidade sobre a *Hydra viridissima* (hidra verde) (RIETHMULLER *et al.*, 2001).

4.3 AMÔNIA E CALAGEM

A calagem, por elevar e estabilizar o pH, afeta a dinâmica da amônia, já que a relação entre amônia ionizada (NH₄⁺) e não ionizada (NH₃ - tóxica ou gasosa) é fortemente influenciada pelo pH e pelas bactérias nitrificantes, que têm faixas adequadas de pH para seu melhor funcionamento.

A principal, ou uma das principais fontes de amônia, é a ração, seja em tanque escavado (HARGREAVES, 1998) ou em sistema intensivo (EBELING; TIMMONS; BISOGNI, 2006), além da excreção de peixes, mineralização de matéria orgânica e do sedimento reduzido (HARGREAVES, 1998). Já a saída da amônia da coluna de água se dá pela sua incorporação e pelo crescimento das bactérias heterotróficas (KUBITZA, 2017; MARTINS *et al.*, 2017), pelo consumo do fitoplâncton, pela evaporação da forma gasosa (ESTEVES, 1998) e pela incorporação no sedimento, nos tanques escavados em terra (BOYD; TUCKER, 2012).

Em um ambiente com elevada biomassa, a amônia pode acumular e se tornar um problema para os peixes, já que a amônia total é composta pela amônia ionizada (pouco tóxica) e a amônia não ionizada (forma gasosa e tóxica) (BOYD; TUCKER, 2012; HARGREAVES, 1998; KUBITZA, 2022), forma que aumenta proporcionalmente com a elevação do pH, sendo perigosa em águas mal tamponadas, em especial no final da tarde, quando a elevação da temperatura acentua a toxicidade da amônia (HARGREAVES, 1998). A concentração de 0,2 mg/L de amônia não ionizada tem sido descrita como nível de atenção (KUBITZA, 2022) ou nível aceitável (BOYD; TUCKER, 2012) para a produção de peixes. Entretanto, para que seja atingido os 0,2 mg/L, é necessário 30, 3 e 0,5 mg/L de amônia total, em pH 7,0, 8,0, e 9,0, respectivamente (KUBITZA, 2022).

As concentrações de amônia podem ser minimizadas pela nitrificação - oxidação da amônia a nitrito -, reação realizada, principalmente, por bactérias do gênero *Nitrosomonas*, sendo, em seguida, oxidadas de nitrito para nitrato, majoritariamente por espécies de *Nitrobacter*, bactérias que têm suas funções otimizadas em pH próximo ao neutro (WETZEL, 2001), faixa ideal de pH 7-8,5 (HARGREAVES, 1998; BOYD; TUCKER, 2012), apesar de crescerem em uma ampla faixa de valores de pH (5,5-10) (BOYD; TUCKER, 2012). Sendo a nitrificação um processo de oxidação, ela também é drasticamente reduzida quando os níveis de oxigênio dissolvido caem abaixo de 1 a 2 mg/L (BOYD; TUCKER, 2012), cessando ao atingir 0,3 mg/L (WETZEL, 2001).

O íon amônio afeta, igualmente, a comunidade do tanque, ao depletar os níveis de oxigênio na água, uma vez que, para oxidar 1,0 mg do íon amônio a nitrato – desnitrificação –, há um consumo aproximado de 4,3 mg de oxigênio (ESTEVES, 1998; KUBITZA, 2022), 4,57 mg/L de oxigênio (BOYD; TUCKER, 2012), gerando 2 gramas de ácido e produzindo 0,21 g de bactérias. Devido às bactérias nitrificantes consumirem alcalinidade, ao oxidar amônia a nitrato, valores acima de 100 mg/L CaCO_3 favorecem a nitrificação e, em águas com alcalinidade menores que 20 mg/L, é comum ocorrer grande elevação nos níveis de nitrito, em razão da redução na atividade das bactérias, sendo demandada à correção da alcalinidade para que se mantenha com níveis, preferencialmente, abaixo de 0,3 mg/L (KUBITZA, 2022).

Comparando a quantidade de acidez produzida na nitrificação - obtidas pelas reações de amônia a nitrato - com a alcalinidade produzida na desnitrificação - processo inverso, ou seja, do nitrato a amônia -, verificou-se que a nitrificação de 1 mg/L de amônia produz uma acidez equivalente a 7,14 mg/L CaCO_3 e que a alcalinidade produzida pela desnitrificação de 1 mg/L de nitrato é equivalente a 3,57 mg/L de CaCO_3 . Portanto, a oxidação de 1 mg//L de amônia reduz a alcalinidade em 7,14 mg/L, porém, se o nitrato resultante da nitrificação fosse então desnitrificado, no mesmo sistema, metade da alcalinidade seria restaurada (BOYD; TUCKER, 2012).

Considerando-se que a maior parte das entradas de nitrogênio se origina da proteína da ração, recomenda-se o controle da quantidade e da qualidade do alimento, bem como do fluxo da água, evitando o acúmulo da matéria orgânica (PEREIRA; MERCANTE, 2005). Por fim, é necessário fazer a correção

do pH da água com aplicações controladas, para que fique ao redor de 7,5 e não ultrapasse 8,0 (KUBITZA, 2022), evitando, assim, que os parâmetros ambientais tenham variações a ponto de comprometer o crescimento e o bem-estar dos animais.

4.4 FOSFATO E CALAGEM

Concentrações de fosfato em ambientes naturais, normalmente, são baixas, pois tendem a ser removidas da coluna de água, ao reagirem com o ferro ou com o alumínio, indo até o sedimento que poderá liberar fosfato lentamente para a coluna de água - processo que geralmente mantém o ortofosfato como um fator limitante do crescimento de plantas (SCHÄFER, 1985). Em elevado pH, após o processo de calagem, o ortofosfato reagirá com o cálcio e, na forma de fosfato de cálcio ou adsorvido a cristais de carbonato de cálcio, tenderá a se depositar, acumulando-se no sedimento (ESTEVES, 1998).

O fosfato também pode ser precipitado, como o fosfato de cálcio, pela reação de floculação com cloreto de cálcio (BOYD; TUCKER, 2012), produto com boa capacidade de aumentar a alcalinidade e a dureza, tendo sido adequado para o cultivo de tilápia em sistema de recirculação por biofiltro (MATOS, 2020). Por fim, produtos que disponibilizam cálcio abundantemente na água têm potencial para remover o ortofosfato da coluna de água (BOYD; TUCKER, 2012). Do mesmo modo, as argilas apresentam capacidade de adsorção de fosfato sobre sua superfície (ESTEVES, 1998).

Águas naturais geralmente apresentam o pH de 5 a 9, faixa em que o fosfato dissolvido está, predominantemente, na forma H_2PO_4^- e HPO_4^{2-} . O pH regula o equilíbrio entre as formas minerais de fósforo, incluindo os ortofosfatos (H_3PO_4 , H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} e PO_4^{3-}), mas, dificilmente, o pH estará na faixa que possibilite que tais minerais sejam altamente solúveis (BOYD, 2019). Portanto, a calagem pode elevar o pH a uma faixa que disponibiliza o fósforo na coluna d'água, liberado do substrato, levando a um aumento gradual na produção de plantas aquáticas (HELFRICH; NEVES; PARKHURST, 2001). Essa produção de algas é desejada em tanques escavados em terra, desde que não seja em excesso, pois pode resultar em florações pontuais, que acarretam menor transparência e oxigênio dissolvido (HURTADO, 2018). Já em sistemas intensivos de água clara, as algas não são desejadas e devem ser evitadas.

Verifica-se, então, que um nível intermediário de calagem é uma opção para disponibilizar os fosfatos na coluna de água, enquanto as altas concentrações os indisponibilizam.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A calagem tradicionalmente vem sendo realizada com grandes quantidades de calcário para aumentar o pH e a alcalinidade, a fim de evitar flutuações na qualidade da água. A calagem também tem sido utilizada para aumentar a disponibilidade de nutrientes e a produção do tanque, para realizar assepsia,

dentre outros fins. Entretanto, com o crescimento dos cultivos intensivos, novos produtos, novas formas de aplicação e, às vezes, novos objetivos, vêm surgindo conforme a demanda. Para tanto, é importante entender o ambiente e como a calagem interage, a fim de que se possa manejar adequadamente, obtendo-se uma água de boa qualidade, proporcionando o melhor bem-estar e aumentando a produtividade.

REFERÊNCIAS

BANERJEA, S. M. Water quality and soil condition of fish ponds in some states of India in relation to fish production. **Indian Journal of Fisheries**, [s. l.], v. 14, n. 1-2, p. 115-144, 1967.

BENDHACK, F. **Uso de sulfato de cálcio como redutor de estresse no transporte de matrinxãs (*Brycon cephalus*)**. 2004. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2004.

BIJVELDS, M. J.; VELDEN, J. A.; KOLAR, Z. I.; FLIK, G. E. R. T. Magnesium transport in freshwater teleosts. **The Journal of Experimental Biology**, London, v. 201, p. 1981-1990, 1998.

BOYD, C. E. Manage pH cycles to maintain animal health. **Global Aquaculture Advocate**, Saint Louis, v. 17, p. 28-30, 2013.

BOYD, C. E.; MASSAUT, L. Risks associated with the use of chemicals in pond aquaculture. **Aquacultural Engineering**, [s. l.], v. 20, n. 2, p. 113-132, 1999.

BOYD, C. E. Silicon, diatoms in aquaculture. **Global Aquaculture Advocate**, Saint Louis, v. 17, p. 38-39, 2014.

BOYD, C. E.; TUCKER, C. S. **Pond aquaculture water quality management**. New York: Springer Science & Business Media, 2012.

BOYD, C. E.; TUCKER, C. S.; SOMRIDHIVEJ, B. Alkalinity and hardness: critical but elusive concepts in aquaculture. **Journal of the World Aquaculture Society**, [s. l.], v. 47, n. 1, p. 6-41, 2016.

BOYD, C. E. **Water quality**: an introduction. New York: Springer Nature, 2019.

BOYD, C. E. Water quality and pond fertilization. *In*: MISCHKE, C. C. (ed.). **Aquaculture pond fertilization**: impacts of nutrient input on production. Oxford: John Wiley and Sons, 2012. p. 47-63.

BURATTO, W.; LANGE, A.; CAMPOS, M.; DE LIMA, J. P.; BORTOLANZA, M.; MATOS, F. B.; MACHADO, R. A. F. Influência das doses e granulometrias de calcário calcítico nas características de qualidade do solo. *In*: MOSTRA DA PÓS-GRADUAÇÃO, 9., 2017. **Anais [...]**. [S. l.]: PROPG UFMT, 2017.

CAVALCANTE, D. H.; CALDINI, N. N.; SILVA, J. L. S.; LIMA, F. R. S.; SÁ, M. V. C. Imbalances in the hardness/alkalinity ratio of water and Nile tilapia's growth performance. **Acta Scientiarum Technology**, Maringá, v. 36, n. 1, p. 49-54, 2014.

CHATAKONDI, N. G.; TORRANS, E. L. The effect of calcium hardness on hatching

success of channel catfish × blue catfish hybrid catfish eggs. **North American Journal of Aquaculture**, [s. l.], v. 74, n. 3, p. 306-309, 2012.

COPATTI, C. E.; BALDISSEROTTO, B.; SOUZA, C. F.; GARCIA, L. Protective effect of high hardness in pacu juveniles (*Piaractus mesopotamicus*) under acidic or alkaline pH: Biochemical and haematological variables. **Aquaculture**, [s. l.], v. 502, p. 250-257, 2019.

COPATTI, C. E.; GARCIA, L. O.; KOCHHANN, D.; CUNHA, M. A.; BECKER, A. G.; BALDISSEROTTO, B. Low water hardness and pH affect growth and survival of silver catfish juveniles. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, p. 1428-1434, 2011.

CRAIK, J. C. Levels of calcium and iron in the ovaries and eggs of cod *Gadus morhua* L. and plaice *Pleuronectes platessa* L. **Comparative Biochemistry and Physiology A, Physiology**, London, v. 83, n. 3, p. 515-517, 1986.

DUARTE, E.; PEDREIRA, M. M.; SANTOS, A. E.; MOREIRA, F. C.; MOTTA, N. C. Cultivo de pós-larvas de tilápia do Nilo utilizando diferentes proporções de substrato concha/brita no biofiltro. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Niterói, v. 20, n. 1, p. 43-48, 2013.

EBELING, J. M.; TIMMONS, M. B.; BISOGNI, J. J. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia: nitrogen in aquaculture systems. **Aquaculture**, v. 257, n. 1-4, p. 346-358, 2006.

EBELING, J. M.; TIMMONS, M. B. Recirculating aquaculture systems. In: TIDWELL, J. H. (ed.). **Aquaculture Production Systems**. Danvers: Wiley Blackwell, 2012. p. 245-277.

EBRAHIMPOUR, M.; ALIPOUR, H.; RAKHSHAH, S. Influence of water hardness on acute toxicity of copper and zinc on fish. **Toxicology and Industrial Health**, London, v. 26, n. 6, p. 361-365, 2010.

ESTEVEZ, F. A. **Fundamentos de limnologia**. Rio de Janeiro: Interciência, 1998.

FLIK, G.; FENWICK, J. C.; KOLAR, Z.; MAYER-GOSTAN, N.; BONGA, S. E. W. Effects of low ambient calcium levels on whole-body Ca^{2+} flux rates and internal calcium pools in the freshwater cichlid teleost, *Oreochromis mossambicus*. **Journal of experimental biology**, [s. l.], v. 120, n. 1, p. 249-264, 1986.

FLIK, G.; VERBOSTFLIK, P. M. Calcium transport in fish gills and intestine. **Journal of experimental biology**, [s. l.], v. 184, n. 1, p. 17-29, 1993.

HARGREAVES, J. A. Nitrogen biogeochemistry of aquaculture ponds. **Aquaculture**, [s. l.], v. 166, n. 3-4, p. 181-212, 1998.

HELFRICH, L. A.; NEVES, R. J.; PARKHURST, J. A. **Liming acidified lakes and ponds**. Petersburg: Virginia Cooperative Extension, 2001. p. 420-254.

HURTADO, F. B.; FIGUEIREDO, F. M.; COSTA, R. L.; BOMFIM, S. C.; QUEIROZ, C. B.; PONTES, W. P. Parâmetros limnológicos em viveiros de piscicultura semi-intensiva de tambaqui com abastecimento em disposição sequencial. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, Maringá, v. 11, n. 1, p. 9-30, 2018.

KUBITZA, F. A água na aquicultura: parte 2. **Panorama da Aquicultura**, Rio de

Janeiro, v. 27, n. 163, p. 14-21, 2017.

KUBITZA, F. Qualidade da água na produção de peixes: parte III (Final). **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 8, p. 35-39, 1998.

KUBITZA, F. Resíduos sólidos e nitrogenados: origem, quantificação e manejo. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 31, p. 14-23. 2022.

LIMA, J. F.; BASTOS, A. M.; ARAÚJO, D. M. F.; MONTAGNER, D. **Pastilhas de correção de pH e de alcalinidade para uso em sistemas de cultivo de recirculação de água e em aquaponia**. Macapá: Embrapa Amapá, 2016. (Comunicado Técnico, n. 144).

LIMING. *In*: CAMBRIDGE dictionary. London: Cambridge University Press & Assessment, 2022. Disponível em: <https://dictionary.cambridge.org/dictionary/english/liming>. Acesso em: 4 dez. 2022.

LINBO, T. L.; BALDWIN, D. H.; MCINTYRE, J. K.; SCHOLZ, N. L. Effects of water hardness, alkalinity, and dissolved organic carbon on the toxicity of copper to the lateral line of developing fish. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 28, n. 7, p. 1455-1461, 2009.

LIU, D.; PELLICER, A. M.; BRÜGGMANN, A.; KIGGEN, M.; BEHRENS, S.; GOOD, C.; STRAUS, D. L.; MEINELT, T. Effect of water hardness/alkalinity and humic substances on the toxicity of peracetic acid to zebrafish embryos and pathogenic isolates. **Aquaculture Reports**, [s. l.], v. 21, p. 1-5, 2021.

MARTINS, G. B.; TAROUÇO, F.; ROSA, C. E.; ROBALDO, R. B. The utilization of sodium bicarbonate, calcium carbonate or hydroxide in biofloc system: water quality, growth performance and oxidative stress of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, [s. l.], v. 468, p. 10-17, 2017.

MATOS, C. R. **Níveis de dureza total da água, pela adição de cloreto de cálcio, no cultivo de juvenis de tilápias do Nilo**. 2020. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2020.

NEESS, J. C. Development and status of pond fertilization in central Europe. **Transactions of the American Fisheries Society**, [s. l.], v. 76, n. 1, p. 335-358, 1948.

PARRA, J. E. G.; BALDISSEROTTO, B. Effect of water pH and hardness on survival and growth of freshwater teleosts. *In*: BALDISSEROTTO, B. (ed.). **Fish osmoregulation**. Boca Raton: CRC Press, 2019. p. 135-150.

PEDREIRA, M. M.; BOYD, C. E.; SANTOS, I. G.; SCHORER, M.; PELLI, A.; FERREIRA, T. A.; LOBATO, S. I. R.; FERREIRA, A. L.; NASCIMENTO, M. P.; ROCHA, M. S. A. **Calcium silicate as liming material front of the traditional limestones**. San Antonio: Auaculture America, 2017a.

PEDREIRA, M. M.; BOYD, C. E.; SCHORER, M.; PELLI, A.; FERREIRA, T. A.; LOBATO, S. I. R.; FERREIRA, A. L.; NASCIMENTO, M. P.; ROCHA, M. S. A.; TIMPONE, I. T. **Effect of aeration and different concentrations of calcium silicate as liming material in water quality**. San Antonio: Auaculture America, 2017b.

PEDREIRA, M. M.; LUZ, R. K.; SANTOS, J. C. E. D.; SAMPAIO, E. V.; SILVA, R. S. F.

Biofiltração da água e tipos de substrato na larvicultura do pacamã. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 5, p. 511-518, 2009.

PEDREIRA, M. M.; TESSITORE, A. J. D. A.; PIRES, A. V.; SILVA, M. D. A.; SCHORER, M. Substrates for biofilter in recirculating system in Nile tilapia larviculture production. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 17, n. 3, p. 553-560, 2016.

PEREIRA, L. P. F.; MERCANTE, C. T. J. A amônia nos sistemas de criação de peixes e seus efeitos sobre a qualidade da água: uma revisão. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 31, n. 1, p. 81-88, 2005.

PESSOT, C. A.; ÅTLAND, Å.; LILTVED, H.; LOBOS, M. G.; KRISTENSEN, T. Water treatment with crushed marble or sodium silicate mitigates combined copper and aluminium toxicity for the early life stages of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Aquacultural engineering**, [s. l.], v. 60, p. 77-83, 2014.

PROVIN, T. L.; PITT, J. L. **Water management**: clearing cloudy and muddy water in ponds and Lakes. College Station: Texas A&M Agrilife Extension, 2013. Disponível em: <http://publications.tamu.edu/WATER/SCS-2013-02.pdf>. Acesso em: 23 fev. 2023

QUEIROZ, J. F.; BOEIRA, R. **Calagem e controle da acidez dos viveiros de aqüicultura**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2006. (Circular Técnica, n. 14).

QUEIROZ, J. F.; BOEIRA, R.; NICOLELLA, G. **Efeitos da aplicação de grandes quantidades de calcário agrícola em viveiros de piscicultura**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2016. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, n. 69).

RATHOR, R. S.; KHANGAROT, B. S. Effects of water hardness and metal concentration on a fresh water *Tubifex tubifex muller*. **Water, Air, and Soil Pollution**, [s. l.], v. 142, p. 341-356, 2003.

RIETHMULLER, N.; MARKICH, S. J.; VAN DAM, R. A.; PARRY, D. Effects of water hardness and alkalinity on the toxicity of uranium to a tropical freshwater hydra (*Hydra viridissima*). **Biomarkers**, London, v. 6, n. 1, p. 45-51, 2001.

ROJAS, N. E. T.; ROCHA, O.; AMARAL, J. A. B. The effect of water alkalinity on growth and survival of "curimatá" larvae, *Prochilodus lineatus* (Characiformes Prochilodontidae) in laboratory. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 27, n. 2, p. 155-162, 2001.

ROJAS, N. E. T.; ROCHA, O.; MAINARDES PINTO, C. S. R.; SILVA, A. L. Influence of different levels of pond water alkalinity on the growth of *Prochilodus lineatus* larvae. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 99-108, 2004.

SCHÄFER, A. **Fundamentos de ecologia e biogeografia das águas continentais**. Porto Alegre: UFRGS, 1985.

SCHELEDER, J.; SKROBOT, K. **Calagem na piscicultura**: técnica de calagem em viveiros de água doce. Curitiba: Instituto GIA, 2016.

SILAPAJARN, K.; SILAPAJARN, O.; BOYD, C. E. Evaluation of lime requirement procedures and liming materials for aquaculture ponds in Thailand. **Journal of Applied Aquaculture**, [s. l.], v. 17, n. 3, p. 77-88, 2005.

SINK, T.; WARWICK, P.; SILVY, E. **Clearing muddy ponds**. College Station: Texas

A&M Agrilife Extension Service, 2021.

TSAI, J. C.; HWANG, P. P. Effects of wheat germ agglutinin and colchicine on microtubules of the mitochondria-rich cells and Ca²⁺ uptake in tilapia (*Oreochromis mossambicus*) larvae. **The Journal of experimental biology**, London, v. 201, p. 2263-2271, 1998.

VINATEA, L.; MALPARTIDA, J.; ANDREATTA, E. R. A calagem dos Viveiros de Aqüicultura. **Panorama da Aqüicultura**, Rio de Janeiro, v. 4, p. 57-59, 2004.

WELCH, E. B.; JACOBY, J. M. **Pollutant effects in freshwater**: applied limnology. Boca Raton: CRC Press, 2004.

WETZEL, R. G. **Limnology**: lake and river ecosystems. San Diego: Academic Press, 2001.

WURTS, W. A.; MASSER, M. P. **Liming ponds for aquaculture**. Stoneville: Southern Regional Aquaculture Center, 2013.

CAPÍTULO 11

SUSTENTABILIDADE NA AQUICULTURA: EFEITO POUPADOR DE PROTEÍNA DA DIETA EM PEIXES ONÍVOROS

Leonardo Susumu Takahashi*

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.
Universidade Estadual Paulista (Unesp), Centro
de Aquicultura da Unesp, Programa de Pós-
Graduação em Aquicultura, Jaboticabal, São
Paulo, Brasil.

***Autor correspondente:**

leonardo.takahashi@unesp.br

Affonso Gama Souza Pinheiro

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.

Gabriela Castellani Carli

Universidade Estadual Paulista (Unesp), Centro
de Aquicultura da Unesp, Programa de Pós-
Graduação em Aquicultura, Jaboticabal, São
Paulo, Brasil.

Hugo Henrique D'Amore Soares

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.

Maria Karolaine Moriman Delgado

Universidade Estadual Paulista (Unesp), Centro
de Aquicultura da Unesp, Programa de Pós-
Graduação em Aquicultura, Jaboticabal, São
Paulo, Brasil.

Resumo

A adequada utilização de fontes de energia não proteicas nas dietas, mais baratas e menos críticas ao ambiente, possibilita a máxima utilização da proteína para o desenvolvimento do animal. Dessa forma, este capítulo reúne informações sobre o efeito poupador de proteínas através da inclusão de lipídios e carboidratos na dieta de peixes onívoros, assim como expõe os mecanismos metabólicos envolvidos e os efeitos no desempenho de crescimento, retenção proteica e qualidade da carne.

1 INTRODUÇÃO

A crescente demanda por alimentos proteicos de qualidade impulsionou o desenvolvimento da aquicultura mundial que superou a produção de pescado oriunda do extrativismo (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION [FAO], 2022). À medida que o setor se expande, são necessárias estratégias de cultivo para suprir a demanda e, ao mesmo tempo, alcançar uma aquicultura sustentável alinhada com os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Organização das Nações Unidas (ONU). Diante disso, uma das estratégias sustentáveis é a formulação de rações equilibradas que possa suprir de forma exata as exigências nutricionais dos peixes e garantir que não ocorra excreção de nutrientes em excesso.

O adequado fornecimento de nutrientes contribui com a otimização do custo da ração, que é responsável por cerca de 70% dos custos totais de produção (CYRINO, 2012). A proteína é o principal e mais caro macronutriente da dieta, entretanto, quando adicionada em excesso, é catabolizada para a produção de energia ou excretada na forma de amônia. A excreção demasiada de amônia é tóxica aos peixes e pode causar elevada mortalidade. Além disso, pode estimular a proliferação de algas e cianobactérias, com consequente eutrofização dos corpos hídricos, que irão dificultar a passagem de luz solar com efeitos deletérios aos organismos fotossintetizantes, podendo levar a depleção dos níveis de oxigênio dissolvido (OLIVA-TELES *et al.*, 2020).

O desenvolvimento de estratégias nutricionais, que possibilitem reduzir a inclusão de proteína nas rações sem prejudicar o desempenho dos peixes, tem sido alvo de diversos estudos na aquicultura. O efeito poupador de proteína é uma técnica de destaque na nutrição de peixes, pois consiste em diminuir a porcentagem de proteína da dieta, através da incorporação de fontes energéticas não proteicas, como os carboidratos (CHO) e os lipídios (LIP), com a finalidade de limitar a utilização de aminoácidos no suprimento energético e possibilitar maior retenção proteica, além de reduzir os custos de produção das dietas e o impacto ambiental no ambiente aquático, devido à redução da excreção de nitrogênio (CARLI, 2021).

A eficiência em poupar proteína por meio da utilização de CHO e LIP depende da espécie, do habitat de cultivo (fatores ambientais e de ambiência), do histórico nutricional ou do hábito alimentar. De maneira geral, os peixes onívoros possuem a anatomia e a fisiologia gastrointestinal mais adaptadas para o aproveitamento de carboidratos, pois além de produzirem amilases para a degradação do amido, apresentam intestino mais alongado, que possibilita maior permanência do bolo alimentar para ataque enzimático e posterior absorção no trato digestório. Por outro lado, os peixes carnívoros são mais adaptados à utilização de lipídios para o suprimento energético, visto que os aspectos anatômicos e fisiológicos desses animais foram ajustados para o consumo de dietas pobres em carboidratos no habitat natural (KAMALAM; MEDALE; PANSEERAT, 2017).

Os esforços para maximizar o aproveitamento dos CHO e LIP e determinar

adequadamente seus respectivos níveis de inclusão para promover o efeito poupador de proteína em peixes onívoros são válidos. Portanto, os tópicos subsequentes abordam, de forma holística, a inclusão desses nutrientes na dieta de peixes e os efeitos na retenção proteica, no metabolismo e na qualidade do produto final.

2 LIPÍDIOS E ÁCIDOS GRAXOS NA NUTRIÇÃO DE PEIXES

Os lipídios, juntamente com as proteínas, são os principais constituintes orgânicos dos tecidos corporais dos peixes, evidenciando o papel fundamental dessa classe de nutrientes para a vida do animal (GARCIA *et al.*, 2013). Dentre as diferentes funções, os lipídios são: responsáveis por fornecer ácidos graxos essenciais para a manutenção da estrutura, permeabilidade e estabilidade das membranas biológicas; transportadores de nutrientes, como vitaminas lipossolúveis (LEHNINGER; NELSON; COX, 1995); e precursores de hormônios e outras moléculas bioativas, a exemplo do colesterol, eicosanoides e docosanoides (MANTZIORIS *et al.*, 1995). Vale ressaltar que os lipídios possuem alta densidade energética disponível, com aproximadamente 38,5 kJ g⁻¹, sendo maior que a densidade energética das proteínas (23,6 kJ g⁻¹) e dos carboidratos (17,3 kJ g⁻¹) (GLENCROSS, 2009). Por essa razão, os lipídios são os nutrientes mais eficientes para maximizar a ingestão de energia.

Os ácidos graxos (AG) são os principais constituintes da estrutura química dos diferentes tipos de lipídios (GARCIA *et al.*, 2013). São ácidos carboxílicos compostos de um grupo hidrofílico unido a uma cadeia hidrocarbonada que, comumente, possui entre 4 e 36 carbonos de comprimento (LEHNINGER; NELSON; COX, 1995) e podem ser classificados como ácidos graxos saturados, quando a cadeia contém apenas ligações simples entre os carbonos, ou insaturados, quando possuem uma ou mais duplas ligações (ácidos graxos mono [MUFA] e poliinsaturados [PUFA], respectivamente). Alguns AG, como o ácido linoleico e o linolênico, são considerados essenciais, devido à limitação enzimática que os peixes possuem para sintetizá-los, sendo importantes bioativos e estimuladores para o crescimento animal (GLENCROSS, 2009).

Os triglicerídeos (TG), formados por três ácidos graxos esterificados a uma molécula de glicerol, são a principal classe de lipídios utilizada como reserva energética. Os fosfolipídios são os principais constituintes das membranas celulares, sendo responsáveis pela assistência à integridade estrutural e funcional dessas (SARGENT *et al.*, 1999). Pode-se argumentar que os fosfolipídios, por sua anfipaticidade (i.e., apresentam características hidrofílicas e hidrofóbicas), têm um papel importante na digestão de lipídios, pois são essenciais na formação de micelas mistas que, juntamente com sais biliares, são fundamentais para a absorção de lipídios pelos enterócitos (OLSEN; RINGØ, 1997). Ademais, em situações específicas, como durante o desenvolvimento embrionário e crescimento inicial das larvas, os peixes também utilizam os fosfolipídios como fonte de energia (TOCHER *et al.*, 2008).

2.1 METABOLISMO DE LIPÍDIOS: EFEITOS NA ECONOMIA DA PROTEÍNA DIETÉTICA

O metabolismo de lipídios é bastante influenciado pela dieta, logo, o perfil de AG nos tecidos dos peixes cultivados tem relação direta com o conteúdo e a composição da dieta (JOBLING, 2012). Tal fato decorre da baixa especificidade das reações catalisadas pelas enzimas do metabolismo lipídico que, frequentemente, dependem de forças de interações mais fracas entre enzimas e substratos, como as forças de van de Waals e de dispersão (GARCIA *et al.*, 2013). A composição de ácidos graxos dos tecidos corporais do peixe também pode ser influenciada por fatores do ambiente e dos próprios animais, como o tamanho e a fase de desenvolvimento, com efeitos na atividade metabólica (SARGENT *et al.*, 1989).

A economia de proteínas pela inclusão de lipídios na dieta envolve mecanismos inerentes ao seu armazenamento e à sua mobilização para fins energéticos e metabólicos, bem como as interações entre os macronutrientes (STEINBERG *et al.*, 2022). Várias influências metabólicas atuam na incorporação e utilização dos lipídios nos tecidos, como a incorporação preferencial de AG, a β -oxidação, a atividade lipogênica ou os processos de alongamento e dessaturação (adição de insaturações) de ácidos graxos (TOCHER, 2003).

A lipogênese é um mecanismo de reações biossintéticas de novos lipídios endógenos, que utiliza o acetil-coA como fonte de carbono a partir da descarboxilação oxidativa do piruvato (proveniente de carboidratos) ou da degradação oxidativa de aminoácidos (proveniente de proteínas). A taxa de lipogênese é regulada por vários fatores nutricionais. De maneira geral, os lipídios dietéticos suprimem a lipogênese através da regulação negativa de enzimas envolvidas nos processos lipogênicos, como a acetil-coA carboxilase, a ácido graxo sintase e as enzimas geradoras de NADPH (glicose-6-fosfato desidrogenase e 6-fosfogluconato desidrogenase) (SARGENT *et al.*, 1989). Estudos verificaram que carpas comuns (*Cyprinus carpio*) alimentadas com 18% de lipídios apresentaram redução na atividade de enzimas envolvidas nos processos lipogênicos, gliconeogênicos e de degradação de aminoácidos, quando comparadas com os peixes alimentados com 9% de lipídios (SHIMENO; KHEYYALI; SHIKATA, 1995). Fan *et al.* (2015) observaram que as atividades da enzima ácido graxo sintase do hepatopancreas e do rim de carpa comum tiveram correlação negativa com os níveis de lipídios na dieta.

O equilíbrio entre os macronutrientes é fundamental para otimizar a lipogênese a partir de substratos não aminoacídicos e, dessa forma, direcionar os aminoácidos para síntese de tecido muscular. Os lipídios e carboidratos, por serem compostos à base de hidrocarbonetos, estão intimamente relacionados entre si no metabolismo. Quando há suprimento excessivo de CHO, a glicose é convertida em lipídios para o armazenamento energético, como verificado pelo aumento dos níveis de triglicerídeos plasmáticos e dos lipídios hepático e muscular de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) alimentados com dietas contendo elevadas proporções de CHO (51%) e LIP (8%) (SANDRE, 2016). Esses resultados reforçam as afirmações de Ribeiro *et al.* (2007), de que

a disponibilidade dos substratos do metabolismo da glicose contribui com a síntese dos TG no fígado, com posterior distribuição (via lipoproteínas) para os tecidos extra-hepáticos, como o tecido adiposo e muscular. Por outro lado, a limitada quantidade de CHO, em relação às proteínas e lipídios dietéticos, faz com que esses últimos atuem como principais fornecedores de energia para o metabolismo (BICUDO; SADO; CYRINO, 2010). Assim, a proporção ótima de CHO e LIP na dieta permite maximização do uso desses nutrientes, dado que o desequilíbrio nas fontes de energia não proteica e/ou seus níveis de inclusão pode ter efeito direto sobre o fígado (órgão de excelência metabólica) e a composição corporal.

O catabolismo de AG é a principal fonte de energia em muitas espécies de peixes. A oxidação dos AG para provimento de energia ocorre em dois compartimentos intracelulares - mitocôndrias e peroxissomos -, em um processo denominado de β -oxidação. Em ambas as organelas, os processos são semelhantes e envolvem a clivagem sequencial dos AG em unidades de dois carbonos, através de uma série cíclica de reações catalisadas por enzimas distintas para a obtenção de acetil-coA e NADH, que serão destinados ao ciclo tricarboxílico e fosforilação oxidativa, respectivamente, para fornecer energia metabólica na forma de adenosina trifosfato (ATP) (TOCHER, 2003). A importância da β -oxidação mitocondrial ou peroxissomica depende do tecido. Geralmente, a β -oxidação peroxissomal no fígado do peixe contribui significativamente com a capacidade da β -oxidação total (NANTON *et al.*, 2003). As principais diferenças entre os dois processos residem no substrato e na estereoespecificidade dessas vias (PASCUAL-AHUIR; MANZANARES-ESTREDER; PROFT, 2017). Estudos sugerem que na β -oxidação mitocondrial ocorre, principalmente, a degradação de AG saturados e monoinsaturados (KIESSLING; KIESSLING, 1993), enquanto na peroxissomal são utilizados, preferencialmente, PUFA e AG de cadeia muito longa (REDDY; HASHIMOTO, 2001).

Tais evidências fomentaram a hipótese de que o aumento da inclusão de AG específicos na dieta pode induzir um aumento na capacidade de β -oxidação e, portanto, poupar proteína para o crescimento. Liu *et al.* (2020) realizaram estudos para verificar a expressão de genes envolvidos no metabolismo lipídico de tilápias (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dietas contendo óleo de cártamo (OC), de oliva (OL) e de peixe (OP), para fornecer ácido linoleico (LA), ácido oleico (AO) e ácidos eicosapentaenoico (EPA) + docosahexaenoico (DHA) como AG dominantes, respectivamente. Nesse estudo, foi verificado que os genes de enzimas responsáveis pela lipólise de triglicerídeos (triglicerídeo lipase adiposa e lipase sensível a hormônio) e pela β -oxidação (carnitina palmitoiltransferase I alfa e I beta) foram altamente expressos no tecido adiposo de tilápias alimentadas com OP, demonstrando aumento na capacidade de β -oxidação mitocondrial em resposta ao EPA e DHA; em contrapartida, esses PUFA dietéticos inibiram as expressões dos genes relacionados à lipogênese (acetil-CoA carboxilase e ácido graxo sintase) constatadas pelo valor significativamente menor do índice de gordura mesentérica. A ingestão da dieta contendo OL proporcionou baixa e alta expressão gênica das enzimas

envolvidas na β -oxidação e lipogênese, respectivamente, indicando que o ácido oleico predominante nesse ingrediente é direcionado para a síntese de lipídios ao invés da via oxidativa, como observado pelo maior valor do índice de gordura mesentérica. Já as tilápias alimentadas com OC, contendo ácido linoleico como AG predominante, exibiram tendência semelhante ao grupo OP e OL nos padrões de expressão gênica inerentes à lipogênese e ao catabolismo lipídico, respectivamente, indicando que o LA tem capacidade moderada de lipogênese e menor capacidade de β -oxidação.

A busca pela obtenção do efeito poupador de proteína dietética impulsionou o uso indiscriminado de dietas ricas em lipídios na aquicultura. Todavia, estudos demonstraram que a alta ingestão lipídica induz a um acúmulo excessivo de lipídios na carcaça e compromete o crescimento e a saúde dos animais, apontando desordens na homeostase lipídica (HE *et al.*, 2015). A manutenção do equilíbrio metabólico, desempenhada pelo fígado, envolve a coordenação de programas de expressão gênica em respostas a sinais dietéticos e sistêmicos. Alguns peixes podem acelerar a biossíntese de lipídios para satisfazer as necessidades fisiológicas quando os níveis desse nutriente na dieta são limitados, no entanto, quando em excesso, geralmente leva à deposição indesejada no fígado, caracterizando uma condição denominada de doença hepática gordurosa (DU *et al.*, 2005). Pesquisas existentes confirmam que dietas ricas em gorduras induzem estresse oxidativo, reduzem a capacidade imunológica e danificam o tecido hepático em tilápias (LIN *et al.*, 2018). Assim, a compreensão dos papéis dos diferentes lipídios no metabolismo energético e proteico pode ser útil na formulação de dietas com a adequada inclusão lipídica (em quantidade e qualidade), que propicie efeito poupador de proteína, maximização do desempenho e prevenção de doenças metabólicas em peixes.

2.2 ESTUDOS SOBRE EFEITO POUADOR DE PROTEÍNA PELOS LIPÍDIOS

O desenvolvimento de dietas com menor custo e ambientalmente sustentáveis tem motivado os pesquisadores a estudarem o uso de lipídios como agente economizador da proteína em dietas para peixes. Welengane *et al.* (2019) evidenciaram que a exigência em PB pelo híbrido tambatinga (♀ *C. macropomum* × ♂ *Piaractus brachypomus*) reduziu de 32,8% para 25,5% de PB, quando o teor de lipídios aumentou de 11% para 14%. Van der Meer *et al.* (1997) observaram que juvenis de tambaqui apresentaram modesto efeito poupador da proteína, pois a retenção líquida proteica aumentou de 2% para 2,3%, quando o nível de lipídio dietético foi de 5% para 20%. Outros estudos relataram efeito poupador de proteína através da inclusão dietética de lipídios em peixes onívoros, tais como jundiá (*Rhamdia quelen*) (MORO, 2008) e tilápia vermelha (♀ *O. mossambicus* × ♂ *O. niloticus*) (SILVA; GUNASEKERA; SHIM, 1991).

Entretanto, esse efeito não foi observado em outras espécies de peixes, como a carpa cruciana (*Carassius auratus* Var. Pengze) (DING *et al.*, 2022), os juvenis de piracanjuba (*Brycon orbignyanusi*) (BORBA *et al.*, 2003) e os juvenis de curimba (*Prochilodus affinis*) (BOMFIM *et al.*, 2005). Essas divergências, na

utilização de lipídios em menor ou maior eficiência para poupar proteína dietética por peixes de hábitos alimentares semelhantes, podem estar relacionadas ao perfil de enzimas do trato gastrointestinal. Em juvenis de tambaqui, por exemplo, foi verificado aumento da atividade da lipase intestinal, quando a concentração de lipídios das dietas aumentou de 4,9% para 14,5% (ALMEIDA; LUNDSTEDT; MORAES, 2006). Além disso, os mesmos autores relataram um aumento da atividade proteolítica no estômago dos peixes, à medida que a proteína dietética foi reduzida (de 35% para 25,35%) e o teor de lipídios aumentado (de 4,9% para 11,32%).

Para verificar o potencial dos lipídios e carboidratos em poupar proteína da dieta e para entender a interação entre os macronutrientes, Abimorad, Carneiro e Urbinati (2007) realizaram ensaios com juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) alimentados com dois níveis de proteína digestível (PD: 20% e 23%), dois níveis de lipídios (4% e 8%) e três níveis de carboidratos (41%, 46% e 50%) e verificaram que os peixes utilizaram lipídios tão efetivamente quanto carboidratos, desde que o nível de PD não fosse inferior a 23%. Em conclusão, os autores sugerem que o melhor equilíbrio entre PD, LIP e CHO para juvenis de pacu é de 23%, 40% e 46%, respectivamente, uma vez que o excesso de energia não proteica, com alta relação energia:proteína, diminuiu o consumo de ração e promoveu o acúmulo de gordura corporal. Esse estudo corrobora com a teoria de que a economia de proteínas pelos lipídios é mais pronunciada em níveis de proteína abaixo do ideal (SCHULZ *et al.*, 2007).

3 CARBOIDRATOS NA NUTRIÇÃO DE PEIXES

Os carboidratos ou hidratos de carbonos são polissacarídeos encontrados nos animais e vegetais e são classificados em duas categorias: polissacarídeos de reserva, como o amido e glicogênio, e polissacarídeos estruturais, como a celulose, hemicelulose e lignina. Dentre as diferentes fontes encontradas em vegetais, apenas os açúcares e amidos são aproveitados pelos peixes (NATIONAL RESEARCH COUNCIL [NRC], 2011) e, embora sejam uma excelente fonte de energia para os seres vivos, é geralmente aceito que os peixes não têm uma exigência específica de hidratos de carbono na dieta e, independente da espécie, conseguem sobreviver e se desenvolver sem carboidratos dietéticos, devido à capacidade metabólica de sintetizar energia a partir de outros precursores, como as proteínas e os lipídios.

No entanto, a inclusão de níveis adequados de carboidratos na dieta dos peixes pode proporcionar aumento na retenção proteica, pelo fato de impedir o catabolismo da proteína como fonte energética, direcionando os aminoácidos para o crescimento, além de reduzir a carga de nitrogênio nas águas e colaborar com a formulação de rações com menor custo e maior estabilidade. Entretanto, algumas espécies são incapazes de metabolizar os carboidratos dietéticos, de modo que o crescimento e a fisiologia podem ser prejudicados. Existem diferenças, ainda que controversas, com relação aos hábitos alimentares de cada espécie, às características fisiológicas e

anatômicas e às condições de criação. Geralmente, os peixes onívoros de clima tropical toleram maiores níveis de carboidratos e os utilizam de forma mais eficiente que os peixes carnívoros e de clima temperado (KAMALAM; MEDALE; PANSEERAT, 2017).

3.1 METABOLISMO DE CARBOIDRATOS: EFEITOS NA ECONOMIA DA PROTEÍNA DIETÉTICA

Quando ingeridos, os carboidratos são hidrolisados em açúcares simples, como a glicose, e são absorvidos pelas células epiteliais intestinais e direcionados para a corrente sanguínea para serem distribuídos nos diversos tecidos. A princípio, a glicose ingerida é catabolizada para a produção de energia pela via da glicólise. À medida que a glicemia aumenta, a glicose pode ser mobilizada para a síntese de reservas energéticas na forma de glicogênio e triglicerídeos. Em contrapartida, a redução dos níveis de glicose no sangue estimula as vias de glicogenólise (hidrólise do glicogênio) ou de gliconeogênese (síntese de glicose a partir de outros precursores) para produção de glicose (ENES *et al.*, 2009).

Tilápias do Nilo alimentadas com dietas contendo alta inclusão de amido apresentaram aumento na expressão gênica de enzimas envolvidas na glicólise (glicoquinase e fosfofrutoquinase) e na lipogênese (acetil-CoA carboxilase e ácido graxo sintase); e redução da expressão gênica da enzima gliconeogênica glicose-6-fosfatase, que resultaram em aumento da deposição de lipídios e glicogênio no fígado (ZHU *et al.*, 2020). Os mesmos autores relataram que os peixes alimentados com dieta contendo alta proporção de proteína e menor proporção de carboidratos apresentaram maior catabolismo de aminoácidos para a produção de energia e, conseqüentemente, menor taxa de eficiência proteica.

Estudos realizados por Chen *et al.* (2020) demonstraram resultados semelhantes em juvenis de tilápia alimentados com diferentes níveis de amido (13,1% a 32,3%) em detrimento da proteína (38,2% a 30,5%), visto que os peixes manifestaram uma regulação positiva na expressão de genes envolvidos no transporte de glicose (GLUT2); na via glicolítica (fosfofrutoquinase e piruvato quinase); na glicogênese (glicogênio sintase); e na lipogênese hepática (acetil-CoA carboxilase e ácido graxo sintase), enquanto a expressão de genes de enzimas envolvidas na gliconeogênese hepática (fosfoenolpiruvato carboxiquinase e glicose-6-fosfatase) foi atenuada pelo aumento de amido na dieta. Esses estudos evidenciam uma boa adaptação metabólica da tilápia ao carboidrato dietético, visto que essa espécie utiliza a glicose para provimento de energia e armazena o excedente, demonstrando alta tolerância aos carboidratos.

As respostas metabólicas de tambaquis alimentados com 30%, 40% e 50% de amido, avaliadas por Corrêa *et al.* (2007), evidenciaram aumento nas concentrações de triglicerídeos séricos e do glicogênio hepático e redução dos aminoácidos livres no sangue e no fígado com a elevação dos níveis de amido. Além disso, no músculo dos peixes, foi observada maior concentração

de aminoácidos livres associada ao aumento de amido na dieta, indicando maior captação tecidual. Pereira *et al.* (2020) avaliaram a inclusão de dois níveis de CHO (35% e 40%) e dois níveis de PD (19% e 21%) em dietas para juvenis de pacu e observaram elevação nas concentrações de glicose e triglicerídeos, nos níveis de glicogênio hepático e no índice de gordura mesentérica dos peixes alimentados com 40% de amido.

A eficiência de utilização de carboidratos pelos peixes é estimada com base na taxa de entrega, digestão e eliminação da glicose na corrente sanguínea (NRC, 2011). Os testes de tolerância são métodos eficazes para estimar a capacidade das espécies em utilizar os CHO da dieta (KAMALAM; MEDALE; PANSERAT, 2017). Normalmente, a capacidade limitada de peixes carnívoros em comparação a onívoros, para utilizar eficientemente os CHO dietéticos, é caracterizada pela hiperglicemia prolongada após a administração de glicose ou o fornecimento de dietas ricas em CHO (FIGUEIREDO-SILVA *et al.*, 2013). Souza *et al.* (2021) administraram, via intraperitoneal, 1000 mg de glicose kg^{-1} de peso vivo em três espécies onívoras – tilápia, tambaqui e piau (*Leporinus elongatus*) – e em três espécies carnívoras – catfish amazônico (*Pseudoplatystoma fasciatum* \times *Leiarius marmoratus*), pacamã (*Lophiosilurus alexandri*) e traíra (*Hoplias malabaricus*) – e constataram que a tilápia tem melhor capacidade de utilização de glicose, com pico de glicemia em 30 minutos e retorno à condição basal em 4 horas. O piau e o pacamã reduziram os níveis de glicose plasmática depois de 8 horas da injeção intraperitoneal e metabolizaram a glicose mais rapidamente que o tambaqui, a traíra e o catfish, os quais apresentaram hiperglicemia prolongada, retornando à condição basal em 16 horas após a administração.

Takahashi *et al.* (2018) realizaram testes de tolerância a CHO em pacu, através da administração oral de glicose, frutose e amido (2 g kg^{-1} de peso vivo), e observaram que essa espécie metaboliza tanto a glicose quanto o amido entre 6 e 12 horas, demonstrando notável capacidade de metabolizar a carga oral de CHO. Além disso, segundo os autores, o rápido aumento da glicemia (em 2 horas) sugere que a glicose foi absorvida mais rapidamente que o amido, visto que esse polissacarídeo necessita ser hidrolisado antes de ser absorvido. Ademais, observou-se que a frutose causou pico glicêmico (5,71 mM) menos pronunciado que a glicose (8,30 mM) ou o amido (7,70 mM), sugerindo, indiretamente, menor absorção de frutose pelo trato intestinal. Resultados semelhantes foram encontrados por Ferrari *et al.* (2021), ao administrarem glicose e frutose intraperitoneal (2 g kg^{-1} de peso vivo) em tambaquis. Os peixes que receberam frutose apresentaram pico glicêmico (em 3 horas) menos intenso ($8,7 \pm 1,1$ mM) em relação aos que foram injetados com glicose ($13,7 \pm 2,0$ mM) e ambos retornaram aos níveis basais depois de 6 horas da administração de glicose e frutose.

3.2 ESTUDOS SOBRE EFEITO POUPADOR DE PROTEÍNA PELOS CARBOIDRATOS

A máxima inclusão de carboidratos deve ser fundamentada no efeito

poupador de proteína, quando o crescimento e a fisiologia dos peixes não são prejudicados. A inclusão acima dos limites toleráveis causa diminuição na digestibilidade do amido e redução do crescimento dos peixes (ENES *et al.*, 2011). Os níveis máximos de inclusão de CHO estão entre 15 e 20% para salmonídeos e até 50% para peixes onívoros e herbívoros (KAMALAM; MEDALE; PANSERAT, 2017). Boonanuntanasarn *et al.* (2018) afirmaram que a inclusão de 30% de CHO na dieta proporcionou efeito poupador de proteína e melhora no desempenho produtivo de juvenis de tilápias, entretanto, a inclusão de 50% de CHO resultou em piora no desempenho dos animais, além de aumento na deposição de lipídios nos tecidos musculares e hepáticos. Chen *et al.* (2020) observaram que a elevação de 13,1% para 32,3% de amido na dieta de juvenis de tilápia possibilitou redução da PB de 38,2% para 32,2%, sem comprometer o desenvolvimento dos peixes.

Carpas gibelio (*Carassius auratus gibelio*) obtiveram maior desempenho e eficiência da retenção de proteínas quando alimentadas com dietas isoproteicas e isolipídicas contendo 30% de amido em comparação com os peixes alimentados com níveis inferiores ou superiores de inclusão (LI *et al.*, 2016). Pereira *et al.* (2020) obtiveram melhor desempenho produtivo de juvenis de pacu alimentados com 35% de inclusão de amido e 21% de proteína digestível.

O amido, principal carboidrato digestível utilizado nas formulações de rações para peixes, apresenta características estruturais que variam de acordo com a origem botânica dos diferentes ingredientes vegetais. Os arranjos ramificados (amilopectina) e lineares (amilose) do amido têm influências sobre a suscetibilidade à ação enzimática, visto que as ramificações aumentam a área de superfície disponível para atuação das amilases (KAMALAM; MEDALE; PANSERAT, 2017). Farias *et al.* (2021) observaram que a digestibilidade do amido, a taxa de conversão alimentar e a taxa de eficiência proteica foram melhoradas nos peixes alimentados com rações contendo maiores proporções de amilopectina em relação à amilose. Esses resultados demonstram que os teores de amilose e amilopectina têm impacto sobre o desempenho de crescimento, portanto, a seleção adequada das fontes de carboidratos deve considerar os arranjos estruturais do amido, com objetivo de formular dietas que propicie melhor aproveitamento dos carboidratos pelos peixes.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O efeito poupador de proteína, avaliado através do aumento da retenção proteica e crescimento, é evidenciado quando os carboidratos e lipídios são incluídos em quantidade e qualidade adequada. Além disso, os carboidratos e lipídios propiciam a maximização do crescimento, quando mantidos dentro dos limites que suportam a necessidade metabólica. A eficiência em utilizar os carboidratos e lipídios para poupar a proteína varia entre e/ou dentro de espécies em função da linhagem de peixe utilizada, do histórico nutricional, dos fatores ambientais (como temperatura, regime de luz e estação do ano) e da matriz alimentar (interação entre os macronutrientes). A piscicultura

eficaz e sustentável depende, dentre outros fatores, da formulação de dietas nutricionalmente equilibradas e dos mecanismos comportamentais, fisiológicos e metabólicos que os peixes utilizam para adquirir, processar e assimilar os nutrientes, respectivamente. Portanto, compreender e prever as interações nutricionais dos peixes com seu ambiente e gerenciar essas interações são importantes para identificar a combinação de nutrientes, que promova o máximo crescimento e, ao mesmo tempo, reduza a mortalidade, os poluentes excretados e o custo de produção.

REFERÊNCIAS

ABIMORAD, E. G.; CARNEIRO, D. J.; URBINATI, E. C. Growth and metabolism of pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887) juveniles fed diets containing different protein, lipid and carbohydrate levels. **Aquaculture Research**, [s. l.], v. 38, n. 1, p. 36-44, 2007.

ALMEIDA, L. C.; LUNDSTEDT, L. M.; MORAES, G. Digestive enzyme responses of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fed on different levels of protein and lipid. **Aquaculture Nutrition**, [s. l.], v. 12, n. 6, p. 443-450, 2006.

BICUDO, A. J. A.; SADO, R. Y.; CYRINO, J. E. P. Growth performance and body composition of pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg 1887) in response to dietary protein and energy levels. **Aquaculture Nutrition**, [s. l.], v. 16, n. 2, p. 213-222, 2010.

BOMFIM, M. A. D.; LANNA, E. A. T.; SERAFINI, M. A.; RIBEIRO, F. B.; PENNA, K. D. S. Proteína bruta e energia digestível em dietas para alevinos de curimatã (*Prochilodus affinis*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 34, n. 6, p. 1795-1806, 2005.

BOONANUNTANASARN, S.; KUMKHONG, S.; YOOHAT, K.; PLAGNES-JUAN, E.; BUREL, C.; MARANDEL, L.; PANSERAT, S. Molecular responses of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to different levels of dietary carbohydrates. **Aquaculture**, [s. l.], v. 482, p. 117-123, 2018.

BORBA, M. R.; FRACALOSSO, D. M.; PEZZATO, L. E.; MENOYO, D.; BAUTISTA, J. M. Growth, lipogenesis and body composition of piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) fingerlings fed different dietary protein and lipid concentrations. **Aquatic Living Resources**, [s. l.], v. 16, n. 4, p. 362-369, 2003.

CARLI, G. C. **Metabolismo de carboidratos e efeito poupador de proteínas para o tambaqui (*Colossoma macropomum*)**. 2021. Tese (Mestrado em Aquicultura) - Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, 2021.

CHEN, J. X. F.; JING, Y. Z.; JIAN, L.; LI, L.; SHI, M. W.; DE SHOU, C.; YONG, J. Starch to protein ratios in practical diets for genetically improved farmed Nile tilapia *Oreochromis niloticus*: Effects on growth, body composition, peripheral glucose metabolism and glucose tolerance. **Aquaculture**, [s. l.], v. 515, p. 1-9, 2020.

CORRÊA, C. F.; AGUIAR, L. H.; LUNDSTEDT, L. M.; MORAES, G. Responses of digestive enzymes of tambaqui (*Colossoma macropomum*) to dietary cornstarch changes and metabolic inferences. **Comparative Biochemistry and Physiology**,

Part A, New York, v. 147, n. 4, p. 857-862, 2007.

CYRINO, J. E. P. Manejo alimentar eficaz viabiliza aquacultura lucrativa e sustentável. **Visão Agrícola**, [s. l.], v. 8, n. 11, p. 73-76, 2012.

DING, L.; CHEN, W.; FU, H.; XIAO, J.; FU, Y.; MA, J. Estimation of the optimum dietary protein to lipid ratio in juvenile pengze crucian carp (*Carassius auratus* Var. Pengze). **Aquaculture Nutrition**, [s. l.], v. 2022, p. 1-11, 2022.

DU, Z. Y.; LIU, Y. J.; TIAN, L. X.; WANG, J. T.; WANG, Y.; LIANG, G. Y. Effect of dietary lipid level on growth, feed utilization and body composition by juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). **Aquaculture Nutrition**, [s. l.], v. 11, n. 2, p. 139-146, 2005.

ENES, P.; PANSEERAT, S.; KAUSHIK, S.; OLIVA-TELES, A. Dietary carbohydrate utilization by European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) and gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) juveniles. **Reviews in Fisheries Science**, [s. l.], v. 19, n. 3, p. 201-215, 2011.

ENES, P.; PANSEERAT, S.; KAUSHIK, S.; OLIVA-TELES, A. Nutritional regulation of hepatic glucose metabolism in fish. **Fish Physiology Biochemistry**, [s. l.], v. 35, p. 519-539, 2009.

FAN, Z.; LI, J.; CHENG, Z.; ZHANG, B.; QU, M.; SUN, J.; BAI, D.; QIAO, X. Protein sparing effect of lipid in diets for common carp (*Cyprinus carpio*). In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ENERGY SCIENCE AND CHEMICAL ENGINEERING, 2015, Guangzhou. **Proceedings** [...]. Amsterdam: Atlantis Press, 2015. p. 357-368.

FARIAS, C. V. T.; OSHIRO, A. M.; SOUSA, L. C.; ALMEIDA, V. D. N. S.; TAKAHASHI, L. S. Amylose and amylopectin levels affect the growth performance and metabolism in pacu *Piaractus mesopotamicus*. **Animal Feed Science and Technology**, [s. l.], v. 279, p. 1-9, 2021.

FERRARI, J. E. C.; PALMA, M.; CARLI, G.; SÁTIRO, T. M.; TAVARES, L. C.; VIEGAS, I.; TAKAHASHI, L. S. Carbohydrate tolerance in Amazon tambaqui (*Colossoma macropomum*) revealed by NMR-metabolomics - Are glucose and fructose different sugars for fruit-eating fish? **Comparative Biochemistry and Physiology, Part D**, Amsterdam, v. 41, p. 1-12, 2022.

FIGUEIREDO-SILVA, A. C.; SARAVANAN, S.; SCHRAMA, J. W.; PANSEERAT, S.; KAUSHIK, S.; GEURDEN, I. A comparative study of the metabolic response in rainbow trout and Nile tilapia to changes in dietary macronutrient composition. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 109, n. 5, p. 816-826, 2013.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). The state of food security and nutrition in the world 2022: repurposing food and agricultural policies to make healthy diets more affordable. **The State of the World**, Rome, 2022.

GARCIA, A. S.; GONÇALVES, L. U.; CAVALLI, R. O.; VIEGAS, E. M. M. Lipídios. In: FRACALOSSO, D. M.; CYRINO, J. E. P. **Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**. 1. ed. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2013. p.79-99.

GLENCROSS, B. D. Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. **Reviews in Aquaculture**, [s. l.], v. 1, n. 2, p. 71-124, 2009.

HE, A. Y.; NING, L. J.; CHEN, L. Q.; CHEN, Y. L.; XING, Q.; LI, J. M.; ZHANG, M. L.; DU, Z. Y. Systemic adaptation of lipid metabolism in response to low-and high-fat diet in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Physiological Reports**, Malden, v. 3, n. 8, p. 1-18, 2015.

JOBLING, M. National Research Council (NRC): Nutrient requirements of fish and shrimp. **Aquaculture International**, [s. l.], v. 20, p. 601-602, 2012.

KAMALAM, B. S.; MEDALE, F.; PANSEERAT, S. Utilisation of dietary carbohydrates in farmed fishes: New insights on influencing factors, biological limitations and future strategies. **Aquaculture**, [s. l.], v. 467, p. 3-27, 2017.

KIESSLING, K. H.; KIESSLING, A. Selective utilization of fatty acids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) red muscle mitochondria. **Canadian Journal of Zoology**, Ottawa, v. 71, n. 2, p. 248-251, 1993.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. P. **Princípios de bioquímica**. 2. ed. São Paulo: Sarvier, 1995.

LI, X.; ZHU, X.; HAN, D.; YANG, Y.; JIN, J.; XIE, S. Carbohydrate utilization by herbivorous and omnivorous freshwater fish species: a comparative study on gibel carp (*Carassius auratus gibelio* var CAS III) and grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). **Aquaculture Research**, [s. l.], v. 47, n. 1, p. 128-139, 2016.

LIN, J. J.; LIU, Y. C.; CHANG, C. J.; PAN, M. H.; LEE, M. F.; PAN, B. S. Hepatoprotective mechanism of freshwater clam extract alleviates non-alcoholic fatty liver disease: elucidated in vitro and in vivo models. **Food & Function**, [s. l.], v. 9, n. 12, p. 6315-6325, 2018.

LIU, Y.; HAN, S. L.; LUO, Y.; LI, L. Y.; CHEN, L. Q.; ZHANG, M. L.; DU, Z. Y. Impaired peroxisomal fat oxidation induces hepatic lipid accumulation and oxidative damage in Nile tilapia. **Fish Physiology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 46, n. 4, p. 1229-1242, 2020.

MANTZIORIS, E.; JAMES, M. J.; GIBSON, R. A.; CLELAND, L. G. Differences exist in the relationships between dietary linoleic and alpha-linolenic acids and their respective long-chain metabolites. **The American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 61, n. 2, p. 320-324, 1995.

MORO, G. V. **Utilização de fontes dietéticas não protéicas de energia pelo jundiá, *Rhamdia quelen***: crescimento, atividade de enzimas digestivas e utilização dos nutrientes. 2008. Tese (Dissertação em Aquicultura) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

NANTON, D. A.; LALL, S. P.; ROSS, N. W.; MCNIVEN, M. A. Effect of dietary lipid level on fatty acid beta-oxidation and lipid composition in various tissues of haddock, *Melanogrammus aeglefinus* L. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, Oxford, v. 135, n. 1, p. 95-108. 2003.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient requirements of fish and shrimp**. Washington: The National Academies Press, 2011.

OLIVA-TELES, A.; COUTO, A.; ENES, P.; PERES, H. Dietary protein requirements of fish: a meta-analysis. **Reviews in Aquaculture**, [s. l.], v. 12, n. 3, p. 1445-1477, 2020.

OLSEN, R. E.; RINGØ, E. Lipid digestibility in fish: a review. **Recent Research Developments in Lipid Research**, [s. l.], v. 1, p. 199-264, 1997.

PASCUAL-AHUIR, A.; MANZANARES-ESTREDE, S.; PROFT, M. Pro-and antioxidant functions of the peroxisome-mitochondria connection and its impact on aging and disease. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, New York, v. 2017, p. 1-17, 2017.

PEREIRA, M. M.; NEGATA, M. M.; ENES, P.; OLIVA-TELES, A.; URBINATI, E. C.; TAKAHASHI, L. S. Growth performance and metabolic responses to dietary protein/carbohydrate ratios in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) juveniles. **Aquaculture Research**, [s. l.], v. 51, n. 12, p. 5203-5211, 2020.

REDDY, J. K.; HASHIMOTO, T. Peroxisomal beta-oxidation and peroxisome proliferator-activated receptor alpha: an adaptive metabolic system. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v. 21, p. 193-230, 2001.

RIBEIRO, P. A. P.; BRESSAN, M. C.; LOGATO, P. V. R.; GONÇALVES, A. C. S. Nutrição Lipídica para peixes. **Revista Eletrônica Nutritime**, Viçosa, v. 4, n. 2, p. 426-445, 2007.

SANDRE, L. C. G. D. **Níveis de carboidratos e lipídios em dietas para juvenis de tambaqui (*Collossoma macropomum*)**: variáveis produtivas, fisiológicas e turnover isotópico. 2016. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2016.

SARGENT, J.; BELL, G.; MCEVOY, L.; TOCHER, D.; ESTEVEZ, A. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. **Aquaculture**, [s. l.], v. 177, n. 1-4, p. 191-199, 1999.

SARGENT, J. R.; HENDERSON, R. J.; TOCHER, D. R. The lipids. In: HALVER, J. (ed.). **Fish Nutrition**. 2. ed. New York: Academic Press, 1989. p. 153-218.

SCHULZ, C.; BÖHM, M.; WIRTH, M.; RENNERT, B. Effect of dietary protein on growth, feed conversion, body composition and survival of pike perch fingerlings (*Sander lucioperca*). **Aquaculture Nutrition**, [s. l.], v. 13, n. 5, p. 373-380, 2007.

SHIMENO, S.; KHEYALI, D.; SHIKATA, T. Metabolic response to dietary lipid to protein ratios in common carp. **Fisheries science**, [s. l.], v. 61, n. 6, p. 977-980, 1995.

SILVA, S. S.; GUNASEKERA, R. M.; SHIM, K. F. Interactions of varying dietary protein and lipid levels in young red tilapia: evidence of protein sparing. **Aquaculture**, [s. l.], v. 95, n. 3-4, p. 305-318, 1991.

SOUZA, A. M.; COPATTI, C. E.; CAMPECHE, D. F. B.; DE MELO, F. V. S. T.; MELO, J. F. B. Glucose tolerance in six fish species reared in Brazil: Differences between carnivorous and omnivorous. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 93, sup. 4, p. 1-9, 2021.

STEINBERG, C. E. W. **Aquatic animal nutrition**: organic macro-and micro-nutrients. [s. l.]: Springer, 2022.

TAKAHASHI, L. S.; HA, N.; PEREIRA, M. M.; BILLER-TAKAHASHI, J. D.; URBINATI, E.C. Carbohydrate tolerance in the fruit-eating fish *Piaractus mesopotamicus*

(Holmberg, 1887). **Aquaculture Research**, [s. l.], v. 49, n. 3, p. 1182-1188, 2018.
TOCHER, D. R. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. **Reviews in Fisheries Science**, [s. l.], v. 11, n. 2, p. 107-184, 2003.

TOCHER, D. R.; BENDIKSEN, E. Å.; CAMPBELL, P. J.; BELL, J.G. The role of phospholipids in nutrition and metabolism of teleost fish. **Aquaculture**, [s. l.], v. 280, n. 1-4, p. 21-34, 2008.

VAN DER MEER, M. B.; ZAMORA, J. E.; VERDEGEM, M. C. J. Effect of dietary lipid level on protein utilization and the size and proximate composition of body compartments of *Colossoma macropomum* (Cuvier). **Aquaculture Research**, [s. l.], v. 28, n. 6, p. 405-417, 1997.

WELENGANE, E.; SADO, R.Y.; BICUDO, Á.J.D.A. Protein-sparing effect by dietary lipid increase in juveniles of the hybrid fish tambatinga (♀ *Colossoma macropomum* × ♂ *Piaractus brachypomus*). **Aquaculture Nutrition**, [s. l.], v. 25, n. 6, p. 1272-1280, 2019.

ZHU, J. F.; CHEN, J. Y.; DU, J. X.; LUO, R. Y.; LIN, L. I.; CHEN, S. M.; JUN, Y. An evaluation of the growth, blood biochemistry, hepatic glucose metabolism and hepatocyte apoptosis in the genetically improved farmed tilapia *Oreochromis niloticus* fed diets with distinct protein to corn starch ratios. **Aquaculture Research**, [s. l.], v. 52, p. 6514-6524, 2021.

CAPÍTULO 12

CICLO REPRODUTIVO E ESPERMATOGÊNESE EM TELEÓSTEOS NEOTROPICAIS

Rosicleire Veríssimo-Silveira*

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Engenharia, Programa de Pós-
Graduação em Ciência e Tecnologia Animal,
Laboratório de Ictiologia Neotropical (LINEO),
Ilha Solteira, São Paulo, Brasil.

***Autora correspondente:**

rosicleire.verissimo@unesp.br

Giovana Souza Branco

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Engenharia, Programa de Pós-
Graduação em Ciência e Tecnologia Animal,
Laboratório de Ictiologia Neotropical (LINEO),
Ilha Solteira, São Paulo, Brasil.

Patricia Postingel Quirino

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Engenharia, Programa de Pós-
Graduação em Ciência e Tecnologia Animal,
Laboratório de Ictiologia Neotropical (LINEO),
Ilha Solteira, São Paulo, Brasil.

Luciane Gomes da Silva

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Engenharia, Programa de Pós-
Graduação em Ciência e Tecnologia Animal,
Laboratório de Ictiologia Neotropical (LINEO),
Ilha Solteira, São Paulo, Brasil.

Elis Marina da Silva Cabral

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Engenharia, Programa de Pós-
Graduação em Ciência e Tecnologia Animal,
Laboratório de Ictiologia Neotropical (LINEO),
Ilha Solteira, São Paulo, Brasil.

Alexandre Ninhaus-Silveira

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Engenharia, Programa de Pós-
Graduação em Ciência e Tecnologia Animal,
Laboratório de Ictiologia Neotropical (LINEO),
Ilha Solteira, São Paulo, Brasil.

Resumo

As adaptações que possibilitam aos peixes viverem nos diferentes ambientes, nos quais tanto as condições bióticas quanto as abióticas variam amplamente, refletem diretamente nas inúmeras estratégias reprodutivas. Desse modo, a reprodução em peixes é modulada pelos fatores exógenos e controlada pelo eixo encéfalo-hipófise-gônadas. O desenvolvimento testicular é cíclico e sazonal e o conhecimento das características morfológicas desse órgão, como a estrutura testicular, as fases do ciclo reprodutivo e as características das células germinativas, constituem uma etapa básica e fundamental para o entendimento da biologia reprodutiva das espécies, principalmente das neotropicais. Tal conhecimento permite o estabelecimento de medidas de proteção e técnicas de reprodução e produção mais sustentáveis para a aquicultura nacional.

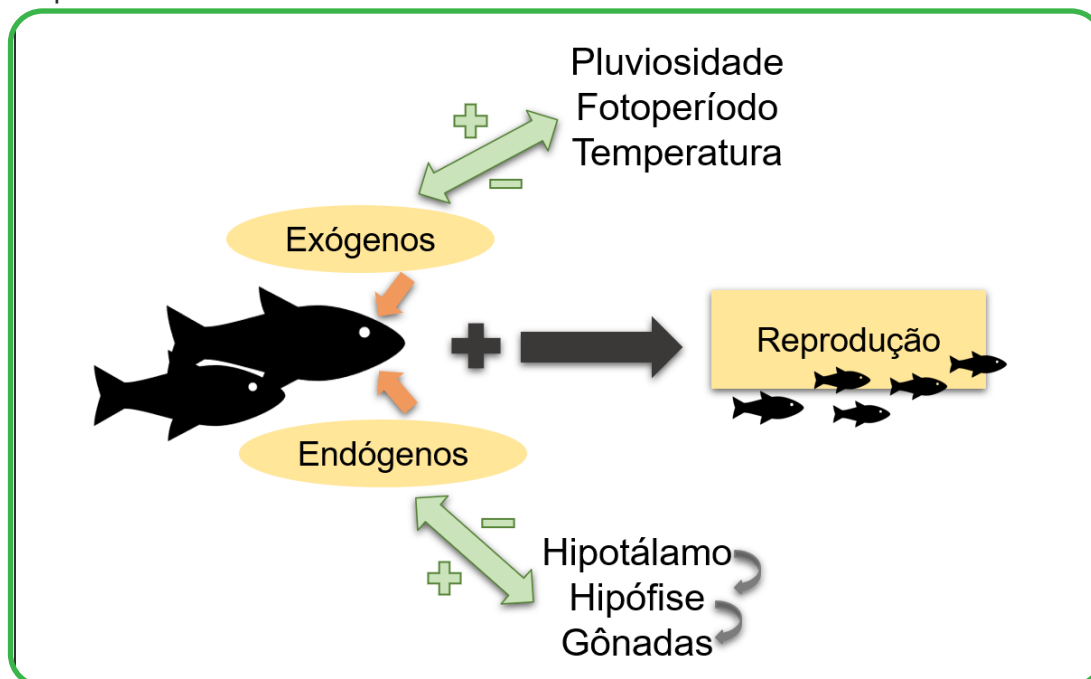
1 INTRODUÇÃO

Os peixes são predominantemente dioicos e a maioria das espécies tem reprodução cíclica e sazonal, ou seja, tanto o desenvolvimento gonadal quanto a maturação dos gametas ocorrem, principalmente, em determinado período anual. As espécies apresentam uma série de estratégias reprodutivas que permitem se ajustar aos ambientes, em que tanto as condições bióticas como abióticas têm grande variação no espaço e no tempo (VAZZOLER, 1996).

Frente à essa variabilidade, indivíduos da mesma espécie podem apresentar diferentes táticas reprodutivas, dependendo do ambiente em que se desenvolveram, como observado em *Psalidodon rivularis* (antes conhecido como *Astyanax rivularis*) (endêmico da região da Serra da Canastra, Minas Gerais), em que a população a montante da cachoeira Casca D'Anta demonstrou um atraso no ciclo reprodutivo em relação à população a jusante, sendo os ambientes compostos por diferentes fitofisionomias e biótopos, como temperatura e altitude (QUIRINO *et al.*, 2021).

Assim, a reprodução dos teleósteos é modulada por fatores exógenos (fotoperíodo, chuvas, temperatura, condutividade da água) e a estabilidade desses gatilhos ambientais em relação às estações do ano é fundamental para o sucesso reprodutivo das espécies (Figura 1) (VAZZOLER, 1996; COWARD; BROMAGE, 2000; PANKHURST; PORTER, 2003; RIBEIRO; MOREIRA, 2012).

Figura 1. Fatores que influenciam positiva ou negativamente a reprodução de peixes.



Fonte: adaptada de Quirino (2022).

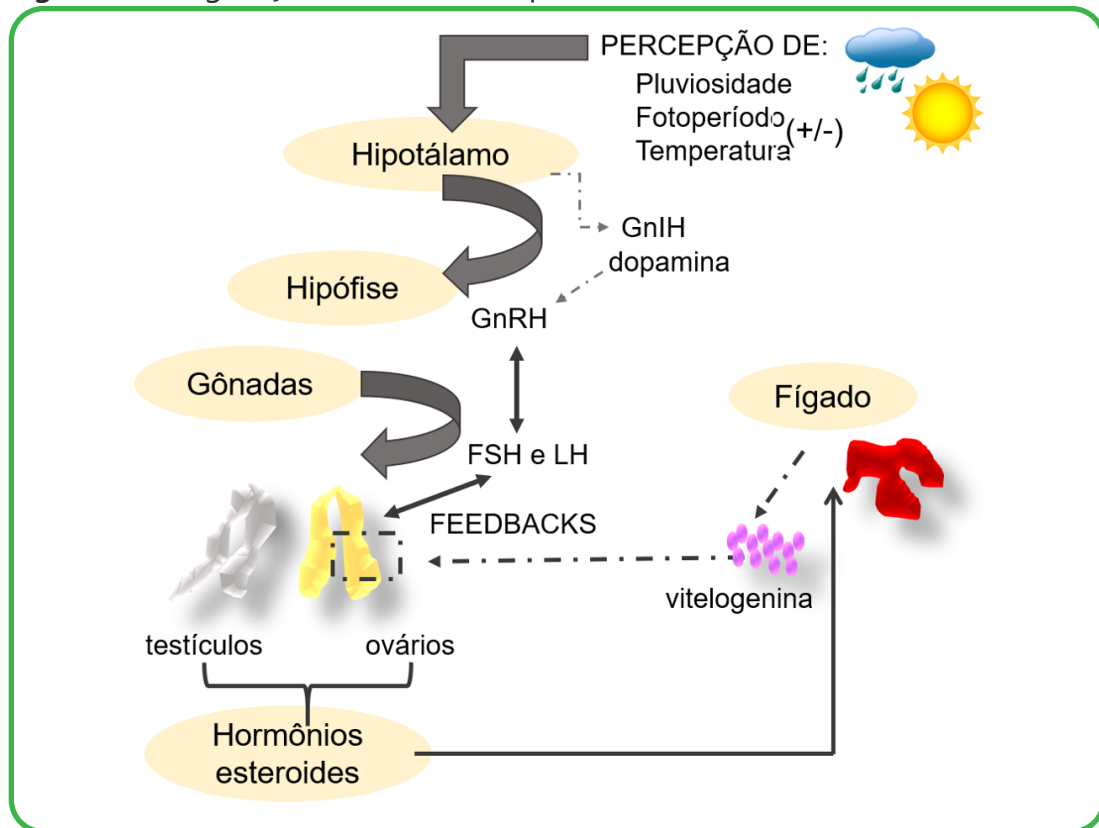
Os estímulos ambientais atuam no hipotálamo, induzindo a produção de neuro-hormônios e, conseqüentemente, desencadeando uma cascata

hormonal, que regulam todo o processo reprodutivo, denominados por fatores endógenos, ou seja, a reprodução é modulada pelos fatores exógenos e controlada pelo eixo encéfalo-hipófise-gônadas (TRUDEAU, 2022).

De uma maneira geral, os neuro-hormônios presentes no encéfalo (GnRH, kisspeptina, GnIH, neurokinina, secretogranina, secretoneurina) regulam direta e indiretamente a produção de gonadotropinas pela adeno-hipófise. A ação desses neuro-hormônios estimula ou bloqueia a síntese e a liberação das gonadotrofinas - hormônio foliculo estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH) - que por ação endócrina, via corrente sanguínea, atuarão nos ovários e testículos, estimulando a síntese de esteroides gonadais (Figura 2) (NAGAHAMA, 1983; DEVLIN; NAGAHAMA, 2002; HILSDORF *et al.*, 2020).

Desse modo, devido às diversas alterações nas características morfológicas dos ovários e testículos caracterizadas pela renovação dos gametas, o desenvolvimento gonadal cíclico e sazonal ocorre através da sua diferenciação, do seu desenvolvimento, da sua maturação e da sua liberação (LOWERRE-BARBIERI *et al.*, 2011).

Figura 2. A regulação hormonal em peixes.



Fonte: adaptada de Schneider e Poehland (2009).

2 CICLO REPRODUTIVO

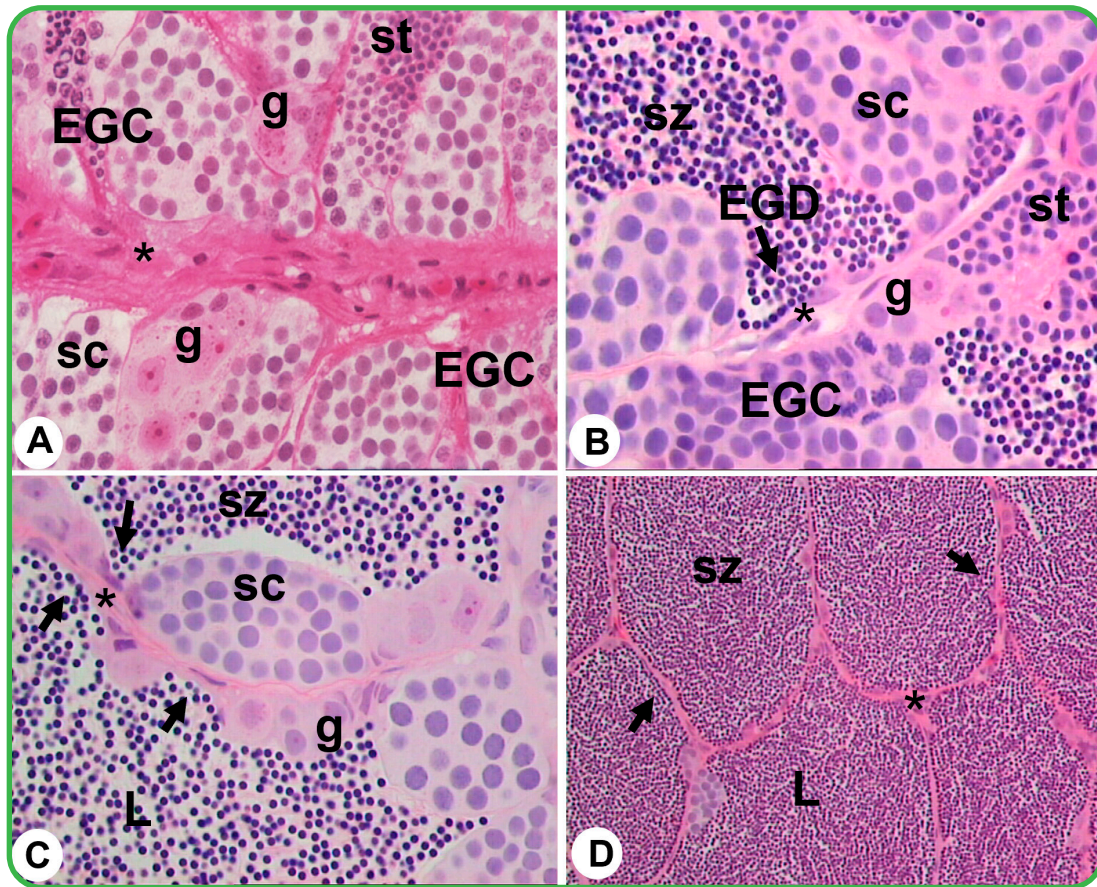
O conhecimento das características morfológicas das gônadas constitui uma etapa básica e fundamental para o entendimento da biologia reprodutiva das

espécies (BROWN-PETERSON *et al.*, 2011; ALMEIDA, 2013; QUAGIO-GRASSIOTTO; WILDNER; ISHIBA, 2013; HILSDORF *et al.*, 2020). Macroscopicamente, as gônadas dos teleósteos apresentam uma superfície externa geralmente lisa, sendo os seus volumes, as suas formas e a sua coloração variáveis com o desenvolvimento gonadal (ALEXANDRINO *et al.*, 1985). Entretanto, a identificação das fases do desenvolvimento gonadal, com base na aparência externa da gônada, apesar de ser um método mais simples e rápido, tem precisão incerta e pode ser muito subjetiva (KJESBU, 2009).

As análises histológicas das gônadas têm demonstrado que o desenvolvimento das células germinativas é, frequentemente, discordante com a classificação macroscópica, uma vez que os estágios de desenvolvimento dos gametas determinam as diferentes fases reprodutivas, bem como a própria estrutura ovariana e testicular (BROWN-PETERSON *et al.*, 2011).

Inicialmente, os estudos do desenvolvimento testicular nos teleósteos utilizavam, basicamente, os estágios das células germinativas (espermatogônias, espermatócitos, espermatídes e espermatozoides) presentes no testículo para descrever as "classes" de maturação gonadal (LIMA; VAL-SELLA; TORQUATO, 1986; VAZZOLER, 1996). Posteriormente, as atividades reprodutivas anuais foram associadas aos estágios das células germinativas presentes e às mudanças no epitélio germinativo (contínuo e descontínuo) (Figura 3), passando a ser denominadas por fases de regredido ou preparatória, maturação inicial, maturação intermediária, maturação final e regressão (GRIER; TAYLOR, 1998; BROWN-PETERSON *et al.*, 2002).

Figura 3. Estrutura testicular do dourado *Salminus brasiliensis*.



Legenda: **A** – Túbulos testiculares separados pela região do interstício (asterísco), epitélio germinativo contínuo (EGC) por todo os túbulos, contendo espermatocistos com células germinativas no mesmo estágio de desenvolvimento. **B** – Início da descontinuidade do epitélio germinativo (EGD), presença de espermatocistos, mas ausentes em determinadas regiões (seta), presença de espermatozoides (sz) na luz (L). **C e D** – Epitélio germinativo totalmente descontinuo ao longo dos túbulos, com escassos espermatocistos e luz repleta de espermatozoides, g: espermatogônias; sc: espermatócitos; st: espermátide. Coloração: hematoxilina e eosina. A, B, C: 1.000X, D: 200X.

Fonte: elaborada pelos autores.

A utilização de descontinuidade do epitélio germinativo para a classificação das fases de desenvolvimento testicular, em maturação inicial (totalmente contínuo), intermediária (parcialmente descontinuo) e final (totalmente descontinuo), não se mostrou eficaz na identificação das mesmas em *Cichla kelberi*, uma vez que o epitélio germinativo foi classificado como pseudoestratificado, permanecendo contínuo, mesmo com o lúmen repleto de espermatozoides, evidenciando que o animal estava apto à reprodução (SIQUEIRA-SILVA *et al.*, 2013). Outro aspecto que difere do padrão acontece na fase de Regressão, na qual a reestruturação gonadal e a proliferação espermatogonial ocorrem ao mesmo tempo. Desse modo, os testículos em *C. kelberi* nunca retornam à fase Preparatória para começar um novo ciclo reprodutivo. Esse fato também explica a ausência de indivíduos totalmente esgotados após seu primeiro ciclo reprodutivo (SIQUEIRA-SILVA *et al.*, 2013).

Em função das peculiaridades entre as espécies, com o intuito de padronizar a classificação e facilitar o entendimento do desenvolvimento testicular e ovariano, Brown-Peterson *et al.* (2011) propuseram a adoção de uma terminologia simples e universal para as fases do ciclo reprodutivo. Desse modo, por inferir um padrão, a terminologia seria aplicável aos peixes teleósteos, bem como a todos os elasmobrânquios.

Essas fases foram escolhidas porque definem marcos-chave no ciclo reprodutivo, sendo elas: Imaturo, Desenvolvimento, Apto a Desova, Regressão e Regeneração. Embora a sequência temporal dos eventos durante o desenvolvimento dos gametas em cada fase pode variar entre espécies, cada fase tem marcadores histológicos e fisiológicos específicos e, por isso, foi considerada universal.

A padronização proposta por Brown-Peterson *et al.* (2011) foi definida, utilizando principalmente espécies marinhas e de regiões temperadas. Para algumas espécies de peixes neotropicais, tal classificação precisa ser revista, devido ao fato de as gônadas não apresentarem padrões de desenvolvimento definidos, como consequência de estações anuais não tão marcadas em países tropicais.

3 ESTRUTURA TESTICULAR

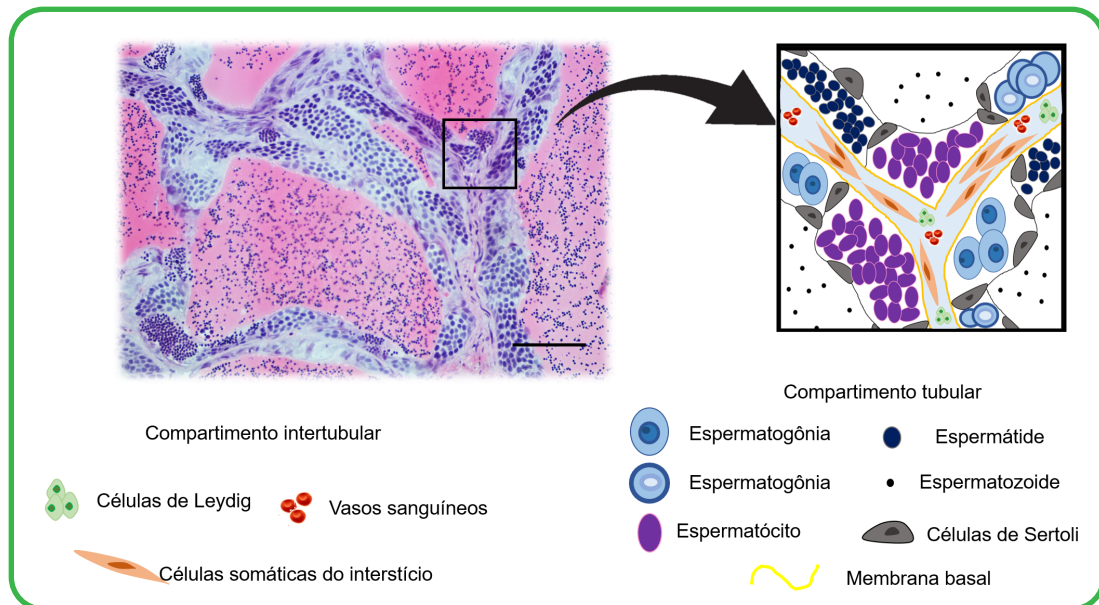
A organização básica do testículo é altamente conservada em peixes, sendo envolvido por um tecido conjuntivo - a túnica albugínea - que emite projeções para o interior do órgão, delimitando os lóbulos ou túbulos seminíferos que podem terminar na periferia do testículo ou ser altamente interconectados, formando "dobras" que não terminam na periferia testicular (GRIER, 1981, 1993). Em ambos os tipos, o compartimento germinativo pode desembocar diretamente nos ductos testiculares principais (LAHNSTEINER; PATZNER; WEISMANN, 1994) ou na via dos ductos testiculares eferentes (GRIER *et al.*, 1980).

Os ductos testiculares principais são os canais longitudinais, localizados adjacentes aos testículos e contínuos com o ducto espermático. Segundo Lahnsteiner, Patzner e Weismann (1994), os ductos testiculares, eferentes e principal, têm função na estocagem e na nutrição dos espermatozoides, na formação do fluido seminal e na manutenção do seu gradiente iônico e nas atividades auto e heterofagocíticas.

Em peixes teleósteos, o testículo é composto por dois compartimentos principais: o intertubular, formado pela região intersticial, e o tubular, estabelecido pelo compartimento germinativo. O compartimento intertubular contém células de Leydig esteroidogênicas, vasos sanguíneos e linfáticos, macrófagos, mastócitos, células do tecido conjuntivo e neural. O compartimento tubular é delimitado por uma membrana basal e células mióides peritubulares e abriga o epitélio germinativo. Esse epitélio contém apenas dois tipos de células: as células somáticas de Sertoli e as germinativas (Figura 4). As células de Sertoli circundam as espermatogônias, as primeiras células da linhagem

germinativa, que formam um espermatocisto, criando um ambiente isolado para o desenvolvimento da espermatogônia em espermatozoide (Figura 4) (GRIER, 1981; KOULISH; KRAMER; GRIER, 2002; NÓBREGA; QUAGIO-GRASSIOTTO, 2007; SCHULZ *et al.*, 2010).

Figura 4. Representação geral dos compartimentos intertubular e tubular em teleósteos.



Nota: Histologia: corte transversal de testículo de *Brycon orbignyanus* aos 3 anos de idade. Coloração: hematoxilina e eosina. Magnificação da imagem: 20 μ m.

Fonte: elaborada pelos autores.

O modo como o epitélio germinativo está organizado no testículo possibilita a classificação da gônada masculina em dois tipos: lobular ou tubular anastomosado. O testículo caracterizado como lobular é marcado pela presença de epitélio germinativo organizado em compartimentos que se estendem em prolongamentos com um fundo cego, assemelhando-se aos dedos de uma luva. Em contrapartida, o testículo tubular anastomosado é caracterizado por epitélio germinativo organizado em compartimentos interconectados, emaranhados como se fossem um novelo de lã, de modo que não há possibilidade de identificação de início ou término delimitado de cada túbulo (GRIER, 1993; PARENTI; GRIER, 2002).

Além do tipo de testículo, em peixes podem ser reconhecidas duas diferentes categorias de organização do epitélio germinativo: contínuo e descontínuo (GRIER; TAYLOR, 1998). O epitélio germinativo contínuo é constituído por uma população contínua de células de Sertoli e células germinativas que se estendem ao longo de todo o comprimento dos lóbulos. Por outro lado, o epitélio germinativo descontínuo é caracterizado pela perda das células germinativas, quando os espermatozoides são expelidos dos espermatocistos. Entretanto, como isso não ocorre uniformemente, na parede

do lóbulo alternam-se um epitélio formado apenas por células de Sertoli, com regiões contendo o epitélio germinativo típico onde células de Sertoli estão associadas com células germinativas, constituindo, dessa maneira, um epitélio germinativo descontínuo (GRIER; TAYLOR, 1998; GRIER; LO NOSTRO, 2000; BROWN-PETERSON *et al.*, 2002).

A distinção do epitélio germinativo contínuo ou descontínuo, dependendo do estado de maturação gonadal, adicionada ao comportamento reprodutivo de peixes, que é espécie-específico, permite que os padrões de classificação do ciclo reprodutivo sejam inferidos e utilizados em larga escala, tanto no campo da pesquisa científica quanto na produção.

4 ESPERMATOGÊNESE

O termo espermatogênese, utilizado inicialmente por Roosen-Runge em 1962, compreende o desenvolvimento das células germinativas masculinas no animal sexualmente maduro, iniciando com um tipo de célula tronco e terminando com o espermatozoide sendo liberado para a luz do túbulo seminífero (espermiação).

Em teleósteos, as unidades funcionais da espermatogênese no epitélio germinativo são os espermatocistos presentes no testículo (GRIER, 1993), constituídos por grupos de células germinativas em um mesmo estágio de desenvolvimento sincrônico (espermatogônias, espermatócitos e espermátides), que são circundados por processos citoplasmáticos das células de Sertoli, que desempenham função de suporte, nutricional e hormonal (GRIER *et al.*, 1980; GRIER; TAYLOR, 1998; SCHULZ *et al.*, 2010).

A formação dos gametas masculinos tem início com a fase proliferativa (divisões mitóticas), seguida de uma fase meiótica e finalizada com uma fase de diferenciação celular, denominada espermiogênese, resultando na formação do espermatozoide (NÓBREGA; BATLOUNI; FRANÇA, 2009; SCHULZ *et al.*, 2010). O número de células de Sertoli que formam os cistos determina a capacidade espermatogênica de um testículo, pois são alvos importantes dos sistemas de sinalização que regulam a espermatogênese, desse modo, atuam limitando o tamanho dos testículos e, conseqüentemente, a produção de espermatozoides (MATTA; GOMES; ANDRADE, 2009).

A diferenciação das espermátides em espermatozoides - a espermiogênese - é marcada por várias mudanças morfológicas, que consistem na compactação do conteúdo nuclear, na formação da cabeça, da peça intermediária e no desenvolvimento do flagelo, além da típica eliminação de excesso de citoplasma. Assim que o processo da espermiogênese é finalizado, as pontes citoplasmáticas estabelecidas entre as células de Sertoli, para que os cistos fossem formados, são rompidas/desfeitas, liberando os espermatozoides para a luz do compartimento germinativo (BILLARD, 1983; GRIER, 1981, SELMAN; WALLACE, 1986).

A espermatogênese descrita nos parágrafos anteriores é denominada do tipo cística, quando a produção dos espermatozoides se dá completamente nos

espermatozoides, porém, quando a abertura dos cistos ocorre antes do término da espermiogênese, essa é denominada de semi-cística e a produção final dos espermatozoides ocorre na luz do compartimento germinativo (MATTEI, 1991).

Embora a maioria dos eventos biológicos da espermatogênese em peixes seja bastante conservativo, a morfologia do espermatozoide é muito diversificada, mostrando variações: na compactação da cromatina, na forma do núcleo, na peça intermediária, no flagelo, na posição relativa dos centríolos, no número e na distribuição de algumas organelas (mitocôndrias e vesículas). Essas variações permitem reconhecer as homologias nas características ultraestruturais dos espermatozoides, os tipos de espermatogênese e as variações da espermiogênese (QUAGIO-GRASSIOTTO *et al.*, 2020).

Dentro de uma família, a estrutura dos espermatozoides é muito próxima, tornando sua caracterização morfológica muito útil na identificação de padrões de relacionamento interfamiliar (BACCETTI *et al.*, 1984). Nesse sentido, a descrição ultraestrutural do processo de espermiogênese e dos espermatozoides de peixes tem chamado a atenção por sua aplicabilidade potencial nas análises filogenéticas em vários grupos de peixes (JAMIESON, 2009; QUAGIO-GRASSIOTTO *et al.*, 2020).

Jamieson (2009) resume o conhecimento a respeito da estrutura dos espermatozoides para os diversos grupos de peixes, assinalando as modificações estruturais que ocorreram em cada linhagem, fornecendo dados da ultraestrutura dos espermatozoides de praticamente todos os grandes grupos de peixes vivos. Estudos recentes têm demonstrado um aumento na descrição dos espermatozoides dos representantes da ictiofauna de água doce neotropical, entretanto, ainda são poucos os estudados, considerando a grande diversidade de espécies existente (VERÍSSIMO-SILVEIRA, 2006; JAMIESON, 2009; SIQUEIRA-SILVA *et al.*, 2013; QUAGIO-GRASSIOTTO *et al.*, 2020; SPADELLA *et al.*, 2007).

A eficiência da espermatogênese pode ser caracterizada pela dinâmica da interação das células germinativas e das células de Sertoli em relação ao tipo de cisto, ao número de gerações espermatogônias, à magnitude da perda das células germinativas e à capacidade de suporte das células de Sertoli durante a espermatogênese, sendo essa posterior à identificação correta da linhagem espermatogonial (NÓBREGA; BATLOUNI; FRANÇA, 2009; RODRIGUES *et al.*, 2015; SIQUEIRA-SILVA; RODRIGUES; NÓBREGA, 2019; BENEVENTE *et al.*, 2022).

A eficiência da espermatogênese e a morfologia do espermatozoide são ferramentas importantes para avaliação de determinadas técnicas aquícolas. O controle da qualidade do esperma é uma questão importante para a indústria da aquicultura, tanto para a produção de espécies comerciais bem estabelecidas quanto para a introdução de novas espécies com alto interesse comercial.

Nesse sentido, utilizar gametas de alta qualidade é a chave para o sucesso reprodutivo em cativeiro, sendo que a avaliação das características das células germinativas é essencial na reprodução artificial de qualquer espécie. Assim, para caracterizar e/ou qualificar sêmen de uma espécie de peixe, vários parâmetros relacionados às características seminais devem ser analisados, como: o volume seminal, a taxa e duração da motilidade espermática, a morfologia

dos gametas, a concentração espermática e a análise da cinética das células espermáticas (SOLIS-MURGAS *et al.*, 2011; CABRITA *et al.*, 2014).

As pesquisas que vêm sendo desenvolvidas com espermatogênese, se caracterizam tanto pela descrição do processo nas diferentes espécies quanto pela caracterização temporal desse processo, entre eles podemos destacar os trabalhos com as espécies *Cichla kelberi* (SIQUEIRA-SILVA *et al.*, 2013), *Astyanax lacustris* (antes conhecido como *Astyanax altiparanae*) (RODRIGUES *et al.*, 2015; SIQUEIRA-SILVA *et al.*, 2017; QUIRINO *et al.*, 2020) e *Devario aequipinnatus* (CHAGAS; NINHAUS-SILVEIRA; VERÍSSIMO-SILVEIRA, 2016).

É através da interação entre as análises estereológicas e a marcação celular que a duração da espermatogênese pode ser quantificada, de modo que em *A. lacustris*, durante a fase proliferativa, as espermatogônias sofrem, pelo menos, nove divisões mitóticas antes de se diferenciar em espermatócitos primários e a capacidade de suporte da célula de Sertoli se modifica ao longo da espermatogênese (RODRIGUES *et al.*, 2017). A análise estereológica também se mostrou eficiente na avaliação de técnicas de triploidização nessa espécie, uma alternativa importante para a produção de indivíduos estéreis (NASCIMENTO *et al.*, 2017).

A duração desse processo é geralmente mais curta em peixes do que em mamíferos e, também, é influenciada pela temperatura da água (NÓBREGA; BATLOUNI; FRANÇA, 2009). Por isso, as alterações no meio ambiente podem causar influências na dinâmica da espermatogênese, normalmente em função de ações antrópicas, por exemplo, a presença de contaminantes no ambiente, bem como as alterações climáticas, fato observado em *A. lacustris*, no qual a elevação da temperatura da água em 5°C reduziu em 5 dias a duração da espermatogênese (QUIRINO *et al.*, 2020).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os peixes formam o grupo com maior biodiversidade entre os vertebrados. Há tamanha variedade de estratégias e táticas reprodutivas, que possibilitaram a adaptação desses animais em ambientes aquáticos com condições ambientais das mais diversas possíveis. Além disso, formam também o grupo de vertebrados que apresenta maior taxa de crescimento em produção para consumo humano no mundo.

Apesar do Brasil ser o país com maior recurso hídrico do planeta, ainda é emergente na produção de pescado mundial. O aprimoramento de técnicas que visem impulsionar a aquicultura somente ocorrerá quando a biologia reprodutiva básica (fundamental) das espécies neotropicais de maior potencial zootécnico estiver conceituada. Embora a espermatogênese seja um processo conservativo em sua maior parte, há singularidades espécies-específicas. Por isso, o conhecimento das características morfológicas das gônadas e do processo de formação dos gametas, conforme descrito neste capítulo, além do ciclo reprodutivo das espécies, constitui uma etapa primordial para a compreensão do ciclo de vida e a determinação de meios de preservação, e até de produção comercial, das espécies de peixes neotropicais.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Unesp).

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES). O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) - (Processos nº 2013/24527-8 e nº 2014/23379-8).

REFERÊNCIAS

ALEXANDRINO, A. C.; PHAN, M. T.; PINHEIRO, E. F. Caracterização macroscópica das gônadas do Curimatá, *Prochilodus scrofa* (Steindachner, 1881), durante o ciclo reprodutivo. **Boletim de Zoologia**, São Paulo, v. 9, n. 9, p. 159-175, 1985.

ALMEIDA, F. L. Endocrinologia aplicada na reprodução de peixes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 37, n. 2, 174-180, 2013.

BACCETTI, B.; BURRINI, A. G.; CALLAINI, G.; GILBERTINI, G.; MAZZINI, M.; ZERUNIAN, S. Fish germinal cells I. Comparative spermatology of seven cyprinid species. **Gamete Research**, [s. l.], v. 10, n. 4, p. 373-96, 1984.

BENEVENTE, C. F.; QUIRINO, P. P.; GOMES-SILVA, L.; DELGADO, M. L.; BIANCHINI, B. C.; DE FREITAS, G. A.; NINHAUS-SILVEIRA, A.; VERÍSSIMO-SILVEIRA, R. Stereological analysis of spermatogenesis in *Brycon orbignyanus* (Characiformes: Bryconidae). **Aquaculture Research**, [s. l.], v. 53, n. 18, p. 6664-6670, 2022.

BILLARD, R. Spermiogenesis in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) – An ultrastructural study. **Cell and tissue research**, Berlin, v. 233, n. 2, p. 265-284, 1983.

BROWN-PETERSON, N. J.; GRIER, H. J.; OVERSTREET, R. M. Annual changes in germinal epithelium determine male reproductive classes of the cobia. **Journal of Fish Biology**, [s. l.], v. 60, n. 1, p. 178-202, 2002.

BROWN-PETERSON, N. J.; WYANSKI, D. M.; SABORIDO-REY, F.; MACEWICZ, B. J.; LOWERRE-BARBIERI, S. K. A standardized terminology for describing reproductive development in fishes. **Marine and Coastal Fisheries**, [s. l.], v. 3, n. 1, 52-70, 2011.

CABRITA, E.; MARTÍNEZ-PÁRAMO, S.; GAVAIA, P. J.; RIESCO, M. F.; VALCARCE, D. G.; SARASQUETE, C.; HERRAEZ, M. P.; ROBLES, V. Factors enhancing fish sperm quality and emerging tools for sperm analysis. **Aquaculture**, [s. l.], v. 432, p. 389-401, 2014.

CHAGAS, J. M. A.; NINHAUS-SILVEIRA, A.; VERÍSSIMO-SILVEIRA, R. Ciclo testicular de *Devario aequipinnatus* (Teleostei, Cyprinidae): Um potencial modelo biológico em experimentação animal. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 42, n. 4, 765-779, 2016.

COWARD, K.; BROMAGE, N. R. Reproductive physiology of female tilapia broodstock. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, [s. l.], v. 10, p. 1-25, 2000.

DEVLIN, R. H.; NAGAHAMA, Y. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. **Aquaculture**, [s. l.], v. 208, n. 3-4, p. 191-364, 2002.

GRIER, H. J. Cellular organization of the testis and spermatogenesis in fishes. **American Zoologist**, [s. l.], v. 21, n. 2, p. 345-357, 1981.

GRIER, H. J. Comparative organization of Sertoli cells including the Sertoli cell barrier. In: RUSSELL, L. D.; GRISWOLD, M. D. **The Sertoli cell**. Clearwater, FL: Cache River Press, 1993. p. 704-739.

GRIER, H. J. The germinal epithelium: its dual role in establishing male reproductive classes and understanding the basis for indeterminate egg production in female fishes. In: GULF AND CARIBBEAN FISHERIES INSTITUTE, 53., 2002. **Anais** [...]. [S. l.: s. n.], 2002. p. 537-580.

GRIER, H. J.; LINTON, J. R.; LEATHERLAND, J. F.; DE VLAMING, V. L. Structural evidence for two different testicular types in teleost fishes. **The American journal of anatomy**, New York, v. 159, n. 3, p. 331-345, 1980.

GRIER, H. J.; LO NOSTRO, F. The teleost germinal epithelium: a unifying concept. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE REPRODUCTIVE PHYSIOLOGY OF FISH, 6., 2000, Bergen, Norway. **Proceedings** [...]. Bergen: Department of Fisheries and Marine Biology; University of Bergen, 2000.

GRIER, H. J.; TAYLOR, R. G. Testicular maturation and regression in the common snook. **Journal of Fish Biology**, [s. l.], v. 53, n. 3, p. 521-42, 1998.

HILSDORF, A. W.; MOREIRA, R. G.; MARINS, L. F.; HALLERMAN, E. M. The genetic bases of physiological processes in fish. In: BALDISSEROTTO, B.; URBINATI, E. C.; CYRINO, J. E. P. (org.). **Biology and physiology of freshwater neotropical fish**. Boca Raton: Academic Press, 2020. p. 49-74.

JAMIESON, B. G. **Reproductive biology and phylogeny of fishes (agnathans and bony fishes)**: phylogeny, reproductive system, viviparity, spermatozoa. Boca Raton: CRC press, 2009.

KJESBU, O. S. Applied fish reproductive biology: contribution of individual reproductive potential to recruitment and fisheries management. In: JAKOBSEN, T.; FOGARTY, M. J.; MEGREY, B. A.; MOKSNESS, E. (ed.). **Fish reproductive biology: implications for assessment and management**. Oxford: Wiley-Blackwell Scientific Publications, 2009. p. 293-332.

KOULISH, S.; KRAMER, C. R.; GRIER, H. J. Organization of the male gonad in a protogynous fish, *Thalassoma bifasciatum* (Teleostei: Labridae). **Journal of Morphology**, Hoboken, v. 254, n. 3, p. 292-311, 2002.

LAHNSTEINER, F.; PATZNER, R. A.; WEISMANN, T. The testicular main ducts and the spermatic ducts in some cyprinid fishes - II. Composition of the seminal fluid. **Journal of Fish Biology**, [s. l.], v. 44, n. 3, p. 459-467, 1994.

LIMA, R. V.; VAL-SELLA, M. V.; TORQUATO, V. C. Organização e desenvolvimento das gônadas do dourado (*Salminus maxillosus* Val.) durante o ciclo reprodutivo. **Boletim de Fisiologia Animal**, São Paulo, v. 10, p. 139-154, 1986.

LOWERRE-BARBIERI, S. K.; GANIAS, K.; SABORIDO-REY, F.; MURUA, H.; HUNTER, J. R. Reproductive timing in marine fishes: variability, temporal scales, and methods. **Marine and Coastal Fisheries**, [s. l.], v. 3, n. 1, p. 71-91, 2011.

MATTA, S. L. P.; GOMES, M. C. M.; ANDRADE, D. R. Reproductive biology of the

Olygosarcus argenteus (Gunther, 1864) adult males and description of the gonadal maturation stages. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 52, n. 1, p. 119-126, 2009.

MATTEI, X. Spermatozoon ultrastructure and its systematic implications in fishes. **Canadian Journal of Zoology**, [s. l.], v. 69, n. 12, p. 3038-3055, 1991.

NAGAHAMA, Y. The functional morphology of teleost gonads. In: HOAR, W. S.; RANDALL, D. J.; DONALDSON, E. M. **Fish Physiology**. New York: Academic Press, 1983. p. 223-276.

NASCIMENTO, N. F.; PEREIRA-SANTOS, M.; PIVA, L. H.; MANZINI, B.; FUJIMOTO, T.; SENHORINI, J. A.; YASUI, G. S.; NAKAGHI, L. S. Growth, fatty acid composition, and reproductive parameters of diploid and triploid yellowtail tetra *Astyanax altiparanae*. **Aquaculture**, [s. l.], v. 471, p. 163-171, 2017.

NÓBREGA, R. H.; BATLOUNI, S. R.; FRANÇA, L. R. An overview of functional and stereological evaluation of spermatogenesis and germ cell transplantation in fish. **Fish Physiology and Biochemistry**, Dordrecht, v. 35, n. 1, p. 197-206, 2009.

NÓBREGA, R. H.; QUAGIO-GRASSIOTTO, I. Morphofunctional changes in Leydig cells throughout the continuous spermatogenesis of the freshwater teleost fish, *Serrasalmus spilopleura* (Characiformes, Characidae): an ultrastructural and enzyme study. **Cell and Tissue Research**, Berlin, v. 329, n. 2, p. 339-349, 2007.

PANKHURST, N. W.; PORTER, M. J. Cold and dark or warm and light: variations on the theme of environmental control of reproduction. **Fish Physiology and Biochemistry**, [s. l.], v. 28, p. 385-389, 2003.

PARENTI, R. L.; GRIER, H. J. Evolution and phylogeny of gonad morphology in bony fishes. **Integrative and Comparative Biology**, Oxford, v. 44, n. 5, p. 333-348, 2004.

QUAGIO-GRASSIOTTO, I.; BAICERE-SILVA, C. M.; DE OLIVEIRA-SANTANA, J. C.; MIRANDE, J. M. Spermiogenesis and sperm ultrastructure as sources of phylogenetic characters. The example of characid fishes (Teleostei: Characiformes). **Zoologischer Anzeiger**, [s. l.], v. 1, n. 289, p. 77-86, 2020.

QUAGIO-GRASSIOTTO, I.; WILDNER, D. D.; ISHIBA, R. Gametogênese em peixes: aspectos relevantes para o manejo reprodutivo. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 37, n. 2, p. 181-191, 2013.

QUIRINO, P. P.; DE SIQUEIRA-SILVA, D. H.; DA SILVA RODRIGUES, M.; DOS SANTOS-SILVA, A. P.; DELGADO, M. L. R.; SENHORINI, J. A.; NINHAUS-SILVEIRA, A.; VERÍSSIMO-SILVEIRA, R. Gonadal morphology and difference in reproductive development of two isolated populations of *Astyanax rivularis* (Teleostei, Characidae). **Journal of Fish Biology**, [s. l.], v. 99, n. 5, p. 1719-1728, 2021.

QUIRINO, P. P.; SILVA-RODRIGUES, M.; SILVA-CABRAL, E. M.; SIQUEIRA-SILVA, D. H.; MORI, R. H.; BUTZGE, A. J.; NOBREGA, R. H.; NINHAUS-SILVEIRA, A.; VERÍSSIMO-SILVEIRA, R. The influence of increased water temperature on the duration of spermatogenesis in a neotropical fish, *Astyanax altiparanae* (Characiformes, Characidae). **Fish Physiology and Biochemistry**, Dordrecht, v. 47, n. 3, p. 747-755, 2021.

RIBEIRO, C. S.; MOREIRA, R. G. Fatores ambientais e reprodução dos peixes. **Revista da Biologia**, São Paulo, v. 8, n. 1, p. 58-61, 2012.

RODRIGUES, M. S.; SIQUEIRA-SILVA, D. H.; POSTINGEL-QUIRINO, P.; NINHAUS-SILVEIRA, A.; VERÍSSIMO-SILVEIRA, R. Spermatogenesis in the yellowtail tetra *Astyanax altiparanae*: a histological analyses with emphasis to spermatogonial and spermatid types. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 41, p. 697-705, 2015.

ROOSEN-RUNGE, E. C. The process of spermatogenesis in mammals. **Biological reviews**, [s. l.], v. 37, n. 3, p. 343-377, 1962.

SCHNEIDER, F.; POEHLAND, R. Endocrinology of reproduction. In: JAMIESON, B. G. M. (org.). **Reproductive biology and phylogeny of fishes (Agnathans and Bony Fishes)**. 1 ed. New Hampshire: Science Publishers, 2009. p. 54-93.

SCHULZ, R. W.; FRANÇA, L. R.; LAREYRE, J. J.; LEGAC, F.; CHIARINI-GARCIA, H.; NÓBREGA, R. H.; MIURA, T. Spermatogenesis in fish. **General and Comparative Endocrinology**, New York, v. 165, n. 3, p. 390-411, 2010.

SELMAN, K.; WALLACE, R. A. Gametogenesis in *Fundulus heteroclitus*. **American Zoologist**, Oxford, v. 26, n. 1, p. 173-192, 1986.

SIQUEIRA-SILVA, D. H.; RODRIGUES, M. S.; NÓBREGA, R. H. Testis structure, spermatogonial niche and Sertoli cell efficiency in Neotropical fish. **General and Comparative Endocrinology**, New York, v. 273, p. 218-226, 2019.

SIQUEIRA-SILVA, D. H.; VICENTINI, C. A.; NINHAUS-SILVEIRA, A.; VERÍSSIMO-SILVEIRA, R. Reproductive cycle of the Neotropical cichlid yellow peacock bass *Cichla kelberi*: a novel pattern of testicular development. **Neotropical Ichthyology**, Maringá, v. 11, n. 3, 587-596, 2013.

SIQUEIRA-SILVA, D. H.; DOS SANTOS-SILVA, A. P.; BASHIYO-SILVA, C.; RODRIGUES M. S.; VICENTINI, C. A.; NINHAUS-SILVEIRA, A.; VERÍSSIMO-SILVEIRA, R. Testicular structure and seminal pathway in the yellowtail tetra *Astyanax altiparanae* (Characiforms: Characidae). **Anatomia, histologia, embryologia**, Berlin, v. 46, n. 4, p. 342-346, 2017.

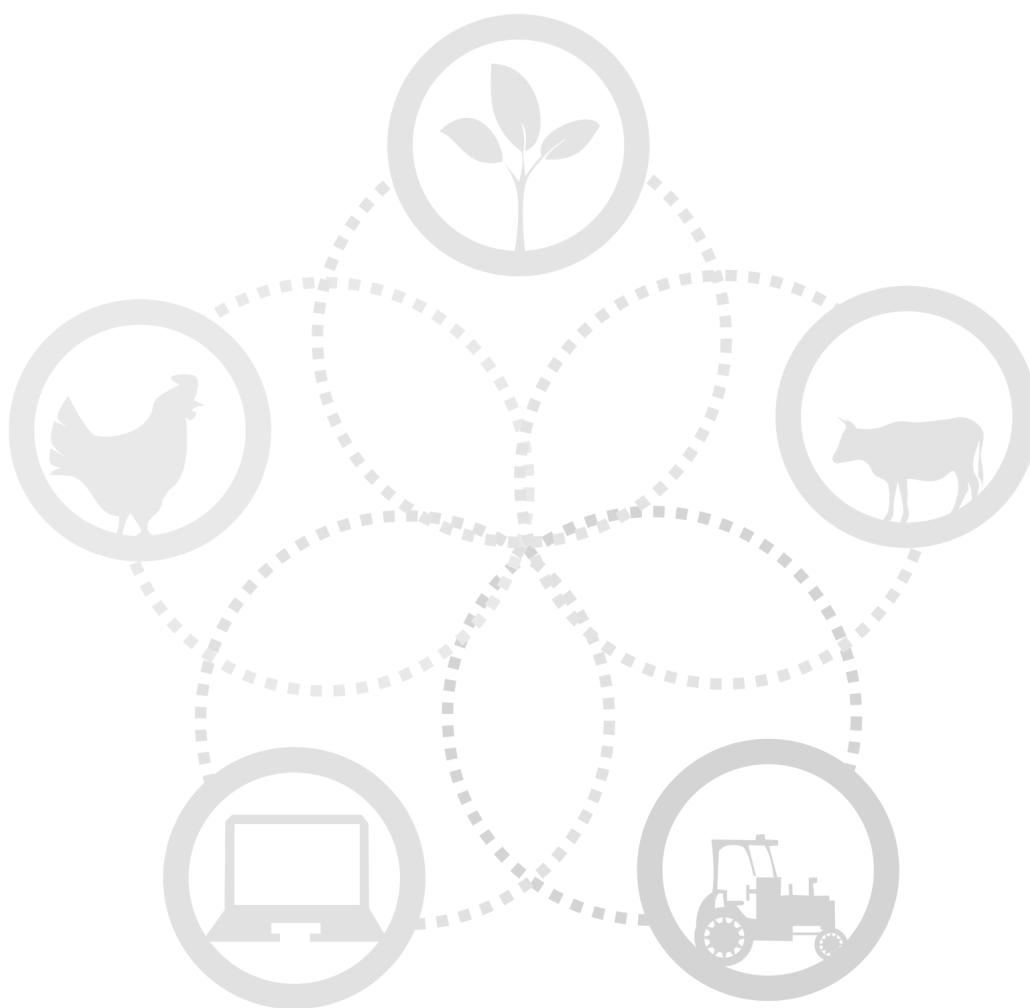
SPADELLA, M. A.; OLIVEIRA, C.; QUAGIO-GRASSIOTTO, I. Comparative analysis of spermiogenesis and sperm ultrastructure in Callichthyidae (Teleostei: Ostariophysii: Siluriformes). **Neotropical Ichthyology**, Maringá, v. 5, n. 3, p. 337-350, 2007.

SOLIS-MURGAS, L. D.; FELIZARDO, V. O.; FERREIRA, M. R.; ANDRADE, E. S.; VERAS, G. C. Importância da avaliação dos parâmetros reprodutivos em peixes nativos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 35, n. 2, p. 186-191, 2011.

TRUDEAU, V. L. Neuroendocrine control of reproduction in teleost fish: concepts and controversies. **Annual Review of Animal Biosciences**, Palo Alto, v. 15, n. 10, p. 107-130, 2022.

VAZZOLER, A. E. A. M. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos**: teoria e prática. Maringá: UEM, 1996.

VERÍSSIMO-SILVEIRA, R.; GUSMÃO-POMPIANI, P.; VICENTINI, C. A.; QUAGIO-GRASSIOTTO, I. Spermiogenesis and spermatozoa ultrastructure in *Salminus* and *Brycon*, two primitive genera in Characidae (Teleostei: Ostariophysii: Characiformes). **Acta Zoologica**, Stockholm, v. 87, n. 4, p. 305-313, 2006.



CAPÍTULO 13

ÓLEOS ESSENCIAIS: ADITIVOS DE DESTAQUE NA NUTRIÇÃO DE FRANGOS DE CORTE

Valquíria Cação Cruz-Polycarpo*

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.

***Autora correspondente:**

valquiria.cacao@unesp.br

Caroline Gomes Azevedo

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.

Bárbara Fernanda da Silva Barbosa

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.

Gustavo do Valle Polycarpo

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.

Resumo

A preocupação com a segurança alimentar na saúde humana, assim como o impacto de resíduos químicos dos alimentos, tem aumentado gradativamente nos últimos anos, fazendo com que a indústria de produção animal busque soluções significativas e sofra grandes transformações. O uso prolongado de antibióticos na alimentação animal pode causar riscos à saúde dos consumidores, visto que é possível encontrar resíduos dos mesmos nos produtos de origem animal destinados ao consumo da população ou, ainda, resistência cruzada com outros antimicrobianos utilizados em terapêutica humana ou de animais. Por isso, são necessários estudos de novos aditivos melhoradores de crescimento que favoreçam a microbiota intestinal em substituição ao uso dos antibióticos. Diversos estudos vêm mostrando os benefícios dos óleos essenciais como aditivos nutricionais para frangos de corte, os quais auxiliam diretamente na secreção de enzimas digestivas, facilitando uma melhor digestibilidade e absorção de nutrientes para o crescimento dos animais. Além disso, benefícios sobre a microbiota intestinal são relatados, uma vez que esses aditivos agem como antibacterianos e antifúngicos, melhorando o ambiente intestinal e tornando mais difícil a sobrevivência de patógenos. Apesar da gama de estudos existentes com óleos essenciais, ainda há divergências perante sua dose, suas associações com outras substâncias e, por ser um importante aditivo, é necessária a realização de mais pesquisas visando elucidar os resultados encontrados. Este capítulo abordará o uso de óleos essenciais na nutrição de frangos de corte e seus benefícios perante a saúde intestinal e a qualidade da carne.

1 INTRODUÇÃO

Devido à elevada demanda de carne de frangos para comercialização interna e externa, o uso de antibióticos na ração como promotores de crescimento é uma prática ainda comum. Doses subterapêuticas de antibióticos vêm sendo usadas como promotores de crescimento com possibilidade de desenvolver resistência antimicrobiana nas aves (ROBINSON *et al.*, 2019). Além disso, resíduos de antibióticos em produtos de origem animal parecem ser um fator potencial de resistência aos medicamentos em humanos. Portanto, a resistência antimicrobiana se tornou um problema global (AGYARE *et al.*, 2018) e, então, a União Europeia proibiu oficialmente a utilização de antibióticos para melhorar o crescimento das aves (ABUDABOS *et al.*, 2017). Assim, a busca dos nutricionistas se torna mais intensificada para encontrar alternativas eficientes de aditivos para substituir os antibióticos, que auxiliem na superação de problemas entéricos, mantendo o desempenho zootécnico do animal.

Nesse sentido, os óleos essenciais (OE) na nutrição animal ganharam destaque por possuírem potencial em substituir os antibióticos melhoradores de desempenho (PUVAČA; TUFARELLI; GIANNENAS, 2022). São definidos como óleos voláteis os derivados de diferentes plantas com propriedades antimicrobianas, antioxidantes, antivirais e antifúngicas, ação imunomoduladora e efeito de estimulação digestiva (DEMIR *et al.*, 2005; PETROLI *et al.*, 2012; GOPI *et al.*, 2014; SUNTRES; COCCIMIGLIO; ALIPOUR, 2015; GUMUS; ERCAN; IMIK, 2017; LIU *et al.*, 2019; GALLI *et al.*, 2020; ZHANG *et al.*, 2021), podendo causar mudança na microbiota intestinal e demais efeitos benéficos ao animal (MOUNIA; NADIR; OMAR, 2018). Além disso, os trabalhos citados indicam que os OE melhoram o desempenho dos animais devido ao aumento da palatabilidade da ração, ao estímulo à secreção de enzimas endógenas, à função digestiva e ao controle da microbiota intestinal, o que contribui no tratamento de infecções subclínicas.

A eficiência dos OE sobre o desempenho animal é determinada conforme a composição da dieta, o nível de ingestão da dieta e as condições higiênico-sanitárias do ambiente. Ademais, deve-se considerar o tempo de colheita das plantas, o método de extração, a forma e o tempo de conservação e armazenamento do óleo (BRENES; ROURA, 2010).

Peng *et al.* (2016) constataram que o fornecimento de OE influencia de forma positiva na saúde intestinal e, desse modo, melhora o desempenho zootécnico e as características de carcaça de frangos de corte. Orłowski *et al.* (2018) mencionaram que o uso de OE na produção de frangos de corte melhora a qualidade da carne em nível sensorial.

Visto pelo aspecto econômico, há vantagens no uso de suplementos alimentares naturais para os frangos de corte, como os OE, pois ocorre um aumento insignificante no preço da dieta, uma vez que é adicionado em quantidade muito pequena na ração e, como resultado, a sua utilização permite uma segurança na produção sustentável de alimentos de origem animal, sem resíduos de antibióticos e sem afetar a tecnologia de criação de frangos de corte (PUVAČA; TUFARELLI; GIANNENAS, 2022).

2 ÓLEOS ESSENCIAIS E SEUS EFEITOS NUTRICIONAIS SOBRE O DESEMPENHO E A INTEGRIDADE INTESTINAL

Há milhares de anos, os OE vêm sendo extraídos de plantas e usados na indústria de perfumes, cosméticos e fármacos de uso medicinal. Constituem-se em complexas misturas de substâncias voláteis, geralmente lipofílicas (SIMÕES; SPITZER, 1999), cujos componentes incluem hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, ácidos orgânicos fixos em diferentes concentrações, nos quais um composto farmacologicamente ativo é majoritário.

Segundo Rafael (2015), os princípios ativos mais estudados para utilização na alimentação animal são: capsaicina, carvacrol, timol, cinamaldeído, eugenol, cineol, limoneno, mentol, cúrcuma e alicina (Quadro 1). As diferentes classes de princípios ativos conferem efeitos benéficos a essas substâncias como atividade antimicrobiana, antioxidante, antiviral, anti-inflamatória, antifúngica, antisséptica (NOLETO *et al.*, 2018; RAZA *et al.*, 2022), inseticida, anti-histamínica, expectorante, antiespasmódica, analgésica, anestésica, calmante, digestiva, antitumoral e mucolítica (AZAMBUJA, 2017; RAFEEQ *et al.*, 2023).

Quadro 1. Óleos essenciais, seus princípios ativos e suas funções.

| Óleo essencial de planta | Parte utilizada | Princípio ativo | Função |
|--------------------------|-----------------|--|---|
| Canela | Cascas e folhas | Eugenol, substâncias fenólicas e polifenólicas | Adstringente, estimulante, antisséptico, antifúngico, antiviral. |
| Alho | Bulbo | γ -glutamyl-S-alk(en)il-L-cisteínas e S alk(en)il-L-cisteínassulfóxidos | Estimula a digestão, Antisséptico |
| Cúrcuma | Rizoma | Curcuminóides, arturmerone, zingiberene e curlone | Antioxidante, anticancerígeno, anti-hepatotóxica, anti-inflamatória e atividades hipocolesterolêmicas |
| Alecrim | Folhas | Óleo volátil, tanino, substâncias amargas e resinas | Anti-inflamatório, antioxidante |
| Orégano | Folhas | Carvacrol, timol | Antioxidante, antifúngico |

Fonte: adaptado de Raza *et al.* (2022).

O principal mecanismo dos OE é beneficiar o ambiente intestinal, causando a redução de microrganismos patogênicos, que possam prejudicar o bom desempenho dos animais. Além disso, ocorre a melhoria da capacidade digestiva no intestino delgado, responsável pela digestão e absorção dos nutrientes, bem como pela estabilização da população bacteriana no intestino (COSTA *et al.*, 2020; ALAGAWANY *et al.*, 2022; RAFEEQ *et al.*, 2023).

Segundo Galli *et al.* (2020), frangos de corte podem ser alimentados com curcumina e fitogênicos microencapsulados (carvacrol, timol e cinamaldeído) sem que comprometa o desempenho e a saúde intestinal, no período de 1 a 44 dias, em ambientes naturalmente desafiados por microrganismos.

Ao utilizarem timol e carvacrol na dieta de frangos de corte, Du *et al.* (2016) obtiveram resposta positiva na morfologia intestinal, mesmo após desafiarem os animais com *Clostridium perfringens*, e observaram diminuição das lesões no intestino causadas pelo desafio, ratificando que o uso de OE pode promover a recuperação da saúde intestinal frente aos desafios sanitários.

Abudabos *et al.* (2018) constataram que frangos desafiados por *Clostridium perfringens* com adição de orégano, diminuíram as lesões intestinais com melhora na morfologia intestinal, reduzindo a resposta inflamatória, com melhoras na imunidade específica. Mousapour *et al.* (2022) utilizaram OE de alecrim na dieta de frangos de corte e encontraram maiores alturas de vilosidade intestinal e menor contagem de coliformes ileais, o que refletiu no desempenho dos animais, em que se observou maior ganho de peso e melhor conversão alimentar nos que receberam o OE de alecrim, em comparação aos do grupo controle e antibiótico.

A microbiota intestinal é composta por microrganismos tanto benéficos quanto prejudiciais, e está intimamente relacionada com o desempenho e estado imune das aves. As bactérias benéficas auxiliam na digestão e absorção dos nutrientes, tornando o animal mais saudável e menos suscetível a enfermidades, promovendo melhor conversão alimentar e desempenho zootécnico (MAIORKA *et al.*, 2004).

Kishawy *et al.* (2022), utilizando uma mistura de OE de pimenta preta e semente de rabanete em frangos de corte, aos 35 dias de idade, encontraram maior peso corporal, ganho de peso e melhor conversão alimentar, além de uma melhor digestibilidade da proteína bruta e extrato etéreo da dieta fornecida. Zaazaa *et al.* (2022), em sua pesquisa com OE de orégano e tomilho e sua combinação, observaram maior peso corporal e melhor conversão alimentar em frangos que receberam ração com OE de orégano aos 14, 28 e 42 dias de idade. Bao *et al.* (2023), ao fornecerem OE encapsulados (cinamaldeído e timol), encontraram melhores índices de conversão alimentar no período de 1 a 21 dias em animais que receberam OE encapsulado, em comparação aos que receberam antibiótico. Testando OE (cinamaldeído) em diferentes níveis (350 mg/kg e 500 mg/kg) e desafiando aves com *Clostridium perfringens* e *Eimeria acervulina*, Zheng *et al.* (2023) encontraram maior peso corporal (21 e 28 dias de idade) e melhor conversão alimentar (28 dias) nos frangos que consumiram a dieta suplementada com o OE em seu maior nível, em comparação ao grupo controle negativo, assim, mostrando que, de fato, o uso de OE auxilia na proteção da mucosa intestinal contra patógenos.

Um bom estado de saúde intestinal e alta digestibilidade de nutrientes são fatores importantes para alcançar um melhor desempenho em frangos de corte. Os OE são amplamente conhecidos por estimular a secreção de enzimas

endógenas, a função digestiva e o controle da microbiota intestinal, o que contribui no tratamento de infecções subclínicas. É um dos aditivos alimentares mais eficazes para ser usado na nutrição animal para aumentar o ganho de peso e melhorar a conversão alimentar (PEARLIN *et al.*, 2020).

Muitos estudos demonstraram que a microbiota intestinal participa de muitas vias metabólicas, como o metabolismo lipídico e a síntese de aminoácidos. O mecanismo pelo qual os OE promovem o crescimento animal é por meio da alteração da microbiota intestinal, favorecendo a absorção de nutrientes no intestino delgado e diminuindo os efeitos deletérios dos metabólitos microbianos (CHEN *et al.*, 2020).

Chen *et al.* (2020) estudaram o perfil da microbiota de frangos suplementados com OE e antibiótico, e observaram que as aves que receberam ambos os aditivos aumentaram a abundância relativa de filos Bacteroidetes, sendo esses considerados benéficos para o intestino do hospedeiro e relacionados ao acúmulo de gordura em frangos, pois estão associados com a biossíntese de ácidos graxos e o metabolismo lipídico. Dessa forma, os autores puderam fornecer uma melhor compreensão sobre o mecanismo de ação dos OE no ambiente intestinal, tornando-se uma alternativa eficiente e segura aos promotores de crescimento na indústria avícola.

Huang *et al.* (2018) relataram que houve aumento significativo de *Lactobacillus* no intestino de aves alimentadas com extrato de OE de *Macleaya cordata*. Lactobacilos são probióticos benéficos que produzem vitaminas e ácidos orgânicos, e inibem a competitividade entre patógenos. Além disso, por meio do mecanismo de "alimentação cruzada", o lactato produzido pelo *Lactobacillus* pode ser usado por bactérias anaeróbias para produzir butirato, que é utilizado como fonte de energia para as células intestinais, favorecendo seu desenvolvimento.

Sidiropoulou *et al.* (2020), ao testarem o uso de OE de orégano e alho na dieta de frangos de corte criados em granjas comerciais, encontraram aumento significativo de *Enterobacteriaceae* e *E. coli* e redução na contagem de *Clostridium perfringens* no jejuno das aves, demonstrando a eficiência do OE na modulação da microbiota intestinal.

É necessário entender e ter controle sobre as possíveis mudanças da microbiota intestinal para adequar o manejo e incluir aditivos que possam alterar e regular, de forma positiva, a diversidade microbiana presente no intestino, a fim de obter máximo aproveitamento do potencial dos animais, melhorando o desempenho zootécnico e diminuindo os efeitos das perdas causadas por estresse ou doenças que acometam os animais (SANTOS *et al.*, 2012).

Mesmo que seus pontos positivos sejam evidenciados, algumas condições ainda precisam ser elucidadas, como a relação dose/ação e a associação dos diversos princípios ativos pertencentes aos aditivos fitogênicos, o que pode dar suporte a novos estudos. Dessa forma, existe um universo a ser explorado e estudado dentro da nutrição de animais monogástricos com relação aos OE.

3 ÓLEOS ESSENCIAIS E SEUS EFEITOS NUTRICIONAIS SOBRE A QUALIDADE DE CARNE

A avicultura de corte tem apontado grandes avanços na área de nutrição, sanidade e manejo, proporcionando às aves condições para apresentar seu potencial genético para a conversão de alimento em carne. Contudo, a preocupação com a qualidade do produto vem aumentando, visto que o consumidor está cada vez mais exigente quanto às características físicas da carne - aparência, textura e palatabilidade. Assim, fazem-se necessárias inovações nas estratégias de produção de aves (PUVAČA; TUFARELLI; GIANNENAS, 2022), buscando compreender quais características do produto são priorizadas pelos consumidores. Os fatores que afetam a qualidade do produto final são inumeráveis e podem estar contidos nas diversas fases de criação (com o animal vivo), durante ou, até mesmo, após o abate e o processamento (MENDES; KOMIYAMA, 2011).

Para a indústria da carne, o termo “qualidade” é utilizado para descrever as características gerais da carne, assim como suas propriedades químicas, físicas, microbianas, sensoriais, bioquímicas, tecnológicas, nutricionais e culinárias (MIR *et al.*, 2017). A qualidade está diretamente relacionada aos fatores, como a capacidade de retenção de água (CRA), a cor, a perda de peso por cozimento (PPC), a maciez, o pH, dentre outros (OLIVO; SHIMOKOMAKI, 2006; SANFELICE *et al.*, 2010).

Uma das características críticas utilizadas pela indústria da carne para a avaliação da qualidade da carne é o valor do seu pH (BIANCHI; FLETCHER; SMITH, 2005), que constitui um dos fatores mais importantes na transformação do músculo em carne, com efeito decisivo sobre a qualidade da carne fresca e dos produtos derivados (OSÓRIO *et al.*, 2000; ORDONEZ *et al.*, 2005). Em frangos de corte, a carne do peito é a primeira escolhida para a determinação do nível de pH (GLAMOCLIJA *et al.*, 2015). O pH da carne de frango de boa qualidade varia entre 5,9 e 6,2 e é afetado por vários fatores: genética, sexo, estresse pré-abate, técnica e armazenamento (RISTC; DAMME, 2010; VAN LAACK *et al.*, 2000). De acordo com a literatura, logo após o abate, a carne continua em processo bioquímico, em que o condutor energético do músculo é transformado em glicogênio láctico por meio da ação de várias enzimas. Com isso, o pH da carne do frango tem uma queda devido à formação ácida, sendo que a carne do peito deve apresentar pH final entre 5,7 e 5,9. Após 24 horas, se o pH estiver acima de 6,2, entende-se que a carne de frango se encontra com grande retenção de água, o que resulta na cor escura, caracterizando-se como carne *dark, firm, dry* (DFD) (em português: escura, dura e seca). Caso o pH se encontre inferior a 5,8 em menos de 4 horas, caracteriza-se como uma carne *pale, soft, exudative* (PSE) (em português: pálida, mole e exsudativa), com características de baixa retenção de água, aspecto pálido e mole (VENTURINI; SARCINELLI; SILVA, 2007). Em estudo realizado com codornas, confirmou-se que a suplementação dietética com 150, 300 e 450 mg kg⁻¹ de OE de tomilho não mostrou efeito sobre o valor de pH da carne do peito (GUMUS; ERCAN; IMIK, 2017).

A cor da carne, entre os parâmetros sensoriais, é o de maior importância, visto que estimulará no consumidor o desejo em consumir ou rejeitar o produto, além de fornecer uma indicação, embora nem sempre exata, sobre o grau de conservação do alimento (ALVES; ALBUQUERQUE; BATISTA, 2016; RAMOS *et al.*, 2017). O componente que determina a cor da carne é a mioglobina, e quanto maior a musculatura e a atividade muscular do animal, maior será o teor de mioglobina, resultando em uma carne mais escura. Assim, a cor da carne pode ser afetada, positiva ou negativamente, pelo teor de mioglobina e valor de pH do tecido muscular (MIR *et al.*, 2017). Dependendo da temperatura *post mortem* e do valor de pH, a extensão da desnaturação da proteína e a aparência física da carne afetarão a quantidade de luz refletida da superfície interna e externa da carne (LAWRIE; LEDWARD, 2014). Enquanto a dispersão da luz tem um efeito mínimo nos valores de a^* e b^* da carne, seu efeito no valor L^* é característico. Os valores de pH do tecido muscular $\geq 6,0$ estão associados com a desnaturação proteica mínima, a baixa dispersão de luz e uma aparência semi-translúcida, enquanto um valor de pH $\leq 6,0$ está associado com um nível mais alto de desnaturação da proteína, o aumento da dispersão de luz e a opacidade do tecido muscular (ANADON, 2002). A faixa de referência normal para o valor L^* fica entre 50 e 56, de modo que um valor de L^* abaixo de 50 está associado com a cor de carne mais escura, e o valor de L^* acima de 56 está associada com a cor pálida da carne (PETRACCI *et al.*, 2004). Outros fatores que influenciam na cor da carne são: idade, sexo, alimentação e habitat do animal (VENTURINI; SARCINELLI; SILVA, 2007). Em estudos prévios realizados com frangos de corte, adicionando na dieta 300 mg kg⁻¹ de OE de orégano (KIRKPINAR *et al.*, 2014) e 0,5% de uma mistura de OE de tomilho e orégano (RIMINI; PETRACCI; SMITH, 2014), os resultados não mostraram alteração nos valores de L^* , a^* e b^* da carne de peito. Da mesma forma, estudo conduzido com codornas mostrou que a incorporação de OE de tomilho na ração, com doses de 150, 300 e 450 mg kg⁻¹, não afetou os valores de L^* , a^* e b^* da carne de peito (GUMUS; ERCAN; IMIK, 2017). Gumus e Gelen (2023), suplementando frangos de corte com OE de tomilho e alecrim, relataram que houve a manutenção dos valores de L^* , a^* e b^* dentro das faixas normais, tanto na carne de peito quanto de sobrecoxa.

Dependendo da estrutura particular de um produto alimentar, seu teor de água estará envolvido em várias reações bioquímicas e microbiológicas. A CRA se refere à capacidade do tecido muscular de reter a umidade e se constitui como um dos principais critérios influentes na palatabilidade da carne (ZHOU *et al.*, 2010). É preconizado que, enquanto a manutenção desse critério, dentro do intervalo de referência normal, depende da integridade da membrana celular dos miócitos, o fluxo de fluido intracelular para fora da célula prejudica a qualidade da carne (AMARIEI *et al.*, 2016). No caso de rompimento da integridade da membrana dos miócitos, o grupo hidroxila dos álcoois contidos nos compostos fenólicos pode constituir uma forte barreira, pois apresentam menor afinidade com a água (AMARIEI *et al.*, 2016). A suplementação de rações de codornas com 150, 300 e 450 mg kg⁻¹ de OE de

tomilho não mostrou efeito na CRA da carne de peito (GUMUS; ERCAN; IMIK, 2017). Gumus e Gelen (2023), ao suplementarem dietas de frangos com OE de tomilho e alecrim, demonstraram que a suplementação dietética produziu efeitos limitados e variáveis sobre a CRA das carnes de peito e sobrecoxa. Fatores extrínsecos, como as condições de criação das aves, a temperatura, o estresse calórico e a densidade de criação, podem afetar a CRA (MENDES; KOMIYAMA, 2011).

A perda de peso por cozimento é outra variável de suma importância, pois está ligada ao desempenho da amostra durante a cocção, à aparência que antecede o cozimento e à palatabilidade. Essa análise, normalmente, é realizada com o músculo peitoral da ave (*Pectoralis major*), corte localizado no peito da ave (OLIVEIRA *et al.*, 2014). É um parâmetro que avalia a qualidade da carne associada ao seu rendimento, após passar por processo de aquecimento, i.e., são as perdas que ocorrem durante o processo do preparo da carne para o consumo (ALBUQUERQUE; BATISTA; ARAÚJO FILHO, 2014).

Ao avaliarem a adição de OE de orégano na dieta de frangos, Hong *et al.* (2012) observaram efeito positivo na maciez da carne do peito, sendo mais suculenta e de melhor aparência comparada com a carne de frangos que receberam antibiótico na ração.

Radicais livres gerados como resultado de processos metabólicos causam reações oxidativas. Os produtos primários das reações oxidativas são peróxidos, enquanto os hidrocarbonetos, os aldeídos, as cetonas, os álcoois e os ácidos orgânicos são produtos secundários dessas reações. Esses últimos afetam negativamente o valor nutricional, as propriedades sensoriais e o prazo de validade dos produtos de origem animal (CAI *et al.*, 2014). Os antioxidantes desempenham um papel importante na eliminação dos radicais livres e reduzem significativamente a peroxidação lipídica, que é considerada o principal indicador da presença de radicais livres no tecido muscular (GUMUS; ERCAN; IMIK, 2017). O nível máximo tolerável de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), que não tem efeito adverso na qualidade da carne de frango, é de 4 mg de malonaldeído por kg. Há relatos que os OE de tomilho + orégano (RIMINI; PETRACCI; SMITH, 2014) e o OE de alecrim + tomilho reduziram a oxidação lipídica da carne de peito de frangos (ABBASI *et al.*, 2020). A suplementação de extratos vegetais na ração de frangos promoveu diminuição na oxidação de lipídios (AHMED *et al.*, 2015). De acordo com Galli *et al.* (2020), frangos alimentados com aditivos compostos por carvacrol, timol e cinamaldeído apresentaram melhor qualidade de carne, com elevado teor de ácidos graxos polinsaturados, redução na peroxidação lipídica e aumento da vida de prateleira da carne. Em estudo em que se adicionou o OE de tomilho na dieta de frangos, os níveis de TBARS variaram entre 0,19 e 0,25 mg MDA kg⁻¹ com 1 dia de armazenamento da carne e aumentaram, progressivamente, até o 10º dia de estocagem, embora ainda permaneceram abaixo do limite máximo tolerável (MAJDINASAB *et al.*, 2020). Da mesma maneira, a adição de OE de tomilho e alecrim em dietas de frangos diminuiu os níveis de TBARS na carne de peito e sobrecoxa ao longo de 10 dias de armazenamento (GUMUS; GELEN, 2023).

Os compostos polifenólicos presentes em extratos de plantas têm a função de antioxidantes, eliminando os radicais livres e protegendo os lipídios das reações oxidativas, favorecendo o uso dos OE na dieta de frangos de corte.

Haja vista que um dos maiores obstáculos para a indústria de carnes é fornecer produtos padronizados e estáveis durante toda a vida de prateleira, os OE surgem como uma opção e podem ser usados na melhora de parâmetros qualitativos da carne de frangos, trazendo efeitos benéficos sobre a oxidação lipídica, ratificando seu potencial antioxidante (DILAWAR *et al.*, 2022).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora a suplementação com antibióticos em níveis subterapêuticos seja uma maneira eficaz de melhorar o desempenho e prevenir infecções em animais, seu uso pode induzir riscos públicos, contaminação ambiental e difusão de bactérias resistentes aos antibióticos. Assim sendo, a utilização de aditivos funcionais, como os OE, na dieta de frangos de corte, pode ser uma importante estratégia na redução do uso de promotores de crescimento, enquanto, também, otimizam o desempenho e a integridade intestinal, modulam o microbioma e ajudam a proteger essas aves do estresse oxidativo e manter a saúde, limitando, assim, o uso dos antibióticos.

REFERÊNCIAS

ABBASI; M. A.; GHAZANFARI; S.; SHARIFI; S. D.; AHMADI GAVLIGHI; H. Influence of dietary plant fats and antioxidant supplementations on performance, apparent metabolizable energy and protein digestibility, lipid oxidation and fatty acid composition of meat in broiler chicken. **Veterinary Medicine and Science**, Oxford, v. 6, n. 1, p. 54-68, 2020.

ABUDABOS, A. M.; ALYEMNI, A. H.; DAFALLA, Y. M.; KHAN, R. U. Effect of organic acid blend and *Bacillus subtilis* alone or in combination on growth traits, blood biochemical and antioxidant status in broilers exposed to *Salmonella typhimurium* challenge during the starter phase. **Journal of Applied Animal Research**, [s. l.], v. 45, n. 1, p. 538-542, 2017.

ABUDABOS; A. M.; ALYEMNI; A. H.; DAFALLA; Y. M.; KHAN; R. U. The effect of phytogenics on growth traits, blood biochemical and intestinal histology in broiler chickens exposed to *Clostridium perfringens* challenge. **Journal Applied Animal Research**, [s. l.], v. 46, n. 1, p. 691-695, 2018.

AGYARE; C.; BOAMAH; V. E.; ZUMBI; C. N.; OSEI; F. B. Antibiotic use in poultry production and its effects on bacterial resistance. In: Kumar, Y. **Antimicrobial resistance: a global threat**. London: IntechOpen, 2018. p. 1-20,

AHMED, S. T.; KIM, G.; ISLAM, M. M.; MUN, H. S.; BOSTAMI, A. B. M. R.; YANG, C. J. Effects of dietary chlorine dioxide on growth performance, intestinal and excreta microbiology, and odorous gas emissions from broiler excreta. **Journal of Applied Poultry Research**, [s. l.], v. 24, n. 4, p. 502-510, 2015.

ALAGAWANY; M.; ASHOUR; E. A.; EL-FAKHRANY; H. H. H.; ISMAIL; T. A.; NASR; M. Early nutrition programming with *Astragalus membranaceus* polysaccharide:

its effect on growth, carcasses, immunity, antioxidants, lipid profile and liver and kidney functions in broiler chickens. **Animal Biotechnology**, Abingdon, v. 33, n. 2, p. 362-368, 2022.

ALBUQUERQUE, L. F.; BATISTA, A. S. M.; ARAÚJO FILHO, J. T. Fatores que influenciam na qualidade da carne de cordeiros Santa Inês. **Revista Essentia**, Sobral, v. 16, n. 1, p. 43-60, 2014.

ALVES, M. G. M.; ALBUQUERQUE, L. F.; BATISTA, A. S. M. Qualidade da carne de frangos de corte. **Essentia: Revista de Cultura, Ciência e Tecnologia da UVA**, Sobral, v. 17, n. 2, p. 64-86, 2016.

AMARIEI, S.; POROCH-SERIŞAN; M.; GUTT; G.; OROIAN; M.; CIORNEI; E. Rosemary, thyme and oregano essential oils influence on physicochemical properties and microbiological stability of minced meat. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, Nitra, v. 6, n. 1, p. 670-676, 2016.

ANADON, H. L. S. **Biological, nutritional, and processing factors affecting breast meat quality of broilers**. 2002. Tese (Doutorado em Philosophy in Animal and Poultry Sciences) - Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, 2002.

AZAMBUJA, W. O que são óleos essenciais?. **Oleosessenciais.org**, [s. l.], 2017. Disponível em: <http://www.oleosessenciais.org/o-que-sao-oleos-essenciais/>. Acesso em: 8 jan. 2023.

BAO, H.; XUE, Y.; ZHANG, Y.; TU, F.; WANG, R.; CAO, Y.; LIN, Y. Encapsulated essential oils improve the growth performance of meat ducks by enhancing intestinal morphology, barrier function, antioxidant capacity and the cecal microbiota. **Antioxidants**, v. 12, n. 2, p. 1-14, 2023.

BIANCHI, M.; FLETCHER, D. L.; SMITH, D. P. Physical and functional properties of intact and ground pale broiler breast meat. **Poultry Science**, Champaign, v. 84, n. 5, p. 803-808, 2005.

BRENES, A.; ROURA, E. Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. **Animal Feed Science and Technology**, [s. l.], v. 158, n. 1-2, p. 1-14, 2010.

CAI, Y.; LI, X.; LV, R.; YANG, J.; LI, J.; HE, Y.; PAN, L. Quantitative analysis of pork and chicken products by droplet digital PCR. **BioMed Research International**, New York, v. 2014, p. 1-6, 2014.

CHEN, Y.; WANG, J.; YU, L.; XU, T.; ZHU, N. Microbiota and metabolome responses in the cecum and serum of broiler chickens fed with plant essential oils or virginiamycin. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 1-14, 2020.

COSTA, T. F.; GOUVEIA, A. B. V. S.; NUNES, F. C.; SAMPAIO, S. A.; SILVA, N. G. D.; ABREU, J. M.; MINAFRA, C. S. Phytogetic additives: essential oils for broilers - review. **Research, Society and Development**, Vargem Grande Paulista, v. 9, n. 3, p. 1-20, 2020.

DEMIR, E.; SARICA, S.; OZCAN, M. A.; SUICMEZ, M. The use of natural feed additive as alternative to antibiotic growth promoter in broiler diets. **Archiv für Geflügelkunde**, [s. l.], v. 69, n. 3, p. 110-116, 2005.

DILAWAR, M. A.; MUN, H. S.; JEONG, M. G.; YANG, E. J.; PARK, H. S.; YANG, C. J. Effects of using plant extracts and liquid mineral on growth performance, organ weight and meat quality of broiler chickens. **Pakistan Journal of Zoology**, [s. l.], v. 54, n. 4, p. 1699-1708, 2022.

DU, E.; WANG, W.; GAN, L.; LI, Z.; GUO, S.; GUO, Y. Effects of thymol and carvacrol supplementation on intestinal integrity and immune responses of broiler chickens challenged with *Clostridium perfringens*. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, London, v. 7, p. 1-10, 2016.

GALLI, G. M.; GERBET, R. R.; GRISS, L. G.; FORTUOSO, B. F.; PETROLI, T. G.; BOIAGO, M. M.; SOUZA, C. F.; BALDISSERA, M. D.; MESADRI, J.; WAGNER, R. Combination of herbal components (curcumin, carvacrol, thymol, cinnamaldehyde) in broiler chicken feed: Impacts on response parameters, performance, fatty acid profiles, meat quality and control of coccidia and bacteria. **Microbial Pathogenesis**, [s. l.], v. 139, p. 1-11, 2020.

GLAMOCLIJA, N.; STARCEVIC, M.; JANJIC, J.; IVANOVIC, J.; BOSKOVIC, M.; DJORDJEVIC, J.; BALTIC, M. Z. The effect of breed line and age on measurements of pH-value as meat quality parameter in breast muscles (m. pectoralis major) of broiler chickens. **Procedia Food Science**, [s. l.], v. 5, p. 89-92, 2015.

GOPI, M.; KARTHIK, K.; MANJUNATHACHAR, H. V.; TAMILMAHAN, P.; KESAVAN, M.; DASHPRAKASH, M.; PURUSHOTHAMAN, M. R. Essential oils as a feed additive in poultry nutrition. **Advances in Animal and Veterinary Sciences**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 1-7, 2014.

GUMUS, R.; ERCAN, N.; IMIK, H. The effect of thyme essential oil (*thymus vulgaris*) added to quail diets on performance, some blood parameters, and the antioxidative metabolism of the serum and liver tissues. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v. 19, n. 2, p. 297-304, 2017.

GUMUS, R.; GELEN, S. U. Effects of dietary thyme and rosemary essential oils on performance parameters with lipid oxidation, water activity, pH, colour and microbial quality of breast and drumstick meats in broiler chickens. **Archives Animal Breeding**, Göttingen, v. 66, n. 1, p. 17-29, 2023.

HONG, J. C.; STEINER, T.; AUFY, A.; LIEN, T. F. Effects of supplemental essential oil on growth performance, lipid metabolites and immunity, intestinal characteristics, microbiota and carcass traits in broilers. **Livestock Science**, [s. l.], v. 144, n. 3, p. 253-262, 2012.

HUANG, P.; ZHANG, Y.; XIAO, K.; JIANG, F.; WANG, H.; TANG, D.; ZENG, J. The chicken gut metagenome and the modulatory effects of plant-derived benzylisoquinoline alkaloids. **Microbiome**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 1-17, 2018.

KISHAWY, A. T.; AL-KHALAIFAH, H. S.; NADA, H. S.; ROUSHDY, E. M.; ZAGLOOL, A. W.; AHMED ISMAIL, T.; IBRAHIM, D. Black pepper or radish seed oils in a new combination of essential oils modulated broiler chickens' performance and expression of digestive enzymes, lipogenesis, immunity, and autophagy-related genes. **Veterinary Sciences**, Basel, v. 9, n. 2, p. 43, 2022.

KIRKPINAR, F. I. G. E. N.; ÜNLÜ, H. B.; SERDAROĞLU, M.; TURP, G. Y. Effects of dietary oregano and garlic essential oils on carcass characteristics, meat composition, colour, pH and sensory quality of broiler meat. **British Poultry Science**, Abingdon, v. 55, n. 2, p. 157-166, 2014.

LAWRIE, R. A.; LEDWARD, D. A. **Lawrie's meat science**. [S. l.]: Woodhead Publishing, 2014.

LIU, S. D.; SONG, M. H.; YUN, W.; LEE, J. H.; KIM, H. B.; CHO, J. H. Effect of carvacrol essential oils on immune response and inflammation-related genes expression in broilers challenged by lipopolysaccharide. **Poultry Science**, [s. l.], v. 98, n. 5, p. 2026-2033, 2019.

MAJDINASAB, M.; NIAKOUSARI, M.; SHAGHAGHIAN, S.; DEHGHANI, H. Antimicrobial and antioxidant coating based on basil seed gum incorporated with Shirazi thyme and summer savory essential oils emulsions for shelf-life extension of refrigerated chicken fillets. **Food Hydrocolloids**, v. 108, p. 1-12, 2020.

MAIORKA, A.; SANTIN, A. M. E.; BORGES, S. A.; OPALINSKI, M.; SILVA, A. V. F. Emprego de uma mistura de ácidos fumárico, láctico, cítrico e ascorbico em dietas iniciais de frangos de corte. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 9, n. 1, p. 31-37, 2004.

MENDES, A. A.; KOMIYAMA, C. M. Estratégias de manejo de frangos de corte visando qualidade de carcaça e carne. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 40, n. supl. esp., p. 352-357, 2011.

MIR, N. A.; RAFIQ, A.; KUMAR, F.; SINGH, V.; SHUKLA, V. Determinants of broiler chicken meat quality and factors affecting them: a review. **Journal of Food Science and Technology**, New Delhi, v. 54, n. 10, p. 2997-3009, 2017.

MOUNIA, M.; NADIR, A.; OMAR, B. Effects of phytogetic products on gut morphohistology of broiler chickens. **International Journal of Veterinary Science and Research**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 9-11, 2018.

MOUSAPOUR, A.; SALARMOINI, M.; AFSHARMANESH, M.; EBRAHIMNEJAD, H.; MEIMANDIPOUR, A.; AMIRI, N. Encapsulation of essential oils of rosemary (*Rosmarinus officinalis*): evaluation of in vitro antioxidant and antimicrobial properties; and effects on broiler performance. **Animal Production Science**, [s. l.], v. 62, n. 9, p. 851-859, 2022.

NOLETO, R. A.; LEANDRO, N. S. M.; MELLO, H. H. D. C.; CONCEIÇÃO, E. C. D.; ARAÚJO, I. C. S. D.; OLIVEIRA, E. M. D.; BARBOSA, A. F. C. Suplementação de óleo de copaíba ou sucupira na ração de frangos de corte. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 19, n. 1, p. 83-92, 2018.

ORLOWSKI, S.; FLEES, J.; GREENE, E. S.; ASHLEY, D.; LEE, S. O.; YANG, F. L.; OWENS, C. M.; KIDD, M.; ANTHONY, N.; DRIDI, S. Effects of phytogetic additives on meat quality traits in broiler chickens. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 96, n. 9, p. 3757-3767, 2018.

OLIVEIRA, T. F. B.; RIVERA, D. F. R.; MESQUITA, F. R.; BRAGA, H.; RAMOS, E. M.; BERTECHINI, A. G. Effect of different sources and levels of selenium on performance, meat quality, and tissue characteristics of broilers. **Journal of Applied Poultry Research**, Viçosa, v. 23, n. 1, p. 15-22, 2014.

OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. Carne PSE em aves. *In*: SHIMOKOMAKI, M.; OLIVO, R.; TERRA, N. N.; FRANCO, B. D. G. M. **Atualidades em ciência e tecnologia de carnes**. São Paulo: Varela, 2006. p. 95-113.

ORDONEZ, J.; RODRÍGUEZ, M. I. C.; ÁLVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLÓN;

G. D. G. F.; PERALES; L. H.; CORTECERO; M. D. S. Conservação da carne mediante a aplicação de frio. In: ORDONEZ, A. O. (ed.). **Tecnologia de Alimentos**. São Paulo: Artmed, 2005. v. 2. p. 173-186.

OSÓRIO; J. C. D. S.; OLIVEIRA; N.; OSORIO; M.; PIMENTEL; M.; POUHEY; J. Efecto de la edad al sacrificio sobre la producción de carne en corderos no castrados de cuatro razas. **Current Agricultural Science and Technology**, Pelotas, v. 6, n. 2, p. 161-166, 2000.

PEARLIN, B. V.; MUTHUVEL, S.; GOVIDASAMY, P.; VILLAVAN, M.; ALAGAWANY, M.; RAGAB FARAG, M.; GOPI, M. Role of acidifiers in livestock nutrition and health: a review. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 104, n. 2, p. 558-569, 2020.

PENG, Q. Y.; LI, J. D.; LI, Z.; DUAN, Z. Y.; WU, Y. P. Effects of dietary supplementation with oregano essential oil on growth performance, carcass traits and jejunal morphology in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, [s. l.], v. 214, p. 148-153, 2016.

PETRACCI, M.; BETTI, M.; BIANCHI, M.; CAVANI, C. Color variation and characterization of broiler breast meat during processing in Italy. **Poultry Science**, Champaign, v. 83, n. 12, p. 2086-2092, 2004.

PETROLI, T. G.; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S.; GOMES, P. C.; TAVERNARI, F. C.; BALBINO, E. M. Herbal extracts in diets for broilers. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 41, n. 7, p. 1683-1690, 2012.

PUVAČA, N.; TUFARELLI, V.; GIANNENAS, I. Essential oils in broiler chicken production, immunity and meat quality: review of thymus vulgaris, origanum vulgare, and rosmarinus officinalis. **Agriculture**, [s. l.], v. 12, n. 6, p. 1-22, 2022.

RAFAEL, J. M. **Efeitos de níveis de treonina e aditivo fitogênico na ração sobre o desempenho e saúde intestinal de frangos desafiados com *Eimeria* spp.** 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015.

RAFEEQ, M.; BILAL, R. M.; BATOOL, F.; YAMEEN, K.; FARAG, M. R.; MADKOUR, M.; ALAGAWANY, M. Application of herbs and their derivatives in broiler chickens: a review. **World's Poultry Science Journal**, [s. l.], v. 79, n. 1, p. 1-23, 2023.

RAMOS, F. R.; PRO MARTÍNEZ, A.; SOSA MONTES, E.; NARCISO GAYTÁN, C.; HERNÁNDEZ CÁZAREZ, A. S.; CIBRIÁN TOVAR, J.; RODRÍGUEZ CASTILLO, J. D. C. Oregano oil use in broiler diet increases accumulation of carvacrol and thymol in breast meat. **Acta universitaria**, Guanajuato, v. 27, n. 1, p. 34-39, 2017.

RAZA, Q. S.; SALEEMI, M. K.; GUL, S.; IRSHAD, H.; FAYYAZ, A.; ZAHEER, I.; KHAN, A. Role of essential oils/volatile oils in poultry production: a review on present; past and future contemplations. **Agrobiological Records**, Faisalabad, v. 7, p. 40-56, 2022.

RIMINI, S.; PETRACCI, M.; SMITH, D. P. The use of thyme and orange essential oils blend to improve quality traits of marinated chicken meat. **Poultry Science**, Champaign, v. 93, n. 8, p. 2096-3102, 2014.

RISTC, M.; DAMME, K. The meaning of pH-value for the meat quality of broilers– Influence of breed lines. **Meat Technology**, Belgrade, v. 51, n. 2, p. 115-123, 2010.

ROBINSON, K.; BECKER, S.; XIAO, Y.; LYU, W.; YANG, Q.; ZHU, H.; ZHANG, G. Differential impact of subtherapeutic antibiotics and ionophores on intestinal microbiota of broilers. **Microorganisms**, Basel, v. 7, n. 9, p. 1-13, 2019.

SANFELICE, C.; MENDES, A. A.; KOMIYAMA, C. M.; CAÑIZARES, M. D. C.; RODRIGUES, L.; CAÑIZARES, G. I.; ROÇA, R. O.; ALMEIDA, I. C. L. P.; BALOG, A.; MILBRADT, E. L.; CARDOSO, K. F. D. G. Avaliação e caracterização da qualidade da carne de peito (*Pectoralis major*) de matrizes pesadas em final de ciclo produtivo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. supl. 1, p. 166-170, 2010.

SANTOS, I. I.; CORÇÃO, G.; KESSLER, A. M.; LARANJEIRA, V. S.; LIMA, M. S. Microbiota ileal de frangos de corte submetidos a diferentes dietas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 41, n. 3, p. 643-647, 2012.

SIDIROPOULOU, E.; SKOUFOS, I.; MARUGAN-HERNANDEZ, V.; GIANNENAS, I.; BONOS, E.; AGUIAR-MARTINS, K.; TZORA, A. In vitro anticoccidial study of oregano and garlic essential oils and effects on growth performance, fecal oocyst output, and intestinal microbiota in vivo. **Frontiers in Veterinary Science**, [s. l.], v. 7, p. 1-11, 2020.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS, 1999. p. 387-416.

SUNTRES, Z. E.; COCCIMIGLIO, J.; ALIPOUR, M. The bioactivity and toxicological actions of carvacrol. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Philadelphia, v. 55, n. 3, p. 304-318, 2015.

VAN LAACK; R. L. J. M.; LIU; C. H.; SMITH; M. O.; LOVEDAY; H. Characteristics of pale, soft, exudative broiler breast meat. **Poultry Science**, Champaign, v. 79, n. 7, p. 1057-1061, 2000.

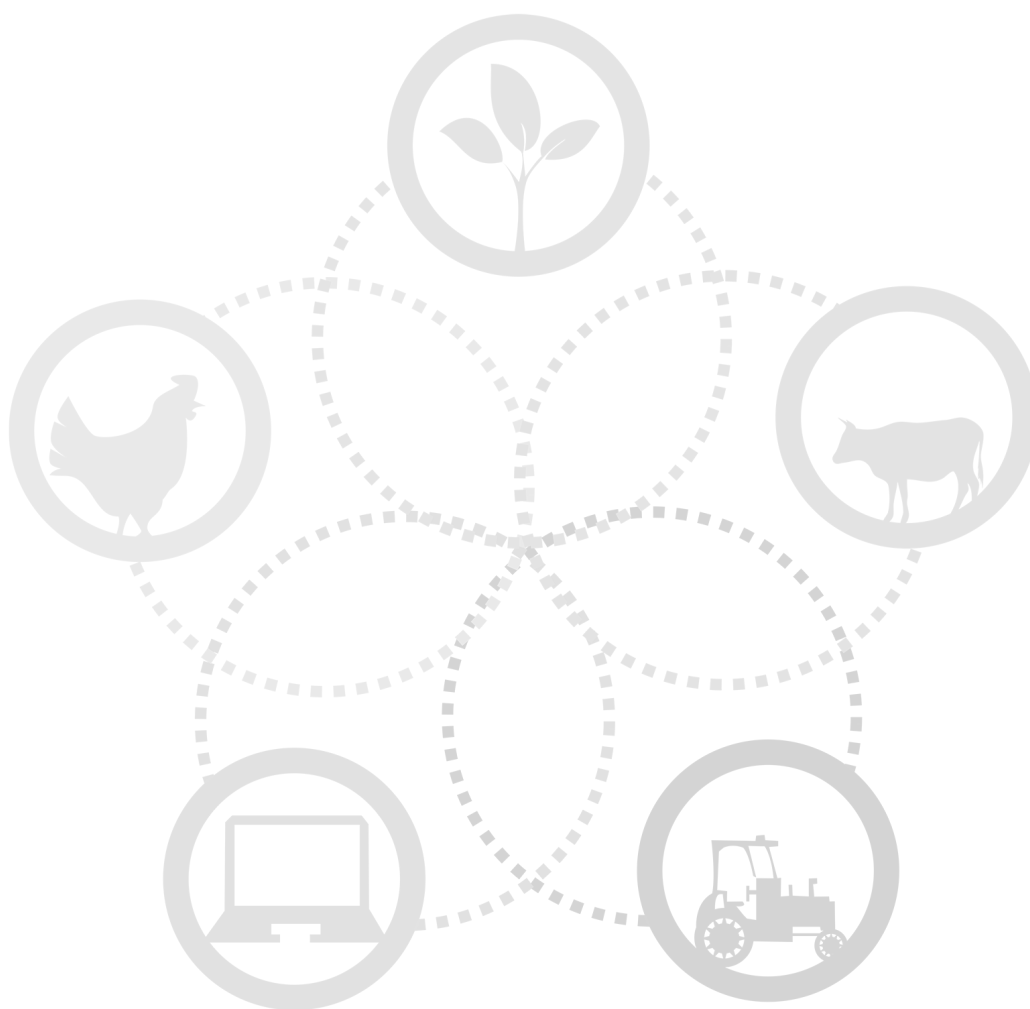
VENTURINI, K. S.; SARCINELLI, M. F.; SILVA, L. D. Características da carne de frango. **Boletim Técnico Programa Institucional de Extensão da Universidade Federal do Espírito Santo**, n. 01307, p. 1-7, 2007.

ZAAZAA, A.; MUDALAL, S.; ALZUHEIR, I.; SAMARA, M.; JALBOUSH, N.; FAYYAD, A.; PETRACCI, M. The impact of thyme and oregano essential oils dietary supplementation on broiler health, growth performance, and prevalence of growth-related breast muscle abnormalities. **Animals**, Basel, v. 12, n. 21, p. 1-11, 2022.

ZHANG, L. Y.; PENG, Q. Y.; LIU, Y. R.; MA, Q. G.; ZHANG, J. Y.; GUO, Y. P.; ZHAO, L. H. Effects of oregano essential oil as an antibiotic growth promoter alternative on growth performance, antioxidant status, and intestinal health of broilers. **Poultry Science**, [s. l.], v. 100, n. 7, p. 1-12, 2021.

ZHENG, C.; XIAO, G.; YAN, X.; QIU, T.; LIU, S.; OU, J.; ZHANG, H. Complex of lauric acid monoglyceride and cinnamaldehyde ameliorated subclinical necrotic enteritis in yellow-feathered broilers by regulating gut morphology, barrier, inflammation and serum biochemistry. **Animals**, Basel, v. 13, n. 3, p. 1-14, 2023.

ZHOU, X.; WANG, Y.; GU, Q.; LI, W. Effect of dietary probiotic, *Bacillus coagulans*, on growth performance, chemical composition, and meat quality of Guangxi Yellow chicken. **Poultry science**, Champaign, v. 89, n. 3, p. 588-593, 2010.



CAPÍTULO 14

BEM-ESTAR ANIMAL NA PRODUÇÃO DE LEITÕES: DEMANDAS E DESAFIOS

Rosemeire da Silva Filardi

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Engenharia, Programa de Pós-
Graduação em Ciência e Tecnologia Animal,
Ilha Solteira, São Paulo, Brasil.

Antonio Carlos de Laurentiz

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Engenharia, Programa de Pós-
Graduação em Ciência e Tecnologia Animal,
Ilha Solteira, São Paulo, Brasil.

Danielle Nogueira dos Santos

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Engenharia, Programa de Pós-
Graduação em Ciência e Tecnologia Animal,
Ilha Solteira, São Paulo, Brasil.

Carla Caroline de Souza Furiozo Rondis

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Engenharia, Programa de Pós-
Graduação em Ciência e Tecnologia Animal,
Ilha Solteira, São Paulo, Brasil.

Resumo

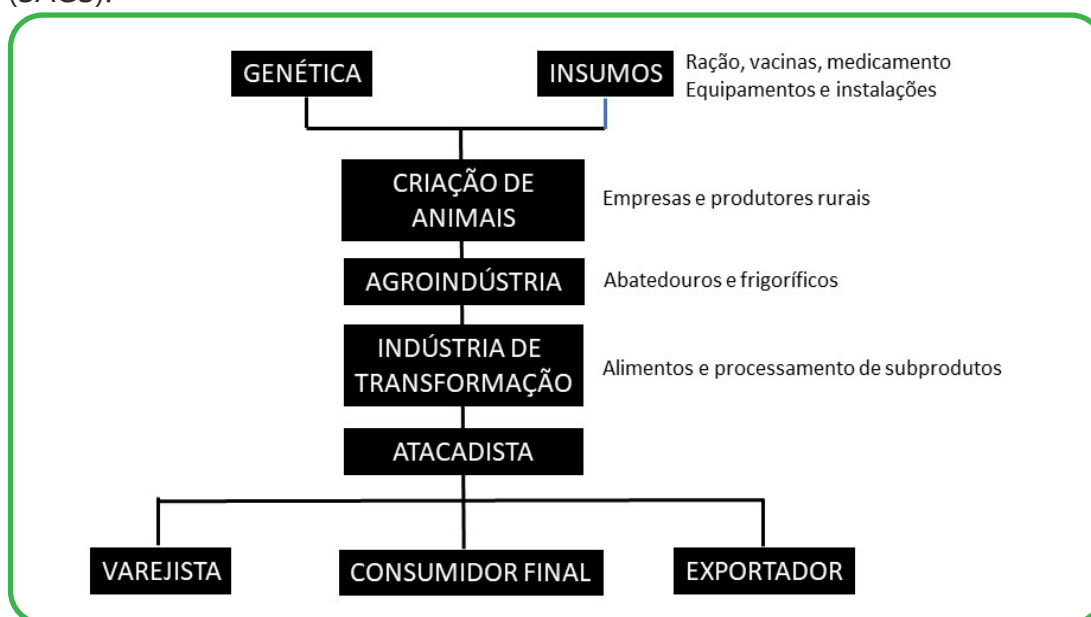
A cadeia produtiva da carne suína tem grande importância na economia mundial por diferentes aspectos, primeiro por se tratar da carne mais produzida e mais consumida, além do fato gerar um grande número de empregos diretos e indiretos. Essa cadeia produtiva, semelhante às demais cadeias de produção de proteína animal, passou por diversas transformações, como a melhoria nos índices de desempenho zootécnico, a viabilidade econômica, a qualidade de seus produtos, a sustentabilidade e a abertura de novos mercados, o que demandou grande aporte no investimento de tecnologias na reprodução, na sanidade, na nutrição e nas instalações, bem como nas boas práticas de manejo voltadas não apenas à produtividade e lucratividade, mas, também, em relação à ética na produção, seguindo os princípios de bem-estar animal (*One Welfare*) e saúde única (*One Health*). Os países Europeus foram os primeiros a realizarem mudanças em seus sistemas de produção para atender aos conceitos de bem-estar animal, estabelecendo diretrizes e normativas para a adoção de práticas de manejo, em respeito ao fato dos animais serem seres sencientes e, portanto, capazes de experimentar diferentes sentimentos positivos ou negativos. Os problemas de bem-estar em suínos podem ser específicos de algumas etapas de criação ou comuns a todas elas, porém, os que geram maior impacto na produção e opinião do consumidor se concentram na fase de produção de leitões, envolvendo as fases de gestação, maternidade e creche. Embora o Brasil já disponha de algumas regulamentações e normativas para evitar o sofrimento desnecessário e promover melhoria na qualidade de vida dos animais, os desafios a serem vencidos pela suinocultura ainda são grandes e requerem maior atenção por parte de todos os integrantes da cadeia produtiva e dos órgãos regulamentadores. O objetivo deste capítulo é discorrer sobre os principais aspectos relacionados às ações de transformação realizadas e a serem realizadas nas unidades de produção de leitões para a garantia do bem-estar de fêmeas na gestação e lactação e de seus leitões até o desmame.

1 INTRODUÇÃO

Entre as cadeias produtivas de proteína animal, a cadeia da carne suína é líder em produção e consumo mundial, perdendo apenas para a produção de pescados. No Brasil, a produção e o consumo dessa carne ficam atrás da produção e do consumo de carne de frango e carne bovina. No ano de 2021, a produção mundial de carne suína atingiu 108.949 milhões de toneladas, sendo os quatro maiores produtores: a China, a União Europeia, os Estados Unidos e o Brasil (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL [ABPA], 2023). No mesmo ano, a suinocultura brasileira foi responsável pela produção de 4.701 milhões de toneladas de carne, das quais 75,8% foram consumidas no mercado interno e 24,19% destinadas à exportação. De acordo com as últimas estimativas do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), o Brasil deve continuar sendo o quarto maior produtor e exportador mundial de carne suína, atingindo 13% do volume global exportado em 2023 (USDA, 2022).

A suinocultura brasileira se desenvolve de forma predominantemente intensiva com a utilização de sistema de confinamento total, sendo considerada uma atividade agroindustrial que engloba grande diversidade de produtores (familiares, patronais e empresariais) e está distribuída em diferentes regiões, com maior concentração na região Sul do país. O sistema agroindustrial de suínos é composto por indústrias produtoras de insumos (ração, vacinas, medicamentos, equipamentos e genética), granjas (criação de animais), agroindústrias (abatedouros/frigoríficos), indústrias de alimentos, distribuidores (atacado e varejo) e consumidores finais (Figura 1) (GUIMARÃES *et al.*, 2017).

Figura 1. Representação esquemática do Sistema Agroindustrial de Suínos (SAGS).



Fonte: adaptada de Guimarães *et al.* (2017).

Cerca de duas décadas atrás, a suinocultura nacional era predominantemente constituída por estabelecimentos que realizavam toda a etapa de produção de leitões e terminação até o abate, sendo denominados de granjas de ciclo completo. A busca do setor por aumento nos índices de produtividade determinou a segregação da produção em múltiplos sítios especializados, com unidades especializadas na produção de leitões (UPL) e unidades especializadas no crescimento e terminação dos animais (UT) (KRABBE *et al.*, 2013).

A especialização nas fases de criação contribuiu para a melhoria nos índices reprodutivos e produtivos das matrizes suínas e no desempenho de seus leitões, do nascimento até a saída da creche. Porém, a intensificação da produção de suínos determinou aumento na densidade de criação, restringindo espaço, movimento e interação social entre os animais. Essa situação, por comprometer o bem-estar animal, pode resultar na diminuição ou retardo do ganho de peso, no atraso do início da reprodução, além do aumento no número de doenças (BROOM; MOLENTO, 2004; BROOM; FRASER, 2015).

Questões relacionadas ao bem-estar de suínos permanecem na pauta de discussões entre os diferentes segmentos da cadeia produtiva e o mercado consumidor. As condições de alojamento das matrizes durante a gestação e lactação, a ausência de enriquecimento ambiental, os procedimentos dolorosos realizados com os leitões e o desmame precoce representam fatores de estresse e dor, determinando quebra do bem-estar animal e diminuição nos índices de produtividade, bem como em questionamentos dos consumidores sobre a ética na produção (PENZ JUNIOR; BRUNO, 2013; DAWKINS, 2017). Portanto, este capítulo tem por objetivo tratar alguns pontos relacionados à demanda pelo atendimento às regulamentações e boas práticas de produção para garantir o bem-estar e melhor qualidade de vida aos suínos nas unidades produtoras de leitões.

2 CIÊNCIA DO BEM-ESTAR ANIMAL

O bem-estar dos animais é um dos temas de maior discussão na indústria de proteína animal, particularmente na suinocultura. O assunto envolve a cadeia produtiva como um todo, do produtor ao técnico e da granja à agroindústria. A ação conjunta entre os diversos segmentos busca a melhoria dos padrões de criação e respeito aos animais. Embora essa temática tenha gerado maiores conflitos nas últimas décadas do século atual, a ciência do bem-estar animal teve seu início na década de 60 do século passado, no continente europeu, mais especificamente na Inglaterra, e hoje está ramificada entre estudos das neurociências, como: neuroanatomia, neurofisiologia, neuroetologia, neurociência cognitiva e outras (SHRIVER, 2014).

O primeiro marco da ciência do bem-estar animal surgiu com a publicação do livro *Machines, the New Factory Farming Industry* por Ruth Harrison em 1964, que determinou grandes transformações no tratamento dos animais de produção, incluindo, principalmente, as contestações sobre as práticas rotineiras empregadas na suinocultura até aquele momento, como a castração,

o corte da cauda e o alojamento de matrizes em gaiolas de gestação. A partir de então, o governo britânico instituiu comitês para avaliar a situação da criação de animais de produção, como o Comitê Brambell, gerando o relatório Brambell (BRAMBELL, 1965) e o *Farm Animal Welfare Council* (FAWC), em 1979, responsável por postulados que, futuramente, ficaram conhecidos como as cinco liberdades (FAWC, 2011).

Com base nos postulados de Brambell (1965) e FAWC (1979), foram estabelecidas as cinco liberdades inerentes aos animais (FAWC, 1992): liberdade fisiológica (ausência de fome e de sede); liberdade ambiental (edificações adaptadas); liberdade sanitária (ausência de doenças e de fraturas); liberdade comportamental (possibilidade de exprimir comportamentos normais) e liberdade psicológica (ausência de medo e diestresse) (SILVA; PANDORFI; PIEDADE, 2008; GRANDIN; JOHNSON, 2010). O princípio das cinco liberdades se constituiu em uma plataforma que permitiu uma abordagem prática no estudo do bem-estar, sendo apropriada para diferentes estágios dos sistemas produtivos, ou seja, seus conceitos se aplicam na granja, durante o transporte e no abate dos animais de produção (MANTECA; GASA, 2008).

Outro marco importante para a ciência do bem-estar animal ocorreu, também, no continente europeu, em 1997, com o tratado de Amsterdam, o qual afirmou que os animais são seres sencientes, capazes, portanto, de experimentar sentimentos, situação que, em 2007, foi integrada no tratado de Lisboa (EUROPEAN UNION, 2007). No ano de 2004, a Comissão Europeia promoveu o documento *Welfare Quality Project*, um protocolo de avaliações padronizadas que permitia aos proprietários e frigoríficos analisar a qualidade do bem-estar dos animais durante a criação, o transporte e o abate (WELFARE QUALITY, 2009).

As primeiras diretrizes e legislação acerca do bem-estar na produção de suínos se iniciaram, da mesma maneira, no continente europeu. Na Diretiva 98/58/CE, direcionada às diversas espécies animais, em seu artigo 3º, ficou estabelecido que o produtor deveria adotar todas as medidas necessárias para assegurar o bem-estar dos animais e evitar sofrimentos intencionais (CONSEJO DE LA UNIÓN EUROPEA, 1998), norma que foi reafirmada em diretiva específica para suínos em 2008 (Diretiva 2008/120/CE). Na Diretiva de 2008, há terminologias utilizadas na suinocultura industrial, além de requisitos de espaço de alojamento para leitões de creche, suínos de produção e porcas e leitoas após a cobertura, bem como requisitos para o uso de pisos de concreto ripado (CONSEJO DE LA UNIÓN EUROPEA, 2008).

No Brasil, a legislação relacionada ao bem-estar animal é regida pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), porém, quando comparada à legislação europeia, ainda é considerada pouco eficiente e mais aplicada às questões de transporte e abate de animais. Para a espécie suína, a primeira legislação específica sobre o bem-estar na produção é a Instrução Normativa (IN) nº 113, publicada em 16 de dezembro de 2020, e em vigor desde 1º de fevereiro de 2021. Essa IN estabelece as boas práticas de manejo

nas granjas comerciais de suínos, envolvendo ambiência e funcionalidade das instalações, manejo direcionado aos animais nas diferentes categorias e idades, transporte de animais e, também, sistemas de alimentação e cuidados com a saúde animal. Em resumo, a IN traz recomendações técnicas capazes de garantir aos animais um estado de conforto físico, mental e fisiológico, que os permitam exercer atividades próprias da espécie, livres de estresse causado por medo, fome, sede, frio ou calor. Tal garantia do bem-estar determina que os suínos possam apresentar desempenho zootécnico adequado e sem sofrimento, além de melhor qualidade de carne.

Para propiciar que os animais tenham “uma vida que valha a pena ser vivida”, é necessário minimizar as suas experiências negativas e, ao mesmo tempo, proporcionar aos animais oportunidades de terem experiências positivas (MELLOR, 2016). Essa situação é importante não apenas para o animal, mas para a preservação do futuro da humanidade, situação que reforça o conceito mundial da saúde e do bem-estar únicos (PINILLOS *et al.*, 2016). Para atingir tal finalidade, as equipes de produção das granjas, dos transportadores e dos abatedouros necessitam de capacitações contínuas para avaliar, adequadamente, as condições de bem-estar dos animais e promover melhorias e/ou correções que atinjam padrões mais elevados e eliminem o sofrimento desnecessário dos animais da granja de produção até o abate, sendo essas capacitações obrigatórias e auditadas pelos organismos de controle e pelos principais compradores (GRANDIN, 2022).

3 INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 113, DE 16 DE DEZEMBRO DE 2020, E SEUS IMPACTOS NA PRODUÇÃO DE LEITÕES

Em uma das mais antigas publicações sobre as relações entre os consumidores de carnes com os animais de produção (HARISSON, 1964), foi defendida a ideia de que o uso de animais para produzir alimentos ou outras finalidades deve, obrigatoriamente, prover aos mesmos uma vida decente, livre de dor e medo e permitir, ainda, condições naturais de comportamento da espécie (VAN DE WEERD; SANDILANDS, 2008). Portanto, sem o reconhecimento de que os animais são seres sencientes e a convicção ética e moral que é incorreto causar sofrimento, não existiria a preocupação com o bem-estar animal, entretanto, é importante considerar que o aspecto ético ou moral não é de natureza científica, é uma condição que depende de cada pessoa e, também, do momento e lugar em que nos encontramos (MANTECA, 2012).

Num primeiro momento, podem haver conflitos entre bem-estar e produção, mas que podem não ser tão grandes como, às vezes, é suposto, dado o valor comercial e ético, que os altos padrões de bem-estar podem determinar (DAWKINS, 2017). Assim, algumas das diretrizes listadas na IN nº 113 podem gerar conflitos entre os diferentes segmentos da agroindústria da carne suína, principalmente as relacionadas com as fases de gestação, lactação e creche.

A IN nº 113 contempla 10 capítulos que versam sobre: definições de

termos importantes na suinocultura; indicadores baseados nos animais e nos ambientes; alojamento, instalações e equipamentos; manejo e relação humano-animal; procedimentos dolorosos; manejo nutricional; enriquecimento ambiental; saúde e melhoramento genético do rebanho; depopulação e eutanásia; plano de contingência e treinamento dos profissionais (BRASIL, 2020). Em seu artigo 3º, estabelece que o comportamento e a saúde dos animais devem ser monitorados, no mínimo, duas vezes ao ano, e deve seguir os indicadores e as orientações estabelecidos nas recomendações da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), em seu capítulo de bem-estar nos sistemas de produção de suínos. Para as diferentes práticas de manejo e adequações em instalações e sistemas de alojamento, os prazos são variados e permitem que o SAGS faça os ajustes e a migração para cumprimento da legislação.

Para as diretrizes adotadas para melhoria do bem-estar dos animais nas UPL, são listados os principais aspectos relacionados ao bem-estar de fêmeas na gestação e na maternidade e ao bem-estar dos leitões até o desmame.

3.1 FASE DE GESTAÇÃO

No SAGS, predomina o sistema intensivo de produção com animais confinados nas suas diferentes categorias, variando as escalas de produção, o nível de tecnologia e os índices de produtividade. Nesse sistema, as unidades produtoras de leitões foram originalmente concebidas com a racionalização de espaços físicos e, portanto, maior número de fêmeas/m². As fêmeas permanecem cerca de 80% do período de gestação alojadas em celas ou gaiolas individuais e apresentam cerca de 2,5 partos/ano (BORTOLOZZO *et al.*, 2007).

O alojamento das fêmeas em gaiolas individuais limita o comportamento inato da espécie, que, na natureza e em sistemas de alojamento em baias coletivas, apresentam comportamento gregário com formação de grupos de quatro a cinco fêmeas (MCGLONE *et al.*, 2004). Somado ao impedimento de socialização, há, também, a falta de exercícios, os problemas de claudicações e a limitação nos seus comportamentos naturais, como fuçar e construir ninho (GREGORY; GRANDIN, 2007; BROOM; FRASER, 2010). O comprometimento no bem-estar de fêmeas alojadas durante a gestação no sistema de gaiolas é comprovado pelo aumento nos níveis de cortisol (BROOM; FRASER, 2007), além da constatação do desenvolvimento de estereotípicas oriundas de ociosidade, como morder barras, mascar ou engolir a língua (RIBAS *et al.*, 2015), situações relacionadas à restrição de movimento, à sensação de fome e à falta de material de manipulação, como a cama ou outro componente de enriquecimento ambiental (MANTECA, 2011). A frequência de estereotípicas é 2,52 vezes maior em sistemas de criação em gaiolas quando comparado com a gestação coletiva (PERINI, 2017).

Embora o alojamento individual na gestação possa assegurar um bom controle de fornecimento de ração e reduzir as brigas entre as fêmeas, suas condições comprometem o bem-estar das fêmeas e são cada vez mais questionadas, além de estarem associadas a um sistema cruel de produção.

Frente a tal situação, as grandes empresas e corporações, que utilizam a carne suína como matéria prima, não desejam ter suas marcas associadas às imagens negativas, buscando, assim, a melhoria dos sistemas de criação com a substituição de celas individuais por sistemas coletivos de gestação, a humanização da produção, a incorporação de mais ética, qualidade de vida e bem-estar aos animais (PERINI, 2017), se antecipando, portanto, em relação às diretrizes da IN nº 113.

As diretrizes apontadas na IN nº 113 preconizam que as instalações para matrizes em gestação devem ser providas de baias para alojamento coletivo, de forma que a permanência em gaiolas seja tolerada e limitada, no máximo, em 35 dias após a cobertura. Granjas antigas projetadas para gestação em gaiolas terão até 1º de janeiro de 2045 para adaptarem suas instalações e, assim, permitir melhor bem-estar durante a fase de gestação. Além da adequação no alojamento, há, ainda, a necessidade de atender à questão de espaço mínimo por animal e às condições do piso, que devem favorecer o escoamento de dejetos e garantir maior integridade dos cascos, evitando-se, portanto, pisos totalmente ripados, pois as baias deverão dispor de área de descanso com piso compacto. Sobre a área útil nas baias coletivas de gestação, o espaço mínimo para marrãs deverá ser de 1,50 m² e para matrizes de 2 m².

O respeito às exigências direcionadas ao alojamento de fêmeas na gestação, associado à possibilidade de enriquecimento ambiental, representa medidas para aumentar o bem-estar dos animais. Uma forma de enriquecer o ambiente de gestação é o emprego do uso de cama, que, além de promover maior conforto aos animais, permite o comportamento de construção do ninho, conduta que se manifesta na fase final da gestação, próximo ao parto, sendo um comportamento inato da espécie suína que permaneceu inalterado pela domesticação (WISCHNER; KEMPER; KRIETER, 2009). A motivação das fêmeas em realizar comportamentos, aparentemente, desnecessários em situações intensivas sugere que esses ainda têm algum significado biológico para o animal (BAXTER; LAWRENCE; EDWARDS, 2011). Porém, como o comportamento é mais expressivo cerca de 24 horas antes do parto, e no sistema intensivo confinado as fêmeas são transferidas para a maternidade de 3 a 7 dias antes do parto, tal comportamento não é observado (WISCHNER; KEMPER; KRIETER, 2009).

3.2 FASE DE MATERNIDADE

O setor de maternidade em uma UPL representa a instalação com maiores desafios ao bem-estar de suínos, pelo fato de abrigar, simultaneamente, duas categorias com demandas de conforto térmico distintos, somada com a limitação de movimentação da fêmea como forma de garantir a maior sobrevivência de sua leitegada, a qual representa para os três agentes envolvidos (matrizes, leitões e produtores) um dos mais importantes resultados da fase de maternidade. Para os leitões, significa sua própria vida; para os produtores, é a chave da sustentabilidade econômica, e para as fêmeas, o sucesso reprodutivo é avaliado através da continuidade de sua prole (BAXTER; LAWRENCE; EDWARDS, 2011).

No ambiente da maternidade, a matriz e seus leitões vão passar cerca de 21 a 28 dias nas gaiolas de maternidade, projetadas para diminuir a mortalidade dos leitões por esmagamento e ter espaço reduzido, limitando a movimentação da fêmea, o que pode dificultar inclusive em suas viragens durante o processo de amamentação, comprometendo o bem-estar da fêmea e também dos leitões (MAPA, 2018).

De acordo com a IN nº 113, as fêmeas devem ser transferidas para a maternidade com, pelo menos, 2 dias de antecedência da data prevista para o parto, sendo recomendado o uso de material de enriquecimento na cela ou gaiola que possa permitir o comportamento de formação de ninho. A recomendação de material para formação e ninho representa uma forma de propiciar a realização de um comportamento inato da espécie, que atua de forma positiva na regulação hormonal das fêmeas (BAXTER; LAWRENCE; EDWARDS, 2011). O confinamento em celas sem material de manipulação reduz a circulação de ocitocina durante o parto e mantém altos níveis de cortisol. Possivelmente, a queda da ocitocina nas fêmeas alojadas em celas se deva à influência de beta-endorfina, encefalina e dinorfina, pois existem evidências de que esses opioides têm efeitos negativos na liberação de ocitocina durante o parto (OLIVIERO *et al.*, 2008; BAPTISTA; BERTANI; BARBOSA, 2011).

Em situação de estresse agudo, as alterações hormonais inibem a liberação da ocitocina, comprometendo a eficiência do parto e aumentando a porcentagem de “aleitamentos falsos” (matriz se posiciona para amamentar, mas não há êxito na ejeção do leite), entre o nascimento e a primeira ingestão de colostro (MANTECA, 2011). Maiores evidências, em relação ao papel positivo do comportamento de formação de ninhos sobre a duração do parto e a secreção de colostro, podem determinar maior atenção dos produtores de suínos sobre a utilização de enriquecimento ambiental na maternidade, como sugerido na IN nº 113.

3.3 MANEJO DOS LEITÕES DO NASCIMENTO AO DESMAME

Desde o nascimento até o desmame, os leitões passam por diferentes situações que os pré-dispõem a quebra no bem-estar, situações associadas à hipotermia, ao esmagamento, às dificuldades de ingestão de colostro e leite, à dor, ao medo e à presença de patógenos, de forma que as taxas de mortalidade no pré-desmame podem ser expressivas durante a fase de maternidade. Portanto, as estratégias para minimizar os fatores estressantes e de sofrimento dos leitões na fase de lactação representam uma forma de melhorar a opinião dos consumidores sobre a produção de suínos.

Um dos fatores que contribuem para a redução da mortalidade de leitões durante a lactação já está contemplada na IN nº 113, que diz respeito ao alojamento das matrizes em gestação, uma vez que o alojamento coletivo com enriquecimento ambiental afeta positivamente no bem-estar das fêmeas, acionando mecanismos que levam a uma redução na mortalidade de leitões, ainda que sejam pouco compreendidos (MERLOT *et al.*, 2019).

Um aspecto fundamental para otimizar o número de leitões nascidos vivos é o acompanhamento do parto, que proporciona menos prejuízos à saúde e ao bem-estar da fêmea e dos neonatos. Logo ao nascimento, devem ser priorizados os manejos que evitam a perda de calor pelo leitão e garantem a rápida ingestão de colostro, como a desobstrução das vias aéreas, a secagem dos leitões com pó secante ou toalhas de papel e o posicionamento no úbere da fêmea (DALLANORA; BIERHALS; MAGNABOSCO, 2014).

Após o segundo dia de vida, os leitões recebem uma série de manejos que podem causar-lhes medo e dor, como a identificação, a aplicação de ferro, o desgaste de dentes, a retirada do terço final da cauda e a castração. Entre esses manejos o único essencial e sem substituição é a aplicação de ferro, visando a prevenção da anemia ferropriva, enquanto os demais são avaliados de acordo com o tipo de produção e as condições gerais das leitegadas, sendo os mesmos realizados com critério, seguindo as diretrizes da IN nº 113.

O desgaste do ápice dos dentes foi recomendado, por muito tempo, como forma de evitar lesões nos tetos da fêmea, bem como as ocasionadas por brigas entre os leitões. Como o manejo causa dor e estresse aos animais, podendo afetar negativamente o seu desempenho (BATES *et al.*, 2003), tal manejo só é recomendado nos casos em que as lesões sejam evidentes. O corte da porção final da cauda é realizado como forma de evitar o canibalismo nas fases de creche, recria e terminação. Mas, na atualidade, esse manejo também é questionado por causar dor e desconforto ao leitão, podendo ser evitado com a utilização de diminuição na densidade de criação e enriquecimento ambiental nas instalações de creche, crescimento e terminação.

Quanto a identificação, é uma forma de manter a rastreabilidade dos suínos, podendo ser realizada por tatuagens, brincos com números, cores ou códigos de barra e moça, práticas que provocam dor nos animais em diferentes graus (MAPA, 2018). Quando a identificação é necessária, deve-se optar por meios menos invasivos, como os brincos, destacando-se que a moça, se necessária, deve ser realizada com o uso de anestésico tópico seguido de analgesia (DIAS *et al.*, 2018), mas com a ressalva de que, a partir de janeiro de 2030, seu uso ficará proibido (MAPA, 2020)

A castração cirúrgica, procedimento aplicado sem anestesia e analgesia aos leitões machos na primeira semana de vida, induz, comprovadamente, a dores agudas e crônicas, além de alterações no comportamento, como prostração e rigidez (HAY *et al.*, 2004). Embora seja uma prática rotineira no Brasil, assim como exigida pelo MAPA, a partir de 1º de janeiro de 2030, a castração cirúrgica poderá ser realizada somente quando recomendada por médico veterinário e executada por operador capacitado e com equipamentos devidamente higienizados, sendo adotados procedimentos para minimizar qualquer dor, angústia e complicações posteriores para o animal, conforme regulamentação do Conselho Federal de Medicina Veterinária (MAPA, 2020). A alternativa para a castração cirúrgica é a imunocastração, permitida desde que a administração da 2ª dose da vacina seja realizada num prazo não inferior a 8 semanas antes do abate.

O último manejo estressante, ainda aplicado aos leitões na maternidade, é o desmame, caracterizado pela separação brusca entre a fêmea e sua leitegada e responsável por grande estresse emocional que causa vários prejuízos aos animais. Em sistemas extensivos, o desmame natural dos leitões ocorre entre 14 e 17 semanas de idade, sendo precedido de forma gradativa pela redução na frequência das mamadas e aumento na ingestão de alimentos sólidos, ou seja, permite uma transição fisiológica com melhor atividade das enzimas endógenas e respostas imunes (MAPA, 2018). Entretanto, no SAGS, o desmame é abrupto e ocorre entre 21 a 28 dias de idade, desencadeando queda na imunidade e no desempenho, isso em função da separação da mãe e da mistura de leitegadas, para a formação dos lotes na creche (ROHR; COSTA; COSTA, 2016; MAPA, 2018). Como estratégias para reduzir os problemas pós-desmame, adota-se a introdução precoce de dietas de alta palatabilidade e digestibilidade a partir da primeira semana de vida dos leitões, além de reduzir, quando possível, a mistura de leitegadas e implementar enriquecimento ambiental na creche (MAPA, 2018).

Na IN nº 113, é previsto que o desmame ocorra sob orientação técnica e que as granjas elaborem o desmame considerando uma idade média do lote de, no mínimo, 24 dias, sendo o limite para implantação do manejo até 1º de janeiro de 2045 (BRASIL, 2020).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A regulamentação no Brasil de normas e exigências legais baseadas na ciência do bem-estar animal representa importante conquista para o sistema agroindustrial de produção de suínos, em que ocupa destaque no mercado mundial de carne suína, sendo o quarto maior produtor e exportador dessa proteína. Com a divulgação e implementação da Instrução Normativa nº 113, haverá maior compromisso de todos os agentes responsáveis pela cadeia produtiva de suínos e maior clareza aos consumidores sobre a ética e o respeito na criação de suínos, principalmente nas etapas de produção de leitões, onde se concentram os maiores conflitos entre produtividade e bem-estar animal.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL [ABPA]. **Relatório Anual: 2022**. São Paulo: ABPA, 2023. Disponível em: <https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2023/01/abpa-relatorio-anual-2022.pdf>. Acesso em: 23 jan. 2023.

BAPTISTA, R. I. A. A.; BERTANI, G. R.; BARBOSA, C.N. Indicadores do bem-estar em suínos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 10, p. 1823-1830, 2011

BATES, R. O.; HOGE, M. D.; EDWARDS, D. B.; STRAW, B. E. The influence of canine teeth clipping on nursing and nursery pig performance. **Journal of Swine Health and Production**, [s. l.], v. 11, n. 2, p. 75-79, 2003.

BAXTER, E. M.; LAWRENCE, A. B.; EDWARDS, S. A. Alternative farrowing systems: design criteria for farrowing systems based on the biological needs of sows and

piglets. **Animal**, Londres, v. 5, n. 4, p. 580-600, 2011.

BORTOLOZZO, F. P.; WENTZ, I.; BERNARDI, M. L.; MELLAGI, A. P. G.; AMARAL FILHA, W. S.; PANZARDI, A.; VARGAS, A. J.; KUMMER, R.; WILLIAMS, N. (ed.). **Suinocultura em ação: a fêmea suína gestante**. Porto Alegre: Pallottí, 2007.

BRAMBELL, F. W. R. **Report of the technical committee to enquire into the welfare of animals kept under intensive husbandry systems**. London: Her Majesty's Stationary Office, 1965.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 113, de 16 de dezembro de 2020**. Estabelecer as boas práticas de manejo e bem-estar animal nas granjas de suínos de criação comercial. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 16 dez. 2020. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-113-de-16-de-dezembro--de-2020-294915279>. Acesso em: 20 jan. 2023.

BROOM, D. M.; FRASER, A. F. **Comportamento e bem-estar de animais domésticos**. 4. ed. Barueri: Manole, 2010.

BROOM, D. M., FRASER, A. F. **Domestic animal behaviour and welfare**. 4. ed. Wallingford: CABI, 2007.

BROOM, D. M.; FRASER, A. F. **Domestic animal behaviour and welfare**. 5. ed. Wallingford: CABI, 2015.

BROOM, D. M.; MOLENTO, C. F. M. Bem-estar: conceito e questões relacionadas - revisão. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 9, n. 2, p. 1-11, 2004.

CONSEJO DE LA UNION EUROPEA. Directiva 98/58/CE del Consejo de 20 de julio de 1998. Relativa a la proteccion de los animales en las explotaciones ganaderas. **Diario Oficial de la Union Europea**, n. 221, p. 23-27, 8 ago. 1998. DOUE-L-1998-81607.

CONSEJO DE LA UNIÓN EUROPEA. Directiva 2008/120/CE del Consejo de 18 de diciembre de 2008. Relativa a las normas mínimas para la protección de cerdos. **Diario Oficial de la Union Europea**, n. 47, p. 5-13, 18 feb. 2009. DOUE-L-2009-80287.

DALLANORA, D.; BIERHALS, T.; MAGNABOSCO, D. Cuidados iniciais com os leitões recém-nascidos. In: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE SUÍNOS (coord.). **Produção de suínos: teoria e prática**. Brasília, DF: Associação Brasileira de Criadores de Suínos; Coordenação Técnica da Integral Soluções em Produção Animal, 2014. p. 485-487.

DAWKINS, M. S. Animal welfare and efficient farming: is conflict inevitable? **Animal Production Science**, [s. l.], v. 57, p. 201-208, 2017.

DIAS, C. P.; SILVA, C. A.; FOPPA, L.; CALLEGARI, M. A.; PIEROZAN, C. R. Panorama brasileiro do bem-estar de suínos. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, Curitiba, v. 16, n. esp. 1, p. 1-15, 2018.

EUROPEAN UNION. **Treaty of Lisbon: amending the treaty on European Union and the treaty establishing the European Community**. [S. l.]: Official Journal of the European Union, 2007. Disponível em: <https://www.refworld.org/docid/476258d32.html>. Acesso: 11 jun. 2022.

FARM ANIMAL WELFARE COUNCIL (FAWC). FAWC updates the five freedoms. **Veterinary Records**, London, v. 17, p. 357, 1992.

FARM ANIMAL WELFARE COUNCIL (FAWC). **Final report**. London: FAWC, 2011.

GRANDIN, T.; JOHNSON, C. **O bem-estar dos animais**: proposta de uma vida melhor para todos os bichos. São Paulo: Rocco, 2010. 334p.

GRANDIN, T. Practical application of the five domains animal welfare framework for supply food animal chain managers. **Animals**, Basel, v. 12, n. 20, p. 1-15, 2022.

GREGORY, N. G.; GRANDIN, T. Pigs. *In*: GREGORY, N. G. **Animal welfare and meat production**. 2. ed. London: CAB, 2007. p. 93-112.

GUIMARÃES, D. D.; AMARAL, G.; MAIA, G.; LEMOS, M.; CUSTODIO, S. Suinocultura: estrutura da cadeia produtiva, panorama do setor no Brasil e no mundo e o apoio do BNDES. **BNDES Setorial**, Rio de Janeiro, n. 45, p. 85-136, 2017.

HARRISON, R. **Animal machines**: the new factory farming industry. Reino Unido: Stuart, 1964.

HAY, M.; RUE, J.; SANSAC, C.; BRUNEL, G.; PRUNIER, A. Long-term detrimental effects of tooth clipping or grinding in piglets: a histological approach. **Animal Welfare**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 27-32, 2004.

KRABBE, E. L.; SANTOS FILHO, J. I.; MIELE, M.; MARTINS, F. M. Cadeias produtivas de suínos e aves. Embrapa Suínos e Aves. *In*: GENTILINI, F. P.; ANCIUTI, M. A. (Org.). **Tópicos atuais na produção de suínos e aves**. Pelotas: IFSul Pelotas, 2013. p. 9-13.

MANTECA, X. Bienestar animal en explotaciones de porcino. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 15., 2011, Fortaleza. **Anais** [...]. Fortaleza: [s. n.], 2011. p. 13-17.
MANTECA, X. **Bienestar animal y ganaderia intensiva**. Barcelona: UAB: 2012.

MANTECA, X.; GASA, J. **Bienestar en el ganado porcino**. Barcelona: Boehringer Ingelheim, 2008.

MCGLONE, J. J.; VON BORELL, E. H.; DEEN, J.; JOHNSON, A. K.; LEVIS, D. G.; MEUNIER-SALAÜN, M.; MORROW, J.; REEVES, D.; SALAK-JOHNSON, J. L.; SUNDBERG, P. L. Compilation of the scientific literature comparing housing systems for gestating sows and gilts using measures of physiology, behavior, performance, and health. **The Professional Animal Scientist**, Champaign, v. 20, n. 2, p. 105-117, 2004.

MELLOR, D. J. Updating animal welfare thinking: moving beyond the "Five Freedoms" towards "A Life Worth Living". **Animals**, Basel, v. 6, n. 3, p. 1-20, 2016.

MERLOT, E.; PASTORELLI, H.; PRUNIER, A.; PÈRE, M.-C.; LOUVEAU, I.; LEFAUCHEUR, L.; PERRUCHOT, M.-H.; MEUNIER-SALAÜN, M. C.; GARDAN-SALMON, D.; GONDRET, F. & QUESNEL, H. Sow environment during gestation: part I. Influence on maternal physiology and lacteal secretions in relation with neonatal survival. **Animal**, London, v. 13, n. 7, p. 1432-1439, 2019.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Suinocultura**: uma saúde e um bem-estar. 1. ed. Brasília: AECS, 2020.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA).
Maternidade suína: boas práticas para o bem-estar na suinocultura. 1. ed. Brasília: AECS, 2018.

OLIVIERO, C.; HEINONEN, M.; VALROS, A.; HÄLLI, O.; PELTONIEM, O. A. T. Effect of the environment on the physiology of the sow during late pregnancy, farrowing and early lactation. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 105, n. 3-4, p. 365-377, 2008.

PERINI, J. E. G. N. **Comportamento, bem-estar e desempenho reprodutivo de matrizes suínas gestantes alojadas em baias coletivas e em gaiolas individuais.** Tese (Doutorado em Ciências Animais) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2017.

PENZ JUNIOR, A. M.; BRUNO, D. G. Megatendências da suinocultura mundial. *In:* SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE SUINOCULTURA, 8., 2013, Porto Alegre. **Anais [...]**. Porto Alegre: SINSUI, 2013. p. 203-212.

PINILLOS, R. G.; APPLEBY, M.; MANTECA, X.; SCOTT-PARK, F.; SMITH, C.; VELARDE, A. One Welfare: a platform for improving human and animal welfare. **Veterinary Record**, Oxford, v. 179, n. 16, p. 412-413, 2016.

RIBAS, J. C. R.; NEVES, J. E. G.; MAURO, P. A.; LEMME, C. F.; RUEDA, P.; CIOCCA, J. R. P. Gestação coletiva de matrizes suínas: visão brasileira da utilização de sistemas eletrônicos de alimentação. **World Animal Protection**, São Paulo, p. 1-4, 2015.

ROHR, S; COSTA, O. A. D; COSTA, F. A. D. **Bem-estar animal na produção de suínos:** práticas de manejo e características das instalações nas granjas. 1. ed. Brasília: Associação brasileira dos criadores de suínos, 2016.

SHRIVER, A. J. The asymmetrical contributions of pleasure and pain to animal welfare. **Cambridge Quarterly of Healthcare Ethics**, New York, v. 23, n. 2, p. 152-162, 2014.

SILVA, I. J. O.; PANDORFI, H.; PIEDADE, S. M. S. Influência do sistema de alojamento no comportamento e bem-estar de matrizes suínas em gestação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, n. 7, p. 1319-1329, 2008.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). **Agricultural projections to 2031.** [S. l.]: USDA, 2022. Disponível em: <https://www.ers.usda.gov/webdocs/outlooks/103310/oce-2022-01.pdf?v=84.3>. Acesso em: 13 jun. 2022.

VAN DE WEERD, H.; SANDILANDS, V. Bringing the issue of animal welfare to the public: A biography of Ruth Harrison (1920-2000). **Applied Animal Behaviour Science**, [s. l.], v. 113, p. 404-410, 2008.

WELFARE QUALITY. **Assessment protocol for pigs.** Lelystad: Welfare Quality Consortium, 2009.

WISCHNER, D.; KEMPER, N.; KRIETER, J. Nest-building in sows and consequences for pig husbandry. **Livestock Science**, [s. l.], n. 1-3, v. 124, p. 1-8, 2009.

CAPÍTULO 15

PROFILAXIA DAS HELMINTOSES EM BOVINOS NO BRASIL

Dayane Sarmento Romão

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.

Gabriel Jabismar Guelpa

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.

Tábata Alves do Carmo

Universidade Federal de Viçosa (UFV),
Programa de Pós-Graduação em Medicina
Veterinária, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

Fernanda Calazans Pagnozzi

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.

Maria Flávia Dias de Alencar

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.

Ricardo Velludo Gomes de Soutello*

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.
Universidade Federal de Viçosa (UFV),
Programa de Pós-Graduação em Medicina
Veterinária, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

***Autor correspondente:**

ricardo.vg.soutello@unesp.br

Resumo

A pecuária de corte no Brasil é, há muito tempo, um dos principais e mais importantes setores da economia. Em meio aos fatores que influenciam negativamente a criação de animais de produção, a verminose merece destaque, pois é um relevante problema do rebanho brasileiro, sendo responsável por grandes perdas na atividade pecuária. A helmintose é causada por helmintos de diferentes filos, classes, gêneros e espécies, e pode acometer diversos animais, sendo extremamente necessário o seu controle em animais de produção. Esses parasitas podem causar prejuízos e grandes perdas econômicas, devido à queda na produção animal e aos custos com o seu controle. É de grande importância a administração do anti-helmíntico na dose correta, pois o seu uso de maneira errônea é, provavelmente, uma das causas que aceleram o aparecimento de populações de helmintos resistentes. Diante do exposto, o objetivo desta revisão de literatura foi reunir informações sobre as formas de controle das helmintoses e suas alternativas que vêm sendo estudadas para melhorar os sistemas de produção na pecuária.

1 INTRODUÇÃO

A pecuária de corte no Brasil é, há muito tempo, um dos principais e mais importantes setores da economia. De acordo com o Anuário da pecuária brasileira, o Brasil conta com, aproximadamente, 111.057.169 milhões de cabeças de bovinos de corte, sendo o segundo maior rebanho comercial e um dos maiores produtores de carne e subprodutos bovinos do mundo (ANUALPEC, 2021).

Estudos referentes à nutrição, ao manejo, à genética, às instalações e à sanidade com bovinos em pasto foram e são realizados com frequência, porém, quando se fala de sanidade em bovinos confinados, especificamente no controle de helmintos gastrintestinais, há carência de pesquisas que correlacionem o desempenho dos animais confinados com a parasitose por helmintos (SOUTELLO *et al.*, 2002; PINHEIRO; ALVES-BRANCO; SAPPER, 1999; NICOLAU *et al.*, 2002).

Um dos principais desafios encontrados por produtores são as verminoses dos rebanhos, em que grande parcela desses produtores acaba realizando o uso indiscriminado de medicamentos referentes ao mesmo princípio ativo, o que agrava a resistência parasitária e reduz a eficácia dessas substâncias e, conseqüentemente, o desenvolvimento dos animais de produção (PEREIRA; LEITE; BIANCHIN, 2004).

Assim, em meio aos fatores que influenciam negativamente, a verminose merece destaque, sendo responsável por grandes perdas na atividade pecuária. Nas condições do Brasil central, estima-se que os animais infectados por parasitos apresentam desempenho de 30 a 70 kg/ano inferior ao dos animais livres de infecções (PINHEIRO, 1985; ZOLLER; STARKER; VALÉRIO FILHO, 1995; BIANCHIN, 1996; SOUTELLO *et al.*, 2001). O controle ineficiente dos nematódeos gastrintestinais pode causar perdas de US\$ 6.248 milhões ao ano (GRISI *et al.*, 2013).

Ao longo do tempo, o homem vem buscando conhecer e controlar as helmintoses e definir o melhor tratamento para os animais de produção. A primeira evidência sobre a utilização de um anti-helmíntico foi identificada no papiro de Ebers, datado, provavelmente, de 1550 a.C., em que se relatava o uso da infusão da casca de romeira, *Punica granatum*, para o tratamento das helmintoses comum no antigo Egito (ALMEIDA; AYRES, 2002). Antes do desenvolvimento dos compostos orgânicos sintéticos, foram utilizadas substâncias naturais no tratamento de helmintoses, como o óleo de chenopodium, santonina e papaína. Um dos primeiros anti-helmínticos utilizado foi o sulfato de cobre, em 1881, e, mais tarde, em 1926, o tetracloreto de carbono para o tratamento de fasciola hepática (ALMEIDA; AYRES, 2002).

Ou seja, iniciaram-se os primeiros testes e as informações sobre o uso de anti-helmínticos em grande escala apenas a partir do século XX. Na década de 1940, a fenotiazina e piperazina, que são compostos orgânicos, foram introduzidas para o combate aos nematódeos gastrintestinais, porém, se concederam pouco eficazes e claramente tóxicos. Com isso, apenas na década

de 1960, os anti-helmínticos começaram a ser disponibilizados no mercado (OSÓRIO *et al.*, 2020).

A forma mais empregada para o controle de parasitas se dá por meio de produtos químicos desenvolvidos para obter o máximo de eficácia frente a sensibilidade dos helmintos. Devido à boa aplicabilidade e aos preços acessíveis, houve um grande emprego desses fármacos nas últimas décadas (LEATHWICK; POMROY; HEATH, 2001). No entanto, seu uso indiscriminado gerou queda da eficácia pela seleção de parasitas resistentes (LEATHWICK; POMROY; HEATH, 2001; MOLENTO, 2004). Assim, é necessária a busca por métodos alternativos e complementares ao tratamento das helmintoses.

Portanto, o controle das helmintoses é de extrema importância para a produção animal, sendo o uso de drogas anti-helmínticas a forma mais utilizada para controlar o parasitismo. Contudo, quando feito de forma incorreta e indiscriminada, pode levar a ineficácia dos medicamentos, pois, com o manejo errôneo, ocorre uma seleção de parasitas resistentes. Diante do exposto, o objetivo desta revisão de literatura foi reunir informações sobre as formas de controle das helmintoses e suas alternativas de controle que vêm sendo estudadas para melhorar os sistemas de produção na pecuária.

2 PROBLEMÁTICA DOS HELMINTOS

A helmintose é uma doença causada por endoparasitas que acarreta em alterações metabólicas no organismo do animal, podendo ocasionar queda no desempenho dos mesmos. A doença é causada por helmintos de diferentes filós, classes, gêneros e espécies, e pode acometer diversos animais, sendo de importância zootécnica em animais de produção, como bovinos, ovinos e equinos. Esses parasitas podem causar prejuízos e grandes perdas econômicas, devido à queda na produção animal e aos custos com o seu controle (VIVEIROS, 2009).

Dentre os helmintos que acometem bovinos, os nematódeos gastrintestinais possuem grande destaque, pois estão diretamente ligados a redução da produtividade na bovinocultura. Animais acometidos por esses nematódeos podem apresentar diarreia, anemia, inapetência e maior suscetibilidade às doenças. Consequentemente, ocasiona diminuição do peso, queda na produção de leite, redução da conversão alimentar, queda da performance reprodutiva, menor rendimento de carcaça e queda nos índices zootécnicos de maneira geral. Oliveira *et al.* (2017a), levantando dados sobre doenças parasitárias em bovinos e ovinos no sul do Brasil, observaram que as parasitoses gastrintestinais mistas em bovinos representam 22,5% de todas as doenças causadas por parasitas. Em um estudo com bovinos, na região noroeste do Estado de São Paulo, observou-se, após um período de 18 meses, que animais jovens que não receberam tratamento anti-helmíntico pesaram, aproximadamente, 53 kg a menos do que os profilaticamente tratados com anti-helmínticos (SOUTELLO, 2002).

No Brasil, a maior parte da produção de carne bovina possui como base

as pastagens, que representam um papel essencial na pecuária brasileira e garantem um inferior custo de produção, sendo considerada a maneira mais econômica e prática de fornecer e ofertar alimentos para os bovinos (DIAS-FILHO, 2014). A fase pré-parasitária começa na expulsão de ovos ou larvas no pasto, juntamente com a excreção, e tem duração de, aproximadamente, cinco a sete dias (SAUERESSIG, 2006).

Sendo assim, para que se mantenha o desempenho do rebanho bovino, é imprescindível a utilização de medidas corretas e eficazes de controle profilático que visem minimizar os efeitos dessas parasitoses, mantendo em níveis aceitáveis e compatíveis com a intensidade do sistema de produção dos animais (MOLENTO, 2009). Os anti-helmínticos devem ser utilizados somente como um método adicional na profilaxia da helmintose, pois métodos racionais de manejo e criação de animais geneticamente resistentes à helmintose são capazes de aumentar a produtividade e diminuir o uso dos vermífugos (AMARANTE, 2014).

As perdas econômicas decorrentes da helmintose podem ser superiores a 50%, em animais jovens e durante a fase aguda da doença (BARGER; SOUTHCOTT, 1978). Além disso, as despesas com anti-helmínticos representam 8% no mercado veterinário brasileiro e 36,5% do faturamento das Indústrias de Produtos para Saúde Animal (GENNARI; AMARANTE, 2006). Dessa forma, é imprescindível que se apliquem medidas corretas e eficazes de controle profilático, visando minimizar os efeitos negativos ocasionados pelas parasitoses.

3 CONTROLE ANTI-HELMÍNTICO

No início do século XX, começaram os primeiros testes e relatos de uso de antihelmínticos. O óleo de chenopodium era recomendado por Thum, em 1915, e Woolridge, em 1916, para o tratamento de verminoses em equinos (HALL; FOSTER, 1918).

Grande parte dos anti-helmínticos disponíveis no mercado foi desenvolvida a partir de 1960. Após a descoberta do tiabendazole, primeiro anti-helmíntico benzimidazólico oral, surgiram várias outras drogas similares, pertencentes ao mesmo grupo e de excelente eficácia contra parasitos internos. A principal característica desse grupo de anti-helmínticos é a sua tríplice ação, considerando que age sobre vermes adultos, formas larvais e ovos de vermes (KOHEN JUNIOR, 1998).

No início da década de 80, com o lançamento das avermectinas, principalmente da ivermectina, ocorreu uma revolução no mercado de produtos veterinários para o controle de parasitos (GEARY, 2005). No entanto, com o final da vigência de patente desse fármaco, várias formulações, contendo avermectinas, foram liberadas no mercado com preço reduzido, o que resultou em seu uso indiscriminado e, conseqüentemente, na seleção de populações resistentes de ecto e endoparasitos (RODRIGUES *et al.*, 2007). Essa forma de uso das drogas antiparasitárias e o não conhecimento sobre os aspectos

epidemiológicos do agente parasitário pelos produtores têm provocado a seleção dos parasitas resistentes à ação dos medicamentos utilizados, podendo se apresentar como um dos principais problemas sanitários da cadeia de produção animal (PAIVA, 2001).

Até pouco tempo atrás, existiam apenas três grupos de anti-helmínticos de amplo espectro: benzimidazóis, imidazóis e lactonasmacrocíclicas. Uma nova molécula, denominada monepantel, foi recém desenvolvida (KAMINSKY *et al.*, 2008) e já está sendo comercializada no Brasil. Outra molécula, derquantel, comercializada em associação com a abamectina, foi lançada recentemente em alguns países (LITTLE *et al.*, 2011).

No quadro 1, são mencionados alguns grupos químicos de anti-helmínticos e seus respectivos princípios ativos prescritos para os bovinos.

Quadro 1. Principais anti-helmínticos utilizados em bovinos no Brasil, apresentados de acordo com o grupo químico e princípio ativo.

| GRUPO QUÍMICO | PRINCÍPIO ATIVO |
|---------------------------------|------------------------|
| BENZIMIDAZOIS | Albendazol |
| | Oxfendazol |
| | Praziquantel |
| IMIDAZOTIAZÓIS | Lavamisole |
| ORGANOFOSFORADOS | Triclorfon |
| SALICILANILIDAS | Clorantel |
| DERIVADOS DE AMINO ACETONITRILA | Monepantel |
| LACTONAS MACROCICLICAS | Ivermectina |
| | Abamectina |
| | Doramectina |
| | Moxidectina |
| | Eprinomectina |

Fonte: elaborado pelos autores.

Dessa forma, fica evidente que o controle das infecções parasitárias por helmintos é essencial para o sucesso dos sistemas de produção de ruminantes e deve se basear em um bom conhecimento da epidemiologia básica, das particularidades regionais, das técnicas de manejo e dos tipos de sistema produtivo (CEZAR; CATTO; BIANCHIN, 2008).

É de grande importância a administração do anti-helmíntico na dose correta, pois seu uso de maneira errônea é, provavelmente, uma das causas que aceleram o aparecimento de populações de helmintos resistentes. Os animais devem ser pesados antes de serem tratados, caso contrário, há o risco do produtor sub ou superestimar o peso em avaliações visuais. Reduzir a quantidade de tratamentos anuais também pode ser uma estratégia, pois quanto mais frequentes forem os tratamentos com os anti-helmínticos, mais rápido haverá o surgimento de parasitos resistentes. Realizar exames laboratoriais, tais como a contagem de ovos por gramas de fezes (OPG) para

verificar se há necessidade da aplicação do anti-helmíntico, podem determinar, do mesmo modo, a eficácia da droga, quando realizado pré e pós tratamento (AMARANTE, 2014).

Falhas na contagem da dosagem do anti-helmíntico acontecem com grande regularidade. Tais desacertos são capazes de proceder na aplicação do anti-helmíntico em subdosagem, o que pode afetar a eficácia do tratamento, ou a utilização de dose elevada, que é capaz de originar intoxicação nos animais (AMARANTE *et al.*, 2004). Cabe aos médicos veterinários instruir os produtores rurais em relação aos meios de controle dos nematódeos gastrintestinais e a maneira certa de se utilizar; aumentar pesquisas na procura de métodos alternativos possíveis nos variados sistemas de produção; visar à sustentabilidade e à diminuição do impacto ambiental das técnicas agropecuárias usadas e desincentivar a utilização em excesso do controle químico das parasitoses (CEZAR; CATTO; BIANCHIN, 2008).

4 RESISTÊNCIA ANTI-HELMÍNTICA EM BOVINOS

O rebanho bovino total no Brasil é de cerca de 224.602.112 cabeças (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA [IBGE], 2021). Porém, uma das principais adversidades que causam dano à saúde do gado é a infecção gastrointestinal por nematóides, ocasionando grandes perdas (SOUTELLO; SENO; AMARANTE, 2007)

Em todo o mundo, as infecções por nematóides restringem o bem-estar e a produtividade do gado, sendo necessário promover medidas de controle e profilaxia para que as minimizem (CEZAR *et al.*, 2010). No Brasil, o uso intensivo de anti-helmínticos e diagnósticos incorretos e a escolha errada de bases farmacológicas têm provocado um sério problema de resistência dos helmintos gastrintestinais aos fármacos. Esse fenômeno é definido como a capacidade hereditária de uma população parasitária de reduzir a sua sensibilidade à ação de uma ou mais drogas (FIEL *et al.*, 2003).

O primeiro caso de resistência entre bovinos foi relatado por Pinheiro e Echevarria, em 1990, no Rio Grande do Sul (SOUTELLO; SENO; AMARANTE, 2007). Anteriormente, no início da década de 80, com o lançamento das avermectinas e ivermectinas, houve uma revolução no mercado veterinário. Lembrando que com diversas formulações de avermectinas disponíveis no mercado com preço reduzido e conseqüentemente com a má utilização dos mesmos, as populações resistentes de helmintos gastrintestinais foram ficando cada vez mais intensas (RODRIGUES *et al.*, 2007).

Os principais gêneros encontrados em diversos estudos foram *Cooperia spp.*, *Haemonchus spp.* e *Oesophagostomum sp.* As espécies de nematóides gastrintestinais mais importantes em bovinos são: *Haemonchus placei*, *Haemonchus similis*, *Ostertagia ostertagi* e *Trichostrongylus axei* (NEVES, 2014)

Acuña e Paiva (2000) identificaram resistência de parasitos gastrintestinais em bovinos, em estudo feito em Caraguatatuba-SP, realizando um experimento

de campo com teste de redução na contagem de ovos (FECRT) para a comparação de duas formulações comerciais: moxidectina e ivermectina. No 14º dia pós-tratamento, verificaram uma redução de 82,5% no grupo tratado com ivermectina, enquanto o grupo tratado com moxidectina não apresentou ovos até o 14º dia pós-tratamento. Posteriormente, Mello *et al.* (2006) avaliaram a eficácia anti-helmíntica de diferentes avermectinas em bovinos no município de Santa Maria/RS, sendo constatada a resistência de *Trichostrongylus spp.* e *Cooperia spp.* a todas formulações.

Em um estudo feito em 25 propriedades rurais na região noroeste de São Paulo, avaliou-se a eficiência de ivermectina, moxidectina, sulfoxido de albendazole e fosfato de levamisole, encontrando, das 25 propriedades estudadas, resistência à ivermectina em 23, nenhum caso de resistência à moxidectina, cinco casos de resistência ao sulfóxido de albendazole e dois casos de resistência ao fosfato de levamisole (SOUTELLO; SENO; AMARANTE, 2007). No entanto, Condi, Soutello e Amarante (2009) relataram resistência à moxidectina no estado de São Paulo, utilizando o método FECRT, com percentuais de redução para o grupo tratado de 88, 85, 88 e 92% após 3, 7, 10 e 14 dias de tratamento, respectivamente, comparados com o grupo controle. Os gêneros predominantes nos exames coprológicos depois do tratamento foram *Cooperia* e *Oesophagostomum*. No teste do anti-helmíntico controlado, a moxidectina se apresentou 100% eficaz contra *Haemonchus* e *Trichostrongylus*, e eficácia de 81,4% para *Trichuris*, 65,2% para *Cooperia* (*C. punctata* e *C. pectinata*) e 44,8% para *Oesophagostomum radiatum*.

A maioria dos nematódeos parasitas apresenta características para o desenvolvimento de resistência, conforme descrito por Mottier e Lanusse (2001), como a diminuição do número ou da afinidade dos receptores aos quais a droga se liga, as modificações de sistemas enzimáticos que degradam a droga, as alterações estruturais que reduzem a captação do princípio ativo e o aumento do metabolismo enzimático ou fluxo. Isso faz com que comprometa a manutenção da refugia e a eficácia dos tratamentos (SOUTELLO *et al.*, 2010). Com o lançamento de vários produtos endectocidas no mercado, esse fármaco se torna ainda mais importante, pois tem ações sob vários parasitos internos dos animais (NASCIMENTO *et al.*, 2003).

O termo refugia é usado para definir um grupo de larvas que permanece na pastagem após sofrer ação das drogas, classificando-se como um estoque de larvas susceptíveis (VAN WYK, 2001). A manutenção da refugia contribui para a diluição dos genes que codificam para a resistência anti-helmíntica nas próximas gerações, retardando o processo de seleção (WOLSTENHOLME *et al.*, 2004; KENYON *et al.*, 2009). Os parasitas adultos ou em estágios imaturos albergados em animais não tratados atuam como população em refugia, apresentando um papel importante nos tratamentos antiparasitário de bovinos (VAN WYK *et al.*, 2006; MOLENTO, 2009). Isso se dá ao fato de que quanto maior a parcela da população parasitária exposta às doses terapêuticas, ou não, e dos antiparasitários utilizados no rebanho, maior será a pressão de

seleção para a sobrevivência e a proliferação de genótipos parasitários com maior resistência aos princípios ativos empregados.

Pesquisas estão sendo desenvolvidas em todo o mundo, viabilizando avanços significativos para a compreensão da resistência em helmintos (ALVES; BARBOSA, 2018). A necessidade de novas pesquisas de epidemiologia é factível, principalmente nos estados de Mato Grosso, Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso do Sul e Pará, onde estão localizados os maiores rebanhos do país e, juntos, são responsáveis por 54,36% do rebanho nacional (SIDRA, 2014). Borges *et al.* (2013) avaliaram garrotes de 15 meses de idade da raça Nelore, criados, extensivamente, com pastejo em *Brachiaria* spp., em uma propriedade com diagnóstico prévio de resistência à ivermectina. Após a administração de um fármaco com eficácia de 81%, observou-se ganho médio diário (GMD) de 106 gramas/dia a mais que o grupo não tratado, durante um período de 112 dias.

No entanto, para a realização dessas é necessário o treinamento de técnicos para a correta identificação das espécies. Outro fator importante a ressaltar é que em bovinos o parasitismo apresenta uma evolução subclínica, diferentemente dos ovinos. Da mesma maneira, pode-se afirmar que os compostos que apresentam percentuais de eficácia entre 50% e 70% controlam os efeitos adversos causados por parasitas, fazendo com que a resistência ao anti-helmíntico seja diagnosticada com menor facilidade do que em ovinos (FAO, 2004).

Como as falhas dos anti-helmínticos não são clinicamente evidentes, podendo ser detectada apenas com investigação, o surgimento de parasitas resistentes é menosprezado, não apenas por produtores, mas, também, por especialistas da área (PRICHARD, 1994; WALLER, 1994). Contudo, uma vez instalada a resistência, ela não será revertida nem mesmo com a paralisação do uso da classe anti-helmíntica (MARTIN, 1997), pois os genes da resistência estão presentes em frequência muito alta nos parasitas e isso lhe assegura mecanismos metabólicos que superam ou evitam os efeitos críticos ou letais da droga (GILL; LACEY, 1998).

Tais resultados caracterizam o que ocorre na prática, o manejo sanitário incorreto. O produtor não utiliza o ponto estratégico do produto anti-helmíntico, o momento e a sua categoria animal, não levando em consideração a realidade socioeconômica relacionada à sanidade animal (DELGADO *et al.*, 2009).

No entanto, esses prejuízos, juntamente com a ineficácia do tratamento anti-helmíntico, podem ser maiores em sistema intensivo de criação bovina, tanto pela falta de coerência na aplicação quanto pelas resistências dos nematóides gastrintestinais. Dessa maneira, observa-se um dano econômico das parasitoses gastrointestinais nos animais de produção associado à baixa expectativa de surgimento de novas drogas antiparasitárias, principalmente em função da resistência anti-helmíntica aos princípios ativos do grupo avermectina/milbemicinas, benzamidazóis e imidazotiazóis, restando poucas alternativas farmacológicas (ECHEVARRIA *et al.*, 1996; MELLO *et al.*, 2006; CEZAR *et al.*, 2010).

5 CONTROLE ALTERNATIVO

5.1 FITOTERAPIA

O nome Fitoterapia é de origem grega e significa fito/*phyton* = planta e terapia/ *therapeia* = tratamento, ou seja, é o uso de plantas medicinais para prevenir, atenuar ou curar doenças dos animais e dos homens (ALVES; SILVA, 2002). Portanto, as plantas medicinais são entendidas como uma alternativa utilizada no tratamento de doenças como matéria-prima para a produção industrial de medicamentos fitoterápicos, visando eliminar o problema da contaminação microbiana e padronizar a quantidade e a forma de uso correto para a segurança do consumidor (CATALAN *et al.*, 2012).

Estratégias estão sendo desenvolvidas e aplicadas para a prevenção e o tratamento contra nematoides gastrintestinais. Diante disso, alguns métodos estão sendo aplicados como controle alternativo, como no caso da fitoterapia (MEDEIROS *et al.*, 2018).

Há muitos séculos, os humanos utilizavam várias plantas medicinais para o tratamento de doenças (GOMES, 2011), inclusive em doenças que afetavam animais. Dessa forma, as pessoas aprenderam sobre as propriedades destinadas à cura e, há centenas de anos, vêm disseminando esse conhecimento para a nova geração (OLIVEIRA, 2009). Pesquisas sobre a atividade biológica das plantas podem ser consideradas promissoras, pois realçam as potenciais aplicações biotecnológicas a partir dessas plantas (MEDEIROS *et al.*, 2018).

A fitoterapia pode trazer enormes benefícios para os produtores, os consumidores e o meio ambiente. No entanto, inclusive as plantas medicinais precisam de recomendações, pois podem intoxicar os animais se não forem tomadas na dose correta. Nesse caso, a segurança de seu uso deve ser comprovada cientificamente. As plantas medicinais vêm surgindo como uma alternativa ao uso de anti-helmínticos sintéticos por conterem fitoquímicos com propriedades anti-helmínticas, como saponinas, flavonóides e taninos (MENGISTU *et al.*, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2017b).

No Brasil, pesquisas com várias espécies de plantas com efeito anti-helmíntico atestaram que apenas 17% das 106 espécies demonstraram-se eficazes. Dentre as espécies estudadas, 18% dos compostos podem ser usados para o tratamento de nematódeos gastrointestinais de ruminantes (KRYCHAK-FURTADO, 2006). Segundo Medeiros *et al.* (2018), embora muitas plantas com propriedades anti-helmínticas já tenham sido descritas, poucas foram validadas cientificamente.

Krychak-Furtado (2006) estudou 35 extratos vegetais que foram avaliados *in vitro* contra nematódeos gastrintestinais de ovinos. Desses, 13 extratos apresentaram eficácia superior a 80%: coraçãozinho (*Melochia villosa*), aster (*Aster lanceolatus*), capim arroz (*Oryza latifolia*), roseira do brejo (*Pavonia angustifolia*), pitomba (*Trichilia pallida*), guiné (*Petiveria alliacea*), jenipapo (*Genipa americana*), xaxim (*Dicksonia sellowiana*) (pó seco 1 g), *D. sellowiana* (pó seco 2 g), *D. sellowiana* (extrato bruto), *D. sellowiana* (extrato filtrado), *Pterocaulon interruptum* (fração acetila) e *P. interruptum* (extrato bruto).

Na comprovação científica da atividade anti-helmíntica de plantas medicinais, por meio de modelos experimentais *in vitro* e *in vivo*, os protocolos de experimentos *in vitro* usam, preferencialmente, os testes de eclosão de ovos e os testes de desenvolvimento e motilidade larval para analisar o efeito de extratos ou constituintes vegetais em nematóides de vida livre ou parasitas animais (GITHIORI; ATHANASIADOU; THAMSBORG, 2006).

Os benefícios da fitoterapia no tratamento de doenças dos animais de produção, segundo Padilha *et al.* (2000), são reduzir o custo do tratamento e evitar a existência de resíduos químicos. A validação científica dos fitoterápicos é uma etapa fundamental e essencial para a utilização correta das plantas medicinais e de seus compostos bioativos (MEDEIROS *et al.*, 2018). Porém, na medicina veterinária, diferentemente do que acontece na medicina humana, as pesquisas que abrangem produtos fitoterápicos para o controle de doenças são pouco fomentadas até então.

5.2 CONTROLE BIOLÓGICO

O termo controle biológico é empregado à utilização de antagonistas naturais disponíveis no ambiente, para decrescer a um limiar subclínico, e economicamente aceitável, a população de um agente causador de perdas produtivas à atividade pecuária ou agrícola, além dos propósitos de menores efeitos negativos no ambiente que os métodos químicos (GRAMINHA *et al.*, 2001; MOTA; CAMPOS; ARAÚJO, 2003). O controle biológico provém como uma alternativa viável para a atenuação de larvas infectantes de estrongilídeos no meio ambiente (HEALEY *et al.*, 2018; HERNÁNDEZ *et al.*, 2018; VILELA *et al.*, 2018).

Os profusos agentes biológicos, antagonistas de nematoides, dirigem-se a novos estudos, como protozoários, bactérias, vírus e fungos nematófagos (GRØNVOLD *et al.*, 1996; MACIEL; ARAÚJO; CAMPOS, 2006). Entre os proveitos da utilização dos fungos nematófagos no controle biológico, é o sinergismo no controle químico que obtém uma maior atuação sobre as formas infectantes presentes nas fezes, bem como sobre os helmintos adultos que estão parasitando o animal (RIBEIRO, 2003; BRAGA *et al.*, 2008).

Os fungos nematófagos, como forma de controle biológico, é uma alternativa para complementar as estratégias de controle de helmintoses gastrintestinais. A disseminação de estruturas fúngicas diretamente nas fezes, onde decorre a eclosão de ovos e as larvas se tornam infectantes (L3), é uma das formas utilizadas para o estabelecimento do controle biológico de nematoides parasitas gastrintestinais de bovinos (PAZ-SILVA *et al.*, 2011). A introdução desses fungos como agentes predadores de helmintos, e a necessidade da sua presença no bolo fecal dos hospedeiros, é fundamental para a possível redução das formas infectantes nesse microecossistema e, conseqüentemente, na pastagem (BRAGA; ARAÚJO, 2014). Por conseguinte, esse fungo deve resistir à passagem através do trato gastrintestinal, não prejudicar o meio ambiente e, por sua vez, promover uma produção viável (GOMES *et al.*, 1998). Tal forma de

controle biológico é apto por predação os estágios de vida livre dos nematoides, resultando em uma menor quantidade de larvas disponíveis no ambiente e nas pastagens onde os animais se alimentam e, conseqüentemente, se reinfectam (ARAÚJO *et al.*, 2004; BRAGA *et al.*, 2011).

Os principais estudos com fungos têm se concentrado em espécies predadoras pertencentes aos gêneros *Duniddingtonia*, *Arthrobotrys* e *Monacrosporium* (LARSEN, 2000). Por efeito a sua atuação sobre as larvas, esses fungos são distribuídos em três grupos: fungos endoparasitas, fungos oportunistas e fungos predadores. Os fungos endoparasitas têm ação penetrante na cutícula ou são ingeridos pelos hospedeiros e, em seu interior, se desenvolvem hifas vegetativas que drenam os constituintes internos (NORDBRING-HERTZ; JANSSON; TUNLID, 2006). Os fungos oportunistas, ou ovicidas, colonizam ovos e suas larvas em desenvolvimento, penetrando através da casca por minúsculos poros. Conseqüentemente, decorre o desenvolvimento das hifas internamente, tornando sua casca impermeável (BRAGA; ARAÚJO, 2014). Os fungos predadores são os mais testados quanto aos nematoides que parasitam animais de produção. Eles produzem uma série de armadilhas, como redes tridimensionais adesivas, botões, hifas, anéis constritores e não constritores, ao longo do micélio para apreender os nematoides. Se, em circunstância, capturar um nematoide, esse terá sua cutícula penetrada e seu conteúdo interno digerido pelas hifas desenvolvidas em seu interior (BRAGA; ARAÚJO, 2014).

Entre os fungos estudados, o predador *Duniddingtonia flagrans* se destaca, em virtude de seus conídios e das massas miceliais serem aptos a atravessar o trato gastrointestinal dos animais, em que existe uma supremacia dos clamidósporos na manutenção da atividade nematófaga (LARSEN *et al.*, 1998; WAGHORN *et al.*, 2003). A efetividade do fungo tem sido, substancialmente, por meio da administração de péletes via oral. Essa formulação tem se mostrado eficaz, tanto no aspecto econômico quanto biológico, por propiciar uma proteção e transigir que tais organismos sejam propagados no meio ambiente (BRAGA; ARAÚJO, 2014).

Dessa forma, o controle biológico com fungos nematófagos pode ser empregado para diminuir populações de helmintos nematóides, já que esses são seus antagonistas naturais. Suas vantagens são em virtude do sinergismo no controle químico, o que obtém uma maior atuação sobre as formas infectantes presentes nas fezes, bem como sobre os helmintos adultos que estão parasitando o animal (RIBEIRO, 2003; BRAGA *et al.*, 2008). Carmo *et al.* (2023) afirmaram que a utilização dos fungos *Duniddingtonia flagrans* e *Pochonia chlamydosporia* é eficiente no controle de nematoides gastrointestinais de equinos mantidos a pasto, promovendo redução da infestação das pastagens por larvas infectantes e, conseqüentemente, do grau de helmintose, sendo considerada uma alternativa para minimizar o uso de drogas anti-helmínticas em um programa de controle parasitário.

Além dos fungos, as bactérias também podem ser uma das alternativas para o controle desses agentes patogênicos. Entre os grupos bacterianos, os

Bacillus spp. se apresentam como os mais pesquisados para o biocontrole (MELO; AZEVEDO, 2000). Ainda que escassos, há trabalhos que comprovaram a eficácia de *Bacillus* spp. contra diversas pragas, insetos e parasitos de importância veterinária (CHANDRASENA *et al.*, 2018; PINEDA *et al.*, 2011; RITCHIE; RAPLEY; BENJAMIN, 2010)

Dentre as diversas espécies desse gênero bacteriano, podemos destacar os *Bacillus thuringiensis*, que são vastamente analisados no controle de helmintos. A eficácia dessas bactérias pode estar relacionada a sua produção de glicoproteínas e toxinas, sintetizadas durante a esporulação, que, quando em contato com as larvas, afetam e, portanto, diminuem a sua população, ficando suscetíveis à ação da toxina que, posteriormente, causa a morte de parasitas por septicemia (SINOTT *et al.*, 2012).

O controle a partir de bactérias pode ser, também, uma alternativa eficaz, caso mais estudos sejam feitos e comprovem, realmente, a eficácia de espécies de *Bacillus* no controle sobre helmintos. Os existentes já comprovaram eficácia contra as espécies *Cooperia*, *Ostertagia* e *Haemonchus* (BOTTJER; BONE; GILL, 1985; BONE; BOTTJER; GILL, 1986).

5.3 MANIPULAÇÃO NUTRICIONAL

As infecções por helmintos em rebanhos, normalmente, podem ser identificadas, de maneira breve, através do tratamento anti-helmíntico (CEZAR; CATTO; BIANCHI, 2008). Segundo as afirmações de Gomes (2010), os anti-helmínticos alteram os mecanismos de imunidade natural, além dos custos, e a sua utilização acaba nem sempre solucionando os problemas causados através de helmintoses. Desse modo, é indispensável a utilização de diferentes meios na tentativa de recuperar os animais afetados por vermes gastrointestinais. Por meio de medidas preventivas para ajudar no controle dos helmintos, levantou-se o uso da suplementação proteica, com função de oferecer o aporte nutricional, que, por consequência, adquiriu uma gama de melhorias na imunidade dos animais (GOMES, 2010).

A aplicação da suplementação proteica é capaz de ser eficaz na diminuição da quantidade de parasitas nos animais, em que foi observado um pequeno efeito no estabelecimento de infecção de parasitas (BARGER; STEEL; VAN HOUTERT, 1996). De acordo com as confirmações de Roberts e Adams (1990), as contagens de ovos tiveram número reduzido nas fezes de animais tratados com quantidade proteica elevada enquanto que os animais tratados com uma quantidade abaixo, a carga parasitária aumentou.

Conforme Knox e Steel (1999) e Veloso *et al.* (2004), quando se faz o uso da suplementação na dieta dos animais, melhorias são garantidas no aporte nutricional que, assim, aumenta a capacidade dos animais enfrentarem as infecções. Outra vantagem é auxiliar na redução do número de OPG (KYRIAZAKIS; HOUDIJK, 2006). Dessa maneira, é imprescindível que haja um bom manejo nutricional para alcançar excelente produtividade (PÉREZ; GERASSEV, 2002), por meio do uso de suplementação associada aos anti-

helmínticos, que ocasiona benefícios aos animais, como a redução no estresse, o aperfeiçoamento na imunidade e, até mesmo, o aumento no ganho de peso dos animais.

5.4 SELEÇÃO DE ANIMAIS RESISTENTES

A aplicação de métodos convencionais para o controle e a profilaxia das helmintoses tem se tornado um grande bloqueio na produção animal, ao observar a ineficácia e a resistência da maioria das drogas anti-helmínticas encontradas, atualmente, no mercado. Li *et al.* (2012) afirmaram que existe uma busca de escolhas para o controle de parasitas e para a redução do uso de antiparasitários, por exemplo, a seleção de animais resistentes pela diversificação do genoma do hospedeiro (SONSTEGARD; GASBARRE, 2001).

Em um agrupamento de animais, independentes de sua raça, existe cerca de 10 a 20% de animais considerados “naturalmente resistentes”. Isso significa que esses animais não precisam de anti-helmínticos para controle parasitário ou, se precisassem, seria muito pouco (AMARANTE *et al.*, 2004). De acordo com Barger (1989), a preferência de animais resistentes resulta na queda de 80 a 90% da carga parasitária, isso quando comparada com rebanhos que não foram sujeitos à seleção. Por meio da seleção de animais resistentes, se nota a diminuição significativa dos picos sazonais da carga parasitária e no número de larvas nas pastagens. Ao longo da utilização de animais resistentes ao parasitismo, notou-se uma pequena quantidade de ovos, causando uma redução na contaminação das pastagens pela L3. Apesar desse ocorrido, um animal com alta carga parasitária, de determinada espécie de parasita, acaba, tendenciosamente, hospedando um número exuberante de demais espécies de parasitas (STEAR *et al.*, 1998; AMARANTE *et al.*, 2004).

Ressalta-se que a habilidade do indivíduo em ter uma autoimunidade e demonstrar resistência oscila muito entre e dentre espécies, demonstrando ser um controle genético evidente através de uma gama de estudos que utilizaram OPG como parâmetro examinador (GASBARRE; LEIGHTON; SONSTEGARD, 2001).

5.4.1 Formas de seleção

Por muito tempo, pensou-se que os genes eram os únicos responsáveis pela transmissão de características de uma geração para outra. De fato, acredita-se que a resistência esteja relacionada à herança de genes ou locos genômicos que, por meio da expressão de moléculas, regulam a imunidade do hospedeiro com a função primária de limitar e controlar a patologia (LI *et al.*, 2012).

Recentemente, novos marcadores moleculares vêm sendo estudados, como a epigenética. Sua definição é descrita por Fantappie (2013, p. 1), que a define como “[...] modificações do genoma que são herdadas pelas próximas gerações, mas que não alteram a sequência do DNA”. A epigenética é caracterizada como o estudo das moléculas que, através da modulação, expressam os genes para

resultarem um determinado fenótipo (RIVAS; TEIXEIRA; KREPISCHI, 2019). Assim, acredita-se que a resistência depende de uma gama de genes, anticorpos e citocinas (TIZARD, 2009), sendo um atributo herdável (GASBARRE; LEIGHTON; SONSTEGARD, 2001; FRAGA *et al.*, 2003; SHYMA; GUPTA; SINGH, 2015).

A metilação do DNA está entre os mecanismos mais estudados da epigenética. Para a seleção de animais resistentes, consiste, basicamente, na adição de um radical metil à uma base nitrogenada (COSTA, 2008; PORTELA; ESTELLER, 2010). Usualmente, a metilação ocorre em uma ilha CpG, que consiste em um sítio dinucleotídeo (PORTEN, 2018), particularmente, na posição carbono-5 no anel de citosina, 5mC (TCHURIKOV, 2005).

A adição de um grupo metila a uma molécula de DNA pode provocar o completo silenciamento até a superexpressão de diversos genes, sendo que a modificação do padrão da metilação do DNA leva à criação de um perfil novo, que pode ativar genes que deveriam permanecer silenciados e ter um efeito significativo na vida e na saúde de um organismo (FANTAPPIE, 2013).

Desse modo, selecionar animais resistentes pode ser altamente vantajoso (BIEGELMEYER *et al.*, 2012), visto que a resistência é uma característica herdável (AMARANTE *et al.*, 2004), resultando na diminuição significativa dos picos sazonais na carga parasitária, bem como das larvas nos pastos após a seleção (PACHECO, 2015).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de produtos químicos ainda é o método mais empregado para o controle de helmintoses em animais de produção. No entanto, a utilização de anti-helmínticos como instrumento exclusivo de controle tem seu futuro comprometido pela falta de perspectiva de desenvolvimento de novas moléculas com propriedades antiparasitárias. Dessa maneira, é de grande importância adotar medidas que permitam prolongar a vida útil das drogas disponíveis no mercado, monitorando a resistência, a fim de diagnosticá-la ainda quando presente em pequena proporção na população de parasitos.

Devido ao fato da existência de animais resistentes, existem meios alternativos para o controle parasitário, como fitoterápicos e controle biológico, no combate aos patógenos causados por helmintos, melhorando a produtividade do rebanho. Há, também, maneiras alternativas para detectar animais resistentes e melhorar a sua produção, tais como a manipulação nutricional e a seleção de animais resistentes pela diversificação do genoma do hospedeiro.

As estratégias para retardar o processo de seleção da resistência e controlar cepas resistentes, usualmente, agregam mínimos tratamentos químicos, procurando maximizar a eficácia da droga e, se possível, elencar uma alternância lenta de drogas que procuram limitar o contato do hospedeiro com o parasita pela manipulação do ambiente de pastejo.

REFERÊNCIAS

- ACUÑA, A. H.; PAIVA, F. Evaluation of EPG reduction after treatment with moxidectin or ivermectin applied on cattle naturally infected. *In: WORLD BUIATRICS CONGRESS*, 21., 2000, Punta Del Este. **Proceedings** [...]. Punta Del Este: [s. n.], 2000.
- ALMEIDA, M. A. O.; AYRES, M. C. C. Considerações gerais sobre os anti-helmínticos. *In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIAC, S. L.; BERNARDI, M. M. Farmacologia aplicada à medicina veterinária*. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 459-466.
- ALVES, D. L.; SILVA, C. R. **Fitohormônios**: abordagem natural da terapia hormonal. São Paulo: Atheneu, 2002.
- ALVES, M. S. D.; BARBOSA, T. N. Resistência parasitária. *In: BEZERRA, A. C. D. S.; SILVA, M. D. C. (ed.). Fitoterapia e a Ovinocaprinocultura: uma associação promissora*. Mossoró: EdUFERSA, 2018. p. 49-76.
- AMARANTE, A. F. T.; BRICARELLO, P. A.; ROCHA, R. A.; GENNARI, R. M. Resistance of Santa Ines, Suffolk and Ile de France sheep to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. **Veterinary Parasitology**, [s. l.], v. 120, n. 2, p. 91-106, 2004.
- AMARANTE, A. F. T. **Os parasitas de ovinos**. São Paulo: Unesp Digital, 2014.
- ANUALPEC. **Anuário da pecuária brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria; Agros Comunicação, 2021.
- ARAÚJO, J. V.; ASSIS, R. C. L.; CAMPOS, A. K.; MOTA, M. A. Atividade in vitro dos fungos nematófagos dos gêneros *Arthobotrys*, *Duddingtonia* e *Monacrosporium* sobre nematóides trichostrongilídeos (Nematoda: Trichostrongyloidea) parasitos gastrintestinais de bovinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 13, n. 2, p. 65-71, 2004.
- BIANCHIN, I. Epidemiologia dos nematódeos gastrintestinais em bovinos de corte nos cerrados e o controle estratégico no Brasil. *In: CONTROLE DOS NEMATÓDEOS GASTROINTESTINAIS DE BOVINOS*, 1993, Campo Grande. **Anais** [...]. Campo Grande: Embrapa-CNPGL, 1993. p. 113-156.
- BARGER, I. A. Genetic resistance of hosts and its influence on epidemiology. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 32, n. 1, p. 21-35, 1989.
- BARGER, I. A.; STEEL, J. W.; VAN HOUTERT, M. F. J. Supplementary feeding and gastrointestinal nematode parasitism in young grazing sheep. **Proceedings of the New Zeland Society of Animal Production**, Wellington, v. 56, p. 94-98, 1996.
- BARGER, I. A.; SOUTHCOTT, W.H. Parasitism and production in weaner sheep grazing alternately with cattle. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*, [s. l.], v. 18, n. 92, p. 340-346, 1978.
- BIEGELMEYER, P.; NIZOLI, L. Q.; CARDOSO, F. F.; DIONELLO, N. J. Aspectos da resistência de bovinos ao carrapato *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. **Archivos de Zootecnia**, Cordoba, v. 61, n. 237, p. 1-11, 2012.
- BONE, L. W.; BOTTJER, K. P.; GILL, S. *Trichostrongylus colubriformis*: isolation and characterization of ovicidal activity from *Bacillus thuringiensis israelensis*. **Experimental Parasitology**, New York, v. 62, n. 2, p. 247-253, 1986.

BORGES, F. A.; ALMEIDA, G. D.; HECKLER, R. P.; LEMES, R. T.; ONIZUKA, M. K. V.; BORGES, D. G. L. Anthelmintic resistance impact on tropical beef cattle productivity: effect on weight gain of weaned calves. **Tropical animal health and production**, Heidelberg, v. 45, n. 3, p. 723-727, 2013.

BOTTJER, K. P.; BONE, L. W.; GILL, S. S. Nematoda: susceptibility of the egg to *Bacillus thuringiensis* toxins. **Experimental parasitology**, New York, v. 60, n. 2, p. 239-244, 1985.

BRAGA, F. R.; ARAUJO, J. M.; SILVA, A. R.; ARAUJO, J. V.; CARVALHO, R. O.; TAVELA, A. O.; SILVA, M. E.; FERNANDES, F. M.; MELO, A. L. Destruição de larvas infectantes de *Strongyloides venezuelensis* pelos fungos *Duddingtonia flagrans*, *Arthrobotrys robusta* e *Monacrosporium sinense*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 44, n. 3, p. 389-391, 2011.

BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V.; CAMPOS, A. K.; SILVA, A. R.; ARAÚJO, J. M.; CARVALHO, R. O.; CORRÊA, D. N.; PEREIRA, C. A. J. In vitro evaluation of the effect of the nematophagous fungi *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium sinense* and *Pochonia chlamydosporia* on *Schistosoma mansoni* eggs. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 24, p. 2713-2716, 2008.

BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V. Nematophagous fungi for biological control of gastrointestinal nematodes in domestic animals. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 98, n. 1, p. 71-82, 2014.

CATALAN, A. A. S.; GOPINGER, E.; LOPES, D. C. N.; GONÇALVES, F. M.; ROLL, A. P.; XAVIER, E. G.; AVILA, V. S.; ROLL, V. F. B. Aditivos fitogênicos na nutrição animal: *Panax ginseng*. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, v. 107, p. 15-22, 2012.

CARMO, T. A.; MENA, M. O.; CIPRIANO, I. A.; FAVARE, G. M.; GUELPA, J. G.; PINTO, S. C.; AMARANTE, A. T.; ARAÚJO, J. V.; SOUTELLO, R. V. G. Biological control of gastrointestinal nematodes in horses fed with grass in association with nematophagus fungi *duddingtonia flagrans* and *pochonia chlamydosporia*. **Biological Control**, [s. l.], v. 182, p. 1-7, 2023.

CEZAR, A. S.; CATTO, J. B.; BIANCHIN, I. Controle alternativo de nematódeos gastrintestinais dos ruminantes: atualidade e perspectivas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 7, p. 2083-2091, 2008.

CEZAR, A. S.; VOGEL, F. S. F.; SANGIONI, L. A.; ANTONELLO, A. M.; CAMILLO, G.; TOSCAN, G.; ARAUJO, L. O. Anthelmintic action of different formulations of macrocyclic lactones on resistant strains of nematodes of cattle. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 7, p. 523-528, 2010.

CONDI, G. K.; SOUTELLO, R. G. V.; AMARANTE, A. F. T. Moxidectin-resistant nematodes in cattle in Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 161, n. 3-4, p. 213-217, 2009.

CHANDRASENA, D.; SIGNORINI, A. M.; ABRATTI, G.; STORER, N. P.; OLACIREGUI, M. L.; ALVES, A. P.; PILCHER, C. D. Characterization of field-evolved resistance to *Bacillus thuringiensis*-derived Cry1F Π -endotoxin in *Spodoptera frugiperda* populations from Argentina. **Pest Management Science**, West Sussex, v. 74, n. 3, p. 746-754. 2018.

COSTA, F. F. Non-coding RNAs, epigenetics and complexity. **Gene**, Amsterdam, v. 410, n. 1, p. 9-17, 2008.

DELGADO, F. E. F.; LIMA, W. D. S.; CUNHA, A. P.; BELLO, A. C. P. P.; DOMINGUES, L. N.; WANDERLEY, R. P. B.; LEITE, P. V. B.; LEITE, R. C. Verminoses dos Bovinos: Percepção de Pecuaristas em Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 18, n. 3, p. 29-33, 2009.

DIAS-FILHO, B. M. **Diagnóstico das pastagens no Brasil**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2014.

ECHEVARRIA, F.; BORBA, M. F. S.; PINHEIRO, A. C.; WALLER, P. J.; HANSEN, J. W. The prevalence of anthelmintic resistance of sheep in Southern Latin America: Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 62, n. 3-4, p.199-206, 1996.

FANTAPPIE, M. Epigenética e memória celular. **Revista Carbono**, Rio de Janeiro, n. 3, 2013.

FIEL, C. A.; ANZIANI, O.; SUÁREZ, V.; VÁZQUEZ, R.; EDDI, C.; ROMERO, J.; STEFFAN, P. Resistência anti-helmíntica en bovinos: causas, diagnóstico y profilaxis. **Veterinaria Argentina**, Buenos Aires, v. 18, n. 171, p. 21-33, 2003.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **Guidelines resistance management and integrated parasite control in ruminants**. Roma: FAO, 2004.

FRAGA, A. B.; ALENCAR, M. M.; FIGUEIREDO, L. A.; RAZOOK, A. G.; CYRILLO, J. N. S. G. Análise de fatores genéticos e ambientais que afetam a infestação de fêmeas bovinas da raça Caracu por carrapatos (*Boophilus microplus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, n. 6, p. 1578-1586, 2003.

GASBARRE, L. C.; LEIGHTON, E. A.; SONSTEGARD, T. Role of the bovine immune system and genome in resistance to gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 98, n. 1-3, p. 51-64, 2001.

GEARY, T. G. Ivermectin 20 years on: maturation of a wonder drug. **Trends Parasitol**, Oxford, v. 21, n. 11, p. 530-532, 2005.

GENNARI, M. S.; AMARANTE, A. F. T. Helminhos de ovinos e caprinos. **Biológico**, São Paulo, v. 67, n. 1-2, p. 13-17, 2006.

GILL, J. H.; LACEY, E. Avermectin/milbemycin resistance in trichostrongyloides nematodes. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 28, n. 6, p. 863-77, 1998.

GITHIORI, J. B.; ATHANASIADOU, S.; THAMSBORG, S. M. Use of plants in novel approaches for control of gastrointestinal helminths in livestock with emphasis on small ruminants. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 139, n. 4, p. 308-320, 2006.

GOMES, V. T. L. **Estudo in vitro da ação antimicrobiana da Myracrodouon urundeuva Fr. ALL**. 2011. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2011.

GOMES, A. P. S.; ARAÚJO, J. V.; GUIMARÃES, M. P. Biological control of bovine gastrointestinal nematode parasites in southern Brazil by nematode-trapping fungus *Arthrobotrys robusta*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 7, p. 117-122, 1998.

GOMES, A. F. **Helmintoses dos ruminantes domésticos**. [S. l.]: Edições de Angola, 2010.

GRAMINHA, E. B. N.; MAIA, A. S.; SANTOS, J. M.; CÂNDIDO, R. C.; SILVA, G. F.; COSTA, A. J. Avaliação in vitro da patogenicidade de fungos predadores de nematóides parasitos de animais domésticos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 22, n. 1, p. 11-16, 2001.

GRISI, L.; LEITE, R. C.; MARTINS, J. R. S.; BARROS, A. T. M.; CANÇADO, P. H. D.; VILLELA, H. S. Perdas econômicas potenciais devido ao parasitismo em bovinos no Brasil. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia**, São Paulo, v. 11, n. 3, p. 70-71, 2013.

GRØNVOLD, J.; HENRIKSEN, S. A.; LARSEN, M.; NANSEN, P.; WOLSTRUP, J. Aspects of biological control with special reference to arthropods, protozoans and helminths of domesticated animals. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 64, n. 1-2, p. 47-64, 1996.

HALL, M. C.; FOSTER, W. D. Efficacy of some anthelmintics. **Journal of Agricultural Research**, [s. l.], v. 12, n. 7, p. 397-447, 1918.

HEALEY, K.; LAWLORA, C.; KNOXB, M. R.; CHAMBERS, M.; JANE LAMB, J.; GROVES, P. Field evaluation of Duddingtonia flagrans IAH 1297 for the reduction of worm burden in grazing animals: Pasture larval studies in horses, cattle and goats. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 258, p. 124-132, 2018.

HERNÁNDEZ, J. A.; SÁNCHEZ-ANDRADE, R.; CAZAPAL-MONTEIRO, C. F.; ARROYO, F. L.; SANCHÍS, J. A.; PAZ-SILVA, A.; ARIAS, M. S. A combined effort to avoid strongyle infection in horses in an oceanic climate region: rotational grazing and parasiticidal fungi. **Parasites & Vectors**, [s. l.], v. 11, p. 1-8, 2018.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Produção da Pecuária Municipal**. IBGE, 2021. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html>. Acesso em: 18 jun. 2023.

KAMINSKY, R.; DUCRAY, P.; JUNG, M.; CLOVER, R.; RUFENER, L.; BOUVIER, J.; WEBER, S. S.; WENGER, A.; WIELAND-BERGHAUSEN, S.; GOEBEL, T.; GAUVRY, N.; PAUTRAT, F.; SKRIPSKY, T.; FROELICH, O.; KOMOIN-OKA, C.; WESTLUND, B.; SLUDER, A.; MÄSER, P. A new class of anthelmintics effective against drug resistant nematodes. **Nature**, Basingstoke, v. 452, p. 176-180, 2008.

KENYON, F.; GREER, A. W.; COLES, G. C.; CRINGOLI, G.; PAPADOUPOLOS, E.; CABARET, J.; BERRAG, B.; VARADY, M.; VAN WYK, J. A.; THOMAS, E.; VERCRUYSSSE, J.; JACKSON, F. The role of targeted selective treatments in the development of refugia-based approaches to the control of gastrointestinal nematodes of small ruminants. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 164, n. 1, p. 3-11, 2009.

KNOX, M.; STEEL, J. W. The effects of urea supplementation on production and parasitological responses of sheep infected with *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 83, n. 2, p. 123-135, 1999.

KOHEX JUNIOR, I. **Guia de controle de parasitos internos em animais domésticos**. São Paul: Nobel, 1998.

KRYCHAK-FURTADO, S. **Alternativas fitoterápicas para o controle da verminose ovina no estado do Paraná: testes in vitro e in vivo.** 2006. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

KYRIAZAKIS, I.; HOUDIJK, J. Immunonutrition: nutritional control of parasites. **Small Ruminant Research**, [s. l.], v. 62, n. 1-2, p. 79-82, 2006.

LARSEN, M. Prospects for controlling animal parasitic nematodes by predacious microfungi. **Parasitology**, London, v. 120, p. 121-131, 2000.

LARSEN, M.; FAEDO, M.; WALLER, P. J.; HENNESSY, D. R. The potential of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematode parasites of sheep: studies with *Duddingtonia flagrans*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 76, n. 1-2, p. 121-128, 1998.

LEATHWICK, D. M.; POMROY, W. E.; HEATH, A. C. Anthelmintic resistance in New Zealand. **New Zealand Veterinary Journal**, [s. l.], v. 49, n. 6, p. 227-235, 2001.

LI, R. W.; CHOUDHARY, R. K.; CAPUCO, A. V.; URBAN JR, J. F. Exploring the host transcriptome for mechanisms underlying protective immunity and resistance to nematode infections in ruminants. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 190, n. 1-2, p. 1-11, 2012.

LITTLE, P. R.; HODGE, A.; MAEDER, S. J.; WIRTHELE, N. C.; NICHOLAS, D. R.; COX, G. G.; CONDER, G. A. Efficacy of a combined oral formulation of derquantel-abamectin against the adult and larval stages of nematodes in sheep, including anthelmintic-resistant strains. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 181, n. 2-4, p. 180-193, 2011.

MACIEL, A. S.; ARAÚJO, J. V.; CAMPOS, A. K. Viabilidade sobre larvas infectantes de *Ancylostoma* spp dos fungos nematófagos *Arthrobotrys robusta*, *Duddingtonia flagrans* e *Monacrosporium thaumasium* após esporulação em diferentes meios de cultura. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 15, n. 1, p. 182- 187, 2006.

MARTIN, R. J. Modes of action of anthelmintic drugs. **The Veterinary Journal**, London, v. 154, n. 1, p. 11-34, 1997.

MEDEIROS, M. L. S.; FREITAS, L. B. N.; PAIVA, K. M. Controle alternativo de nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes. *In*: BEZERRA, A. C. D. S.; SILVA, M. D. C. (ed.). **Fitoterapia e a Ovinocaprinocultura: uma associação promissora** [online]. Mossoró: EdUFERSA, 2018. p. 77-89.

MELLO, M. H. A.; DEPNER, R.; MOLENTO, M. B.; FERREIRA, J. J. Lateral resistance of macrolactones against cattle nematodes. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 11, n. 1, p. 8-12, 2006.

MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Controle biológico.** Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000.

MENGISTU, G.; HOSTE, H.; KARONEN, M.; SALMINEN, J. P.; HENDRIKS, W. H.; PELLIKAAN, W. F. The in vitro anthelmintic properties of browse plant species against *Haemonchus contortus* is determined by the polyphenol content and composition. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 237, p. 110-116, 2017.

MOLENTO, M. B. Parasite control in the age of drug resistance and changing

agricultural practices. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam v. 163, n. 3, p. 229-234, 2009.

MOLENTO, M. B. Resistência de helmintos em ovinos e caprinos. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 13.; SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE RICKETTSIOSES, 1., 2004, Ouro Preto. **Anais [...]**. Jaboticabal: Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 2004. supl. 1, p. 82-87.

MOTA, M. A.; CAMPOS, A. K.; ARAUJO, J. V. Controle biológico de helmintos parasitos de animais: estágio atual e perspectivas futuras. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 3, 2003.

MOTTIER, L.; LANUSSE, C. Bases moleculares de la resistência a fármacos antihelmínticos. **Revista de Medicina Veterinária**, [s. l.], v. 82, n. 2, p. 74-85, 2001.

NASCIMENTO, A. A.; VASCONCELOS, O. T.; BORGES, F. A.; CHECHI, J. P.; FREDERICO, M. A.; SILVA, G. S.; OLIVEIRA, G. P.; COSTA, A. J. Atividade anti-helmíntica de uma nova formulação de longa ação contendo ivermectina 2,25% + abamectina 1,25%, no tratamento de bovinos naturalmente infectados por nematódeos parasitas. **A Hora Veterinária**, [s. l.], n. 5, edição extra, 2003.

NEVES, J. H. D. **Diagnóstico de resistência anti-helmíntica em bovinos**. 2014. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, 2014.

NICOLAU, C. V. J.; AMARANTE, A. F. T.; ROCHA, G. P.; GODOY, W. A. C. Relação entre desempenho e infecções por nematódeos gastrintestinais em bovinos Nelore em crescimento. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 54, n. 4, p. 351-357, 2002.

NORDBRING-HERTZ, B.; JANSSON, H. B.; TUNLID, A. Nematophagous Fungi. *In*: **Encyclopedia of Life Sciences**. Chichester: John Wiley & Sons, 2006. p. 1-11.

OLIVEIRA, A. F.; COSTA JUNIOR, L. M.; LIMA, A. S.; SILVA, C. R.; RIBEIRO, M. N.; MESQUITA, J. W.; ROCHA, C. Q.; TANGERINA, M. M.; VILEGAS, W. Anthelmintic activity of plant extracts from Brazilian savanna. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 236, p. 121- 127, 2017a.

OLIVEIRA, P. A.; RUAS, J. L.; CORREA-RIET, F.; COELHO, A. C. B.; SANTOS, B. L.; PEREIRA-MARCOLONGO, C.; SALLIS, E.S.V.; SCHILD, A. L. Doenças parasitárias em bovinos e ovinos no sul do Brasil: frequência e estimativa de perdas econômicas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 37, n. 8, p. 797-801, 2017b.

OLIVEIRA, G. C. B. Uso de plantas medicinais no tratamento de animais. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 5, n. 8, p. 1-8, 2009.

OSÓRIO, M. T.; MENEZES, M. L.; ROSA, K. B.; ESCOBAR, R. F.; LENCINA, R. M.; MAYDANA, G. M. Resistência anti-helmíntica em nematódeos gastrointestinais na ovinocultura: uma revisão. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 6, n. 11, p. 89194-89205, 2020.

PACHECO, T. M. **Avaliação do desempenho e características relacionadas ao grau de infecção por helmintos de bovinos da raça nelore**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho",

Dracena, 2015.

PADILHA, T.; MARTINEZ, M. L.; GASBARRE, L.; VIEIRA, L. S. Genética: a nova arma no controle de doenças. **Balde Branco**, [s. l.], v. 36, n. 229, p. 58, 2000.

PAIVA, F. Resistência a ivermectina constatada em *Haemonchus placei* e *Cooperia punctata* em bovinos. **A Hora Veterinária**, [s. l.], v. 20, n. 120, p. 29-32, 2001.

PAZ-SILVA, A.; FRANCISCO, I.; VALERO-COSS, R. O.; CORTINASA, F. J.; SÁNCHEZ, J. A.; FRANCISCO, R.; ARIAS, M.; SUÁREZ, J. L.; LÓPEZ-ARELLANO, M. E.; SÁNCHEZ-ANDRADE, R.; MENDOZA-DE GIVES, P. Ability of the fungus *Duddingtonia flagrans* to adapt to the cyathostomin egg-output by spreading chlamydospores. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 79, n. 1-3, p. 277-282, 2011.

PEREIRA, A. B. L.; LEITE, R. C.; BIANCHIN, I. Verminoses dos bovinos. **Gestão Pecuária**, São Paulo, v. 3, n. 31, p. 26-28, 2004.

PÉREZ, J. R. O.; GERASSEV, L. C. Manejo alimentar de ovelhas. In: OVINOCULTURA: ALGUNS CONCEITOS, SEVETUnB, 4., 2002, Brasília. **Anais [...]**. Brasília: [s. n.], 2002. p. 77-95.

PINEDA, A. V.; PARRA, A. B.; GIVES, P. M.; HERNANDES, E. L.; LINARES, I. H.; PÉREZ, N. Y.; MARCELINO, L. A.; VARGAS, G. R.; CASTRO, E. H.; SEGURA, I. G.; ARELANO, M. E. L. Uso de productos derivados de *Bacillus thuringiensis* como alternativa de control en nematodos de importância veterinaria. **Revista Mexicana de Ciência Pecuária**, [s. l.], v. 3, n.1, p. 77-88, 2012.

PINHEIRO, A. C. Custo benefício dos esquemas estratégicos de controle das helmintoses dos bovinos. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 3., 1985, Balneário Camboriú. **Anais [...]**. Brasília: Embrapa; DDT, 1985. p. 153-157.

PINHEIRO, A. C.; ALVES-BRANCO, F. P. J.; SAPPER, M. F. M. Impacto econômico das parasitoses nos países do Mercosul. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 11., 1999, Salvador. **Anais [...]**. Salvador: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1999. p. 59-60.

PORTELA, A.; ESTELLER, M. Epigenetic modifications and humandisease. **Nature biotechnology**, [s. l.], v. 18, n. 10, p. 1057-1068, 2010.

PORTEN, S. P. Epigenetic alterations in bladder cancer. **Current urology reports**, Philadelphia, v. 19, n. 12, p. 102, 2018.

PRICHARD, R. Anthelmintic resistance. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 54, n. 1-3, p. 259-268, 1994.

RIBEIRO, R. R. **Atividade predatória sobre larvas de *Trichostrongilídeos* de isolados fúngicos do gênero *Monacrosporium* após a passagem pelo trato gastrointestinal de bovinos**. 2003. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

RITCHIE, S. A.; RAPLEY, L. P.; BENJAMIN, S. *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti) Provides Residual Control of *Aedes aegypti* in Small Containers. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Northbrook, v. 82, n. 6, p. 1053-1059, 2010.

RIVAS, M. P.; TEIXEIRA, A. C. B.; KREPISCHI, A. C. V. Epigenética: conceito, mecanismos e impacto em doenças humanas. **Genética na Escola**, São Paulo, v. 14, n. 1, p. 14-25, 2019.

ROBERTS, J. A.; ADAMS, D. B. The effect off level of nutrition on the development of resistance to Haemonchus contortus in sheep. **Australian Veterinary Journal**, Victoria, v. 67. n. 3, p. 89-91, 1990.

RODRIGUES, A. B.; ATHAYDE, A. C. R.; RODRIGUES, O. G.; SILVA, W. W.; FARIA, E. B. Sensibilidade dos nematóides gastrintestinais de caprinos a anti-helmínticos na mesorregião do Sertão Paraibano. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Rio de Janeiro, v. 27, n. 4, p. 162-166, 2007.

SAUERESSIG, T. M. **Produção de proteína animal de qualidade com sustentabilidade**: controle racional das parasitoses dos bovinos. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2006. (Documentos, n. 157).

SHYMA, K. P.; GUPTA, J. P.; SINGH, V. Breeding strategies for tick resistance in tropical cattle: a sustainable approach for tick control. **Journal of Parasitic Diseases**, [s. l.], v. 39, n. 1, p. 1-6, 2015.

SIDRA. **Sistema IBGE de Recuperação de Dados**. IBGE, 2014. Disponível em: www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?c=73&z=t&o=24&i=P. Acesso em: 6 fev. 2022.

SINOTT, M. C.; CUNHA FILHO, N. A.; CASTRO, L. L. D.; LORENZON, L. B.; PINTO, N. B.; CAPELLA, G. A.; LEITE, F. P. L. Bacillus spp. toxicity against Haemonchus contortus larvae in sheep fecal cultures. **Experimental Parasitology**, Orlando, v. 132, n. 2, p. 103-108, 2012.

SONSTEGARD, T. S.; GASBARRE, L. C. Genomic tools to improve parasite resistance. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 101, n. 3-4, p. 387-403, 2001.

SOUTELLO, R. V. G.; COELHO, W. M. D.; OLIVEIRA, F. P.; FONZAR, J. F.; LUQUETTI, B. C.; SOUZA, R. F. P.; SENO, M. C. Z.; AMARANTE, A. F. T. Evaluation of reduction in eggs hedding of gastrointestinal nematodes in cattle following admintration of anthelmintics. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 19, n. 3, p. 183-185, 2010.

SOUTELLO, R. V. G.; CONDI, G. K.; PAES, F.; FONZAR, J. F. Influência do parasitismo e da suplementação proteica no desenvolvimento ponderal de novilhos mestiços Angus-Nelore e da raça Guzerá. **Ciências Agrárias e da Saúde**, Andradina, v. 2, n. 1, p. 21-27, 2002.

SOUTELLO, R. V. G.; GASPARELLI JÚNIOR, A. G.; MENEZES, C. F.; DOURADO, H. F.; LIMA, M. A.; BAIER, M. O. Ação e importância dos anti-helmínticos em relação a produção de ruminantes. **Ciências Agrárias e da Saúde**, Andradina, v. 1, n. 1, p. 55-59, 2001.

SOUTELLO, R. V. G.; SENO, M. C. Z.; AMARANTE, A. F. T. Anthelmintic resistance in cattle nematodes in northwestern Sao Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 148, n. 3-4, p. 360-364, 2007.

STEAR, M. J.; BAIRDEN, K.; BISHOP, S. C.; GETTINBY, G.; MCKELLAR, Q. A.; PARK, M.; STRAIN, S.; WALLACE, D. S. The processes influencing the distribution of parasitic nematodes among naturally infected lambs. **Parasitology**, London, v. 117, n. 2, p. 165-171, 1998.

TCHURIKOV, N. Molecular mechanisms of epigenetics. **Biochemistry**, Moscow, v. 70, n. 4, p. 406-423, 2005.

VAN WYK, J. A.; HOSTE, H.; KAPLAN, R. M.; BESIER, R. B. Targeted selective treatment for worm management--How do we sell rational programs to farmers? **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 139, n. 4, p. 336-3346, 2006.

VAN WYK, J. A. Refugia: overlooked as perhaps the most potent factor concerning the development of anthelmintic resistance. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, Pretoria, v. 68, n. 1, p.55-67, 2001.

VELOSO, C. F. M.; LOUVANDINI, H.; KIMURA, E. A.; AZEVEDO, C. R.; ENOKI, D. R.; FRANÇA, L. D.; McMANUS, C. M.; DELL'PORTO, A.; SANTANA, A. P. Efeitos da suplementação proteica no controle da verminose e nas características de carcaça de ovinos Santa Inês. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 5, n. 3, p. 131-139, 2004.

VILELA, V. L. R.; FEITOSA, T. F.; BRAGA, F. R.; VIEIRA, V. D.; LUCENA, S. C.; ARAÚJO, J. V. Control of sheep gastrointestinal nematodes using the combination of *Duddingtonia flagrans* and Levamisole Hydrochloride 5%. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 27, n. 1, p. 27-32, 2018.

VIVEIROS, C. T. **Parasitoses gastrintestinais em bovinos na ilha de S. Miguel, Açores**: Inquéritos de exploração, resultados laboratoriais e métodos de controlo. 2009. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2009.

WAGHORN, T. S.; LEATHWICK, D. M.; CHEN, L. Y.; SKIPP, R. A. Efficacy of the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* against three species of gastro-intestinal nematodes in laboratory faecal cultures from sheep and goats. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 118, n. 3, p. 227-234, 2003.

WALLER, P. J. The development of anthelmintic resistance in ruminant. **Acta Tropica**, [s. l.], v. 56, n. 2-3, p. 233-243, 1994.

WOLSTENHOLME, J.; FAIRWEATHER, I.; PRICHARD, R.; VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G.; SANGSTER, N. C. Drug resistance in veterinary helminthes. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 20, n. 10, p. 469-476, 2004.

ZOCOLLER, M. C.; STARKE, W. A.; VALÉRIO FILHO, W. V. Ganho de peso em fêmeas da raça Guzerá tratadas com diferentes épocas de aplicação de antihelmínticos. *In*: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 9., 1995, Campo Grande. **Anais** [...]. Campo Grande: CBPV, 1995. p. 124.

CAPÍTULO 16

IMPORTÂNCIA DO TRATAMENTO ANTI-HELMÍNTICO EM BEZERROS NO PERÍODO PÓS-DESMAME

Yasmin Soares Dias

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.

Milene Gomes Vieira da Silva*

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.

***Autora correspondente:**

milene.silva@unesp.br

Mateus Oliveira Mena

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia, Programa de Pós-Graduação
em Zootecnia, Botucatu, São Paulo, Brasil.

Giordani Mascoli Favare

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia, Programa de Pós-Graduação
em Zootecnia, Botucatu, São Paulo, Brasil.

Bianca Cristine Duarte de Matos

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.

Ricardo Velludo Gomes de Soutello

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.
Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia, Programa de Pós-Graduação
em Zootecnia, Botucatu, São Paulo, Brasil.

Resumo

A pecuária brasileira se encontra em lugar de destaque na produção mundial de bezerros e a maioria do rebanho é criada a pasto até a sua engorda. O desmame é um processo gradativo de grande importância para o bom desenvolvimento do animal, envolvendo um complexo aparato de mudanças comportamentais, nutricionais, morfológicas, fisiológicas e metabólicas, que constituem a transição para uma existência adulta independente. O estresse, causado nesse período até a total adaptação, pode resultar em perdas na produção, como a diminuição de peso e a maior susceptibilidade às doenças e parasitoses. A utilização dos anti-helmínticos em bezerros no período pós desmame é fundamental, pois se trata de uma fase crítica, na qual os bezerros sofrem com o estresse e, ainda que as reações aconteçam para ajudar na homeostasia, também abrangem elementos que impactam negativamente na resistência do animal. A aplicação de medidas eficazes de profilaxia e controle no período pós desmame é essencial para proporcionar um desempenho adequado dos rebanhos, diminuindo, assim, os efeitos dessas parasitoses e mantendo-as dentro de níveis aceitáveis, bem como reduzindo o impacto negativo da susceptibilidade às doenças e verminoses nessa fase.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui um amplo rebanho comercial de bovinos, com cerca de 169.913.000 cabeças, e se encontra no quinto lugar no *ranking* de produção mundial de bezerros, com 300.000 cabeças (ANUALPEC, 2021.), em que parte desse rebanho é mantido a pasto até sua engorda. Nos últimos anos, em função das inovações nas áreas de nutrição, manejo, genética e sanidade, houve uma intensificação do setor pecuário (ZEN; MENEZES; CARVALHO, 2008). Os helmintos gastrintestinais são os que mais afetam a sanidade dos animais, sendo um dos fatores que diminuem a produtividade, devido à queda no desempenho animal, e, portanto, tem-se a necessidade de fazer o controle parasitário (GIGLIOTI *et al.*, 2012).

A utilização de anti-helmínticos, se baseia no controle de helmintos, com o objetivo de determinar a eliminação de ovos e larvas nas fezes e, portanto, reduzir o número de estágios infectantes onde esses animais vivem. Nos dias atuais, o mercado dispõe de um amplo número de medicamentos altamente eficazes no tratamento das helmintoses. Os compostos orgânicos sintéticos são os mais utilizados, esses são formados por vários grupos químicos, e, tradicionalmente, é o método de controle mais empregado, no qual é realizado por meio de aplicação de anti-helmínticos de diferentes formulações comerciais, que variam em seu princípio ativo ou métodos de aplicação (FACHIOILLI, 2016).

As medidas de controle devem ser dirigidas, principalmente, durante o primeiro ano de pastejo, em que os bezerros são muito susceptíveis às infecções por helmintos gastrintestinais, já que, no segundo ano, são capazes de desenvolverem uma imunidade parcial (LIMA, 2008). Alguns são os fatores que podem diminuir a produtividade da pecuária de corte, como a alta e baixa disponibilidade e qualidade de pastagens durante as estações do ano, o manejo errôneo, a ocorrência de doenças parasitárias e infecciosas, as deficiências minerais, etc. (BIANCHIN, 1987). Assim, deve-se identificar os fatores que influenciam negativamente o processo produtivo e pesquisar alternativas economicamente viáveis que tragam bons resultados.

2 EFEITOS DO ESTRESSE NO DESMAME

O desmame é efetuado no final do ciclo de cria, no qual fundamenta-se na separação do bezerro de sua mãe de forma abrupta, realizado, normalmente, no início da estação seca, entre março e julho, em meio aos 6-7 meses de idade, com o objetivo de não prejudicar o desenvolvimento dos animais (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

O conceito da desmama se refere ao processo gradativo e tem grande relevância quando se trata do bom desenvolvimento do animal, afinal, envolve um complexo aparato de mudanças comportamentais, nutricionais, morfológicas, fisiológicas e metabólicas, que constituem a transição para uma existência adulta independente (GALEF, 1981). Trata-se de uma fase crítica, uma vez que os bezerros sofrem com o estresse “emocional”, resultante da

separação materna em conjunto com a substituição do leite por uma dieta com alimentos sólidos, deixando de ser um pré-ruminante e tornando-se um ruminante (OLIVIERA *et al.*, 2006).

Os bezerros apresentam alterações no comportamento alimentar após o desmame, com a redução do tempo de pastejo e da ruminação (LOBERG *et al.*, 2008). Aos seis meses, quando os bezerros são desmamados de forma abrupta, podem apresentar potencial perda de peso, devido à transição das fontes de alimento ou pelo estresse social (HALEY; BAILEY; STOOKEY, 2005). Logo, o estresse pode ser definido como um conjunto de respostas fisiológicas que um indivíduo desencadeia ao apresentar uma ameaça à sua homeostase, cuja ameaça é chamada de estímulo estressante ou agente estressor (MOBERG, 1987). Os sintomas do estresse que esses animais são submetidos, durante e após o desmame, representam alterações dos mecanismos fisiológicos, que tem como finalidade a manutenção da homeostase (PAES *et al.*, 2012).

Ainda que as reações do estresse aconteçam para ajudar na homeostasia, existe outra perspectiva, em que tais reações abrangem elementos que podem impactar negativamente na resistência do animal, deixando os bezerros mais susceptíveis às doenças (BREAZILE, 1988). Portanto, o estresse causado, nesse período até a total adaptação, pode resultar em perdas na produção, como a diminuição de peso e a maior susceptibilidade às doenças e parasitoses (SILVA, 2013).

A categoria animal composta pelos bezerros é a mais susceptível às doenças, registrando o maior número de perdas por morte e ocorrência de sequelas, fortemente influenciado pelo estado nutricional do hospedeiro, que podem demonstrar sintomas clássicos, como o retardo no crescimento, a hiporexia, a diarreia, a desidratação, a diminuição da produtividade, a infecção bacteriana secundária e a pneumonia (OLIVEIRA; ZANINI; SANTOS, 2007).

Portanto, o manejo sanitário de bezerros abrange uma função estratégica nos sistemas de produção (OLIVEIRA; ZANINI; SANTOS, 2007), em que os nematódeos precisam ser controlados de maneira estratégica após o desmame, nos meses de maio, julho e setembro (EMBRAPA, 1996).

3 SUSCEPTIBILIDADE DOS BEZERROS ÀS DOENÇAS E VERMINOSES

No decorrer do primeiro ano de pastejo, os bezerros são muito susceptíveis às infecções por helmintos gastrintestinais, e, segundo Lima (2008), os que possuem contato com as pastagens, começam a excretar ovos de *Cooperia spp.*, posteriormente, de 2 a 3 meses de idade, começam a surgir os ovos de *Haemonchus spp.* e *Trichostrongylus spp.*, e, somente após o terceiro e quarto mês, apresentam-se os ovos de *Oesophagostomum spp.* e *Bunostomum spp.* nas fezes. Em função disso, podem acarretar em alterações digestivas, bem como em atrasos no crescimento e redução na produção, podendo manifestar anemia (VIVEIROS, 2009).

Posterior a esse período, há uma redução da contagem de ovos por

gramas de fezes (OPG), até o 24º mês, e, a partir de então, a contagem se mantém baixa (LIMA, 2008). Isso ocorre devido à imunidade adquirida pelos bezerros ao envelhecer. Portanto, o desenvolvimento da resposta imune do hospedeiro está, sobretudo, associado à uma resposta prévia contra o parasito, tornando-se efetiva ao redor de 18 a 24 meses (SANTOS *et al.*, 2015).

Os efeitos negativos dos parasitos em relação ao hospedeiro estão sujeitos a alguns fatores, como, a espécie e quantidade de parasitas envolvidos, a condição de saúde, a idade e a experiência prévia à infecção (SAUERESSIG, 2001). Segundo a Embrapa (1996), os nematódeos precisam ser controlados de maneira estratégica após o desmame, nos meses de maio, julho e setembro, e deve ser. Baseado na aplicação de anti-helmínticos em todos os animais (SAUERESSIG, 2001).

Charles e Fonseca (1992) observaram bezerros, do nascimento aos seis meses de idade, verificaram, por meio de OPG, um aumento no número de ovos de *Strongyloides* até a 53ª semana, cuja média foi de 17.020 OPG, reduzindo gradualmente para, somente, 362 OPG até a 243ª semana.

Após essa fase, acredita-se, portanto, na redução da carga helmíntica, na contagem de OPG e, conseqüentemente, na diminuição dos casos clínicos (CHARLES, 1992). A excelência com o manejo sanitário favorece o desempenho de bezerros, que, quando tratados com anti-helmínticos antes da desmama, aos 3-5 meses de idade, ganharam de 4 a 7 kg a mais do que os não tratados, segundo estudos (CATTO; BIANCHIN; TORRES JUNIOR, 2005).

3.1 HELMINTOS GASTRINTESTINAIS

A maioria dos parasitos de ruminantes que habitam o trato gastrointestinal possui evolução semelhante ao do meio ambiental, no entanto, os efeitos causados sobre o hospedeiro são diferentes (CRAIG, 2009).

Os Trichostrongilídeos são parasitas pertencentes à classe nematoda, da ordem Strongylidae, e o seu ciclo de vida consiste na fase de vida livre, em que os estágios evolutivos ocorrem nas pastagens, e na fase parasitária, na qual dentro dos ovos dos helmintos, se originam as larvas de primeiro estágio (L1), que sofrem mudas, passando a serem chamadas de L2 e L3, essa última denominada como estágio infectante (TAYLOR; COOP; WALL, 2010).

Já na fase de vida parasitária, que abrange o período após a ingestão das L3 (Larva infectante), ocorrem mais duas mudas no hospedeiro, denominadas de L4 e L5, e, a partir disso, os parasitas adultos se reproduzem e eliminam novamente seus ovos nas fezes, recomeçando um novo ciclo (AMARANTE; SALES, 2007).

O gênero *Cooperia spp.* fica alojado no intestino delgado dos animais ruminantes, prevalecendo em bovinos *Cooperia oncophora*, *Cooperia pectinata* e *Cooperia punctata*, sendo que esse gênero apresenta uma distribuição mundial e epidemiológica nas áreas temperadas (SANTOS *et al.*, 2015). Segundo Fonseca (2006), a infecção causada por *Cooperia pectinata*, de 275.000 a 350.000 larvas

infectantes em bezerros, mostra perda de peso, redução do apetite, e diarreia, assim como apresenta uma diminuição na concentração de proteína total do soro.

O gênero *Haemonchus spp.* recebe o destaque de maior relevância entre os demais parasitas. Está localizado no abomaso dos ruminantes e, possui coloração avermelhada, devido à ação espoliativa sobre o hospedeiro (MEANA MAÑES; ROJO VÁZQUEZ, 2002). A haemonchose intensa em bezerros promove uma diminuição na quantidade de eritrócitos, causando anemia severa. Já em relação ao número de leucócitos, ocorre aumento durante quase uma semana, tendo início depois da primeira semana pós-infecção, seguido de um rápido decréscimo, ainda durante o período pré-patente (FONSECA, 2006).

O período de chuva, no fim de outono e início de inverno, proporciona condições adequadas para o aparecimento de surtos de *Trichostrongylus axei* (PIMENTEL NETO, 1976). Parkins e Holmes (1989) relataram que o gênero *Trichostrongylus spp.* causa infecções e, portanto, há uma diminuição do metabolismo em torno de 10% da digestão de energia bruta. Tal redução na digestão é uma consequência do decréscimo da acidez no abomaso e do atrofiamento das vilosidades intestinais (BORBA, 1996). Fonseca (2006), observou que bezerros infectados com até 10.000 larvas *Trichostrongylus axei* não evidenciam patogenicidade e o pH do abomaso aumentou discretamente. Já os bezerros com 150.000 larvas infectantes de helmintos gastrintestinais têm o pH elevado para mais de 7,5, propiciando condições para diarreia e anorexia.

O gênero *Oesophagostomum spp.* parasita no intestino grosso dos animais ruminantes. A espécie mais relevante em bovinos é o *Oesophagostomum radiatum* (DURO, 2010), e pode causar no hospedeiro a falta de apetite, a anorexia, a redução do ganho de peso e o efeito negativo na conversão alimentar (FONSECA, 2006).

4 INFECÇÃO POR HELMINTOS

Um dos problemas sanitários que mais reduzem a produtividade dos bovinos é a incidência de helmintoses (PIMENTEL NETO; FONSECA, 2002). Nos países tropicais, tanto a alta temperatura quanto a umidade excessiva são motivos que contribuem para o desenvolvimento de ovos e larvas nas pastagens (VALCARCEL; GARCÍA; ROMERO, 1999).

Os contágios por nematódeos gastrintestinais em bovinos, no momento que são encontrados de forma excessiva, podem provocar a morte dos animais. O principal resultado de pior parasitismo é a morbidez, caráter crônico da infecção, cuja principal consequência é o baixo desempenho dos animais e o aumento na idade ao abate (PINHEIRO; ALVES-BRANCO; SAPPER, 1999; NICOLAU *et al.*, 2001).

Na opinião de Rebhun, Guard e Richards (1995), alguns nematódeos gastrintestinais são patogênicos graças a sua habilidade hematófaga, considerando a grave anemia e hipoproteïnemia particularizada pela

hipoalbuminemia, as maiores anormalidades identificadas no eritrograma do indivíduo parasitado. Em associação ao leucograma, tais autores identificaram a eosinofilia como alteração principal. Até o momento, a atenuação no consumo é abundante, pois os parasitos causam infecções no abomaso, intestino e fígado, onde restringe a taxa de crescimento, devido à exigência de energia para manutenção (BORBA, 1996; DYNES *et al.*, 1998). Tal atenuação no consumo e a consequente queda na produção de ruminantes incluem, em determinados casos, efeitos diretos e sinais clínicos rigorosos, como anemia associada à edema, à diarreia e à anorexia (TOMA *et al.*, 2008).

Grandes perdas na produção podem ser resultado da diminuição no consumo voluntário devido às infecções parasitárias. O grau de inapetência pode variar consideravelmente entre os indivíduos, de acordo com o grau da infecção, cuja diminuição no consumo pode ser de 20% ou mais, em infecções subclínicas e crônicas, a até a anorexia completa em infecções agudas (PARKINS; HOLMES, 1989; SYKES; COOP, 1979). Consequentemente, inúmeros estudos realizados com bezerros apontam que os principais gêneros encontrados no Brasil são *Cooperia* spp., *Haemonchus* spp., *Oesophagostomum* spp. e *Trichostrongylus* spp. (GUIMARÃES, 1977; LIMA; GUIMARÃES; LEITE, 1985; ARAÚJO *et al.*, 1992; LIMA, 1998; GUIMARÃES *et al.*, 2000; CATTO *et al.*, 2009).

Incontáveis propriedades fazem uso de um único tratamento para o controle das verminoses, realizado no dia do desmame. Até então, a aplicação do anti-helmíntico em bezerros, após o desmame ou de diferentes idades, é realizado de maneira esporádica, observada somente em algumas propriedades (CATTO; UENO, 1981).

A forma crucial do uso de anti-helmínticos é para o controle da verminose, Soutello, Seno e Amarante (2007), definiram a resistência anti-helmíntica em 25 propriedades com bovinos naturalmente infectados por nematódeos gastrintestinais e notaram uma redução dos valores de ovos por grama de fezes (R-OPG) inferior a 90% em 23 fazendas depois do tratamento com ivermectina.

Acerca de 19 fazendas, foi registrado uma R-OPG de 100% após o tratamento com moxidectina, enquanto, nas demais fazendas, o R-OPG variou de 90% a 97,2%. Em seguida, com o tratamento com o sulfóxido de albendazol, observou-se uma R-OPG acima de 90% em 20 fazendas e se diversificou de 47,4% a 84,6% nas demais. Posterior ao tratamento com o fosfato de levamisol, o R-OPG foi acima de 90% em 23 propriedades rurais e igual a 47,4% e 73,7% em outras duas fazendas.

5 PARASITISMO E PRODUTIVIDADE

Uma característica importante da pecuária brasileira é ter a maior parte de seu rebanho criado em pasto, por ser uma forma mais econômica e prática para produzir e oferecer alimentos para os bovinos (FERRAZ; FELÍCIO, 2010). À vista desse fato, um dos principais problemas que afetam a saúde do gado é a infecção gastrointestinal por nematóides, que causam perdas significativas

na produção, explicadas pelo ciclo evolutivo dos helmintos. Os helmintos passam uma parte de sua existência no trato gastrointestinal e, no restante, estão presentes nas pastagens, em que infectam os ruminantes durante o pastejo, devido à ingestão de larvas infectantes existentes que, previamente, foram eliminadas via fezes por um animal já parasitado (MEDEIROS *et al.*, 1994). O efeito do parasitismo pode ser reduzido, por meio de alterações no manejo das pastagens e dos animais e da aplicação de anti-helmínticos (ARAÚJO; LIMA, 2005).

Segundo Soutello *et al.* (2002), na região do Brasil central, mais da metade do gado de corte está localizada em criações extensivas, cuja taxa de mortalidade pode chegar a 2%, devido à verminose, principalmente quando esses animais não recebem uma suplementação proteica. Apesar de ser um índice baixo, as infecções parasitárias, muitas vezes, se apresentam de forma subclínica, desencadeiam alterações metabólicas e resultam na queda de desempenho do hospedeiro. Em animais da raça Nelore, o uso estratégico de anti-helmínticos nos meses de maio, julho e setembro, na faixa etária dos 18-24 meses de idade, tem potencial para reduzir 2% em mortalidade e para ganhar, aproximadamente, 41 kg por animal, até o abate (BIANCHIN *et al.*, 1995).

Em trabalho realizado por Bianchin *et al.* (2007), dessa vez em animais mestiços, com seis anos de duração e, tratados com anti-helmínticos, estrategicamente, nos meses de maio, julho e setembro, os animais tiveram um ganho de 33 kg a mais quando comparado com os animais do grupo controle, até os 20 meses de idade.

Já Catto *et al.* (2009), durante três anos, estudaram e observaram que os animais tratados com uso estratégico de anti-helmíntico ganharam, aproximadamente, 23 kg a mais que os do grupo controle. Assim, o período indicado para o controle de nematódeos gastrintestinais é entre o desmame e os dois anos de idade, pois é a época em que as pastagens estão com o nível nutricional baixo e os animais ainda não adquiriram a resistência e/ou tolerância aos parasitos (BIANCHIN *et al.*, 1995; BIANCHIN *et al.*, 2007).

Os bovinos que apresentam infecções por parasitas sofrem um retardo no crescimento, uma redução no desempenho reprodutivo e um menor rendimento de carcaça, e, como consequência, causam prejuízos à produção (STROMBERG; AVERBECK, 1999). Desse modo, a aplicação de medidas eficazes de profilaxia e controle é de acentuada importância para resultar em um desempenho adequado dos rebanhos, diminuindo, assim, os efeitos dessas parasitoses e mantendo-as dentro de níveis aceitáveis (REINECKE, 1994).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização dos anti-helmínticos em bezerros, no período pós-desmame, se torna fundamental, pois se trata de uma fase crítica, uma vez que os bezerros sofrem com o estresse. Ainda que tal reação aconteça para ajudar

na homeostasia, pode abranger elementos que impactam negativamente na resistência do animal, deixando os bezerros mais susceptíveis às verminoses (BREAZILE, 1988). Desse modo, devem ser identificados os fatores que influenciam negativamente no processo produtivo e buscar maneiras para saná-los, que sejam economicamente viáveis e que irão trazer bons resultados.

REFERÊNCIAS

- AMARANTE, A. F. T.; SALES, R. O. Controle de endoparasitoses dos ovinos: uma revisão. **Revista Brasileira de Higiene Sanitária Animal**, Fortaleza, v. 1, n. 2, p. 14-36, 2007.
- ANUALPEC. **Anuário da Pecuária Brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria; Agros Comunicação, 2021.
- ARAÚJO, J. V.; GUIMARÃES, M. P.; LIMA, P. A. S.; LIMA, W. S. Avaliação de tratamentos anti-helmínticos em bezerros de bacia leiteira de Muriaé, MG. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 7-14, 1992.
- ARAÚJO, R. N.; LIMA, W. S. Infecções helmínticas em um rebanho leiteiro na região Campo das Vertentes de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 57, supl. 2, p. 186-193, 2005.
- BIANCHIN, I.; CATTO, J. B.; KICHEL, A. N.; TORRES JÚNIOR, R. A. A.; HONER, M. R. The effect of the control of endo and ectoparasites on the weight gains in crossbred cattle (*Bos taurus* x *Bos indicus*) in the central region of Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, Heidelberg, v. 39, n. 4, p. 287-296, 2007.
- BIANCHIN, I. Controles estratégicos dos nematódeos gastrintestinais em bovinos de corte no Brasil. **Hora Veterinária**, [s. l.], v. 39, p. 49-53, 1987.
- BIANCHIN, I.; HONER, M. R.; NUNES, S.; NASCIMENTO, Y. A. The effect of stocking rates and treatment schemes on the weight gain of weaned Nellore steers in the Brazilian savanna. **Tropical Animal Health and Production**, Heidelberg, v. 27, n. 1, p. 1-8, 1995.
- BORBA, M. F. S. Efeitos do parasitismo gastrintestinal sobre o metabolismo do hospedeiro. In: NUTRIÇÃO DE OVINOS, 1996, Jaboticabal. **Anais [...]**. Jaboticabal: FUNEP, 1996. p. 213.
- BREAZILE, J. E. The physiology of stress and its relationship to mechanisms of disease and therapeutics. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 4, n. 3, p. 441-480, 1988.
- CATTO, J. B.; BIANCHIN, I.; SANTURIO, J. M.; FEIJÓ, G. L. D.; KICHEL, A. N.; SILVA, J. M. Sistema de pastejo, rotenona e controle de parasitas: efeito sobre o ganho de peso e níveis de parasitismo em bovinos cruzados. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 18, n. 4, p. 37-43, 2009.
- CATTO, J. B.; BIANCHIN, I.; TORRES JUNIOR, R. A. A. Effects of deworming of cow-calf beef herds in brazilian savannas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 3, p. 188-194, 2005.
- CATTO, J. B.; UENO, H. Nematodioses gastrintestinais em bezerros zebus

no pantanal matogrossense: I. prevalência, intensidade de infecção e variação estacional. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 16, n. 1, p. 129-140, 1981.

CHARLES, T. P.; FONSECA, A. H. Verminoses em bezerros lactentes. *In*: CHARLES, T. FURLONG, J. **Diarréia dos bezerros**. Coronel Pacheco: Embrapa; CNPGL, 1992. p. 85-95.

CHARLES, T. P. Verminoses dos bovinos de leite. *In*: CHARLES, T. P.; FURLONG, J. **Doenças parasitárias dos bovinos de leite**. Coronel Pacheco: Embrapa; CNPGL, 1992. p. 55-110.

CRAIG, T. M. Gastrointestinal protozoal infections in ruminants. *In*: Anderson, D. E.; Rings, D. M. (ed.). **Food animal practice**. 5. ed. Missouri: Saunders Elsevier, 2009. p. 91-95.

DYNES, R. A.; POPPI, D. P.; BARRELL, G. K.; SYKES, A. R. Elevation of feed intake in parasite-infected lambs by central administration of a cholecystokinin receptor antagonist. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 79, n. 1, p. 47-54, 1998.

DURO, L. S. **Parasitismo gastrintestinal em animais da quinta pedagógica dos Olivais**: especial referência aos mamíferos ungulados. 2010. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2010.

EMBRAPA. Desmama em bovinos de corte. **Gado de Corte Divulga**, Campo Grande, n. 16, p. 29, 1996.

FACHIOILLI, D. F. **Influência do tratamento anti-helmíntico e da suplementação no desempenho de bezerros nelore no período pós-desmame**. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", Dracena, 2016.

FERRAZ, J. B. S.; FELÍCIO, P. E. D. Production systems: an example from Brazil. **Meat Science**, [s. l.], v. 84, n. 2, p. 238-243, 2010.

FONSECA, A. H. **Helmintoses gastro-intestinais dos ruminantes**. Rio de Janeiro: [s. n.], 2006. (Material didático, disciplina de doenças parasitárias). Disponível em: <http://www.adivaldofonseca.vet.br/Helmintoses/Ruminantes/Helmintoses%20gastrointestinais%20dos%20ruminantes.pdf>. Acesso em: 12 jun. 2023.

GALEF, B. G. The ecology of weaning: parasitism and the achievement of independence by altricial mammals. *In*: GUBERNICK, D. J.; KLOPFER, P. H. **Parental care in mammals**. New York: Plenum, 1981. p. 211-241.

GIGLIOTI, R.; BILHASSI, T. B.; IBELLI, A. M. G.; SENA, M. C.; OLIVEIRA, M. M. D. A.; OLIVEIRA, H. N. Estudo da resistência/suscetibilidade aos endo e ectoparasitas em bovinos Nelore e cruzados com raças taurinas. *In*: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO ANIMAL, 9., 2012, João Pessoa. **Anais [...]**. João Pessoa: [s. n.], 2012.

GUIMARÃES, M. P. **Desenvolvimento das helmintoses gastrintestinais de bovinos de corte em pastagens de cerrado**. 1977. Tese (Doutorado) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1977.

GUIMARÃES, M. P.; RIBEIRO, M. F. B.; FACURI-FILHO, E. J.; LIMA, W. S. Strategic

control of gastrointestinal nematodes in dairy calves in Florestal, Minas Gerais, Brazil. **Veterinary Research Communications**, Cham, v. 24, n. 1, p. 31-38, 2000.

HALEY, D. B.; BAILEY, D. W.; STOOKEY, J. M. The effects of weaning beef calves in two stages on their behavior and growth rate. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 83, n. 9, p. 2205-2214, 2005.

LIMA, W. S. **Fatores que interferem no controle das helmintoses** de Bovinos: dinâmica das infecções helmínticas: bezerros. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2008.

LIMA, W. S. Seasonal infection pattern of gastrointestinal nematodes of beef cattle in Minas Gerais State: Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 74, n. 2-4, p. 203-214, 1998.

LIMA, W. S.; GUIMARÃES, M. P.; LEITE, A. C. R. Custo benefício de diferentes dosificações anti-helmínticas em relação ao ganho de peso de bezerros de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 11, p. 1333-1335, 1985.

LOBERG, J. M.; HERNÁNDEZ, C. E.; THIERFELDER, T.; JENSEN, M. B.; BERG, C.; LIDFORS, L. Weaning and separation in two steps: a way to decrease stress in dairy calves suckled by foster cows. **Applied Animal Behaviour Science**, [s. l.], v. 111, n. 3-4, p. 222-234, 2008.

MEANA MAÑES, A.; ROJO VÁZQUEZ, F. A. Tricostrogilidosis y otras nematodosis. In: Cordero del Campillo, M. (coord.). **Parasitología veterinária**. Madrid: McGraw-Hill Interamericana de España, 2002. p. 237-253.

MEDEIROS, L.; GIRÃO, R.; GIRÃO, E.; PIMENTEL, J. **Caprinos**: princípios básicos para sua exploração. Teresina: Embrapa CPAMN; Brasília: Embrapa, 1994.

MOBERG, G. P. A model for assessing the impact of behavioral stress on domestic animals. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 65, n. 5, p. 1228-1235, 1987.

NICOLAU, C. V. J.; AMARANTE, A. F. T.; ROCHA, G. P.; GODOY, W. A. C. Relação entre desempenho e infecção por nematódeos gastrintestinais em bovinos Nelore em crescimento. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 54, n. 4, 2001.

OLIVEIRA, J. S.; ZANINI, A. M.; SANTOS, E. M. Fisiologia, manejo e alimentação de bezerros de corte. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, Umuarama, v. 10, n. 1, p. 39-48, 2007.

OLIVEIRA, R. L.; BARBOSA, M. A. A. F.; LADEIRA, M. M.; SILVA, M. M. P.; ZIVIANI, A. C.; BAGALDO, A. R. Nutrição e manejo de bovinos de corte na fase de cria. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 7, n. 1, p. 57-86, 2006.

PAES, P. R.; GONÇALVES, R. C.; BARIONI, G.; PAES LEME, F. O.; MELO, M. M.; CRUZ, M. L. O leucograma como indicador de estresse no desmame e no transporte rodoviário de bovinos da raça Nelore. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 1, p. 305-312, 2012.

PARKINS, J. J.; HOLMES, P. H. Effects of gastrointestinal helminth parasites on ruminant nutrition. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v. 2, n. 1, p. 227-246, 1989.

PIMENTEL NETO, M. Epizootiologia da haemoncose em bezerros de gado de leite no estado do Rio de Janeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 11, n. 9, p. 101-114, 1976.

PIMENTEL NETO, M.; FONSECA, A. H. Epidemiologia das helmintoses pulmonares e gastrintestinais de bezerros em região de baixada no Estado do Rio de Janeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 4, p. 148-152, 2002.

PINHEIRO, A. C.; ALVES-BRANCO, F. P. J.; SAPPER, M. F. M. Impacto econômico das parasitoses nos países do Mercosul. *In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA*, 11., 1999, Salvador. **Anais [...]**. Salvador: [s. n.], 1999. p. 59-60.

REBHUN, W. C.; GUARD, C.; RICHARDS, C. M. **Diseases of dairy cattle**. Baltimore: Willians & Wilkins, 1995.

REINECKE, R. K. Parasitic control in intensive vs non-intensive systems: ruminants. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 54, n. 1-3, p. 49-67, 1994.

SANTOS, P. R.; BAPTISTA, A. A. S.; LEAL, L. S.; MOLETTA J. L.; ROCHA, R. A. Nematódeos gastrintestinais de bovinos. **Revista Científica de Medicina Veterinária**, Garça, v. 14, n. 24, p. 9-21, 2015.

SAUERESSIG, M. T. **Controle estratégico da verminose bovina em propriedades rurais no Distrito Federal**. Brasília: Embrapa Cerrados, 2001. (Recomendação Técnica, n. 26).

SILVA, J. P. **Desempenho de bovinos de corte através da desmama invertida**. 2013. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) - Universidade Camilo Castelo Branco. Descalvado, 2013.

SOUTELLO, R. V. G., CONDI, G. L.; PAES, F.; FONZAR, J. F. Influência do parasitismo e da suplementação proteica no desenvolvimento ponderal de novilhos mestiços Angus-Nelore e da raça Guzerá. **Ciências Agrárias e da Saúde**, Andradina, v. 2, n. 1, p. 21-27, 2002.

SOUTELLO, R. V. G.; SENO, M. C. Z.; AMARANTE, A. F. T. Anthelmintic resistance in cattle nematodes in northwestern: São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 148, n. 3-4, p. 360-364, 2007.

STROMBERG, B. E.; AVERBECK, G. A. The role of parasite epidemiology in the management of grazing cattle. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 29, n.1, p. 33-39, 1999.

SYKES, A. R.; COOP, R. L. Effects of parasitism on host metabolism. *In: The management and diseases control of sheep*. London: British Council and Commonwealth Agricultural Bureaux, 1979. p. 345-357.

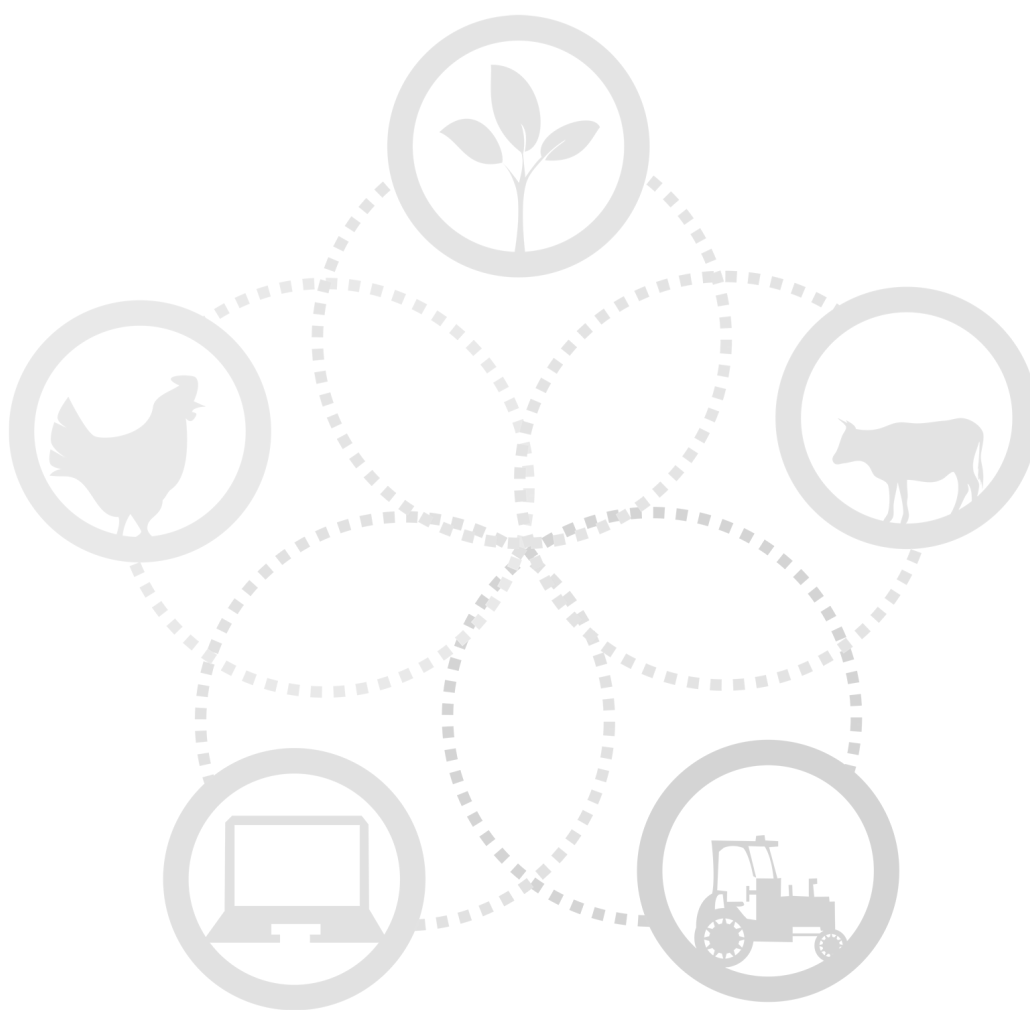
TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. **Parasitologia veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2010.

TOMA, H. S.; LOPES, R. S.; TAKAHIRA, R. K.; MONTEIRO, C. D.; MARTINS, T. F.; MPAZ e SILVA, F.; CUROTTO, S. R. Avaliação de hemograma, proteína sérica, albumina, OPG e ganho de peso em bezerros da raça Brangus Brasil submetidos a dois protocolos de tratamento anti-helmíntico. **Ars Veterinária**, Jaboticabal, v. 24, n. 1, p. 44-52, 2008.

VALCARCEL, F.; GARCIA, C. R.; ROMERO, C. Prevalence and seasonal pattern caprine Trichostrongyles in a dry area central Spain. **Zentralbl Veterinarmed**, [s. l.], v. 46, n. 1, p. 673- 681, 1999.

VIVEIROS, C. T. **Parasitoses gastrintestinais em bovinos na ilha de S. Miguel, Açores**: inquéritos de exploração, resultados laboratoriais e métodos de controlo. 2009. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa.

ZEN, S; MENEZES, S. M; CARVALHO, T. B. Perspectivas de consumo de carne bovina no Brasil. *In*: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, 46., 2008. **Anais** [...]. Piracicaba: ESALQ, 2008. p. 13.



CAPÍTULO 17

EFEITOS DO TEMPERAMENTO NA FISIOLOGIA DO ESTRESSE E MÉTODOS EMPREGADOS NA AVALIAÇÃO DO TEMPERAMENTO EM BOVINOS DE CORTE

Barbara Piffero Mello Marinovic

Doro

Médica Veterinária, Fundadora e Gerente
Técnica da empresa RUMBO Projectos
Ganaderos, Caaguazú, Paraguay.

Dayane Colhados Cabrini

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.

Letícia de Oliveira

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.

Lucila de Sousa Vilela

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.

Adriano Felipe Mendes

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Instituto de Biociências, Programa de Pós-
Graduação em Ciências Biomoleculares e
Farmacológicas, Botucatu, São Paulo, Brasil.

Claudia Maria Bertan Membrive*

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Instituto de Biociências, Programa de Pós-
Graduação em Ciências Biomoleculares e
Farmacológicas, Botucatu, São Paulo, Brasil.

***Autora correspondente:**

claudia.bertan@unesp.br

Resumo

A pecuária de precisão, emergente nos últimos anos, exige uma produção cada vez maior de arrobas por hectare. Para tanto, torna-se fundamental a intensificação do sistema de produção aliado ao melhoramento genético dos animais por meio da seleção de parâmetros de desempenho. Denomina-se temperamento a resposta comportamental do animal quando exposto à presença humana, circunstância que fisiologicamente gera o medo e o estresse. A resposta ao estresse é definida como a reação do animal a fatores externos e internos ao organismo que comprometem a sua homeostasia. Quanto mais reativo é o temperamento do animal diante da circunstância estressora, maior é a inabilidade do mesmo em lidar com o ambiente externo no qual está inserido ou com qualquer situação que possa ameaçar a homeostasia fisiológica do seu organismo. O estresse divide-se, fisiologicamente, em agudo e crônico, que desencadeiam respostas fisiológicas completamente diferentes. A intensidade das modificações fisiológicas desencadeadas no estresse varia com o temperamento dos animais, que resultam em alterações de maior intensidade nos mais reativos, quando comparados aos menos reativos, nos quais ambos são expostos às mesmas circunstâncias. O temperamento determina o nível de dificuldade em manejar os animais, além de promover impactos negativos na saúde, produção e reprodução nos mais reativos. Nos últimos anos, houve um aumento crescente dos estudos que avaliaram o efeito do temperamento nos sistemas de produção, inclusive como um importante parâmetro de desempenho. Foram desenvolvidas metodologias que permitem avaliar os animais quanto ao temperamento. Diante desse contexto, neste capítulo, serão abordados os mecanismos fisiológicos envolvidos no estresse, assim como os métodos empregados na avaliação do temperamento em bovinos de corte.

1 INTRODUÇÃO

O temperamento bovino é influenciado por diferentes fatores, como o sexo, a idade, a ausência ou presença de chifres, o tipo de sistema de produção e a raça. Os animais do sexo masculino, jovens e com chifres tendem a apresentar um temperamento mais reativo. Os bovinos criados em sistemas de produção extensivos possuem temperamento mais reativo, quando comparados aos criados em sistemas intensivos, visto que se relacionam esporadicamente com a presença de humanos. As raças *Bos indicus* possuem temperamento mais reativo em relação aos bovinos *Bos taurus*.

O rebanho nacional de corte é constituído por animais zebuínos (*Bos indicus*) e seus cruzamentos em mais de 80%, criados em sistemas de produção, predominantemente, extensivos. Tal combinação torna-se desafiadora, pois quanto maior a reatividade do animal, maior o impacto na produção e reprodução. Atualmente, os sistemas de produção enfrentam desafios cada vez maiores para garantir sua rentabilidade e sobrevivência. Na pecuária de corte, todas as características, que possam ter impacto na quantidade de arrobas de carne produzidas por hectare, devem ser consideradas na seleção genética dos melhores animais. Assim, na zootecnia de precisão, a seleção de animais por temperamento torna-se, também, muito importante.

Estudos demonstraram que animais mais reativos apresentam menor ganho de peso (FORDYCE *et al.*, 1985; VOISINET *et al.*, 1997; FELL *et al.*, 1999; PETHERICK *et al.*, 2002) e menor qualidade de carcaça e de carne (FORDYCE *et al.*, 1988; VOISINET *et al.*, 1997). Outros verificaram que vacas mais reativas apresentam menor produção e qualidade do leite (BREUER *et al.*, 2000; VAN REENEN *et al.*, 2002; SMITH *et al.*, 2013) e menores taxas de prenhez, que se referem à porcentagem de fêmeas prenhas em relação ao total de fêmeas acasaladas (COOKE *et al.*, 2009; COOKE *et al.*, 2011; RUEDA *et al.*, 2015; BRANDÃO; COOKE *et al.*, 2021; MELLO *et al.*, 2020).

Para avaliar os animais quanto ao temperamento, foi necessário criar índices passíveis de serem mensurados. O temperamento do rebanho pode ser visualmente avaliado por diversos métodos. Dentro das técnicas propostas, o temperamento animal é avaliado pelo medo ou pela resposta agressiva do animal ao homem, quando estão livres ou não para se moverem dentro de uma área delimitada. Os índices mais utilizados para esse tipo de avaliação são o escore de curral, de brete e de velocidade de fuga.

Paralelamente aos estudos de temperamento, muitos trabalhos foram desenvolvidos ao longo dos últimos anos, objetivando a elaboração de boas práticas que pudessem ser empregadas no manejo de condução e na contenção dos animais no brete, durante os manejos usuais do sistema de produção. Boas práticas são empregadas para amenizar o estresse imposto aos animais, independentemente do temperamento apresentado pelos mesmos. Embora tenhamos animais com diferentes temperamentos, que responderão ao mesmo estresse com diferentes intensidades, quando boas práticas são agrupadas no manejo racional, gera-se um nível menor de estresse a todos os animais.

2 MECANISMOS FISIOLÓGICOS DESENCADEADOS NO ESTRESSE

A resposta ao estresse é definida como a reação do animal a fatores externos e internos que comprometem o equilíbrio interno do organismo (homeostasia). Para tanto, torna-se necessário compreender os mecanismos fisiológicos envolvidos no estresse. O estresse se divide, fisiologicamente, em duas categorias: estresse agudo e estresse crônico. Ambos os tipos desencadeiam respostas fisiológicas completamente diferentes e serão apresentados nesta seção separadamente.

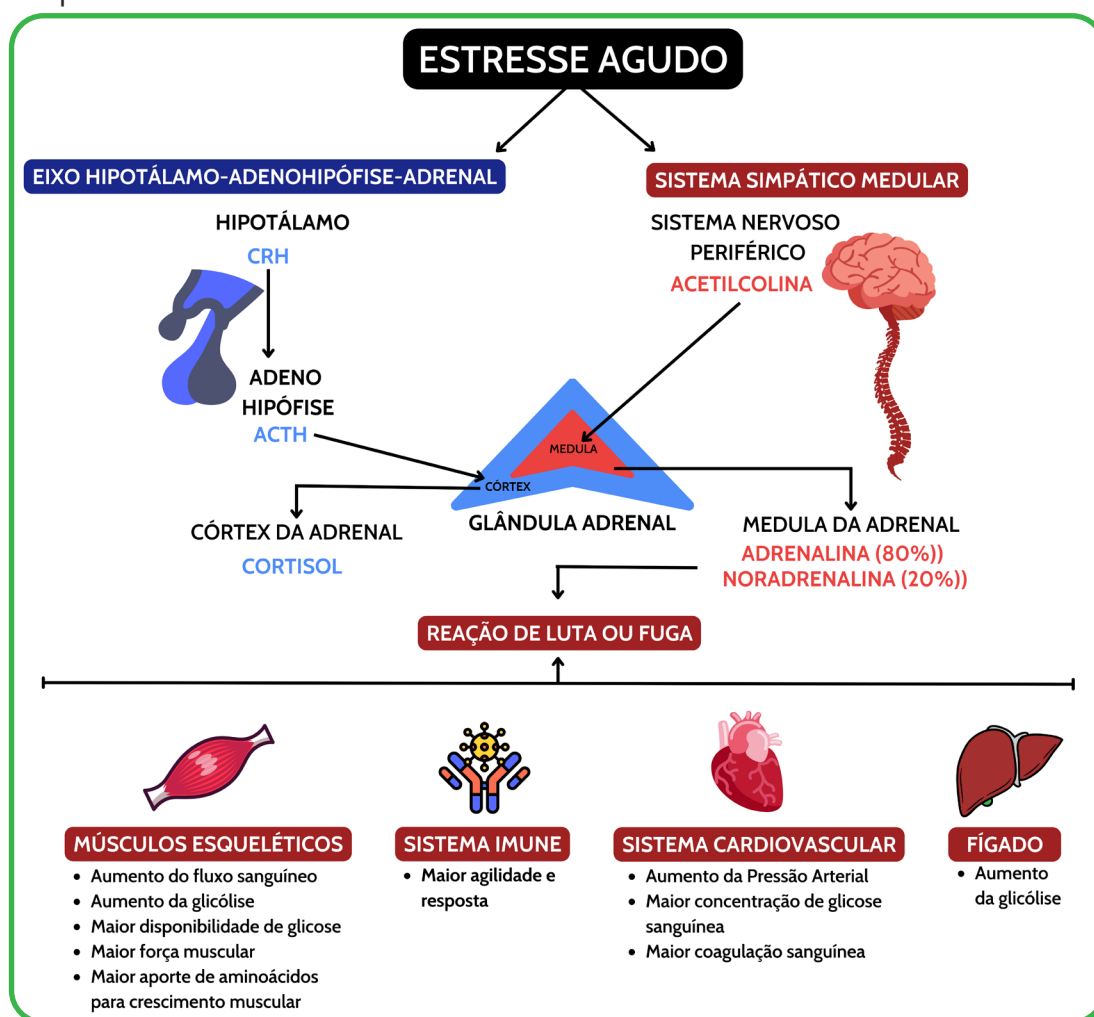
2.1 MECANISMOS FISIOLÓGICOS DESENCADEADOS NO ESTRESSE AGUDO

O estresse agudo se caracteriza por ser de grande intensidade e ocorrer em um curto espaço de tempo. Alguns exemplos de estresse agudo comum nos sistemas de produção de bovinos são: contenção do animal no brete, parto, cio, inseminação, transferência de embrião, coleta de sangue, palpação retal e ultrassonografia com a finalidade de diagnósticos, injeções, ordenha, trauma, descorna, castração e desmame. Todas essas circunstâncias levam o animal ao medo intenso e momentâneo, que, fisiologicamente, se caracteriza o estresse agudo.

Conforme ilustrado na **Figura 1**, no estresse agudo ocorre um aumento nas concentrações fisiológicas do **hormônio liberador de corticotropina (CRH)**, hormônio peptídeo constituído por uma cadeia simples composta por 41 aminoácidos e liberado pelo hipotálamo. O CRH é liberado na circulação porta-hipotalâmica-hipofisária, onde chega até a adenohipófise e promove o aumento da síntese e secreção de **hormônio adrenocorticotrópico ou corticotropina (ACTH)**, hormônio peptídeo constituído por uma cadeia simples composta por 39 aminoácidos. O ACTH lançado na corrente sanguínea chega à camada cortical (córtex) das glândulas adrenais, que constituem um par de glândulas posicionadas dorsalmente aos rins. No córtex, o ACTH estimula a liberação de **cortisol**, caracterizado como um hormônio esteróide, principal representante dos glicocorticóides.

Durante o estresse agudo, paralelamente à resposta descrita, também ocorre uma estimulação simpática intensa na camada medular da adrenal, que resulta na liberação de grande quantidade de adrenalina (80%) e noradrenalina (20%) na corrente sanguínea. Diante do aumento combinado de CRH, ACTH, cortisol, adrenalina e noradrenalina, os efeitos fisiológicos que irão imperar no organismo, nessa situação, decorrem da **ação da adrenalina e da noradrenalina**, que exercem um conjunto de efeitos: aumento da pressão arterial, aumento do fluxo sanguíneo nos músculos esqueléticos ativos, aumento da concentração de glicose na corrente sanguínea, aumento da glicólise no fígado e músculos, aumento da força muscular, aumento da atividade mental (ativação da memória e do raciocínio) e aumento da coagulação sanguínea.

Figura 1. Esquema demonstrativo da resposta ao estresse agudo pela ativação do eixo hipotalâmo-adenohipófise-adrenal e do sistema nervoso periférico simpático.



Legenda: CRH: hormônio liberador de corticotropina; ACTH: hormônio adrenocorticotrópico ou corticotropina.

Fonte: adaptada de Burdick *et al.* (2011).

Nesse tipo de estresse, deve-se salientar que ocorre um aumento na atividade e agilidade do sistema imune, efeito bastante positivo. O conjunto de tais efeitos denomina-se **reação de luta** ou **fuga**, que possibilita ao organismo reunir melhores condições fisiológicas para sobreviver em uma situação de extremo risco, mecanismo importantíssimo e que, certamente, contribuiu para a perpetuação de qualquer espécie. O medo é importante para minimizar os riscos de vida e, assim, aumentar as chances de sobrevivência de qualquer indivíduo. Tal momento pontual, de desafio ao organismo, reúne com essas alterações uma ótima e importante condição para o organismo se manter vivo, inclusive **umentando a atividade e agilidade do sistema imune, que favorecem os mecanismos de defesa do organismo**. No estresse agudo, os efeitos do cortisol são minimizados e os efeitos da adrenalina e noradrenalina

maximizados. Assim, no estresse agudo todos os **efeitos observados no organismo são desencadeados pela adrenalina e noradrenalina** e estão **sumarizados na Figura 1**.

Tal condição fisiológica favorável, analisada no estresse agudo, gerou a base para o desenvolvimento de drogas agonistas da adrenalina e noradrenalina, que mimetizariam os efeitos observados nesse tipo de estresse. Tais drogas, denominadas drogas α -adrenérgicas, são comercialmente mencionadas de catecolaminas sintéticas, Clembuterol, Cimaterol, Ractopamine, Salbutamol e L-644,969. Tais drogas demonstraram aumentar o fluxo sanguíneo e a disponibilidade de glicose nos músculos esqueléticos, promovendo aumento na massa muscular e, conseqüentemente, no rendimento da carcaça. Ademais, no Brasil, foram liberadas em 2011, apenas para pesquisas e não para uso comercial.

Nos estudos realizados com bovinos confinados, essas drogas foram administradas, em doses diárias via oral junto ao suplemento mineral, na quantidade de 30mg/cabeça/dia, por 20 a 40 dias antes do abate. Os efeitos positivos observados pelo seu uso foram: estimulação na degradação lipídica nos adipócitos, promovendo aumento na lipólise; hipotrofia (diminuição do tamanho) do adipócito; aumento do diâmetro das fibras musculares, especialmente nas do tipo II, caracterizadas como glicolíticas; aumento da síntese de proteína muscular; diminuição da degradação de proteína muscular; aumento do fluxo sanguíneo no músculo esquelético e, por fim, aumento do aporte de aminoácidos para o crescimento muscular. Entretanto, verificou-se que houve um comprometimento na qualidade da carne, que se mostrou menos macia. Essas drogas não foram autorizadas para serem utilizadas nos sistemas de produção de carne do Brasil.

No estresse agudo, as células da adenohipófise que secretam ACTH sintetizam, da mesma forma, a proopiomelanocortina (POMC), o hormônio melanócito estimulante, a β -lipotropina e a β -endorfina. Assim, no estresse agudo, quando ocorre o aumento na liberação de ACTH, também ocorre aumento nas concentrações circulantes de todos os demais hormônios produzidos pela célula que sintetiza ACTH. A contenção do animal no curral, ou tronco de contenção, se caracteriza como uma situação potencialmente desencadeadora de um estresse agudo, pois, quanto mais temperamental for o animal, maior será a quantidade liberada de todos os hormônios que participam do mecanismo de estresse agudo.

2.2 MECANISMOS FISIOLÓGICOS DESENCADEADOS NO ESTRESSE CRÔNICO

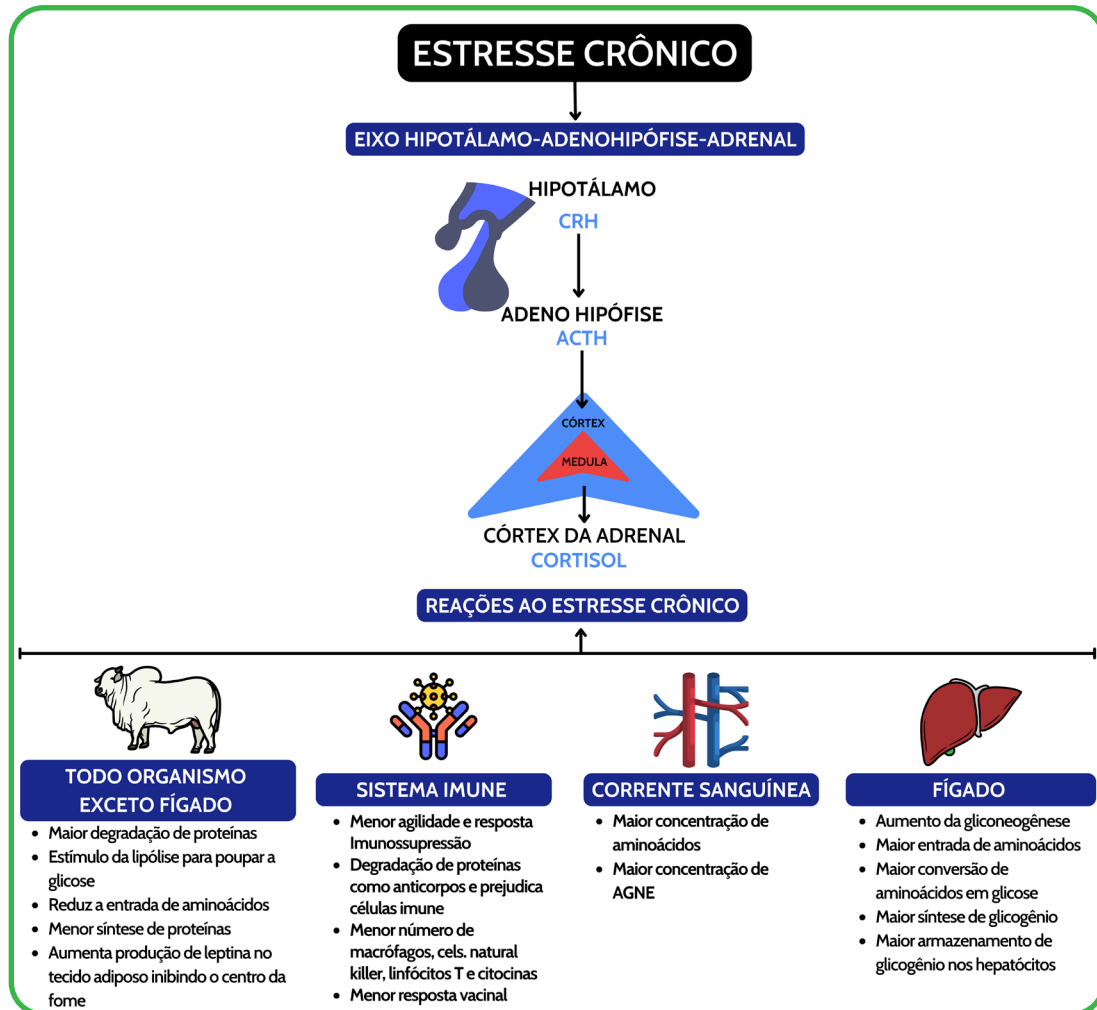
No estresse crônico, a situação estressante a qual o animal é exposto é de menor intensidade, mas se prolonga por um espaço de tempo maior que no estresse agudo. Alguns exemplos de estresse crônico comuns nos sistemas de produção de bovinos são: manejo nutricional inadequado (subnutrição e/ou desmineralização), estresse térmico por falta de sombreamento e/ou instalações inadequadas, animais de alta produção de leite submetidos ao constante

estresse térmico pelo calor, amamentação, alta infestação por endoparasitas e/ou ectoparasitas, e densidade populacional acima do recomendado por espaço ou hectare.

Conforme ilustrado na **Figura 2**, no estresse crônico ocorre a liberação de **CRH** que chega até a adenohipófise e promove o aumento da síntese e secreção de **ACTH**, e esse promove, agora, a liberação de **cortisol**. No estresse crônico, diferente do agudo, não haverá a liberação paralela de adrenalina e noradrenalina pela medula da adrenal, assim, todos os efeitos desencadeados no organismo são protagonizados pelo cortisol. O cortisol apresenta a gliconeogênese como principal mecanismo de ação, processo em que os aminoácidos, prioritariamente, são transformados em glicose no fígado. Para realizar tal tarefa de forma exímia, o cortisol desempenha várias ações: A) aumenta a disponibilização de aminoácidos, para isso, degrada proteínas em todas as células do organismo, menos nas células hepáticas, reduzindo as reservas de proteínas; B) em seguida, aumenta as concentrações de aminoácidos na corrente sanguínea; C) diminui a entrada de aminoácidos em todas as células, exceto nas hepáticas, encaminhando os aminoácidos da corrente sanguínea diretamente para o fígado; D) aumenta a síntese de enzimas nas células hepáticas que convertem aminoácidos em glicose; E) estimula a transformação dos aminoácidos em glicose nas células hepáticas; F) aumenta a síntese de enzimas que convertem glicose em glicogênio nas células hepáticas; G) aumenta o armazenamento de glicogênio nas células hepáticas; H) prioriza o uso de gordura como fonte de energia, estimulando a lipólise (quebra da gordura), para poupar a glicose como fonte de energia.

Assim, no **estresse crônico, todos os efeitos observados no organismo são desencadeados pelo cortisol** e estão sumarizados na **Figura 2**.

Figura 2. Representação esquemática da resposta e das reações do organismo ao estresse crônico pela ativação do eixo hipotalâmico-adenohipófise-adrenal, conseqüentemente, com a liberação de cortisol.



Legenda: CRH: hormônio liberador de corticotropina; ACTH: hormônio adrenocorticotrópico ou corticotropina; AGNE: ácidos graxos não esterificados..

Fonte: elaborada pelos autores.

Diante de tais efeitos, a quebra de proteína nos tecidos representa um grande antagonismo à produção de carne ou leite. Quanto mais reativo o animal, mais cortisol ele libera quando exposto à situação que gere o estresse crônico. Quanto mais elevadas as concentrações circulantes de cortisol, maior a degradação de proteína nos tecidos e menor a síntese de proteínas, processo que acarreta menor produção de carne e leite. Outro importante efeito se refere à degradação de proteínas, inclusive nos tecidos que compõe o sistema imune, promovendo uma **diminuição na atividade e agilidade do sistema imune, o que contribui para a imunossupressão**, efeito bastante negativo que favorece o desenvolvimento de agentes bacterianos e virais no organismo do animal, tornando-o muito mais predisposto às enfermidades. Nesse contexto, em um sistema de produção, recomenda-se que o estresse não natural, no

qual os animais podem ser submetidos, seja evitado. Recomenda-se, também, que o estresse natural, e que não pode ser evitado, seja minimizado pelas boas práticas do manejo racional. Torna-se igualmente importante trabalhar com animais selecionados para um temperamento adequado.

3 EFEITOS DO TEMPERAMENTO NO EIXO HIPOTÁLAMO-ADENOHIPÓFISE-ADRENAL (CORTISOL)

Baseando-se no conceito fisiológico de estresse, a resposta agitada e/ou agressiva manifestada por um animal com temperamento excitável, quando exposto ao manejo humano, pode ser atribuída ao medo e, conseqüentemente, à inabilidade do animal em lidar com a circunstância. As condições de manejo no curral, durante a contenção do animal no brete, promovem a resposta fisiológica do estresse agudo. Aique que o manejo racional seja realizado da forma mais recomendada (com uso de bandeiras de sinalização, sem gritos, tocando os animais a pé e de forma tranquila), a imposição de um ambiente novo ao animal (separação de lotes no curral, presença de pessoas, entrada e contenção no brete, bem como o próprio manejo pelo qual o animal está contido) promoverá o estresse agudo.

Durante o estresse, haverá um aumento nas concentrações circulantes de ACTH, cortisol, adrenalina e noradrenalina. Entretanto, dependendo do temperamento do animal, tal aumento poderá ser mais ameno ou severo. Um dos principais hormônios produzidos, no decorrer da resposta ao estresse, é o cortisol. Reportou-se que os animais mais reativos apresentaram maiores concentrações circulantes de ACTH (CURLEY JUNIOR *et al.*, 2008) e de cortisol (CURLEY JUNIOR *et al.*, 2008, COOKE *et al.*, 2011; MELLO *et al.*, 2020) do que os menos reativos, quando expostos, exatamente, à mesma situação desencadeadora do estresse. Em vários estudos, foi possível observar que as concentrações circulantes de cortisol são maiores em animais mais reativos, quando comparados aos menos reativos. Segundo Burdick *et al.* (2011), os efeitos gerados pelo cortisol vão depender de uma série de fatores, dentre eles a quantidade secretada, a duração da secreção, a concentração de cortisol ligado à globulina (proteína que transporta o cortisol na corrente sanguínea), a abundância relativa de receptores para o cortisol nos tecidos alvos e o nível metabolização do cortisol no organismo.

Curley Junior *et al.* (2008) realizaram um estudo para avaliar os efeitos do temperamento no eixo hipotálamo (CRH) – adenohipófise (ACTH) – adrenal (cortisol). As novilhas, classificadas como calmas (pouco temperamentais) ou reativas (muito temperamentais), foram submetidas ao desafio através da aplicação de um “bolus” intravenoso de CRH, condição que mimetizaria um estresse agudo. Amostras de sangue foram coletadas, a cada 15 minutos, no período compreendido entre 6 horas antes até 6 horas após a aplicação do “bolus” intravenoso de CRH. Posteriormente, as concentrações de ACTH e cortisol foram mensuradas nas amostras de sangue coletadas.

Nas novilhas mais reativas, antes do desafio, foram observadas maiores

concentrações circulantes de ACTH e cortisol, quando comparadas às calmas. Nesse estudo, verificou-se que as novilhas com o temperamento mais reativo, quando desafiadas, tiveram uma maior liberação de cortisol, enquanto a secreção de ACTH não diferiu entre os grupos. Os autores concluíram que a diferença fisiológica entre as novilhas, reativas e calmas, deve ocorrer especificamente na glândula adrenal. Após 6 horas do desafio, verificou-se que as concentrações de cortisol em novilhas calmas foram reduzidas mais rapidamente que em novilhas reativas. Assim, conclui-se que as novilhas reativas ficaram expostas, por mais tempo, às maiores concentrações circulantes de cortisol do que as novilhas calmas.

4 MÉTODOS UTILIZADOS PARA AVALIAR O COMPORTAMENTO ANIMAL

Os escores mais utilizados para a avaliação do comportamento animal são: o **escore de curral**, o **escore de brete** e o **escore de velocidade de fuga** (HULBERT *et al.*, 2011; FRANCISCO *et al.*, 2012). O **escore de curral** foi proposto por Fordyce, Goddard e Seifert (1982) e avalia a resposta comportamental do animal, quando ele está dentro de um pequeno curral de espera ou redondel e interage com uma pessoa localizada dentro do mesmo ambiente. O **escore de brete** é mensurado pela avaliação de parâmetros fisiológicos e comportamentais, durante a permanência do animal no brete de contenção. Sabe-se que, quanto maior a reatividade do animal, mais intensa é a resposta fisiológica e, proporcionalmente, maior é o aumento da frequência respiratória na situação de estresse. O nível de movimentação dentro do brete é compatível com o temperamento, quanto maior a reatividade, maior o nível de agitação, característica que demonstra a resistência e agressividade do animal ao estar contido (GRANDIN, 1993; BRUNO *et al.*, 2016, 2018; MELLO *et al.*, 2020). O **escore de velocidade de fuga** é um dos índices mais utilizados pelos pesquisadores para classificar o temperamento dos bovinos. Segundo Burrow, Seifert e Corbet (1988) e Mello *et al.* (2020), esse parâmetro se baseia na velocidade de saída dos animais do brete, sendo mais lenta em animais menos reativos e muito rápida em animais mais reativos. A velocidade de fuga também pode ser medida de forma bastante objetiva e precisa, Burrow, Seifert e Corbet (1988) e Bruno *et al.* (2016) descreveram um método, no qual se utiliza a colocação de um sensor infravermelho na saída do brete para mensurar a velocidade exata do animal para percorrer um trajeto de 1,68m, após o mesmo sair do brete, definindo uma velocidade expressa em metros/segundo. A partir da elaboração de tais avaliações de temperamento, muitos estudos passaram a mensurar a correlação do temperamento dos bovinos com o desempenho produtivo e reprodutivo.

Deve-se salientar que as metodologias foram correlacionadas quanto à efetividade da classificação, quando se verificou que, embora a avaliação ocorra por diferentes métodos, a classificação do animal por temperamento é mantida, independentemente da técnica utilizada. Todas as técnicas foram

avaliadas em conjunto com a concentração de cortisol sanguíneo, indicando que essas avaliações podem estimar o temperamento bovino e denotar o quanto de estresse comportamental o animal está vivenciando.

4.1 MÉTODOS DE ESCORE DE CURRAL

O método de escore de curral pode ser realizado com o animal não contido (solto), em um curral/redondel, ou com o animal contido (preso dentro do tronco de contenção), que serão aqui explanados. A metodologia de escore de curral foi proposta por Fordyce, Goddard e Seifert (1982) para avaliar a resposta comportamental individual do animal ao interagir com uma pessoa que está localizada dentro do mesmo ambiente. Caracterizado em uma escala de 1 a 5, o escore de curral aumenta à medida que o animal se torna mais agressivo em relação à pessoa que o observa. Dessa forma, avalia-se como **escore 1** o animal que se mostra confortável e calmo, que caminha, lentamente, para longe do avaliador; como **escore 2** o animal, ligeiramente, alarmado, que trota para longe do avaliador; como **escore 3** o animal, moderadamente, alarmado e excitado, que corre para longe do avaliador; como **escore 4** o animal muito alarmado e excitado, que corre com a cabeça erguida, podendo investir no avaliador; e como **escore 5** o animal muito excitado e agressivo, que parte em direção ao avaliador, exigindo sua saída rápida do espaço que divide com o animal para evitar um acidente.

Muitos programas de melhoramento genético avaliam o temperamento do animal, utilizando uma metodologia muito similar, apenas com pequenas diferenças nas características de escore. Por se tratar de uma medida individual e que precisa ser mensurada com praticidade, o Programa de Melhoramento PAINT, da CRV Lagoa, adota uma avaliação bastante interessante, que se baseia em posicionar o avaliador dentro de um curral e, em seguida, soltar o animal individualmente. Após, é prosseguida a avaliação do comportamento do animal ao se deparar com o avaliador, situação essa que remeterá medo no animal. Tal avaliação se baseia em cinco notas: **1 muito calmo** (o animal se movimenta muito calmamente de um lado para o outro, sem bater nas laterais do curral e sem se aproximar do avaliador), **2 calmo** (o animal se movimenta mais vigorosamente de um lado para o outro, agora, batendo nas laterais do curral, mas sem se aproximar do avaliador), **3** essa nota não existe (assume-se que não existe animal mais ou menos bravo), **4 reativo** (o animal se agita demais na presença humana, bate bastante nas laterais do curral e se aproxima relativamente do avaliador, ficando até a metade do percurso) e **5 muito reativo** (ao ser solto no curral, o animal investe, tentando pegar o avaliador).

Ao imaginar qual seria o comportamento ideal para um sistema de produção de bovinos de corte, os programas de melhoramento genético, na avaliação dos diferentes temperamentos, julgaram como ideal o animal com temperamento 2. No temperamento 1, apesar de serem animais fáceis de manejar, os mesmos apresentam uma apatia que faz com que caminhem, pastem e se alimentem menos e, por isso, apresentam menor ganho de peso

e desempenho zootécnico. Animais 4 e 5, além de serem muito difíceis de manejar, por serem mais reativos, gastam mais energia nas respostas fisiológicas de reatividade, diante de qualquer condição diária adversa, apresentando menor ganho de peso e desempenho zootécnico comparado ao 2. Deve-se salientar que temperamento é uma característica de significativa herdabilidade. Os programas de melhoramento verificaram que em rebanhos, até então não selecionados geneticamente para temperamento, a grande maioria dos animais eram classificados como 4 ou 5. Após o emprego de acasalamentos com o sêmen de touros, classificados com temperamento 2 na primeira geração de filhos, a grande maioria já se enquadrava no tipo 2, assim, o temperamento é uma característica que pode ser corrigida em um rebanho em um curto espaço de tempo (aproximadamente de 5 a 7 anos).

No método com contenção, o animal é colocado no tronco de contenção individual e avaliado quanto ao seu comportamento, durante o período que se mantiver contido no tronco. Essa avaliação pode ser realizada com o animal comprimido ou não pelas guilhotinas no tronco de manejo, entretanto, recomenda-se não comprimir, pois os animais comprimidos podem não expressar seu temperamento real. Para essa classificação, utiliza-se a escala de 1 a 5, de acordo com o seu comportamento, em que se considera: **escore 1** para o animal calmo e sem movimentação no tronco; **escore 2** para o animal com movimentos frequentes no tronco e sem vocalização; **escore 3** para o animal com movimentos frequentes no tronco e com vocalização; **escore 4** para o animal com movimentos frequentes no tronco, chegando a balançar o tronco de contenção e com vocalização; e **escore 5** para o animal que se debate violentamente e continuamente no tronco.

4.2 MÉTODOS DE ESCORE DE BRETE

As técnicas de contenção avaliam o temperamento do animal quando ele está fisicamente restrito, como em um tronco de manejo. Uma maneira de avaliar o temperamento do animal é baseado em uma técnica de contenção, em que se relaciona as características comportamentais com o escore de movimentação e o escore de respiração, durante a permanência do animal dentro do tronco de contenção, e o escore de velocidade de fuga, durante a saída do tronco. Os critérios de avaliação estão sumarizados no **Quadro 1**.

Quadro 1. Características comportamentais empregadas na avaliação da reatividade por cada escore.

| Escore de Movimentação | Características comportamentais |
|------------------------|--|
| 1 | Pouco ou nenhum deslocamento na maior parte do tempo, movimentos ocasionais e relaxados da cauda |
| 2 | Animal calmo, mas não permanece na mesma posição por muito tempo, movimentos de cauda ocasionais e vigorosos |

| | |
|-----------------------------|---|
| 3 | Movimentos frequentes e vigorosos do corpo e da cauda |
| 4 | Movimentos contínuos, vigorosos e abruptos, ocorrência de saltos, força a saída, movimentos frequentes da cauda |
| Escore de Respiração | Características comportamentais |
| 1 | Não audível |
| 2 | Audível e ritmada (semelhante à fisiológica) |
| 3 | Audível, muito profunda e ritmo diferente do fisiológico |
| 4 | Bufando e/ou roncando |
| Velocidade de Fuga | Características comportamentais |
| 1 | Animal que não sai do tronco de contenção e precisa ser tocado |
| 2 | Animal que sai do tronco de contenção caminhando |
| 3 | Animal que sai do tronco de contenção em velocidade mediana |
| 4 | Animal que sai do tronco de contenção em alta velocidade (correndo) |

Legenda: Características comportamentais empregadas na avaliação da reatividade por escore de movimentação (escore de 1 a 4), escore de respiração (escore de 1 a 4) e escore de velocidade de fuga (escore de 1 a 4).

Fonte: Mello *et al.* (2020).

Nessa avaliação, são coletados os dados do escore de movimentação (escores de 1 a 4), escore de respiração (escores de 1 a 4) e escore de velocidade de fuga (escores de 1 a 4). Os pontos provenientes dos três escores devem ser somados e o valor totalitário definirá o temperamento do animal. Para a classificação do temperamento, a soma dos pontos resultante em: **1 a 4, determina animais calmos; 5 a 8, reativos; e igual ou maior que 9, muito reativos.** Por exemplo, um animal classificado com escore de movimentação igual a 2, escore de respiração igual a 3 e escore de velocidade de fuga igual a 2; quando somados os valores (2 + 3 + 2), resultam em 7; o que o classificaria como reativo (entre 5 e 8 pontos totais).

4.3 MÉTODOS DE ESCORE DE VELOCIDADE DE FUGA

Nesse método, mede-se o tempo despendido pelo animal para percorrer uma distância pré-determinada, a partir do momento em que o mesmo deixa o tronco de contenção. Tal mensuração pode ser feita com extrema precisão, utilizando um sensor infravermelho, que mede o tempo exato necessário para o animal percorrer um trajeto de 1,68m, logo em seguida do mesmo sair do brete. Segundo a metodologia, descrita por Burrow, Seifert e Corbet (1988) e Cooke *et al.* (2011), após a determinação da velocidade de saída em metros/segundo de cada animal, os valores são subdivididos para formar cinco partes (quintis), criando grupos de 1 a 5, sendo 1 (primeiro quintil mais lento), 2 (segundo quintil mais lento), 3 (terceiro quintil mais lento), 4 (quarto quintil mais lento) e 5 (animais presentes no quintil mais rápido). Na ausência do sensor infravermelho, tal avaliação, embora menos precisa, pode ser realizada pela

observação visual do avaliador, em que se utiliza uma escala de 1 a 5 pontos, na qual 1 caracteriza o animal muito lento e 5 muito rápido (PETHERICK *et al.*, 2002; MÜLLER; KEYSERLINGK, 2006; SUTHERLAND; HUDDART, 2012; MELLO *et al.*, 2020).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os animais com temperamento mais reativo apresentam maior síntese e secreção de cortisol, quando comparados aos animais menos reativos, submetidos às mesmas circunstâncias. O cortisol promove a proteólise das proteínas em todos os tecidos, exceto o hepático, gerando uma condição fisiológica antagônica à alta produção de proteína no animal, traduzida pela produção de carne e/ou leite. Assim, torna-se fundamental avaliar os animais quanto ao temperamento e considerar que o mesmo se refere a um importante parâmetro, digno de avaliação zootécnica. Existem três métodos para classificação do temperamento: escore de curral, escore de brete e escore de velocidade de fuga. Tais metodologias são eficientes e de fácil implementação durante a rotina de manejo dos animais em um sistema de produção, permitindo, inclusive, implementar um programa de seleção por temperamento. O manejo racional compreende um conjunto de práticas que objetivam reduzir o nível de estresse em todos os animais durante os manejos usuais (Figura 3), tornando-se um grande aliado na minimização dos efeitos ocasionados pelo estresse gerado nos manejos usuais do sistema de produção.

Figura 3. Imagens de manejos usuais realizados em bovinos de corte, respeitando as boas práticas do manejo racional.



Legenda: A) utilização de bandeiras para tocar os animais; B) funcionários bem treinados para manejarem adequadamente os animais para que tenham um mínimo de estresse; C) deslocamento dos animais do pasto até o curral a cavalo, com tranquilidade e evitando gritos; D) manejo em bretes de contenção adequados e em bom estado de conservação; E) condução tranquila dos animais dentro da seringal por funcionários treinados; F) veterinários treinados para gerarem o mínimo de estresse ao animal durante a contenção.

Fonte: Mello *et al.* (2020).

Em tal prática, independentemente do temperamento, todos os animais são submetidos a uma condição menos estressante, que se torna fundamental para amenizar os efeitos negativos do estresse na produção e reprodução do rebanho. Em síntese, a seleção de animais com temperamento adequado, por meio de programas de melhoramento genético aliado ao manejo racional, torna-se fundamental na busca pelo desempenho máximo dos animais na cadeia produtiva. No próximo capítulo (Capítulo 18), abordaremos os efeitos do temperamento na produção e reprodução de bovinos de corte.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos financiadores dos nossos projetos de pesquisa relacionados ao tema: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) – Processos nº 2017/06521-3, nº 2015/03331-3 e nº 2015/22047-4, e Biogénesis Bagó.

REFERÊNCIAS

- BRANDÃO, A. P.; COOKE, E. F. Effects of temperament on reproduction of beef cattle. **Animals**, Basel, v. 11, n. 11, p. 1-11, 2021.
- BREUER, K.; HEMSWORTH, P. H.; BARNETT, J. L.; MATTHEWS, L. R.; COLEMAN, G. J. Behavioral response to humans and the productivity of commercial dairy cows. **Applied Animal Behavior Science**, Amsterdam, v. 66, n. 4, p. 273-288, 2000.
- BRUNO, K. A.; VANZANT, E.; VANZANT, K.; ALTMAN, A.; KUDUPOJE, M.; MCLEOD, K. Relationship between quantitative measures of temperament and other observed behaviors in growing cattle. **Applied Animal Behaviour Science**, [s. l.], v. 199, p. 59-66, 2018.
- BRUNO, K. A.; VANZANT, E. S.; VANZANT, K. A.; MCLEOD, K. R. Relationships of a novel objective chute score and exit velocity with growth performance of receiving cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 94, n. 11, p. 4819-4831, 2016.
- BURDICK, N. C.; RANDEL, R. D.; CARROLL, J. A.; WELSH JUNIOR., T. H. Interactions between temperament, stress, and immune function in cattle. **International Journal of Zoology**, [s. l.], v. 2011, p. 1-9, 2011.
- BURROW, H. M.; SEIFERT, G. W.; CORBET, N. J. A new technique for measuring temperament in cattle. *In*: AUSTRALIAN SOCIETY OF ANIMAL PRODUCTION, 18., 1988, Sydney. **Proceedings** [...]. Armidale: ASAP, 1988. p. 154-157.
- COOKE, R. F.; ARTHINGTON, J. D.; ARAUJO, D. B.; LAMB, G. C. Effects of acclimation to human interaction on performance, temperament, physiological responses, and pregnancy rates of Brahman-crossbred cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 87, n. 12, p. 4125-4132, 2009.
- COOKE, R. F.; BOHNERT, D. W.; MENEGHETTI, M.; LOSI, T. C., VASCONCELOS, J. L. M. Effects of temperament on pregnancy rates to fixed-timed AI in *Bos indicus* beef cows. **Livestock Science**, [s. l.], v. 142, n. 1-3, p. 108-113, 2011.
- CURLEY JUNIOR, K. O.; NEUENDORFF, G. C.; LEWIS, G. C.; CLEERE, G. C.; WELSH JUNIOR., G. C.; RANDEL, R. D. Functional characteristics of the bovine

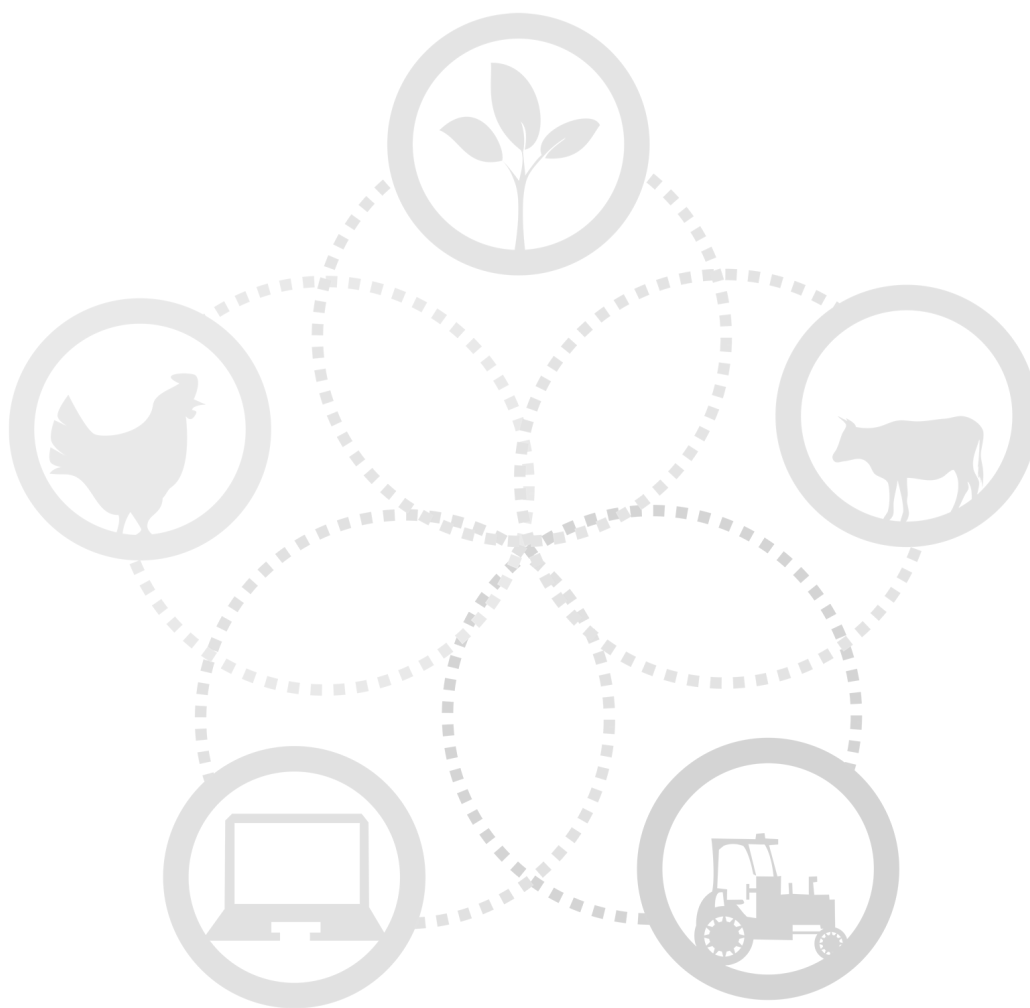
- hypothalamic-pituitary-adrenal axis vary with temperament. **Hormone and Behavior**, New York, v. 53, n. 1, p. 20-27, 2008.
- FELL, L. R.; COLDITZ, I. G.; WALKER, K. H.; WATSON, D. L. Associations between temperament, performance and immune function in cattle entering a commercial feedlot. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, [s. l.], v. 39, n. 7, p. 795-802, 1999.
- FORDYCE, G.; GODDARD, M. E.; SEIFERT, G. W. The measurement of temperament in cattle in the effect of experience and genotype. In: AUSTRALIAN SOCIETY OF ANIMAL PRODUCTION, 14., 1982, Brisbane. **Proceedings** [...]. Sydney: Pergamon, 1982. p. 329-332.
- FORDYCE, G.; GODDARD, M. E.; TYLER, R.; WILLIAMS, G.; TOLEMAN, M. A. Temperament and bruising of Bos indicus cross cattle. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, [s. l.], v. 25, n. 2, p. 283-288, 1985.
- FORDYCE, G.; WYTHES, J. R.; SHORTHOSE, W. R.; UNDERWOOD, D. W.; SHEPHERD, R. K. Cattle temperaments in extensive beef herds in northern Queensland. 2. Effect of temperament on carcass and meat quality. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, [s. l.], v. 28, p. 689-693, 1988.
- FRANCISCO, C. L.; COOKE, R. F.; MARQUES, R. S.; MILLS, R. R.; BOHNERT, D. W. Effects of temperament and acclimation to handling on feedlot performance of Bos taurus feeder cattle originated from a rangeland-based cow-calf system. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 90, n. 13, p. 5067-5077, 2012.
- GRANDIN, T. Behavioral agitation during handling of cattle is persistent over time. **Applied Animal Behaviour Science**, [s. l.], v. 36, n. 1, p. 1-9, 1993.
- HULBERT, L. E.; CARROLL, J. A.; BURDICK, N. C.; RANDEL, R. D.; BROWN, M. S.; BALLOU, M. A. Innate immune responses of temperamental and calm cattle after transportation. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 143, n. 1-2, p. 66-74, 2011.
- MELLO, B. P.; MATURANA FILHO, M.; LEMES, K. M.; GONÇALVES, R. L.; LOLLATO, J. P. M.; ZANELLA, A. J.; FERREIRA, T. F. V.; PUGLIESI, G.; MADUREIRA, E. H.; GONELLA-DIAZA, A.; MEMBRIVE, C. M. B. Importance of temperament in the pregnancy by timed insemination in bovine females Bos taurus indicus. **Livestock Science**, [s. l.], v. 240, p. 1-6, 2020.
- MÜLLER, R.; KEYSERLINGK, M. A. G. Consistency of flight speed and its correlation to productivity and to personality in Bos Taurus beef cattle. **Applied Animal Behaviour Science**, [s. l.], v. 99, n. 3-4, p. 193-204, 2006.
- PETHERICK, J. C.; HOLROYD, R. G.; DOOGAN, V. J.; VENUS, B. K. Productivity, carcass and meat quality of lot-fed Bos indicus cross steers grouped according to temperament. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, [s. l.], v. 42, n. 4, p. 389-398, 2002.
- RUEDA, P. M.; SANT'ANNA, A. C.; VALENTE, T. S.; PARANHOS DA COSTA, M. J. R. Impact of the temperament of Nellore cows on the quality of handling and pregnancy rates in fixed-time artificial insemination. **Livestock Science**, [s. l.], v. 177, p. 189-195, 2015.
- SMITH, D. L.; SMITH, T.; RUDE, B. J.; WARD, S. H. Short communication: comparison

of the effects of heat stress on milk and component yields and somatic cell score in Holstein and Jersey cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 96, n. 5, p. 3028-3033, 2013.

SUTHERLAND, M. A.; HUDDART, F. J. The effect of training first-lactation heifers to the milking parlor on the behavioral reactivity to humans and the physiological and behavioral responses to milking and productivity. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 95, n.12, p. 6983-6993, 2012.

VAN REENEN, C. G.; VAN DER WERF, J. T. N.; BRUCKMAIER, R. M.; HOPSTER, H.; ENGEL, B.; NOORDHUIZEN, J. P. T. M.; BLOKHUIS, H. J. Individual differences in behavioural and physiological responsiveness of primiparous dairy cows to machine milking. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 10, p. 2551-2561, 2002.

VOISINET, B. D.; GRANDIN, T.; O'CONNOR, S. F.; TATUM, J. D.; DEESING, M. J. Bos indicus-cross feedlot cattle with excitable temperaments have tougher meat and a higher incidence of borderline dark cutters. **Meat Science**, Oxford, v. 46, n. 4, p. 367-377, 1997.



CAPÍTULO 18

EFEITOS DO TEMPERAMENTO NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO EM BOVINOS DE CORTE

Barbara Piffero Mello Marinovic

Doro

Médica Veterinária, Fundadora e Gerente
Técnica da empresa RUMBO Projectos
Ganaderos, Caaguazú, Paraguay.

Dayane Colhados Cabrini

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.

Laura Chuba Machado Rolniche

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.

Lucas de Oliveira Bezerra

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Instituto de Biociências, Programa de Pós-
Graduação em Ciências Biomoleculares e
Farmacológicas, Botucatu, São Paulo, Brasil.

Adriano Felipe Mendes

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Instituto de Biociências, Programa de Pós-
Graduação em Ciências Biomoleculares e
Farmacológicas, Botucatu, São Paulo, Brasil.

Claudia Maria Bertan Membrive*

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Instituto de Biociências, Programa de Pós-
Graduação em Ciências Biomoleculares e
Farmacológicas, Botucatu, São Paulo, Brasil.

***Autor correspondente:**

claudia.bertan@unesp.br

Resumo

Em estudos recentes, demonstrou-se que o temperamento animal determina implicações produtivas e econômicas nos sistemas de produção de carne bovina. Nos últimos anos, os estudos que investigam tal repercussão aumentaram significativamente, visto que o temperamento determina efeitos negativos na saúde, na produção e na reprodução, além de afetar o nível de dificuldade em manejar os animais. O rebanho nacional de corte é constituído por animais zebuínos (*Bos indicus*) e seus cruzamentos em mais de 80%, criados, predominantemente, em sistemas extensivos. Assim, ambos os fatores (temperamento, genética e sistemas extensivos) associados predispõem a maioria dos animais a apresentarem maior reatividade. Na pecuária de precisão, a seleção de animais, também por temperamento, torna-se muito importante. Neste capítulo, complementar ao anterior, serão apresentados os efeitos do temperamento na produção e na reprodução de bovinos de corte. Nosso grupo de pesquisa realizou alguns experimentos que avaliaram os efeitos do temperamento na reprodução de fêmeas bovinas de corte, submetidas aos programas de Inseminação Artificial em Tempo Fixo, e os resultados mais relevantes estão aqui apresentados e discutidos.

1 INTRODUÇÃO

O temperamento animal afeta o sistema de produção de carne bovina, por reduzir a performance produtiva e reprodutiva nos animais mais reativos, quando comparados com os menos reativos. Independentemente da raça, os bovinos mais reativos apresentam menor ingestão de matéria seca (NKRUMAH *et al.*, 2007; ALLEN; BRADFORD; OBA, 2009), menor crescimento (VOISINET *et al.*, 1997a; NKRUMAH *et al.*, 2007; COOKE *et al.*, 2014) e menor qualidade de carcaça (VOISINET *et al.*, 1997b; KING *et al.*, 2006; CAFE *et al.*, 2011), quando comparados com os animais menos reativos. Foi reportado, também, que os animais mais reativos apresentam fragilidades no sistema imune, condição que os tornam imunossuprimidos e mais predispostos às enfermidades (FELL *et al.*, 1999; BURDICK *et al.*, 2011). Em relação aos aspectos reprodutivos, em decorrência dos animais mais reativos terem menor ingestão de matéria seca e redução no ganho de peso, também apresentam maior idade à puberdade. Ademais, foi observado que a maior reatividade determina menor taxa de prenhez, maior mortalidade embrionária precoce e, conseqüentemente, menor taxa de natalidade. Em complemento, foram observadas alterações na quantidade e na qualidade do leite produzido em fêmeas mais reativas, resultando em bezerros menos pesados ao desmame (COOKE *et al.*, 2011, 2012; KASIMANICKAM *et al.*, 2014; RUEDA *et al.*, 2015).

Nos últimos anos, na premissa de atender uma maior rentabilidade, a pecuária vem exigindo a intensificação dos sistemas de produção e um maior controle dos seus indicadores de desempenho. Os índices zootécnicos, como o ganho de peso diário, a eficiência alimentar, a produtividade de arrobas de carne por hectare, o intervalo entre partos, a taxa de prenhez, a taxa de desmame e o peso do bezerro ao desmame, se tornam determinantes para o sucesso no sistema de produção de carne. De forma geral, a reatividade dos animais prejudica o metabolismo nutricional e, dessa forma, o crescimento e ganho de peso dos animais, resultando em menor performance produtiva e reprodutiva. Neste capítulo, será abordado, com base na fisiologia, os efeitos do temperamento na produção e reprodução de bovinos de corte.

2 EFEITOS DO TEMPERAMENTO NA PRODUÇÃO ANIMAL

Em animais mais reativos, durante o estresse crônico, ocorre a liberação do **hormônio liberador de corticotropina (CRH)** pelo hipotálamo, que chega até a adenohipófise e promove o aumento da síntese e secreção do **hormônio adrenocorticotrópico ou corticotropina (ACTH)**, e esse promove, agora, o aumento da síntese e secreção de **cortisol** pelo córtex das glândulas adrenais. No estresse crônico, todos os efeitos desencadeados no organismo são protagonizados pelo cortisol, que apresenta a gliconeogênese como principal mecanismo de ação, processo em que os aminoácidos, prioritariamente, são transformados em glicose no fígado. Para realizar tal tarefa de forma exímia, o cortisol amplia suas ações, degradando proteínas em todas as células do organismo, menos nas células hepáticas.

Desse modo, a quebra de proteína nos tecidos representa um grande antagonismo à produção de carne ou leite, que exige maior síntese de proteínas e menor degradação das mesmas. Quanto mais reativo o animal, maior a liberação de cortisol diante de uma circunstância que gere o estresse crônico. Quanto mais elevadas as concentrações circulantes de cortisol, maior a degradação de proteína nos tecidos e menor a síntese de proteínas, processo que acarreta menor produção de carne e leite. Neste capítulo, em complemento ao anterior, serão discorridos os efeitos do temperamento no metabolismo geral do organismo.

2.1 EFEITOS DO TEMPERAMENTO NO METABOLISMO CORPORAL

Com base em alterações no metabolismo energético, Petherick *et al.* (2002) encontraram uma correlação negativa entre a velocidade de fuga e o ganho de peso diário (GPD), ou seja, quanto maior a velocidade de fuga (maior reatividade do animal), menor foi o GPD. Em um estudo realizado por Bruno *et al.* (2016), verificou-se que os animais com maior velocidade de fuga apresentaram menor ingestão de matéria seca, embora não tenha sido observado o efeito do temperamento no GPD. Os autores sugerem, diante das observações, que o maior efeito negativo do temperamento decorra do menor consumo de alimento e não do maior gasto energético com a reatividade do animal, sugerindo que o menor consumo de matéria seca desempenha um papel mais negativo no GPD do que o maior gasto energético em decorrência da reatividade.

Uma possibilidade relatada é que animais com temperamento mais reativo apresentam menor crescimento e eficiência alimentar. Alguns autores alegam que tal efeito decorra da hierarquia social existente entre os animais do rebanho. A dominância é um componente importante do comportamento social em bovinos, em que os animais estabelecem uma hierarquia social, determinando os dominantes e subordinados. Acredita-se que, enquanto os animais mais reativos não definem uma hierarquia de dominância, há uma redução no consumo de alimento nos animais mais reativos. Após o estabelecimento da hierarquia, observou-se que os animais mais reativos apresentaram uma estabilização no consumo de alimento (WIENER, 2015). Cafe *et al.* (2011) demonstraram que os animais com maior velocidade de fuga gastam menos tempo se alimentando, e que a ingestão de matéria seca tende a ser menor. Nesse mesmo estudo, sugere-se que animais mais reativos teriam maior gasto de energia em função do aumento no comportamento vigilante, assim, resultando em pior eficiência alimentar. Segundo Agarwal, Rout e Singh (2009), além desses efeitos em animais mais reativos, o aumento das concentrações circulantes de cortisol promove um crescimento nas concentrações circulantes de leptina, que inibe no hipotálamo o centro da fome, caracterizando uma diminuição na ingestão de alimentos.

A redução na ingestão de matéria seca em bovinos mais reativos influencia, também, o metabolismo energético em relação às reservas de gordura, que,

como resposta, há um **aumento da lipólise** e uma maior concentração sérica de **ácidos graxos não esterificados (AGNE)** nos mais reativos (ALLEN; BRADFORD; OBA, 2009; BURDICK SANCHEZ *et al.*, 2012, 2014). Burdick Sanchez *et al.* (2016) submetem novilhos meio sangue Angus - calmos e reativos - a testes de tolerância à glicose (TTG) e de sensibilidade à insulina (TSI). Em relação ao TTG, observaram que os animais mais reativos apresentaram maiores concentrações séricas de AGNE e de glicose e menores concentrações de insulina, quando comparado com os animais calmos. Em resposta ao TSI, os animais reativos apresentaram maiores concentrações séricas de insulina, quando comparados aos novilhos calmos. Os autores concluíram que essas alterações metabólicas, encontradas em animais mais reativos, podem ter ocorrido devido às elevadas concentrações séricas de AGNE, que são capazes de alterar o metabolismo de utilização e redistribuição energética pelos animais.

2.2 EFEITOS DO TEMPERAMENTO SOBRE A QUALIDADE DA CARNE

Os fatores que antecedem o abate dos bovinos, como longas viagens, estresse hídrico, estresse pelo calor, manejo inadequado em currais de espera e taxa de lotação inadequada no transporte e na espera, geram estresse nos animais. A intensidade do estresse é variável de acordo com o temperamento do animal, sendo mais intenso nos animais mais reativos. Em animais mais reativos, relata-se efeitos negativos mais acentuados na qualidade da carcaça. Após a morte do animal, torna-se necessária uma queda no pH muscular decorrente da produção de ácido láctico, como o estabelecimento de um pH de 5,5 nas primeiras 24h *pós mortem*; tal condição torna-se fundamental para promover um menor encurtamento das fibras musculares, assim, garantindo a maciez da carne. O estresse afeta negativamente a redução do pH no músculo após a morte do animal, determinando um maior encurtamento das fibras musculares e, conseqüentemente, um endurecimento da carne.

Segundo Apple *et al.* (1995), em animais reativos, o estresse exacerbado antes do abate pode gerar uma parcial ou total degradação das reservas de glicogênio nos músculos. A menor reserva energética muscular não é suficiente para sustentar o metabolismo anaeróbico e a produção de ácido láctico. Assim, nesse processo, a carne terá um pH maior que 5,8, condição que determinará uma maior retenção de água pelas proteínas musculares, gerando uma carne dura (pouco macia), escura e com menor tempo de conservação nas prateleiras. Na ausência de ácido láctico e glicose livre, as bactérias presentes na carne passam a utilizar os aminoácidos da carne como substrato de multiplicação, condição que gera produtos metabólicos que irão determinar um odor desagradável na carne. Em função do desenvolvimento das bactérias produtoras de ácido sulfídrico (H_2S), tal carne também pode apresentar pigmentos de cor verde, como a deposição de sulfomioglobina. Essa condição descrita é conhecida como carne bovina de corte escuro "*dark-cutting beef*" ou como "*dark, firm and dried*" (DFD), que caracteriza uma carne escura, firme e seca; produto indesejável pelo mercado consumidor.

Em animais com temperamento mais reativos, observou-se maior incidência de carne DFD. Atualmente, a maciez da carne é medida pela força de cisalhamento Warner-Bratzle. Animais mais reativos, quando abatidos, apresentam a carne com maior força de cisalhamento Warner-Bratzle, resultante de uma carne menos macia (FALKENBERG *et al.*, 2005; VOISINET *et al.*, 1997ab). No estudo de Shorthose (1988), observou-se que bovinos abatidos - provenientes de confinamentos - apresentaram menor porcentagem de incidência de carne DFD, quando verificou-se que 16% dos animais a pasto abatidos e 70% dos animais abatidos confinados tinham menos de 5% de incidência de DFD (pH > 5,7), condição altamente recomendável para a qualidade da carne. Os autores atribuíram a diferença encontrada ao temperamento mais calmo dos animais provenientes de confinamento.

Existe uma moderada correlação entre temperamento e maciez da carne, em que animais mais reativos tendem a ter uma carne mais firme. Estudos demonstraram uma correlação positiva entre as avaliações de temperamento pela velocidade de fuga, pelo escore de curral e pelo escore de brete com as concentrações de cortisol do animal ao entrar em confinamento e com a força de cisalhamento Warner-Bratzle 7 dias *post mortem* (KING *et al.*, 2006). Duas enzimas apresentam um papel de extrema importância para a maciez da carne, a calpaína e a calpastatina, ambas utilizam o cálcio como substrato e atuam na degradação das fibras musculares após o *rigor mortis*. A calpaína age, diretamente, na degradação das fibras musculares, causando um enfraquecimento da estrutura muscular, condição determinante para o amaciamento da carne. A calpastatina tem função inibitória da calpaína, a interação entre essas duas enzimas depende da concentração de cálcio no meio e, quando se forma o complexo calpaína-calpastatina, a calpaína se torna inativa, não ocorrendo a degradação das fibras musculares, condição que gera uma carne mais firme e menos macia. King *et al.* (2006) não evidenciaram diferença na atividade da calpastatina entre diferentes grupos de temperamento (calmo, intermediário e excitável) até 72 horas *post mortem*. Considerando que, nesse estudo, as análises não prosseguiram após 72 horas e que a diferença na maciez foi evidenciada 7 dias *post mortem*, os autores sugerem que a diferença na atividade das calpastatinas pode estar desencadeada após 72 horas de abate. Em condições de maior estresse oxidativo, ocorre o aumento da força iônica *post mortem*, promovendo uma diminuição da atividade da L-calpaína, assim, reduzindo a proteólise das proteínas do citoesqueleto, condição que restringiria a maciez da carne (ROWE *et al.*, 2004a; 2004b). Animais mais reativos apresentam menor atividade antioxidante, portanto, maior estresse oxidativo, o que pode explicar os resultados obtidos por King *et al.* (2006), de que as correlações entre a força de cisalhamento de Warner-Bratzler e o temperamento foram maiores ao longo do tempo, em que o armazenamento mais longo *post mortem*, provavelmente, proporcionou a oportunidade necessária para serem evidenciadas as diferenças na proteólise.

Nos estudos relacionando o estresse e o temperamento com a maciez da carne, a possível explicação para as discrepâncias observadas deve estar

na resposta imediata (estresse agudo) e nos efeitos a longo prazo (estresse crônico). Como explicado no capítulo anterior, a curto prazo, o estresse agudo provocado, imediatamente, antes do abate promove a liberação tanto de glicocorticoides (principalmente cortisol) como de catecolaminas (adrenalina e noradrenalina), que produzem um efeito catabólico no tecido muscular, iniciando a degradação proteolítica do tecido muscular *post mortem*, importante para determinar a maciez da carne (EXTON, 1987). Entretanto, sob condições de estresse crônico em animais mais excitáveis antes do abate, o aumento das concentrações circulantes de cortisol promove um aumento da quebra de glicogênio no tecido muscular, condição que prejudica a redução do pH *post mortem*, e, além disso, o cortisol irá para poupar a glicose como fonte de energia e estimulará a proteólise e lipólise. Nesse contexto, é evidente a importância do acúmulo de gordura, principalmente entre as fibras musculares, caracterizando o marmoreio, para promoção da maciez da carne (SCHAEFER; JONES; STANLEY, 1997; PARKER *et al.*, 2003). Esses efeitos ocorrem a longo prazo muito antes do abate, gerando uma carne de menor qualidade.

Segundo Café *et al.* (2011), além desses efeitos, animais com maior velocidade de fuga (mais reativos) apresentaram menor peso de carcaça e espessura de gordura subcutânea na costela, quando comparados com animais de menor velocidade de fuga (menos reativos). Fordyce *et al.* (1985) e Fordyce *et al.* (1988) reportaram que animais mais reativos apresentaram maior grau de escoriações e contusões na carcaça, quando comparados com animais mais calmos, devido a maior chance de se acidentarem nas instalações.

A maior reatividade dos animais gera consequências ao metabolismo nutricional, influenciando o desenvolvimento e o ganho de peso e a qualidade da carcaça e da carne. Os principais efeitos do temperamento na produção animal estão sumarizados na **Figura 1**.

Figura 1. Representação esquemática dos efeitos do temperamento no metabolismo corporal e na qualidade da carcaça e da carne.



Legenda: IMS: ingestão de matéria seca; AGNE: ácidos graxos não esterificados; GPD: ganho de peso diário; DFD: dark, firm and dried (carne escura, firme e seca).

Fonte: elaborada pelos autores.

2.3 EFEITOS DO TEMPERAMENTO NO SISTEMA IMUNOLÓGICO

Sabe-se, comprovadamente, que animais mais reativos apresentam maiores concentrações basais de cortisol. O cortisol é o principal representante do grupo dos hormônios glicocorticoides produzidos pela adrenal. Os glicocorticoides, quando utilizados em doses farmacológicas, apresentam efeitos anti-inflamatórios e imunossupressores. Um bom exemplo de suas ações se refere aos pacientes que passaram por transplante de órgãos tratados, previamente ao transplante, com glicocorticoides (cortisol), com o objetivo de suprimir o sistema imune, reduzindo, assim, as chances de rejeição do órgão após o transplante.

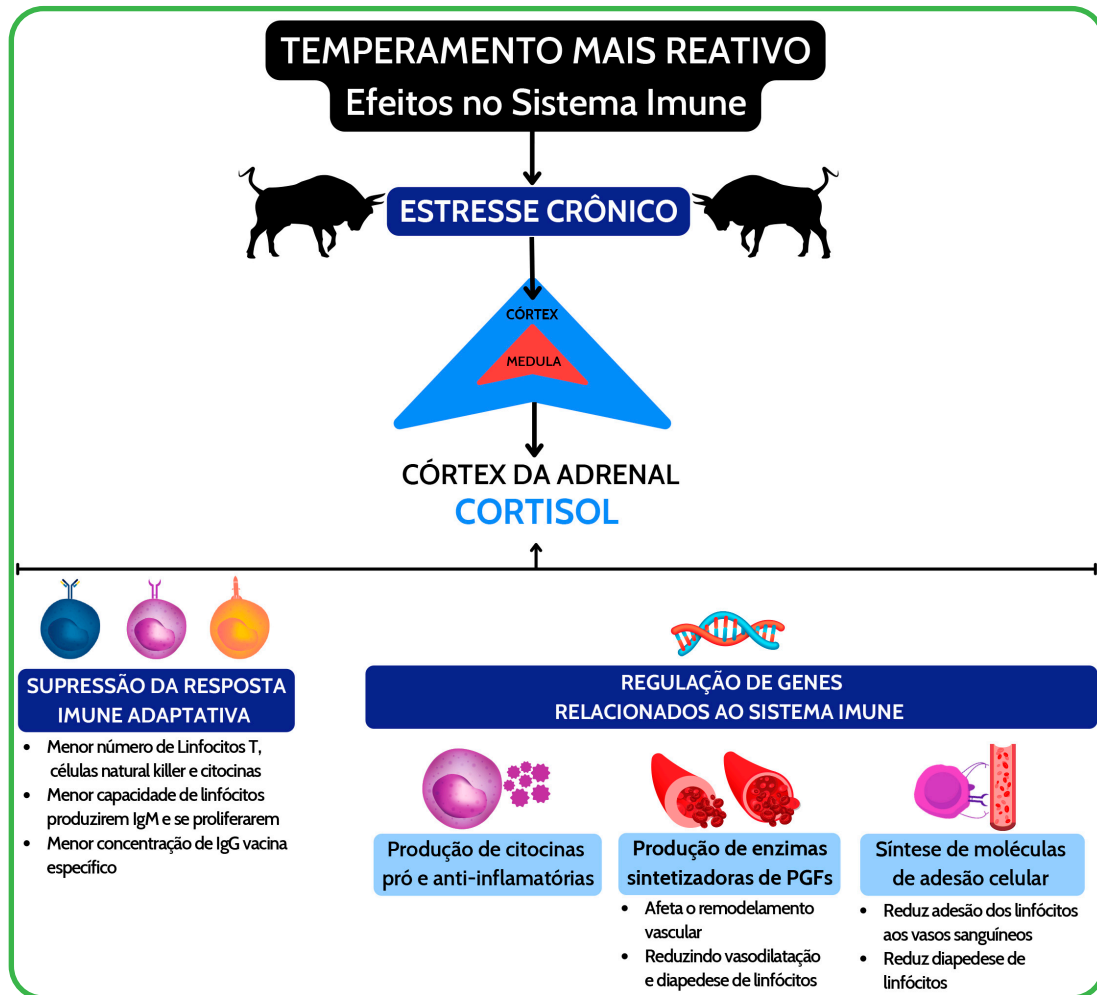
Os glicocorticoides também apresentam um importante papel regulatório no sistema imunológico. Existe uma série de genes relacionados à função do sistema imune que são especificamente regulados por glicocorticoides. Dentre algumas funções importantes, temos a produção de citocinas pró- e anti-

inflamatórias, de enzimas sintetizadoras de prostaglandinas e de moléculas de adesão celular. As enzimas sintetizadoras de prostaglandinas são importantes para o remodelamento vascular, para permitir a vasodilatação e a diapedese de leucócitos (compressão de leucócitos entre duas células endoteliais para que eles possam adentrar o tecido alvo). As moléculas de adesão celular permitem o ligamento inicial entre os leucócitos e as células endoteliais, ação importante para a forte ligação que precede a diapedese. O aumento das concentrações de cortisol também prejudica a imunidade dos animais, por promover um decréscimo no número de macrófagos, de células natural killer, de linfócitos T e de citocinas (JAIN *et al.*, 1991).

Evidenciou-se, por meio de alguns estudos, que o temperamento pode influenciar a resposta imunológica do animal. Animais mais reativos, que desenvolvem uma resposta fisiológica mais intensa ao estresse, apresentam uma supressão da resposta imunológica adaptativa (CARROLL; FORSBERG, 2007). Ainda é limitada a quantidade de estudos que demonstram, fisiologicamente, como o temperamento influencia o sistema imunológico em bovinos. Oliphint (2006) demonstrou que as novilhas Brahman mais reativas apresentaram menor proliferação *in vitro* de linfócitos e menor concentração *in vivo* de IgG vacina-específico, quando comparadas com as novilhas calmas. Verificou-se que animais mais reativos apresentaram menor resposta à vacinação.

Em outro estudo, Bauer *et al.* (2001) verificaram que quanto maior o escore de temperamento (mais reativo o animal), menor são as concentrações séricas de IgG, assim como menor é a capacidade de linfócitos isolados produzirem IgM e se proliferarem. Em um estudo mais recente, Bruno *et al.* (2018) verificaram que animais com maior velocidade de fuga (mais reativos) apresentaram uma menor titulação de anticorpos em resposta à vacina contra leptospirose, quando comparado com animais com menor velocidade de fuga (mais calmos). Tais resultados podem ser explicados através dos efeitos gerais sobre a função imune causados pelo estresse crônico, mas faltam estudos mais aprofundados para responderem, com base na fisiologia, por meio de qual mecanismo o temperamento influencia o sistema imunológico de bovinos (BURDICK *et al.*, 2011; BRUNO *et al.*, 2018). Os principais efeitos do temperamento no sistema imune estão sumarizados na **Figura 2**.

Figura 2. Representação esquemática dos efeitos do temperamento mais reativo sobre o sistema imune de bovinos mais reativos.



Legenda: IgM: imunoglobulina M; IgG: imunoglobulina G; PGFs: prostaglandinas.

Fonte: elaborada pelos autores.

3 EFEITOS DO TEMPERAMENTO NA REPRODUÇÃO ANIMAL

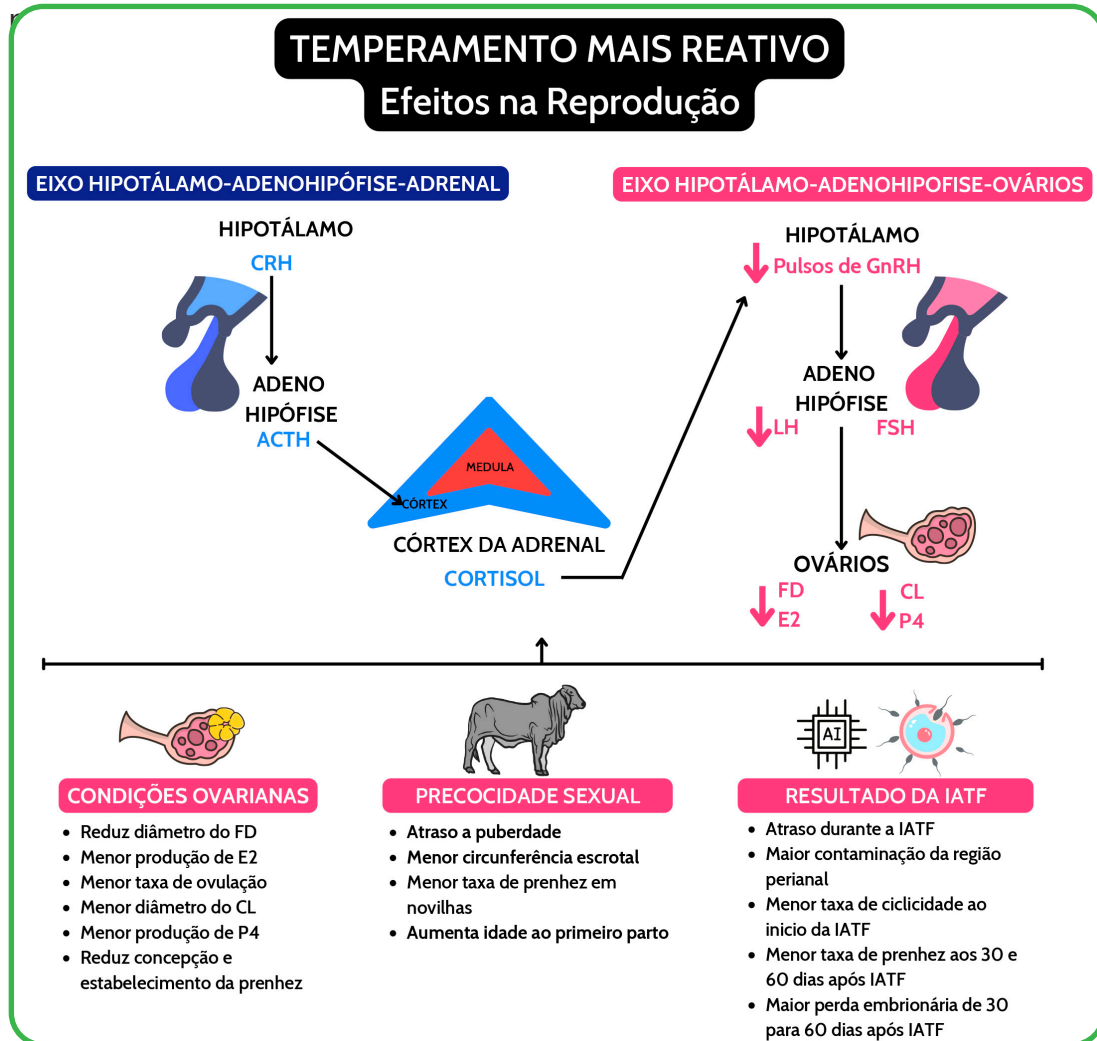
Reportou-se que animais mais reativos apresentaram maiores concentrações circulantes de cortisol e leptina, condição fisiológica que diminui a ingestão de alimentos e o crescimento. Esses efeitos promoveriam a diminuição dos nutrientes disponíveis para a manutenção das funções corporais e o aumento das concentrações circulantes de ácidos graxos não esterificados. Tal condição nutricional influenciaria grandemente o desempenho reprodutivo das fêmeas bovinas, aumentando a idade à puberdade, promovendo menores concentrações circulantes de hormônio luteinizante (LH), o desenvolvimento de folículo dominante com menor diâmetro, assim como a redução nas taxas de prenhez.

A Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) é uma biotecnologia reprodutiva cada vez mais utilizada, com o objetivo de reduzir o intervalo entre partos, além de promover o melhoramento genético dos produtos nascidos.

Fêmeas bovinas mais reativas também requerem maior tempo necessário para realizar o ato da inseminação, desfavorecendo os manejos da IATF. Compreendendo ser necessário intensificar o manejo dos animais durante o procedimento de IATF, circunstância em que um grande número de fêmeas é manejado em um curto intervalo de tempo, a seleção de fêmeas menos reativas torna-se fundamental para a aplicação de tal biotecnologia. Considerando que fêmeas mais reativas ao manejo, fisiologicamente, apresentam um maior nível de estresse, observou-se que o comportamento mais reativo promoveu menores taxas de prenhez tanto em novilhas (KASIMANICKAM *et al.*, 2014) como em vacas pluríparas (COOKE *et al.*, 2011, 2012; RUEDA *et al.*, 2015). Há evidências de que vacas muito reativas eliminam mais fezes e urina durante o manejo no curral, quando comparadas com vacas menos reativas. Em rebanhos com maior nível de estresse, verificou-se que as fêmeas apresentaram maior nível de sujidades na região perineal no momento da inseminação, condição que aumenta o risco de contaminação do trato reprodutivo da fêmea, resultando em menor taxa de concepção (RUEDA *et al.*, 2015).

O comportamento mais reativo também foi associado aos menores índices reprodutivos decorrentes de modificações fisiológicas na ovulação, na concepção e no estabelecimento da prenhez. Verificou-se que vacas mais reativas possuíram maiores concentrações de cortisol plasmático e menores concentrações de LH (ECHTERNKAMP, 1984), possivelmente decorrente da redução de pulsos de hormônio liberador de gonadotrofinas (DOBSON; SMITH, 2000). Portanto, o temperamento excitável resulta em uma menor secreção de LH, presumivelmente contribuindo com a redução no diâmetro do folículo dominante e do corpo lúteo formado e, conseqüentemente, determinando menores concentrações circulantes de progesterona (P4) e menores taxas de prenhez. Os principais efeitos do temperamento na reprodução animal estão sumarizados na **Figura 3**.

Figura 3. Representação esquemática dos efeitos do temperamento mais reativo sobre a reprodução de bovinos mais reativos, suas condições ovarianas,



Legenda: CRH: hormônio liberador de corticotropina; ACTH: hormônio adrecorticotrópico ou corticotropina; GnRH: hormônio liberador de gonadotrofina; LH: hormônio luteinizante; FSH: hormônio folículo estimulante; FD: folículo dominante; CL: corpo lúteo; E2: estradiol; P4: progesterona; IATF: inseminação artificial em tempo fixo.

Fonte: elaborada pelos autores.

Atualmente, vem sendo estudada a herdabilidade de indicadores de temperamento. Sant'Anna *et al.* (2015) avaliaram a variabilidade genética de indicadores de temperamento em animais da raça Nelore. A herdabilidade dos indicadores avaliados foi de 0,15 no escore de temperamento (ET) após a saída do tronco de contenção; de 0,18 no escore de movimentação (EM) durante a permanência no tronco de contenção; de 0,19 no escore de contenção (EC), no qual foi avaliada a reatividade em geral durante a permanência do animal no tronco de contenção; e, por fim, de 0,35 no escore de velocidade de fuga (VF). Concluiu-se que, para todos os indicadores, houve variabilidade genética suficiente para responder a seleção genética e que a utilização do escore de VF é mais eficiente para ser utilizada em programas de seleção genética.

Outros estudos, do mesmo modo, foram realizados para avaliar a herdabilidade de indicadores de temperamento animal e a correlação desses com indicadores reprodutivos. Valente *et al.* (2015) avaliaram em animais da raça Nelore a correlação entre EM, VF e EC com idade ao primeiro parto, a ocorrência de prenhez precoce (fêmeas que pariram com menos de 30 meses) e a circunferência escrotal. Nesse estudo, observou-se que todos os indicadores apresentaram variabilidade genética suficiente para responder a seleção genética, corroborando com dados de Sant'Anna *et al.* (2015), entretanto, observou-se baixa correlação entre os indicadores de temperamento e os indicadores reprodutivos. Em síntese, concluiu-se que a seleção apenas por parâmetros reprodutivos não promove melhorias no temperamento dos animais do rebanho.

Resultados semelhantes também foram encontrados anteriormente por Barrozo *et al.* (2012), que verificaram baixa correlação genética entre EC e a idade do primeiro parto de novilhas da raça Nelore. Entretanto, Phocas *et al.* (2006) verificaram que, em novilhas da raça Limousin, havia correlação genética positiva entre a docilidade dos animais (fêmeas mais calmas) com a idade à puberdade, a facilidade no parto e a fertilidade desses animais.

Valente *et al.* (2017) realizaram outro trabalho, no qual avaliaram a correlação entre indicadores de temperamento e dois indicadores reprodutivos em fêmeas Nelore. Os indicadores de temperamento foram os mesmos utilizados por Sant'Anna *et al.* (2015), acrescentando um escore de tensão, que avalia a tensão do corpo do animal e a movimentação de cabeça, orelhas e cauda. Os indicadores reprodutivos avaliados foram a habilidade da primípara em emprenhar novamente e a permanência das vacas no rebanho (fêmea que permanece no rebanho até 65 meses, com pelo menos 3 partições). O índice de permanência reflete a longevidade e performance reprodutiva da vaca. Esses autores observaram um antagonismo entre os indicadores de temperamento e os reprodutivos, havendo pouca correlação genética entre eles. A possível explicação dos autores para tais resultados é o fato desses indicadores serem, geralmente, independentes e controlados por mecanismos genéticos distintos.

O temperamento das fêmeas influencia os parâmetros reprodutivos, entretanto a correlação genética entre indicadores temperamentais e reprodutivos é baixa. O temperamento dos animais apresenta de baixa a média herdabilidade, portanto, são fatores importantes para serem avaliados em programas de seleção genética. A longo prazo, esse melhoramento pode levar a formação de um rebanho menos reativo frente à presença humana, o que pode facilitar os manejos de rotina dentro da propriedade e melhorar os índices reprodutivos.

Nosso grupo de pesquisa (MELLO *et al.*, 2020) realizou um estudo, no qual 2702 fêmeas Nelore (novilhas, primíparas e múltiparas) foram avaliadas segundo escore composto de reatividade, descrito na subseção 4.2 do capítulo anterior. As fêmeas - classificadas em calmas, reativas ou muito reativas - foram submetidas aos protocolos de IATF durante as estações

reprodutivas de 2012 a 2016, para avaliação das concentrações circulantes de cortisol, do diâmetro do folículo dominante (FD) no momento da IATF e dos índices reprodutivos. Assim como estudos anteriores demonstraram que animais mais reativos apresentam maiores concentrações plasmáticas de cortisol, nesse experimento, confirmou-se que fêmeas calmas apresentaram a menor concentração plasmática de cortisol ($P = 0,03$), quando comparadas com as fêmeas reativas e muito reativas. As concentrações de cortisol, mensuradas por ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) foram de $35,07 \pm 1,78$ nmol/L² para as calmas, $50,58 \pm 2,76$ nmol/L² para as reativas e $54,45 \pm 3,3$ nmol/L² para as muito reativas.

Como explicado anteriormente, o cortisol pode afetar a pulsatilidade de LH, limitando o desenvolvimento do folículo dominante. Conforme ilustrado na **Tabela 1**, no estudo do grupo (MELLO *et al.*, 2020), foi possível observar que as fêmeas calmas tiveram um maior diâmetro do folículo dominante no momento da IATF, quando comparadas com as reativas e as muito reativas. No mesmo estudo, nas fêmeas mais reativas também se observou menor taxa de prenhez por IATF no dia 30 e 60 após IATF e menor taxa de ciclicidade, mensurada pela presença de corpo lúteo, após diagnóstico negativo de prenhez 60 dias após IATF.

Tabela 1. Média e Erro Padrão da relação entre Calmo, Reativo ou Muito Reativo (ECR) com escore de movimentação, de respiração e de velocidade de fuga.

| | Escore Composto de Reatividade (ECR) | | | Valor de <i>P</i> |
|--|---|---------------------------------------|---------------------------------------|-------------------|
| | Calma ECR < 4 (n = 830) | Reativa ECR = 5 to 8 (n = 1313) | Muito Reativa ECR > 8 (n = 559) | |
| Escore de Movimentação | 1.14 ± 0.06^a | 2.0 ± 0.03^b | 2.7 ± 0.02^c | 0.02 |
| Escore de Respiração | 1.2 ± 0.02^a | 1.4 ± 0.02^b | 1.8 ± 0.06^c | 0.04 |
| Velocidade de Fuga | 1.15 ± 0.01^a | 1.8 ± 0.03^b | 2.7 ± 0.03^c | 0.02 |
| ECC no D -10 | 5.7 ± 0.2 | 5.5 ± 0.2 | 5.3 ± 0.1 | 0.73 |
| ECC no D 30 | 5.8 ± 0.2 | 5.9 ± 0.1 | 5.8 ± 0.1 | 0.82 |
| Diâmetro do maior folículo no D 0 (mm) | 14.4 ± 0.2^a | 13.6 ± 0.4^b | 13.2 ± 0.2^b | 0.03 |
| Fêmeas com CL no D -10 D -10 (%) | 57.7 | 58.0 | 54.0 | 0.67 |
| Manifestação de estro do D -2 ao D 0 (%) | 80.7 | 80.7 | 80.1 | 0.96 |
| P/IATF 30 (%) | 56.4^a | 57.0^a | 51.0^b | 0.03 |
| P/IATF 60 (%) | 50.0^a | 47.3^a | 42.7^b | 0.01 |
| Perda Embrionária entre o D 30 e D 60 de prenhez (%) | 6.4 | 9.7 | 8.3 | 0.23 |
| Fêmeas com CL após diagnóstico negativo de prenhez no D 60 (%) | 69.9 ^a | 75.0 ^a | 62.0 ^b | 0.01 |

Legenda: ^{a,b,c} Letras sobrescritas na mesma linha representam diferenças estatísticas significativas

($P < 0.05$).

Nota. Média e Erro Padrão da relação entre Calmo, Reativo ou Muito Reativo (ECR) com escore de movimentação, de respiração e de velocidade de fuga, com escore de condição corporal (ECC) no dia do início do protocolo de IATF (D -10) e 30 dias após a IATF (D 30), com o diâmetro do maior folículo do dia da IATF (D 0) (mm); porcentagem de fêmeas com corpo lúteo (CL) no D -10, porcentagem de fêmeas que manifestaram estro entre o D -2 e D 0, prenhez por IATF no D 30 (P/IATF 30) e D 60 (P/IATF 60), porcentagem de mortalidade embrionária ocorrida entre D 30 e D 60 de prenhez e porcentagem de fêmeas com CL após diagnóstico negativo de prenhez do D 60; em fêmeas *Bos taurus indicus* ($n = 2702$) submetidas a IATF.

Fonte: Mello *et al.* (2020).

A ovulação de um maior folículo dominante promove a formação de um CL maior e, conseqüentemente, uma maior concentração plasmática de progesterona (P4) durante o início da prenhez. No endométrio, a P4 inibe a proliferação de células da mucosa uterina e estimula a atividade secretória das glândulas endometriais, promovendo o aumento na síntese e secreção de proteínas que irão constituir o ambiente uterino. Esse conjunto de secreções, elaboradas pelo endométrio e lançadas no lúmen uterino, é denominado histotrofo. O histotrofo será o único elemento nutritivo disponível para o embrião e posterior concepto, até que se estabeleça a placentação. Maiores concentrações circulantes de P4 no diestro foram associadas, positivamente, à maior taxa de prenhez e sobrevivência embrionária, justamente por favorecer o ambiente uterino e o desenvolvimento do concepto, assim, promovendo maiores possibilidades de êxito no reconhecimento materno fetal. Em outras palavras, o embrião bem nutrido (alta disponibilidade de histotrofo) cresce mais rapidamente, alongando-se até ocupar boa parte do útero. Durante o alongamento, ocorre a produção e liberação de substâncias, como o interferon-tau, que são importantes sinalizadores da prenhez para que a luteólise seja bloqueada e a gestação se estabeleça. A P4 também suprime uma resposta imune materna em resposta aos antígenos fetais, o que é fundamental para a continuidade de desenvolvimento do concepto. Todos esses mecanismos associados contribuiriam para uma maior taxa de prenhez nas fêmeas menos reativas.

Com o estudo realizado pelo grupo (**Tabela 1**), foi possível confirmar os efeitos negativos do temperamento mais reativo nos índices reprodutivos. Ainda nesse estudo (MELLO *et al.*, 2020), em fêmeas calmas, as concentrações plasmáticas de cortisol não diferiram entre prenhes, não prenhes ou com perda gestacional, o que sugere que os níveis de cortisol nesses animais calmos não são significativos para influenciar a performance reprodutiva. Entretanto, nos animais muito reativos, as fêmeas que tiveram perda embrionária entre 30 e 60 dias apresentaram concentrações de cortisol muito mais elevadas do que as fêmeas muito reativas prenhes, o que sugere que as elevadas concentrações de cortisol prejudicaram a manutenção da prenhez em animais muito reativos, mas não em animais calmos.

O temperamento dos animais também pode influenciar a resposta do organismo ao estresse oxidativo. O estresse oxidativo é causado por espécies

reativas de oxigênio (ROS), que são, constantemente, formadas durante os processos metabólicos do organismo, principalmente os produzidos pela mitocôndria em estado fisiológico ou patológico do animal. O equilíbrio entre a produção e a neutralização de ROS é controlado pelo sistema antioxidante do corpo, responsável pela produção de enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase (SOD) e glutathione peroxidase (GPx), que atuam de diversas formas neutralizando as ROS. Animais mais reativos apresentam menor atividade antioxidante, apresentando, portanto, maior dano celular. Entretanto, são poucos os dados na literatura sobre o mecanismo de ação pelo qual o temperamento afeta a resposta ao estresse oxidativo, mas alguns estudos mostram que a suplementação de bovinos com minerais e vitaminas injetáveis resulta em maiores níveis de enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase e glutathione peroxidase.

Ao refletir sobre esse efeito, um segundo experimento foi realizado pelo nosso grupo de pesquisa com fêmeas Nelore, com intuito de verificar se os efeitos negativos na reprodução dos animais mais reativos poderiam ser minimizados a partir da suplementação injetável de minerais e vitaminas (Kit Adaptador® Biogénesis Bagó), que atuam como estimulantes do sistema antioxidante do animal (MATURANA FILHO *et al.*, 2023). O objetivo foi realizar a suplementação mineral e vitamínica injetável em fêmeas Nelore (n = 2702) de diferentes temperamentos (calmas, reativas e muito reativas) e avaliar a resposta da suplementação nos índices reprodutivos desses animais. Verificou-se que, de forma geral, as fêmeas suplementadas comparadas as não suplementadas apresentaram maiores taxas de prenhez aos 30 dias (58,20 vs. 55,00%; P = 0,01), aos 60 dias (52,30 vs. 47,50%; P = 0,01) e menor perda embrionária entre 30 e 60 dias (5,90 vs. 7,50%; P = 0,04). No estudo, observou-se que vacas muito reativas suplementadas apresentaram diâmetro do folículo dominante, no dia da IATF, maior do que as muito reativas não suplementadas. Quando comparadas com as fêmeas calmas e reativas suplementadas e as não suplementadas, as fêmeas muito reativas suplementadas apresentaram diâmetro do folículo dominante no dia da IATF semelhante, portanto, a suplementação mineral e vitamínica injetável se mostrou eficiente para minimizar a ação negativa do temperamento reativo no desenvolvimento folicular de fêmeas muito reativas. Nesse experimento, as vacas muito reativas suplementadas também apresentaram uma maior taxa de ciclicidade (presença de CL) no início do protocolo de IATF (D-10), quando comparada com as vacas muito reativas não suplementadas; já quando comparadas com as fêmeas reativas não suplementadas e as calmas suplementadas ou não, a taxa de ciclicidade foi a mesma.

Portanto, a suplementação dessas fêmeas muito reativas, possivelmente, reduziu o efeito negativo na ciclicidade causado pelas maiores concentrações de cortisol desse grupo. Dessa maneira, a suplementação mineral e vitamínica foi eficiente em aumentar os índices reprodutivos de fêmeas muito reativas. A suplementação vitamínica também reduziu a taxa de perda embrionária em todos os grupos. As fêmeas muito reativas suplementadas apresentaram

taxa de perda embrionária semelhante à das fêmeas calmas e reativas não suplementadas; as fêmeas calmas e reativas suplementadas apresentaram a menor taxa e as fêmeas muito reativas não suplementadas, a maior taxa de perda embrionária. As fêmeas muito reativas e não suplementadas apresentaram a pior performance reprodutiva dentre todos os grupos, logo, a conclusão importante desse estudo foi que o temperamento mais reativo deve atuar tornando os animais mais vulneráveis ao estresse oxidativo, e que a suplementação mineral e vitamínica injetável se mostrou eficiente em melhorar as taxas de prenhez de animais calmos e muito reativos e em reduzir a mortalidade embrionária de fêmeas calmas, reativas e muito reativas.

Por meio desses trabalhos, foi possível verificar que o temperamento de fêmeas bovinas revela características intrínsecas do animal em relação a sua reatividade e o medo durante o manejo, o que parece ter correlação negativa com a taxa de prenhez. E, também, que uma maior reatividade do animal pode estar relacionada com uma menor atividade antioxidante, o que, da mesma maneira, pode causar uma redução nos índices reprodutivos desses animais, principalmente quando eles são submetidos ao estresse calórico.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em fêmeas com temperamento mais reativo, o status nutricional, de forma indireta, e os efeitos do cortisol, de forma direta, afetam os mecanismos fisiológicos que regulam a reprodução de fêmeas bovinas. Assim, atrasando a idade à puberdade, prejudicando o desenvolvimento folicular e posterior à ovulação, dessa forma, reduzindo a taxa de prenhez e aumentando a taxa de mortalidade embrionária. Com o emprego crescente da IATF nos sistemas de cria, que gera a necessidade de manejar um grande número de animais em um curto intervalo de tempo pré-estabelecido nos protocolos, a seleção de fêmeas por temperamento torna-se imprescindível nos atuais programas de seleção genética. Os estudos realizados pelo nosso grupo reafirmaram que vacas muito reativas têm menor taxa de prenhez por IATF ao 30 e 60 dias após IATF e apresentam maior mortalidade embrionária entre 30 e 60 dias, comparadas com as fêmeas calmas. O temperamento apresenta uma herdabilidade de baixa a mediana, portanto, a seleção de animais cada vez menos reativos é de extrema importância para que, ao longo do tempo, as matrizes de corte possam conseguir atingir níveis de maior produtividade. A maior reatividade também está relacionada com uma menor atividade antioxidante. Durante o programa de IATF, pode-se tomar uso da aplicação de minerais e vitaminas injetáveis para reduzir, nos animais mais reativos, os efeitos negativos nos índices reprodutivos.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos aos financiadores dos nossos projetos de pesquisa.
À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)

(Processos nº 2017/06521- 3, nº 2015/03331-3 e nº 2015/22047-4.

Agradecemos à Biogénesis-Bagó Saúde Animal e à Universidade de São Paulo, Câmpus Fernando Costa, que cederam, ao nosso grupo de pesquisa, as instalações, os animais e todas as condições necessárias para a realização dos projetos.

REFERÊNCIAS

AGARWAL, A.; ROUT, P. K.; SINGH, S. K. Leptin: a biomolecule for enhancing livestock productivity. **Indian Journal Biotechnology**, [s. l.], v. 8, p. 169-176, 2009.

ALLEN, M. S.; BRADFORD, B. J.; OBA, M. Board-invited review: the hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 87, n. 10, p. 3317-3334, 2009.

APPLE, J. K.; DIKEMAN, M. E.; MINTON, J. E.; MCMURPHY, R. M.; FEDDE, M. R.; LEITH, D. E.; UNRUH, J. A. Effects of restraint and isolation stress and epidural blockade on endocrine and blood metabolite status, muscle glycogen metabolism, and incidence of dark-cutting longissimus muscle of sheep. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, n. 8, p. 2295-2307, 1995.

BARROZO, D.; BUZANSKAS, M. E.; OLIVEIRA, J. A.; MUNARI, D. P.; NEVES, H. H. R.; QUEIROZ, S. A. Genetic parameters and environmental effects on temperament score and reproductive traits of Nelore cattle. **Animal**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 36-40, 2012.

BAUER, M. E.; PERKS, P.; LIGHTMAN, S. L.; SHANKS, N. Restraint stress is associated with changes in glucocorticoid immunoregulation. **Physiology and Behavior**, New York, v. 73, n. 4, p. 525-532, 2001.

BRUNO, K. A.; VANZANT, E.; VANZANT, K.; ALTMAN, A.; KUDUPOJE, M.; MCLEOD, K. Relationship between quantitative measures of temperament and other observed behaviors in growing cattle. **Applied Animal Behaviour Science**, [s. l.], v. 199, p. 59-66, 2017.

BRUNO, K. A.; VANZANT, E. S.; VANZANT, K. A.; MCLEOD, K. R. Relationships of a novel objective chute score and exit velocity with growth performance of receiving cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 94, n. 11, p. 4819-4831, 2016.

BURDICK SANCHEZ, N. C.; CARROLL, J. A.; BROADWAY, P. R.; HUGHES, H. D.; ROBERTS, S. L.; RICHESON, J. T.; SCHMIDT, T. B.; VANN, R. C. Cattle temperament influences metabolism: metabolic response to glucose tolerance and insulin sensitivity tests in beef steers. **Domestic Animal Endocrinology**, Stoneham, v. 56, p. 85-95, 2016.

BURDICK SANCHEZ, N. C.; CARROLL, J. A.; RANDEL, R. D.; VANN, R. C.; WELSH JUNIOR, T. H. Associations between endotoxin-induced metabolic changes and temperament in Brahman bulls. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 98, n. 1, p. 178-190, 2014.

BURDICK SANCHEZ, N. C.; CARROLL, J. A.; WELSH JUNIOR, T. H.; RANDEL, R. D.; VANN, R. C. Metabolic differences in cattle with excitable temperaments can influence productivity. **Extension Reports**, [s. l.], p. 68-78, 2012.

BURDICK, N. C.; RANDEL, R. D.; CARROLL, J. A.; WELSH JR., T. H. Review Article: Interactions between temperament, stress, and immune function in cattle. **International Journal of Zoology**, [s. l.], v. 2011, p. 1-9, 2011.

CAFE, L. M.; ROBINSON, D. L.; FERGUSON, D. M.; B. L. MCINTYRE, B. L.; G. H. GEESINK, G. H.; GREENWOOD, P. L. Cattle temperament: persistence of assessments and associations with productivity, efficiency, carcass and meat quality traits. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 89, n. 5, p. 1452-1465, 2011.

CARROLL, J. A.; FORSBERG, N. E. Influence of stress and nutrition on cattle immunity. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 23, n. 1, p. 105-149, 2007.

COOKE, R. F.; BOHNERT D. W.; CAPPELLOZZA B. I.; MUELLER C. J.; DELCURTO, T. Effects of temperament and acclimation to handling on reproductive performance of *Bos taurus* beef females. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 90, n. 10, p. 3547-3555, 2012.

COOKE, R. F.; BOHNERT, D. W.; MENEGHETTI, M.; LOSI, T. C.; VASCONCELOS, J. L. M. Effects of temperament on pregnancy rates to fixed-timed AI in *Bos indicus* beef cows. **Livestock Science**, [s. l.], v. 142, n. 1-3, p. 108-113, 2011.

COOKE, R. Bill E. Kunkle Interdisciplinary Beef Symposium: temperament and acclimation to human handling influence growth, health, and reproductive responses in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 92, n. 12, p. 5325-5333, 2014.

DOBSON, H.; SMITH, R. F. What is stress, and how does it affect reproduction? **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 60, p. 743-752, 2000.

ECHTERNKAMP, S. E. Relationship between LH and cortisol in acutely stressed beef cows. **Theriogenology**, New York, v. 22, n. 3, p. 305-311, 1984.

EXTON, J. H. Mechanisms of hormonal regulation of hepatic glucose metabolism. **Diabetes Metabolism Review**, New York, v. 3, n. 1, p. 163-183, 1987.

FALKENBERG, S. M.; MILLER, R. K.; HOLLOWAY, J. W.; ROUQUETTE JUNIOR, F. M.; RANDEL, R. D.; CARSTENS, G. E. Exit velocity effects on growth, carcass characteristics, and tenderness in half-blood Bonsmara steers. *In*: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 51., 2005, Baltimore, Maryland. **Proceedings** [...]. [S. l.: s. n.], 2005. p. 1716- 1722.

FELL, L. R.; COLDITZ, I. G.; WALKER, K. H.; WATSON, D. L. Associations between temperament, performance and immune function in cattle entering a commercial feedlot. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, [s. l.], v. 39, n. 7, p. 795-802, 1999.

FORDYCE, G.; GODDARD, M. E.; TYLER, R.; WILLIAMS, G.; TOLEMAN, M. A. Temperament and bruising of *Bos indicus* cross cattle. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, [s. l.], v. 25, n. 2, p. 283-288, 1985.

FORDYCE, G.; WYTHES, J. R.; SHORTHOSE, W. R.; UNDERWOOD, D. W.; SHEPHERD, R. K. Cattle temperaments in extensive beef herds in northern Queensland. 2. Effect of temperament on carcass and meat quality. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, [s. l.], v. 28, n. 6, p. 689-693, 1988.

JAIN, R.; ZWICKLER, D.; HOLLANDER, C.; BRAND, C.; SAPERSTEIN, A.; HUTCHINSON, B.; BROWN, C.; AUDHYA, T. Corticotropin-releasing factor modulates the immune response to stress in the rat. **Endocrinology**, Los Angeles, v. 128, n. 3, p. 1329-1336, 1991.

KASIMANICKAM, R.; SCHROEDER, S.; ASSAY, M.; KASIMANICKAM, V.; MOORE, D. A.; GAY, J. M.; WHITTIER, W. D. Influence of temperament score and handling facility on stress, reproductive hormone concentrations, and fixed time AI pregnancy rates in beef heifers. **Reproduction in Domestic Animals**, Berlin, v. 49, n. 5, p. 775-782, 2014.

KING, D. A.; SCHUEHLE PFEIFFER, C. E.; RANDEL, R. D.; WELSH JR.; T. H.; OLIPHINT, R. A.; BAIRD, B. E.; CURLEY JR., K. O.; VANN, R. C.; HALE, D. S.; SAVELL, J. W. Influence of animal temperament and stress responsiveness on the carcass quality and beef tenderness of feedlot cattle. **Meat Science**, Oxford, v. 74, n. 3, p. 546-556, 2006.

MATURANA FILHO, M.; MELLO, B. P.; LEMES, K. M.; GONÇALVES, R. L.; LOLLATO, J. P. M.; PUGLIESI, G.; MADUREIRA, E. H.; GONELLO-DIAZA, A.; MEMBRIVE, C. M. B. Effects of mineral and vitamin supplementation on pregnancy rates in Nelore cattle submitted to FTAI programs with different reactivity scores. **SSRN**, [s. l.], p. 1-23, 2023. [Preprint].

MELLO, B. P.; MATURANA FILHO, M.; LEMES, K. M.; GONÇALVES, R. L.; LOLLATO, J. P. M.; ZANELLA, A. J.; FERREIRA, T. F. V.; PUGLIESI, G.; MADUREIRA, E. H.; GONELLA-DIAZA, A.; MEMBRIVE, C. M. B. Importance of temperament in the pregnancy by timed insemination in bovine females *Bos taurus indicus*. **Livestock Science**, [s. l.], v. 240, p. 1-6, 2020.

NKRUMAH, J. D.; CREWS JR., D. H.; BASARAB, J. A.; PRICE, M. A.; OKINE, E. K.; WANG, Z.; LI, C.; MOORE, S. S. Genetic and phenotypic relationships of feeding behavior and temperament with performance, feed efficiency, ultrasound, and carcass merit of beef cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 85, n. 10, p. 2382-2390, 2007.

OLIPHINT, R. A. **Evaluation of the inter-relationships of temperament, stress responsiveness and immune function in beef calves**. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Texas A&M University, College Station, 2006.

PARKER, A. J.; HAMLIN, G. P.; COLEMAN, C. J.; FITZPATRICK, L. A. Quantitative analysis of acid-base balance in *Bos indicus* steers subjected to transportation of long duration. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 81, n. 6, p. 1434-1439, 2003.

PETHERICK, J. C.; HOLROYD, R. G.; DOOGAN, V. J.; VENUS, B. K. Productivity, carcass and meat quality of lot-fed *Bos indicus* cross steers grouped according to temperament. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, [s. l.], v. 42, n. 4, p. 389-398, 2002

PHOCAS, F.; BOIVIN, X.; SAPA, J.; TRILLAT, G.; BOISSY, A.; LE NEINDRE, P. Genetic correlations between temperament and breeding traits in Limousin heifers. **Animal Science**, [s. l.], v. 82, n. 6, p. 805-811, 2006.

ROWE, L. J.; MADDOCK, K. R.; LONERGAN, S. M.; HUFF-LONERGAN, E. Influence of early postmortem protein oxidation on beef quality. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, n. 3, p. 785-793, 2004a

ROWE, L. J.; MADDOCK, K. R.; LONERGAN, S. M.; HUFF-LONERGAN, E. Oxidative environments decrease tenderization of beef steaks through inactivation of I-calpain. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, n. 11, p. 3254-3266, 2004b.

RUEDA, P. M.; SANT'ANNA, A. C.; VALENTE, T. S.; PARANHOS DA COSTA, M. J. R. Impact of the temperament of Nelore cows on the quality of handling and pregnancy rates in fixed-time artificial insemination. **Livestock Science**, [s. l.], v. 177, p. 189-195, 2015.

SANT'ANNA, A. C.; BALDI, F.; VALENTE, T. S.; ALBUQUERQUE, L. G.; MENEZES, L. M.; BOLIGON, A. A.; PARANHOS DA COSTA, M. J. R. Genetic associations between temperament and performance traits in Nelore beef cattle. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, Berlin, v. 132, n. 1, p. 42-50, 2015.

SCHAEFER, A. L.; JONES, S. D. M.; STANLEY, R. W. The use of electrolyte solutions for reducing transport stress. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, n. 1, p. 258-265, 1997.

SHORTHOSE, W. R. Dark-cutting in beef and sheep carcasses under the different environment of Australia. *In*: DARK-CUTTING IN CATTLE AND SHEEP, 1988. **Proceedings** [...]. [S. l.]: Australian Meat and Live-stock Research and Development Corporation, 1988. p. 68-73.

VALENTE, T. S.; ALBITO, O. D.; SANT'ANNA, A. C.; CARVALHEIRO, R.; BALDI, F.; ALBUQUERQUE, L. G.; PARANHOS DA COSTA M. J. R. Genetic parameter estimates for temperament, heifer rebreeding, and stayability in Nelore cattle. **Livestock Science**, [s. l.], v. 206, p. 45-50, 2017.

VALENTE, T. S.; SANT'ANNA, A. C.; BALDI, F.; ALBUQUERQUE, L. G.; PARANHOS DA COSTA, M. J. R. Genetic association between temperament and sexual precocity indicator traits in Nelore cattle. **Journal of Applied Genetics**, [s. l.], v. 56, p. 349-354, 2015.

VOISINET, B. D.; GRANDIN, T.; O'CONNOR, S. F.; TATUM, J. D.; DEESING, M. J. Bos indicus-cross feedlot cattle with excitable temperaments have tougher meat and a higher incidence of borderline dark cutters. **Meat Science**, Barking, v. 46, n. 4, p. 367-377, 1997b.

VOISINET, B. D.; GRANDIN, T.; TATUM, J. D.; O'CONNOR, S. F.; STRUTHERS, J. J. Feedlot cattle with calm temperaments have higher average daily gains than cattle with excitable temperaments. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, n. 4, p. 892-896, 1997a.

WIENER, P. Genetics of behavior in cattle. *In*: GARRICK, D. J.; RUVINSKY, A. (ed.). **The genetics of cattle**. 2. ed. [S. l.]: CABI, 2015. p. 234-259

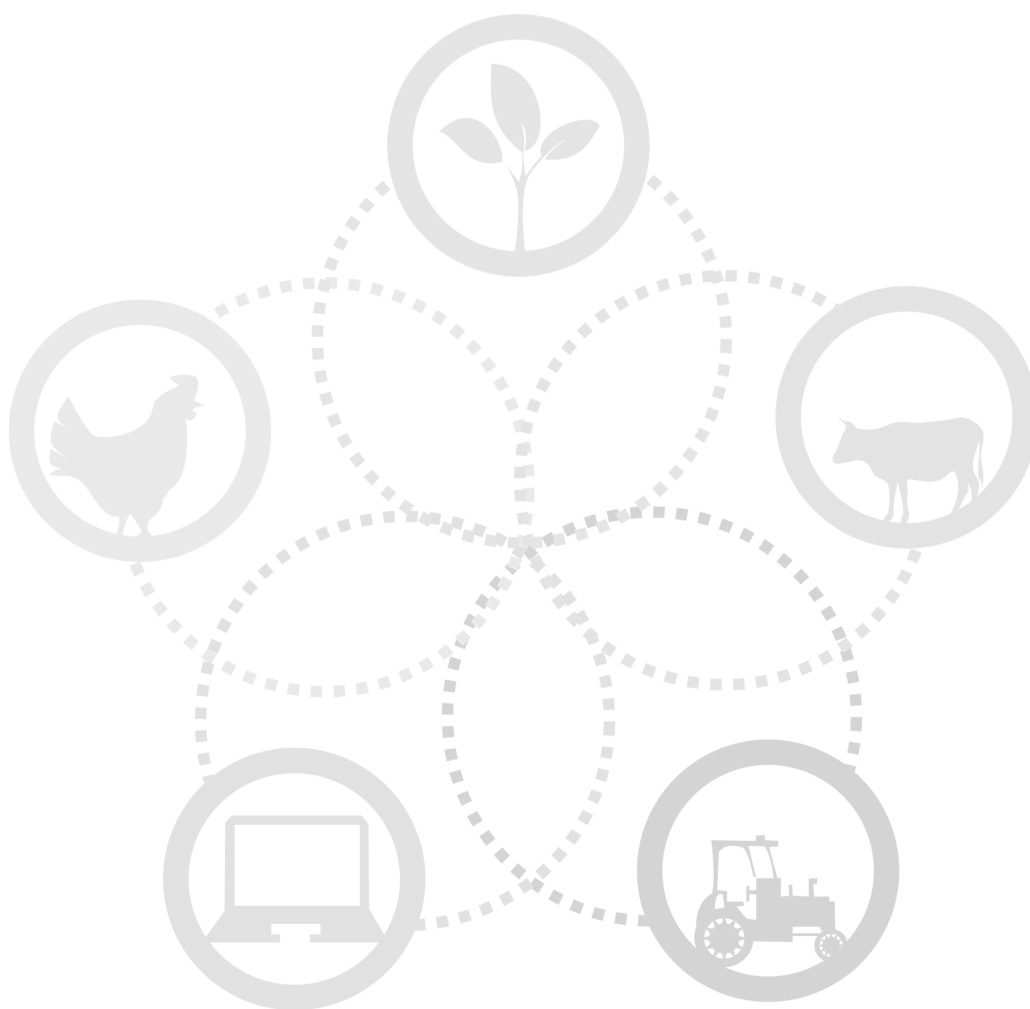




Foto de Maria Augusta Alonso



PARTE 4

GENÉTICA E BIOTECNOLOGIA

- 19** Desenvolvimento de Pacotes para o Sistema R
- 20** Utilização da ultrassonografia de carcaça como ferramenta na seleção genética de animais da raça Senepol
- 21** Uso de diferentes ácidos graxos em tecidos reprodutivos cultivados *in vitro*
- 22** Sistemas tridimensionais com hidrogel de alginato aplicados à produção *in vitro* de embriões bovinos
- 23** Participação do interferon-tau e dos ISGs na modulação do sistema imune durante o início da prenhez em fêmeas bovinas

CAPÍTULO 19

DESENVOLVIMENTO DE PACOTES PARA O SISTEMA R

Ricardo da Fonseca

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.

Resumo

O sistema R tem uma característica modular, fornecendo grande flexibilidade ao sistema pela adição de novas funcionalidades. Além disso, o R é, também, uma linguagem de programação. Os módulos do sistema R são mais conhecidos como pacotes, que são coleções de funções com uma finalidade específica. O desenvolvimento de pacotes não é restrito aos profissionais de tecnologia da informação ou ciência da computação. Atualmente, as linguagens de programação facilitam muito o acesso de profissionais de outras áreas à programação de softwares. A finalidade deste capítulo não é ser um guia completo de criação de pacotes em R, mas, sim, um conteúdo de encorajamento para demonstrar aos interessados que o desenvolvimento de pacotes não é algo distante de ser realizado.

1 INTRODUÇÃO

Em diversas áreas do conhecimento, o sistema R tem sido utilizado como ferramenta para análise e geração de dados. A popularização do R se deve, principalmente, à sua característica modular, bem como pelo fato de que o R é, também, uma linguagem de programação.

A programação no sistema R é realizada utilizando as próprias funções do sistema, sejam aquelas incluídas no módulo base ou aquelas disponíveis em módulos instalados posteriormente. A vantagem é que o usuário, que já está familiarizado com o sistema para realização de tarefas de análise de dados, não necessita aprender uma linguagem totalmente nova, mas apenas adquirir o conhecimento de alguns poucos elementos. Essa característica permite que resultados possam ser obtidos rapidamente em comparação à utilização de uma linguagem de programação externa ao sistema. Ser programável garante grande versatilidade, uma vez que demandas particulares dos analistas de dados podem ser resolvidas dentro do próprio R, por meio, principalmente, de funções definidas pelo usuário. Boas introduções na utilização do R, como linguagem de programação e confecção de funções definidas pelo usuário, podem ser encontradas em Mello e Peternelli (2013) e Venables *et al.* (2005).

A arquitetura modular do software R garante a ele menor espaço de armazenamento, uma vez que serão instalados somente os módulos necessários, melhor organização das funções e maior facilidade na criação de documentação do módulo e suas funções componentes. Na instalação do R, somente o módulo base (R-base) é armazenado no disco rígido do computador. Posteriormente, o usuário pode baixar outros módulos, que também são armazenados no disco rígido. Ao iniciar uma sessão de R, apenas o módulo básico é carregado para a memória RAM e o “acoplamento” de outros módulos é diretamente solicitado pelo usuário, por meio de funções ou da interface gráfica. Da mesma forma, módulos podem ser desacoplados quando não são mais necessários, liberando memória para o funcionamento do sistema.

Pode-se entender os módulos como pacotes do R, definido por Datacamp Team (2019) como coleções de funções e conjuntos de dados desenvolvidos pela comunidade, aumentando o poder do R, por melhorar as funcionalidades do módulo base ou por adicionar novas ferramentas a esse. Assim, ao desenvolver um pacote para o sistema R, as várias funções criadas podem ser agrupadas e instaladas, conjuntamente, para que estejam disponíveis para o usuário em uma próxima sessão de R. Além disso, os pacotes são facilmente compartilháveis, facilitando o acesso de outros às melhorias e soluções desenvolvidas. Entretanto, o desenvolvimento de pacotes também tem relação direta com economia de tempo (PARKER, 2014), visto que não é preciso pensar na melhor maneira de organizar o projeto, pois deve-se seguir um modelo.

É importante perceber que o desenvolvimento de pacotes não é restrito aos profissionais de tecnologia da informação ou ciência da computação. Atualmente, as linguagens de programação facilitam muito o acesso de profissionais de outras áreas à programação de softwares. A massificação da tecnologia, em

todas as áreas de atuação humana, gera a necessidade de profissionais que, além de serem especialistas em suas áreas, também saibam como colocar esse conhecimento dentro de programas de computador e aplicativos para celulares, principalmente. Dessa forma, as novas soluções produzidas por esses profissionais são rapidamente implementadas e compartilhadas com outros interessados.

A finalidade deste capítulo não é ser um guia completo de criação de pacotes em R, mas sim, um conteúdo de encorajamento para demonstrar aos interessados que o desenvolvimento de pacotes não é algo distante de ser feito, pelo contrário, qualquer pacote pode começar a ser desenvolvido imediatamente e, com o tempo e o ganho de novos conhecimentos, ser aperfeiçoado.

Para ilustrar o conteúdo, juntamente com as explicações, um pacote simplificado para simulação de dados fenotípicos em Melhoramento Genético Animal foi criado e está apresentado neste capítulo. Os passos e procedimentos indicados são baseados no livro R Packages (WICKHAM, 2015) e no material da sua segunda edição, que está disponível online (WICKHAM; BRYAN, [202-?]).

2 DESENVOLVENDO UM PACOTE PARA R

A seguir, todo o procedimento será demonstrado, considerando que a interface **RStudio** e o pacote **devtools** estão instalados na máquina do leitor.

Para iniciar, deve-se carregar o *devtools*, que se constitui em um pacote com funções que automatizam e organizam os arquivos necessários para o desenvolvimento de pacotes para o sistema R:

```
library("devtools")
```

ou marque o pacote na caixa de verificação na aba *Packages* do RStudio.

O pacote foi chamado de **Simulafen** (simulador de fenótipos) e contém uma função para gerar valores fenotípicos, a partir de valores genéticos aditivos e desvios de ambiente, assumindo o seguinte modelo:

$$P = \mu + A + E$$

onde,

P = valor fenotípico;

μ = média da característica;

A = valor genético aditivo;

E = desvio de ambiente.

Toda simulação de valores fenotípicos para a área de melhoramento genético animal leva em consideração algumas gerações de indivíduos. A população inicial, de onde todas as outras são derivadas, chama-se população-base ou geração 0 (G0). A geração seguinte (G1) é criada pelos descendentes resultantes do acasalamento dos indivíduos da população-base. A próxima população/geração é criada a partir dos descendentes dos acasalamentos

entre indivíduos da G1 e assim por diante.

O pacote do exemplo trabalhado conterà a função **popBase**, a qual cria uma população inicial ou G0.

Para iniciar o desenvolvimento do pacote, deve-se chamar a função `create_package()`, a qual irá iniciar um novo pacote em um diretório do seu computador, que será fornecido como argumento para a função. A sintaxe deve ser como:

```
create_package("caminho para o diretório")
```

Para criar os exemplos deste capítulo, uma máquina com sistema operacional Linux foi utilizada e o diretório do pacote foi `~/CapituloIMAST2023/Simulafen`.

Portanto,

```
create_package("~/CapituloIMAST2023/Simulafen")
## ✓ Setting active project to '/home/ricardo/
CapituloIMAST2023/Simulafen'
## ✓ Leaving 'DESCRIPTION' unchanged
## Package: Simulafen
## Title: What the Package Does (One Line, Title Case)
## Version: 0.0.0.9000
## Authors@R (parsed):
## * First Last <first.last@example.com> [aut, cre] (YOUR-
ORCID-ID)
## Description: What the package does (one paragraph).
## License: `use_mit_license()`, `use_gpl3_license()` or
friends to pick a
## license
## Encoding: UTF-8
## Roxygen: list(markdown = TRUE)
## RoxygenNote: 7.2.3
## ✓ Leaving 'NAMESPACE' unchanged
## ✓ Setting active project to '<no active project>'
```

Há a possibilidade da saída ser um pouco divergente para o leitor, uma vez que o diretório e as características do sistema podem ser diferentes.

Nesse momento, o pacote está criado com toda a estrutura básica necessária. Uma forma de verificação é encontrar o diretório Simulafen que foi criado e averiguar dentro dele. Pelo RStudio, pode-se usar a aba *Files* para encontrar o diretório Simulafen.

Alguns arquivos (incluindo alguns ocultos) podem ser vistos dentro do diretório. Por agora, é interessante notar os seguintes:

DESCRIPTION: fornece os metadados do pacote. Deve ser editado.

NAMESPACE: declara as funções que serão exportadas para serem utilizadas pelo usuário e as funções que devem ser importadas de outros pacotes para utilização dentro do pacote.

Diretório R: é o local onde as funções serão armazenadas. Por enquanto, está vazio.

É possível, nesse momento, colocar o diretório sob controle de versão,

utilizando o Git por meio da função `use_git()`, entretanto, esse tópico não será abordado neste capítulo.

O próximo passo é, então, criar a primeira função do pacote. Essa tarefa deve ser executada em um arquivo `.R`; cada função deve ser desenvolvida no seu próprio arquivo `.R`.

A função se chamará `popBase` e criará a população-base ou Geração 0, como mencionado anteriormente. Para executar essa tarefa, deve-se pressupor que a média da população, a herdabilidade da característica (h^2) e a variância dos desvios de ambiente ou a variância fenotípica (σ_P^2) são conhecidas (ou podem ser calculadas). Também deve-se assumir que os valores genéticos aditivos (A) e os desvios de ambiente (E) são independentes e seguem distribuição normal com média 0 e variâncias σ_A^2 e σ_E^2 , respectivamente. Levando em consideração que

$$h^2 = \frac{\sigma_A^2}{\sigma_P^2}$$

A variância genética aditiva pode ser calculada como:

$$\sigma_A^2 = h^2 \times \sigma_P^2$$

E considerando que $\sigma_P^2 = \sigma_A^2 + \sigma_E^2$, então a variância dos desvios de ambiente pode ser encontrada como:

$$\sigma_E^2 = \sigma_P^2 - \sigma_A^2$$

Para efeito de exemplificação, assume-se aqui que a herdabilidade, média e variância fenotípica da característica são conhecidas e serão fornecidas pelo usuário como argumentos para a função `popBase()`. Também deve ser fornecido o número de valores fenotípicos a ser simulado. Os valores fenotípicos serão gerados a partir do modelo: $P = \mu + A + E$.

```
popBase<-function(n,media,h2,varP){
  varA<-h2*varP #calculando a variância genética aditiva
  varE<-varP-varA #calculando a variância dos desvios de
ambiente
  A<-rnorm(n,0,sqrt(varA)) #amostrando os valores genéticos
aditivos
  E<-rnorm(n,0,sqrt(varE)) #amostrando os desvios de ambiente
  P<-media+A+E #calculando os valores fenotípicos
  return(data.frame(P=P,A=A,E=E)) #retornando os dados simulados
}
```

Na prática, o resultado da função deve ser atribuído a um objeto, por exemplo, `pb`, para que fique armazenado:

```
pb<-popBase(10,50,0.4,25)
```

Como já mencionado, o código da função `popBase` deve ser salvo em um arquivo `.R`, e esse arquivo deve ser salvo dentro do subdiretório **R** do pacote

que acabou de ser criado. Assim, se o nome do arquivo for o mesmo da função (*popBase*), teremos o arquivo salvo em *Simulafen/R/popBase.R*.

O pacote *devtools* possui uma função auxiliar chamada *use_r*, que cria o arquivo *.R* e o armazena sob o subdiretório *R* do pacote. Embora essa função possa parecer trivial nesse momento, para pacotes mais complexos e em fases avançadas de desenvolvimento, é muito útil. A sintaxe da função é:

```

use_r("nome do arquivo .R")
Dessa forma, no exemplo do simulador, devemos usar antes de criarmos
a função popBase:
use_r("popBase")
## ✓ Setting active project to '/home/ricardo/
CapituloIMAST2023/Simulafen'
## • Edit 'R/popBase.R'
## • Call `use_test()` to create a matching test file
  
```

Nota-se que o arquivo *popBase.R* foi criado dentro do subdiretório *R* e deve ser editado com a definição da função *popBase* apresentada anteriormente. Nesse momento, seria desejável fazer o primeiro teste do pacote, especificamente da função *popBase*, para verificar se tudo está funcionando bem. Naturalmente, poderia-se enviar a definição da função para o console e criá-la no ambiente global para, então, testá-la com parâmetros (argumentos) específicos. Entretanto, no desenvolvimento de pacotes é melhor que o teste seja feito, simulando a utilização do pacote no sistema *R*. Isso pode ser feito por meio da função *load_all*, com a seguinte sintaxe:

```

load_all()
Ativando a função, vê-se então:

load_all()
## i Loading Simulafen
## Warning: — Conflicts —————
## Simulafen conflicts
## —
## x `popBase` masks `Simulafen::popBase()`.
## i Did you accidentally source a file rather than using `load_
all()`?
## Run `rm(list = c("popBase"))` to remove the conflicts.
  
```

A função *load_all* disponibilizou *popBase* para o usuário, como se o pacote *Simulafen* houvesse sido instalado e acoplado ao *R*-base (mas não é inserida no ambiente global). Agora, ela pode ser verificada com relação ao seu funcionamento.

Como exemplo, considerou-se uma população de 10 indivíduos, sendo medida para uma característica de herdabilidade igual a 0,4, variância fenotípica igual a 25 e média igual a 50.

```

popBase(10, 50, 0.4, 25)
##           P           A           E
## 1  50.59097 -0.5491521  1.1401219
  
```

```
## 2 54.54644 4.4209498 0.1254898
## 3 51.96448 1.3077011 0.6567831
## 4 56.85637 0.3017513 6.5546180
## 5 54.94117 -0.9419274 5.8830938
## 6 56.99103 2.6216140 4.3694164
## 7 50.11909 4.7344538 -4.6153610
## 8 52.94321 3.3554963 -0.4122874
## 9 53.90244 -0.3521693 4.2546113
## 10 48.62250 -1.1015773 -0.2759258
```

Pode-se agora inserir alguns metadados do pacote. Com o arquivo *DESCRIPTION* aberto, os campos *author@R*, *title* e *description* serão editados.

Por exemplo:

author@R: coloque o seu nome e o seu ORCID. Se não possuir ORCID, omite o campo *comment=*

title: Simulação rápida e simples de valores fenotípicos para pesquisa

description: Funções para simulação de valores fenotípicos para uma característica durante várias gerações

O arquivo *DESCRIPTION* deve ser semelhante ao mostrado na Figura 1.

Figura 1. Exemplo de preenchimento do arquivo *DESCRIPTION*.

```
Package: Simulafen
Title: Simulação Rápida e Simples de Valores Fenotípicos para Pesquisa
Version: 0.0.0.9000
Authors@R:
  person("Ricardo", "da Fonseca", , "ricardo.fonseca@unesp.br", role = c("aut", "cre"),
    comment = c(ORCID = "0000-0002-1163-6296"))
Description: Funções para simulação de valores fenotípicos para uma característica durante várias gerações.
License: `use_mit_license()`, `use_gpl3_license()` or friends to pick a
  license
Encoding: UTF-8
Roxygen: list(markdown = TRUE)
RoxygenNote: 7.2.3
```

Fonte: elaborada pelo autor.

Um dos campos do arquivo *DESCRIPTION* se refere à licença que deve escolher para a distribuição do seu pacote. Embora esse seja um tópico de grande importância, não é do escopo deste capítulo e, portanto, optou-se por uma licença qualquer, a licença MIT. É de praxe que a licença seja anexada, na íntegra, no pacote a ser distribuído. Para que não se perca muito tempo com a seleção e integração da licença ao pacote, usa-se uma função específica para essa finalidade. A função vai editar o campo *license* do arquivo *DESCRIPTION* e criar o arquivo *LICENSE.md* com a cópia da licença escolhida. Usou-se, portanto, a função *use_mit_license* com a seguinte sintaxe:

```
use_mit_license()
```

Utilizando a função de fato:

```
use_mit_license()
```

Vê-se agora que os arquivos LICENSE e LICENSE.md (Figura 2) foram criados e arquivo DESCRIPTION teve seu campo *license* editado (Figura 3). O arquivo LICENSE traz a informação do ano da licença e os responsáveis por a anexarem.

Figura 2. Licença MIT anexada ao pacote Simulafen.

```

# MIT License

Copyright (c) 2023 Simulafen authors

Permission is hereby granted, free of charge, to any person obtaining a copy
of this software and associated documentation files (the "Software"), to deal
in the Software without restriction, including without limitation the rights
to use, copy, modify, merge, publish, distribute, sublicense, and/or sell
copies of the Software, and to permit persons to whom the Software is
furnished to do so, subject to the following conditions:

The above copyright notice and this permission notice shall be included in all
copies or substantial portions of the Software.

THE SOFTWARE IS PROVIDED "AS IS", WITHOUT WARRANTY OF ANY KIND, EXPRESS OR
IMPLIED, INCLUDING BUT NOT LIMITED TO THE WARRANTIES OF MERCHANTABILITY,
FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE AND NONINFRINGEMENT. IN NO EVENT SHALL THE
AUTHORS OR COPYRIGHT HOLDERS BE LIABLE FOR ANY CLAIM, DAMAGES OR OTHER
LIABILITY, WHETHER IN AN ACTION OF CONTRACT, TORT OR OTHERWISE, ARISING FROM,
OUT OF OR IN CONNECTION WITH THE SOFTWARE OR THE USE OR OTHER DEALINGS IN THE
SOFTWARE.
  
```

Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 3. Arquivo DESCRIPTION com o campo license editado pela função use_mit_license().

```

Package: Simulafen
Title: Simulação Rápida e Simples de Valores Fenotípicos para Pesquisa
Version: 0.0.0.9000
Authors@R:
  person("Ricardo", "da Fonseca", , "ricardo.fonseca@unesp.br", role = c("aut", "cre"),
    comment = c(ORCID = "0000-0002-1163-6296"))
Description: Funções para simulação de valores fenotípicos para uma característica durante várias gerações.
License: MIT + file LICENSE
Encoding: UTF-8
Roxygen: list(markdown = TRUE)
RoxygenNote: 7.2.3
  
```

Fonte: elaborada pelo autor.

O próximo passo é documentar a função *popBase*. O padrão para a documentação de pacotes do R é a criação de um arquivo com o nome da função e extensão .Rd (no exemplo trabalhado, o nome do arquivo seria *popBase.Rd*) dentro do diretório **man**, o qual já foi criado pela função *create_package*. O

arquivo *popBase.Rd* deve ser escrito com algumas marcações específicas para a documentação de funções, semelhantes às marcações utilizadas em LaTeX. Para facilitar essa tarefa, pode-se utilizar o pacote **roxygen2**, que vai gerenciar a escrita do arquivo *popBase.Rd*. Para que o pacote roxygen2 consiga escrever o arquivo de documentação, é necessário adicionarmos alguns comentários, em formatos específicos, no arquivo-fonte da função *popBase*.

Com o arquivo *popBase.R* aberto e com o cursor dentro da definição da função, clica-se no menu *Code>Insert roxygen skeleton*. Um modelo será inserido antes da definição da função. Esse modelo deve ser editado pelo autor do pacote. Os comentários *#'* são necessários para que o *roxygen* saiba diferenciar, entre eles, o que deve usar para fazer a documentação e os comentários normais do sistema R (*#*).

Após a edição, o arquivo deve estar como apresentado na Figura 4.

Figura 4. Arquivo *popBase.R* com o modelo para documentação inserido e editado (antes da definição da função).

```
#' Simula a população-base (G0)
#'
#' @param n Número de indivíduos a ser simulado
#' @param media média da população para a característica simulada
#' @param h2 Herdabilidade da característica simulada
#' @param varP Variância fenotípica para a característica simulada
#'
#' @return Um data frame
#' @export
#'
#' @examples popbase(100,250,0.3,800)
popBase<-function(n,media,h2,varP){
  varA<-h2*varP #calculando a variância genética aditiva
  varE<-varP-varA #calculando a variância dos desvios de ambiente

  A<-rnorm(n,0,sqrt(varA)) #amostrando os valores genéticos aditivos
  E<-rnorm(n,0,sqrt(varE)) #amostrando os desvios de ambiente

  P<-media+A+E #calculando os valores fenotípicos

  return(data.frame(P=P,A=A,E=E)) #retornando os dados simulados
}
```

Fonte: elaborada pelo autor.

As linhas com a marca **@param** descrevem os parâmetros/argumentos da função; a linha com a marca **@return** descreve o valor de retorno da função; a marca **@example** aparece na linha que descreve um exemplo de uso. A marca **@export** será explicada posteriormente e deve ser deixada sem edição.

Agora, deve-se converter as linhas com marcas e comentários do roxygen

em documentação de fato. Essa tarefa é gerenciada pela função *document*, cuja sintaxe é:

```
document()
```

O uso da função gera a seguinte saída:

```

document()
## i Updating Simulafen documentation
## i Loading Simulafen
## Warning: — Conflicts —————
——— Simulafen conflicts
## —
## x `popBase` masks `Simulafen::popBase()`.
## i Did you accidentally source a file rather than using `load_
all()`?
## Run `rm(list = c("popBase"))` to remove the conflicts.

```

O arquivo *popBase.Rd* foi escrito com as informações fornecidas em *popBase.R* e se encontra dentro do diretório **man**. Verifica-se, no arquivo, que uma série de marcações foi inserida (pelo pacote *roxygen2*, usado internamente pela função *document*). Quando o pacote for instalado, essas marcas serão interpretadas e formarão o arquivo de ajuda da função, seguindo os padrões do sistema R.

Voltando a marca **@export** no arquivo *popBase.R*, ela indica que a função definida no arquivo deve estar disponível para o usuário do pacote, não sendo, portanto, uma função interna. A função *document* usa essa marca para editar o arquivo NAMESPACE com essa informação, o que pode ser visto ao abrir o respectivo arquivo. Quando o pacote for instalado, somente as funções listadas para exportação no arquivo NAMESPACE estarão disponíveis para a utilização por parte do usuário do sistema.

Finalmente, agora que há, ao menos, uma função no pacote, pode-se instalar o pacote com a função *install*, cuja sintaxe é:

```
install()
```

Executando a função:

```
install()
## — R CMD build _____
##      checking for file ‘/home/ricardo/CapituloIMAST2023/
Simulafen/DESCRIPTION’ ... ✓ checking for file ‘/home/ricardo/
CapituloIMAST2023/Simulafen/DESCRIPTION’
##      - preparing ‘Simulafen’:
##      checking DESCRIPTION meta-information ... ✓ checking
DESCRIPTION meta-information
##      - checking for LF line-endings in source and make files
and shell scripts
##      - checking for empty or unneeded directories
##      - building ‘Simulafen_0.0.0.9000.tar.gz’
##
## Running /usr/lib/R/bin/R CMD INSTALL \
## /tmp/RtmpLgFcQR/Simulafen_0.0.0.9000.tar.gz --install-
tests
## * installing to library ‘/home/ricardo/R/x86_64-pc-linux-
gnu-library/4.2’
## * installing *source* package ‘Simulafen’ ...
## ** using staged installation
## ** R
## ** byte-compile and prepare package for lazy loading
## ** help
## *** installing help indices
## ** building package indices
## ** testing if installed package can be loaded from temporary
location
## ** testing if installed package can be loaded from final
location
## ** testing if installed package keeps a record of temporary
installation path
## * DONE (Simulafen)
##
## Attaching package: ‘Simulafen’
## The following object is masked _by_ ‘.GlobalEnv’:
##
##      popBase
```

Outras funções poderiam ser criadas e o processo de inserção delas no pacote e a criação da documentação seguiriam os mesmos passos apresentados aqui. O pacote *devtools* apresenta uma série de outras funcionalidades/facilidades para o desenvolvimento de pacotes, mas o apresentado aqui é suficiente para se iniciar.

Para aqueles interessados em aprofundar-se na temática, o livro *R Packages* (WICKHAM, 2015) é uma excelente referência. Outros materiais úteis estão disponíveis na internet, alguns deles sendo: Rodrigues (2019), Datacamp Team (2019), Duthie ([20--]), Kim *et al.* (2018), Posit Support (2023), Leisch (2009) e Ripley ([2012]).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dentro das ciências agrárias, estamos caminhando para uma utilização mais intensa de tecnologias de precisão, que permitem que dados sejam coletados em tempo real e de forma recorrente durante os dias e por todo o período em que os animais e as plantas estão em produção. Essa enorme massa de dados precisa ser analisada por softwares especializados e eficientes para gerar informação sensível e útil para a melhoria dos processos nos sistemas de produção. Dessa forma, profissionais que entendam da produção e que também sejam capazes de desenvolver ferramentas para análise dos seus dados serão de grande valor e contribuição para a agropecuária brasileira.

O sistema R permite, como pôde ser visto neste capítulo, que um pacote seja desenvolvido de maneira, relativamente, rápida e simples sem a necessidade de especialidade em ciência da computação e áreas afins. O aprendizado de um pouco mais do que o básico do software é suficiente para a criação de rotinas que possam ser utilizadas para fins de análise de dados. Com as ferramentas mostradas e um pouco de dedicação à matéria, qualquer pessoa pode desenvolver pacotes especializados que aumentarão a eficiência dos processos dos sistemas de produção e trarão novas ideias e soluções para problemas ainda não solucionados.

REFERÊNCIAS

- DATA CAMP TEAM. R Packages: a beginner's tutorial. **Datacamp**, New York, mar. 2019. Disponível em: <https://www.datacamp.com/tutorial/r-packages-guide>. Acesso em: 8 mar. 2023.
- DUTHIE, B. Writing R packages in Rstudio: tutorial adapted from stirlingcodingclub.github.io. **Condiong Club**, [s. l.], [20--]. Disponível em: <https://ourcodingclub.github.io/tutorials/writing-r-package/#:~:text=To%20get%20started%20on%20a,with%20the%20New%20Directory%20option..> Acesso em: 08 mar. 2023.
- KIM, I. S.; MARTIN, P.; MCMURRY, N.; HALTERMAN, A. Instructions for creating your own R package. **Massachusetts Institute of Technology**, [s. l.], p. 1-15, 2018. Disponível em: https://web.mit.edu/insong/www/pdf/rpackage_instructions.pdf. Acesso em: 8 mar. 2023.
- LEISCH, F. Creating R Packages: a tutorial. **The Comprehensive R Archive Network**, [s. l.], p. 1-19, 2009. Disponível em: <https://cran.r-project.org/doc/contrib/Leisch-CreatingPackages.pdf>. Acesso em: 08 mar. 2023.
- MELLO, M. P.; PETERNELLI, L. A. **Conhecendo o R**: uma visão mais que estatística. Viçosa: UFV, 2013.
- PARKER, H. Writing an R package from scratch. **Hilary Parker**, [s. l.], 29 abr. 2014. Disponível em: <https://hilaryparker.com/2014/04/29/writing-an-r-package-from-scratch/>. Acesso em: 22 fev. 2023.
- POSIT SUPPORT. Developing Packages with the RStudio IDE. **Posit Support**, Boston, 12 abr. 2023. Disponível em: <https://support.posit.co/hc/en-us/articles/200486488-Developing-Packages-with-the-RStudio-IDE>. Acesso em: 8 mar. 2023.

RIPLEY, R. M. **Making a R Package**. [2012]. Disponível em: <https://portal.stats.ox.ac.uk/userdata/ruth/APTS2012/Rcourse10.pdf>. Acesso em: 8 mar. 2023.

RODRIGUES, V. Como criar pacotes no R. **Medium**, [s. l.], 31 out. 2019. Disponível em: <https://medium.com/bio-data-blog/como-criar-pacotes-no-r-7364e4770047>. Acesso em: 8 mar. 2023.

VENABLES, W. N.; SMITH, D. M.; R CORE TEAM. **An Introduction to R**. 3. ed. Bristol: Network Theory Limited, 2005.

WICKHAM, H. **R Packages: organize, test, document, and share your code**. [S. l.]: O'Reilly Media, 2015.

WICKHAM, H.; BRYAN, J. **R Packages**. 2. ed. [S. l.]: O'Reilly Media, [202-]. Disponível em: <https://r-pkgs.org/>. Acesso em: 27 fev. 2023.

CAPÍTULO 20

UTILIZAÇÃO DA ULTRASSONOGRAFIA DE CARÇAÇA COMO FERRAMENTA NA SELEÇÃO GENÉTICA DE ANIMAIS DA RAÇA SENEPOL

Wanderley Teixeira Zucoloto

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.

Letícia de Oliveira*

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.

***Autora correspondente:**

leticia0499@gmail.com

Josiane Caobianco Dias Zucoloto

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.

Lucila de Sousa Vilela

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.

Claudia Maria Bertan Membrive

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.
Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Instituto de Biociências, Programa de Pós-
Graduação em Ciências Biomoleculares e
Farmacológicas, Botucatu, São Paulo, Brasil.

Resumo

A pecuária de corte é uma atividade que, cada vez mais, vem se destacando no cenário nacional e internacional. O Brasil se consagrou como o maior exportador mundial de carne bovina. Ao longo dos anos, diversas raças de bovinos foram surgindo, dentre essas, a raça Senepol, reconhecida como subespécie *Bos taurus taurus*, com descendência europeia. A raça vem se destacando pelas características de precocidade, docilidade, adaptabilidade ao clima tropical e maior resistência aos endo e ectoparasitas. No Brasil, o cenário atual da pecuária de corte requer o emprego de novas tecnologias que possam reduzir a idade de abate dos animais, aumentar a quantidade de carne produzida por carcaça abatida e, ainda, agregar ao produto características que possam conferir maior qualidade à carne. Nesse sentido, torna-se importante a identificação de características na carcaça que tenham um impacto altamente positivo na quantidade e qualidade da carne produzida, e que possam, inclusive, ser utilizadas na identificação e seleção de animais geneticamente superiores. Dentro desse contexto, a técnica de ultrassonografia de carcaça tem sido progressivamente mais empregada e se baseia nas medidas de área de olho de lombo, espessura de gordura subcutânea e marmoreio, características altamente correlacionadas à quantidade e qualidade da carne produzida e que apresentam expressiva herdabilidade na prole. Neste capítulo, são abordados aspectos importantes referentes à raça Senepol, em que explanaremos sua origem, seu desenvolvimento no Brasil, seus parâmetros produtivos e reprodutivos e o uso da técnica de ultrassonografia de carcaça como forma objetiva de mensurar características relacionadas à quantidade e qualidade de carne produzida, estrategicamente, para a seleção de animais geneticamente superiores.

1 INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização das Nações Unidas (ONU, 2022), a população mundial deve chegar a 8,5 bilhões de pessoas em 2030. Assim, o mundo presencia um aumento crescente da população e, conseqüentemente, da demanda por alimentos. Entre as exigências do mercado consumidor de carne bovina, pode-se citar algumas características, como maciez, marmoreio e suculência, aliadas à segurança alimentar do produto comercializado. É importante ressaltar que esse mercado consumidor pagará por qualidade nos alimentos produzidos, inclusive a carne.

Atualmente, o Brasil possui o maior rebanho bovino comercial do mundo, estimado em 196,47 milhões de cabeças, e se consagrou como o maior exportador mundial de carne bovina, com o abate de 39,14 milhões de cabeças em 2021, quando produziu 9,71 milhões de toneladas de equivalente carcaça, sendo 25,51% destinadas à exportação e 74,49% ao mercado interno. Quando avaliamos a produção mundial de carne bovina, os Estados Unidos alcançam a liderança, seguido pelo Brasil. Dessa forma, apesar de possuir o maior rebanho comercial do mundo, a produção de carne bovina está aquém das expectativas (BRAZILIAN BEEF, 2022).

O desafio do Brasil, para os próximos anos, é aumentar, sustentavelmente, a produção de carne bovina por hectare destinado à produção aliada ao aumento da qualidade sem a expansão de áreas destinadas à pecuária. Para tanto, torna-se necessário aumentar a quantidade de carne produzida por animal abatido, condição em que o melhoramento genético se torna protagonista. A seleção de animais geneticamente superiores, que possam ser utilizados exponencialmente como matrizes e reprodutores, assume grande protagonismo no sistema de produção animal atual. Para tal propósito, os animais podem ser selecionados por avaliação de testes de progênie, provas de ganho de peso, avaliação de algumas características específicas de carcaça por ultrassonografia e, mais recentemente, avaliação genômica.

A ultrassonografia representa uma técnica não invasiva ao animal, que possibilita determinar, com precisão, as medidas de carcaça que estão altamente correlacionadas à quantidade e qualidade de carne produzida a um custo acessível. Tal técnica permite a avaliação da composição física da carcaça, levando em conta seu rendimento e sua gordura de acabamento e de marmoreio. O emprego da ultrassonografia para a avaliação de carcaça possibilita diagnosticar precocemente a qualidade da carne do animal a ser abatido, favorecendo, ainda, a determinação do momento exato de terminação e, assim, reduzindo o abate de animais com insuficiente acabamento de gordura na carcaça (SUGUISAWA, 2002).

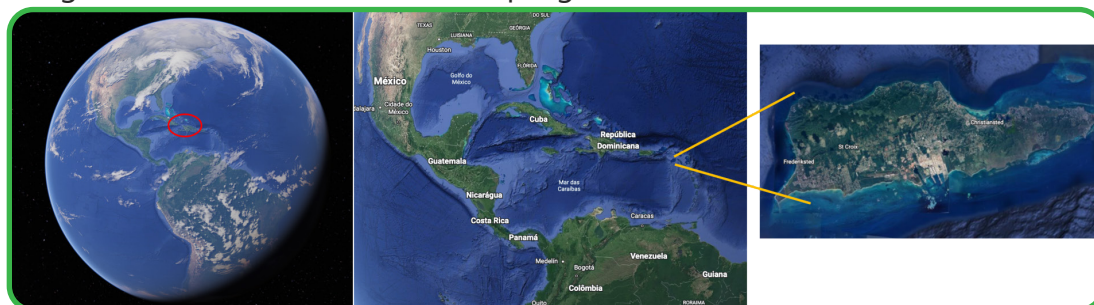
Com o objetivo de atender às exigências do mercado, buscou-se o desenvolvimento de novas raças no Brasil, como é o caso do gado Senepol. A raça tem se mostrado altamente qualificada no quesito qualidade de carcaça, já que se destaca no ganho de peso para abate, no rendimento de carcaça e na maciez da carne (SILVA; BORDIN; BUENO, 2019). Dessa forma, é necessário

ressaltar que o uso da ultrassonografia de carcaça na raça é de extrema importância para a seleção objetiva de animais geneticamente superiores, que possam ser utilizados como matrizes e reprodutores dentro da raça Senepol.

2 A ORIGEM DA RAÇA SENEPOL

Na história da raça Senepol, registra-se que a família Neltropp possuía um pequeno rebanho de bovinos da raça N'Dama, proveniente do Senegal (país africano localizado a oeste desse continente), em uma propriedade nas Ilhas Virgens (região Caribenha conhecida como Saint Croix), conforme ilustrado na **Figura 1**.

Figura 1. Localização da ilha de Saint Croix em destaque no mapa mundi. Imagem da ilha em três aumentos progressivos.



Fonte: Google Earth, 2023.

O gado N'Dama apresentava como características principais: resistência aos parasitas, habilidade em sobreviver em regiões precárias, chifres e ausência de cupim. Com esse pequeno rebanho, a família Neltropp era responsável pela produção de carne que abastecia a população local, dessa forma, sempre buscava maneiras de agregar mais valor ao seu produto (OKAMURA, 2015; DE PAULA, 2014).

Anos depois, na ilha vizinha, denominada Saint Thomas, a família adquiriu um touro da raça Red Poll puro, uma raça taurina britânica que possui caráter mocho, temperamento dócil e uma melhor característica de carcaça, quando comparada à raça N'Dama, e as matrizes apresentam boa habilidade materna. A partir do cruzamento industrial entre essas duas raças, N'Dama e Red Poll, surge a raça Senepol, caracterizada pela adaptabilidade às altas temperaturas, rusticidade e boa conformação frigorífica (OKAMURA, 2015; DE PAULA, 2014).

3 DESENVOLVIMENTO DA RAÇA NO BRASIL

Registros relatam que o pecuarista João Arantes Júnior, proprietário da Fazenda Agropecuária Nova Vida, localizada em Ariquemes (Estado de Rondônia), buscava uma raça de bovinos que oferecesse os benefícios do cruzamento industrial, mas que pudesse realizar os acasalamentos por monta natural. Como as áreas destinadas à fase de cria para a produção de

bezerros se concentravam em locais de alta temperatura, as raças europeias não registravam, até aquele momento, bons desempenhos. Ainda que os reprodutores de raças europeias, que realizavam os acasalamentos por monta natural, se caracterizavam por uma baixa longevidade (DE PAULA, 2014).

Diante desse contexto, João Arantes participou, inicialmente, do Projeto Montana Composto Tropical, raça composta produzida no Brasil com o objetivo de melhorar a produtividade e qualidade da carne. Nessa ocasião, um grupo de geneticistas sugeriu que ele realizasse cruzamentos com a raça Senepol, objetivando 100% de heterose e resistência ao calor. Na busca por reprodutores Senepol, João Arantes conheceu o pecuarista José Pereira, proprietário da Ganadera 63, localizada no Paraguai. Ambos se associaram e formaram a Associação Arantes Pereira (ASAP), responsável pela importação de animais da raça Senepol para o Brasil. De início, os animais seriam trazidos do Paraguai para o Brasil, porém, devido aos problemas com a barreira sanitária do país, não foi possível. Dessa forma, José Pereira conseguiu selecionar animais nos Estados Unidos para serem trazidos para o Brasil (DE PAULA, 2014).

Em 2000, 72 animais da raça Senepol provenientes dos Estados Unidos desembarcaram de um avião comercial no Brasil, mais precisamente em Porto Velho, e foram levados até a Fazenda Agropecuária Nova Vida, em Ariquemes, no estado de Rondônia. Com o intuito de acelerar a multiplicação genética dos animais importados, foi inaugurado o primeiro laboratório de produção *in vitro* de embriões (PIVE) do mundo construído dentro de uma propriedade rural, na fazenda Nova Vida (DE PAULA, 2014).

Em 2018, o Brasil contava com 99.778 exemplares da raça Senepol, além de 646 criadores segundo a Associação Brasileira dos Criadores de Bovinos Senepol (ABCB SENEPOL, 2019). Além disso, a raça se destacou em programas de desenvolvimento de cruzamentos com demais raças, como, por exemplo, a raça Nelore. Os produtos nascidos de fêmeas Nelore cruzadas com Senepol apresentam melhores características relacionadas à carne quando comparados aos de raça Nelore e, além disso, mantém características como tolerância ao calor e aos parasitas externos da raça zebuína (SILVA, A. *et al.*, 2018).

4 CARACTERÍSTICAS DA RAÇA

O Senepol é considerado uma raça taurina, com descendência europeia adaptada ao clima tropical. Os animais apresentam porte médio, caráter mocho, boa habilidade materna e temperamento dócil (**Figura 2**). Os mesmos apresentam como características: bom acabamento de carcaça, maior precocidade sexual, maior peso ao desmame e atingem o peso ideal ao abate mais cedo do que as raças zebuínas. Na atualidade, a raça representa uma boa opção em sistemas de acasalamento que requerem reprodutores para monta natural e para cruzamentos entre três raças no sistema *tricross* (SILVA, A. *et al.*, 2018).

Figura 2. Fêmea adulta da raça Senepol.



Nota: ID: CONQ343, doadora de oócitos da Central Lab FIV (Marília/SP), exportada para Ganadera La Blanca - PY, 83 meses de idade. Evidencia-se animal de cor marrom, pelo curto e ausência de chifres.

Fonte: arquivo pessoal.

Embora o cruzamento industrial apresente vantagens inquestionáveis, no Brasil, as temperaturas médias em torno de 30°C, registradas na maior parte do ano, aliadas aos registros de umidade do ar, podem comprometer o desenvolvimento de animais taurinos de baixa adaptabilidade ao clima tropical. Dentro dessa condição, a seleção de raças mais adaptadas se torna de grande importância, assim como a seleção de animais mais adaptados dentro da mesma raça. Quanto às raças com adaptabilidade ao calor, o Senepol tem se destacado, pois possui uma característica interessante denominada "*slickhair*", caracterizada pela pelagem curta, lisa e brilhante (SILVA, A. *et al.*, 2018). Tal característica está presente, também, em animais da raça Criollo, Carora e Romosinuano. O Senepol, em específico, adquiriu essa característica por ser uma raça composta, proveniente de Criollos primitivos de St. Croix cruzados com N'Dama e, posteriormente, cruzados com Red Poll (HUSON *et al.*, 2014). De acordo com A. Silva *et al.* (2018), no cromossomo BTA 20 dos animais Senepol, no locus referente ao pelame, que está envolvido no conceito da termotolerância, encontra-se a condição que torna a raça adaptada ao calor.

Outra característica importante associada à termotolerância da raça se refere às glândulas sudoríparas. De acordo com Ribeiro *et al.* (2010), em termos de cruzamento industrial, o cruzamento de Senepol com Nelore é mais eficiente que o de Angus com Nelore, em relação à adaptabilidade ao clima tropical. Embora as raças taurinas apresentem glândulas sudoríparas em menor densidade por cm² de pele e menor volume comparadas às raças zebuínas, os animais provenientes do cruzamento de Senepol com Nelore apresentam glândulas sudoríparas de maior diâmetro e volume mais semelhante ao Nelore, características que favorecem a perda de calor (SOSA *et al.*, 2022).

Outra característica importante a ser considerada, quando se promove a heterose, é que quanto maior a distância genética entre as raças envolvidas no cruzamento, maior tende a ser o desempenho dos filhos em produtividade, resistência e precocidade. Sendo assim, o cruzamento de matrizes zebuínas com reprodutores taurinos apresenta o máximo do benefício (ABCB SENEPOL, [202-]; SCHIERMIESTER *et al.*, 2015).

5 ASPECTOS PRODUTIVOS E REPRODUTIVOS NA RAÇA SENEPOL

Os animais Senepol vieram para o Brasil trazidos dos Estados Unidos no ano 2000, visando a produção *in vitro* de embriões pela Agropecuária Nova Vida, sediada no município de Ariquemes, no estado de Rondônia. Em 2013, a raça foi a segunda raça taurina de corte que mais comercializou sêmen no país, precedendo apenas para a raça Angus. Em 2014, o Senepol ficou em terceiro lugar com número de doses de sêmen comercializadas para a pecuária de corte, precedido pelas raças Nelore e Angus. Na **Tabela 1**, encontram-se destacados os parâmetros reprodutivos registrados na raça Senepol. Na **Tabela 2**, estão destacados alguns parâmetros produtivos de acordo com o sistema de produção (animais a pasto vs. Animais com a terminação em confinamento).

Tabela 1. Índices reprodutivos da raça Senepol.

| | |
|-------------------------|---------------|
| Peso à desmama da fêmea | 220 a 260 kg |
| Peso à desmama do macho | 240 a 300 kg |
| Puberdade fêmea | 14 meses |
| Puberdade macho | 14 a 16 meses |

Fonte: adaptada de Associação Brasileira dos Criadores de Bovinos Senepol (2017).

Tabela 2. Índices produtivos da raça Senepol de acordo com o sistema de produção (animais a pasto vs. Animais com a terminação em confinamento).

| | A PASTO | CONFINAMENTO |
|--------------------|----------|--------------|
| Peso ao abate | 560 kg | 650 kg |
| Idade ao abate | 30 meses | 24 meses |
| Ganho médio diário | 0,900 kg | 1,600 kg |
| Rendimento | 53% | 55% |
| Acabamento | bom | bom |

Fonte: elaborada pelos autores.

Deve-se assumir que, no Brasil, o crescimento do rebanho da raça Senepol está, diretamente, ligado ao uso de biotecnologias da reprodução, como a transferência de embrião e a produção *in vitro* de embriões (PIVE). A PIVE é uma das técnicas mais eficientes para acelerar a multiplicação de fêmeas geneticamente superiores, inclusive reduzindo o intervalo de tempo entre gerações e, dessa forma, acelerando o melhoramento genético na raça. A técnica consiste, basicamente, na obtenção de oócitos de doadoras por meio da aspiração folicular guiada por ultrassonografia transvaginal (OPU). Os oócitos

são selecionados, maturados *in vitro* (MIV) e, posteriormente, é procedida a fertilização *in vitro* (FIV) e o cultivo dos prováveis zigotos *in vitro* (CIV).

Os embriões produzidos por PIVE, com sete dias de desenvolvimento, podem ser transferidos, imediatamente, às fêmeas receptoras ou congelados e armazenados. Posteriormente, os embriões congelados podem ser descongelados e transferidos às fêmeas receptoras. Uma prática interessante é que, ao longo de todo o ano, os embriões podem ser produzidos e congelados para, então, serem transferidos durante a usual estação de monta, prática que possibilita o nascimento de bezerros em períodos mais favoráveis do ano. Especificamente os bezerros nascidos nos meses de agosto e setembro, oriundos dos acasalamentos ocorridos em novembro e dezembro, geram produtos que desmamam mais pesados, comparados aos bezerros nascidos nos demais meses do ano.

A PIVE favorece, ainda, a produção de vários embriões com a utilização de uma única dose de sêmen. Na **Tabela 3**, estão apresentados os índices de desempenho das fêmeas Senepol na PIVE. Em média, coleta-se 25 oócitos em novilhas e 40 oócitos em vacas. A média de aproveitamento dos oócitos é de 80%, havendo um descarte de, aproximadamente, 20% dos oócitos coletados, pois se seleciona apenas os de boa qualidade. As vacas produzem em média 7 a 8 embriões viáveis por OPU e as novilhas de 4 a 5 embriões viáveis. A porcentagem de oócitos cultivados, em relação aos embriões produzidos, é de 35%, quando se utiliza sêmen convencional, e de 25%, quando se utiliza sêmen sexado.

Tabela 3. Médias de dados de PIVE na raça Senepol.

| | |
|---|-----|
| Média de oócitos por novilha | 25 |
| Média de oócitos por vaca | 40 |
| Taxa de aproveitamento (número de oócitos colocados na MIV / número de oócitos totais coletados x 100) para novilhas | 65% |
| Taxa de aproveitamento (número de oócitos colocados na MIV / número de oócitos totais coletados x 100) para vacas | 80% |
| Média de embriões produzidos por novilhas a cada OPU | 4-5 |
| Média de embriões produzidos/por vacas a cada OPU | 7-8 |
| Taxa de embriões produzidos (número de embriões produzidos no D7/ número de oócitos fertilizados x 100) com o uso de sêmen convencional | 35% |
| Taxa de embriões produzidos (número de embriões produzidos no D7/ número de oócitos fertilizados x 100) com o uso de sêmen sexado | 25% |
| Taxa de prenhez (número de fêmeas prenhas / número de fêmeas que receberam o embrião x 100) em embriões transferidos a fresco | 45% |
| Taxa de prenhez (número de fêmeas prenhas / número de fêmeas que receberam o embrião x 100) em embriões descongelados e transferidos | 32% |

Nota: Central Senepol, Marília -SP. Período de 2016 a 2023. Médias obtidas de 5703 aspirações foliculares (OPU) realizadas pela central.

Fonte: elaborada pelos autores.

6 EMPREGO DA ULTRASSONOGRAFIA DE CARÇAÇA PARA A SELEÇÃO DE ANIMAIS GENETICAMENTE SUPERIORES

A qualidade da carne bovina tem se tornado um fator de suma importância e exigência do consumidor, sendo a maciez uma das características mais desejadas. Assim, a cadeia de produção da carne bovina tem concentrado pesquisas e esforços para um melhoramento genético rápido e eficaz. Com o intuito de melhorar tal qualidade, deve haver uma perfeita interação entre genética, manejo, nutrição e sanidade. Dessa forma, para atingir maior produtividade com qualidade na bovinocultura de corte, algumas ferramentas de seleção podem ser citadas, como o Programa de melhoramento (Geneplus – Embrapa), a avaliação genômica, as provas de ganho de peso e, também, a ultrassonografia de carcaça (ROSA *et al.*, 2013).

A ultrassonografia de carcaça é uma técnica de fácil execução e de grande precisão, que permite a avaliação das características da carcaça através de um procedimento não invasivo realizado em animais *in vivo* (YOKOO *et al.*, 2009). Essa técnica é realizada com a finalidade de seleção e avaliação da composição corporal de doadoras, reprodutores e de sua progênie, avaliação dos lotes em relação à deposição de gordura para determinar o melhor momento de abate, seleção de animais para escolha de lotes homogêneos para mercado e abate, sendo um extra para seleção e descarte de animais e, além disso, para qualificar a carcaça antes do abate (SILVA, M. *et al.*, 2018).

A técnica é realizada por meio de um aparelho de ultrassom, o modelo bastante utilizado é o Aloka 210DX e probe modelo 5034, 10.7-cm, 3.5-MHz linear. Para a realização da ultrassonografia, os animais devem ser contidos em um tronco de manejo (**Figura 3**).

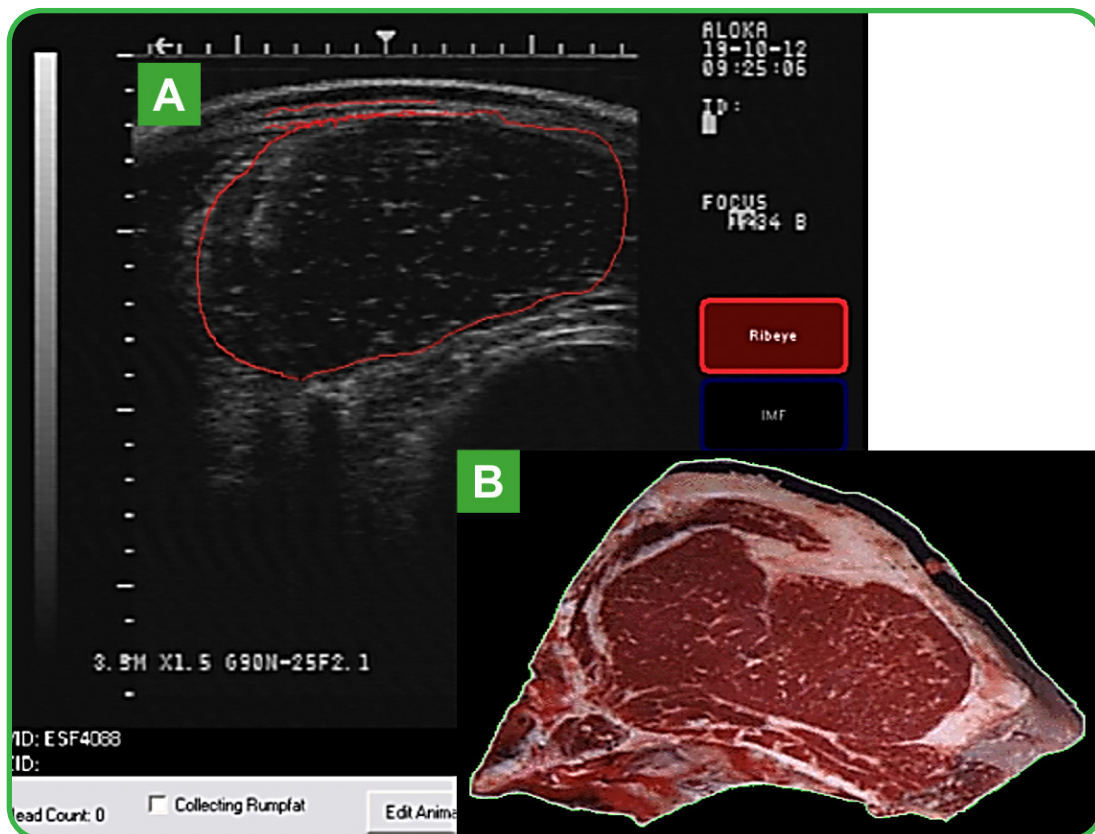
Figura 3. Animal da raça Senepol contido em tronco de manejo com profissional realizando ultrassonografia de carcaça.



Fonte: cedida por DGT Brasil.

Nas imagens registradas pelo ultrassom, conforme ilustrado na **Figura 4**, são identificados diferentes gradientes de ecogenicidade (variações na cor do registro do preto ao branco, passando por tons intermediários). Por exemplo, os pontos brancos observados na região delimitada se referem às áreas de deposição de gordura. A medição, para a comparação entre os animais, é padronizada para ser realizada no músculo *Longissimus dorsi*, entre a 12ª e 13ª costela. Considerando que a deposição de gordura do animal ocorre das extremidades em direção ao centro do corpo, o último ponto a ser depositada a gordura é o músculo *Longissimus dorsi*, entre a 12ª e 13ª costela. O padrão de pontos brancos, nessa região, define o grau de marmoreio da carne. Existe uma correlação de até 90% entre as imagens geradas por ultrassom e o corte real da carne.

Figura 4. Imagem ultrassonográfica do músculo *Longissimus dorsi*, entre a 12ª e 13ª costela.



Legenda: A) Imagem ultrassonográfica da área de olho de lombo; B) Imagem do corte real que gerou a imagem por ultrassonografia.

Fonte: cedida por Dra. Liliane Suguisawa (2022).

As imagens de ultrassom são integradas a um sistema computacional, que faz a captura de imagem e mensuração dos parâmetros comumente utilizados para a avaliação de carcaça, como apresentado na **Figura 5**. O sistema normalmente utilizado é o Software Bovine Image Analysis, que apresenta precisão e confiabilidade nas estimativas de medição.

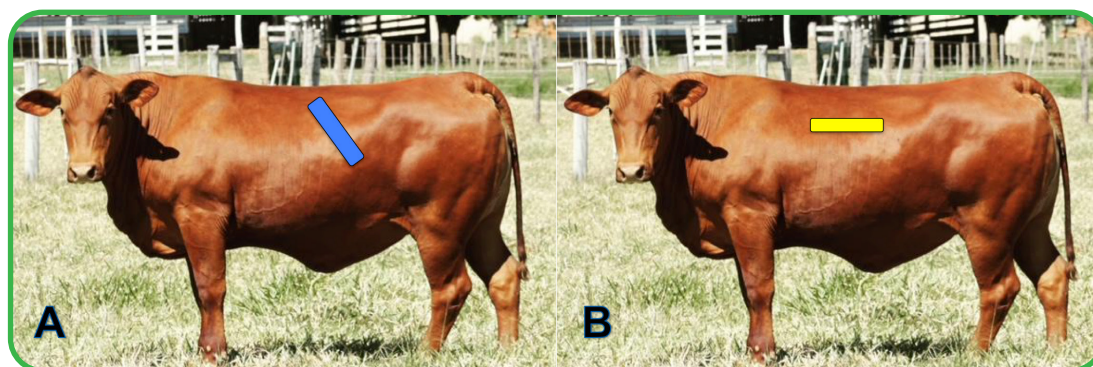
Figura 5. Software Bovine Image Analysis utilizado em tempo real durante ultrassonografia e medições de AOL (vermelho) e MAR (verde).



Fonte: arquivo pessoal.

Normalmente, visualiza-se um corte transversal do músculo *Longissimus dorsi*, na região da 12^a e 13^a costelas, para a medição de AOL e EGS, e a leitura da imagem de um corte longitudinal entre a 11^a a 13^a costelas para estimar o MAR, em concordância com a **Figura 6**.

Figura 6. Posições de cortes.



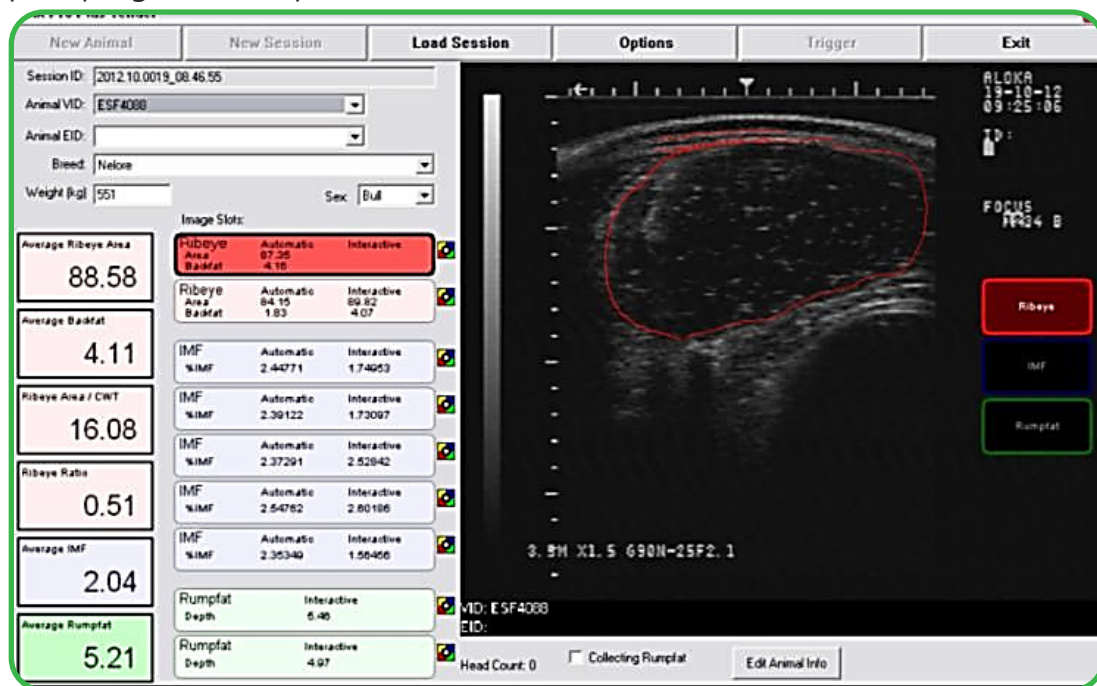
Legenda: A) Posição do corte transversal do músculo *Longissimus dorsi*, na região da 12^a e 13^a costelas, para a medição de AOL e EGS; B) corte longitudinal entre a 11^a a 13^a costelas para estimar o MAR.

Fonte: elaborada pelos autores.

6.1 ÁREA DE OLHO DE LOMBO (AOL)

A AOL é medida em cm^2 entre a 12^a e 13^a costela na área do músculo *Longissimus dorsi*, como demonstra a **Figura 7**. Tal medida é realizada em animais acima de 18 meses e está correlacionada com a musculosidade e o rendimento de cortes cárneos. Essa característica possui herdabilidade de moderada a alta, auxilia na seleção de animais de alta musculosidade e alto rendimento de cortes cárneos. Considera-se que valores mensurados acima de 75 cm^2 indicam animais com alto rendimento de carcaça (PRADO, 2004). Importante ressaltar que, em relação à avaliação do AOL, é necessário considerar o biotipo do animal, já que a medida se estabiliza em um animal adulto (por volta de 5 anos), porém, é ideal que aos 30 meses, idade em que o animal se destina ao abate, a taxa de AOL já esteja pré-determinada.

Figura 7. Círculo contornando a AOL com as referidas medições realizadas pelo programa computacional.

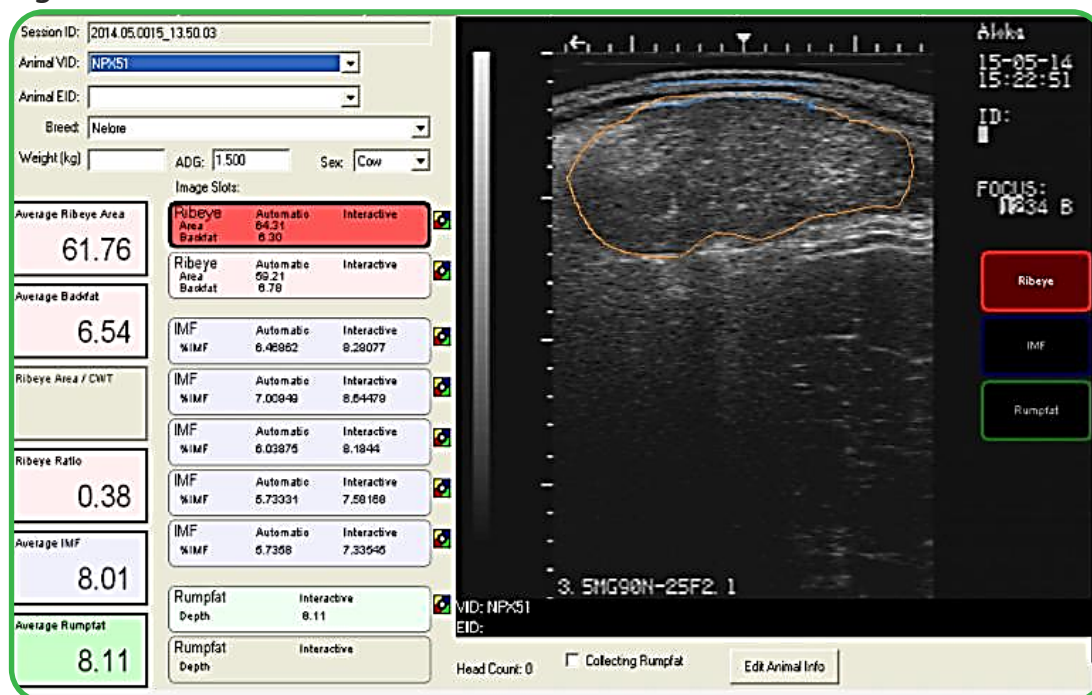


Fonte: cedida por DGT Brasil (2022).

6.2 ESPESSURA DE GORDURA SUBCUTÂNEA (EGS) E GORDURA NA PICANHA (RUMP).

A EGS é mensurada em milímetros, a $\frac{3}{4}$ de distância medial do músculo *Longissimus dorsi* entre a 12ª e 13ª costela, conforme ilustrado na **Figura 8**.

Figura 8. Linha azul delimitando a EGS.



Fonte: cedida por DGT Brasil (2022).

A gordura subcutânea torna-se muito importante na proteção da carcaça durante o resfriamento da carne, característica benéfica registrada a partir de 3mm de espessura. Após o abate, a carcaça é resfriada em baixa temperatura (-4°C a 0°C) por 8 a 12 horas, procedimento que evita o escurecimento e endurecimento da carne. Além da EGS ser a medida utilizada para identificar o acabamento de carcaça, a mesma também está correlacionada à precocidade sexual e fertilidade. A EGS apresenta herdabilidade moderada a elevada (MEO *et al.*, 2014).

Levando em consideração um confinamento com uma dieta balanceada e um animal com qualidade genética, é possível adicionar 1mm de gordura a cada 30 dias. A medida de EGS tem como valores ideais de 4 a 6mm na carcaça.

A EGS também pode ser medida na picanha (RUMP), medida representativa como indicativo de precocidade sexual, mas que não indica a cobertura completa de gordura na carcaça; considerando que o último ponto a ser depositado a gordura é no centro do corpo do animal entre a 12ª e 13ª costela, parte onde se mede o EGS.

6.3 MARMOREIO (MAR)

O marmoreio se caracteriza pela gordura existente entre as fibras musculares, como demonstrado na **Figuras 9**.

Figura 9. Carne demonstrando o alto grau de marmoreio.



Fonte: cedida por Dra. Liliane Suguisawa (2022).

O MAR é avaliado em uma escala de 1 a 10. É, grandemente, influenciado pela genética e pelo plano nutricional oferecido ao animal em todas as fases de vida, desde a vida intrauterina até o animal adulto. Além disso, está correlacionado com as características organolépticas da carne, como sabor, suculência e maciez. Quando se propõe a melhorar a qualidade da carne, buscando a produção de carne "gourmet", o MAR é a principal característica correlacionada, tornando-se uma medida importante na seleção de animais destinados ao mercado de carnes especiais. Tal característica possui herdabilidade moderada a alta. Importante ressaltar que não é possível melhorar essas características apenas por meio da alimentação, pois tal característica é altamente dependente da influência genética (SUGISAWA; MATOS; SUGISAWA, 2013).

A **Figura 10** demonstra as evidências de três diferentes escores de MAR, que resulta da condição genética diferenciada entre os indivíduos que podem apresentar diferentes números de adipócitos entre as fibras musculares por uma definição genética.

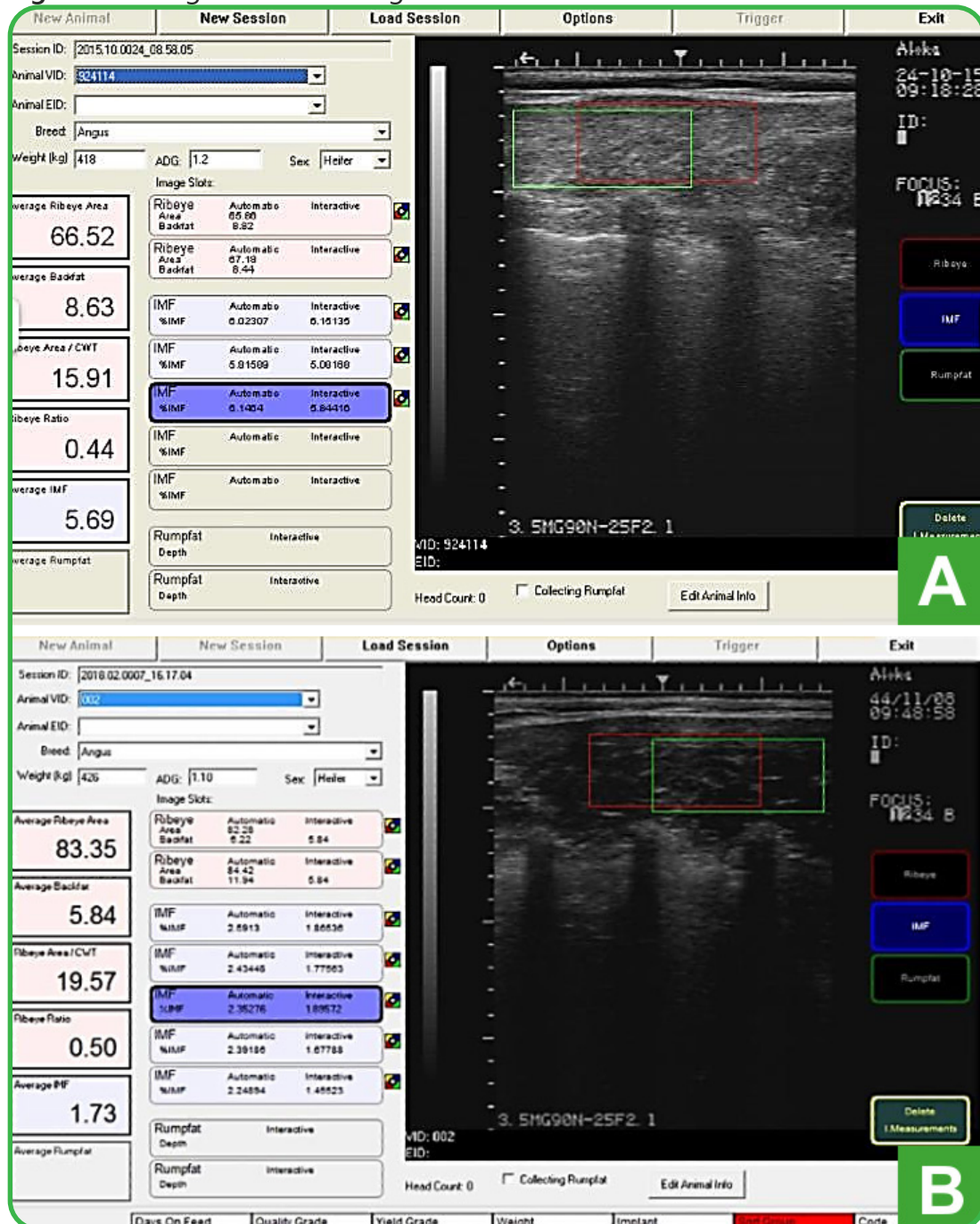
Figura 10. Evidencia-se três diferentes escores de MAR, que resulta da condição genética diferenciada entre os indivíduos que podem apresentar diferentes números de adipócitos entre as fibras musculares.



Legenda: A) Nelore; B) Angus e C) Wagyu.
 Fonte: cedida por Dra. Liliane Suguisawa (2022).

O animal A é da raça Nelore, o B é Angus e o C Wagyu. Teoricamente, a raça Nelore, geneticamente, tem menos adipócitos entre as fibras musculares, o Angus possui mais adipócitos que o Nelore e, por fim, o Wagyu é a que mais possui adipócitos. Deve-se salientar que existem variações entre os indivíduos para as três raças grandes. Assim, torna-se importante reconhecer os animais com alto MAR dentro da raça. A **Figura 11** mostra a imagem ultrassonográfica de animais com diferentes escores de MAR.

Figura 11. Imagens ultrassonográficas de marmoreio.



Legenda: A) MAR = 5,69; B) MAR = 1,73.

Fonte: cedida por DGT Brasil (2022).

7 ULTRASSONOGRAFIA DE CARÇA – EXEMPLO PRÁTICO

O Laboratório de Fertilização *in vitro* Central Senepol, localizado em Marília-SP, seleciona suas doadoras de oócitos, por meio da técnica da ultrassonografia de carça. Importante ressaltar que, para que a carça seja classificada como gourmet, é necessário atingir as seguintes medidas: AOL \geq 75; MAR \geq 3; EGS \geq 3.

A seguir, serão apresentados animais, cujas medidas foram mensuradas para AOL, MAR e EGS; além da produção de oócitos por sessão de aspiração guiada por ultrassom. Nas tabelas apresentadas, a cor verde representa valores desejáveis (acima da nota de corte), a cor amarela representa valores medianos e a cor vermelha representa valores indesejáveis (abaixo da nota de corte); dentro dos parâmetros AOL, marmoreio, EGS e produção de oócitos/aspiração.

Na **Tabela 4**, é possível observar duas doadoras com excelentes medidas para AOL, marmoreio e EGS (Doadoras 3 e 4). Tais medidas se tornam muito relevantes para a seleção de fêmeas geneticamente superiores para a produção de carne. A doadora 2 apresenta menor medida de AOL, assim, seus produtos terão um menor rendimento de carne, que será de pior qualidade. Animais com AOL \geq 75 cm² são considerados bons (verde), abaixo de 75cm² são medianos (amarelo). A tabela também ilustra oócitos aspirados por vacas que são levados para a maturação *in vitro*.

Tabela 4. Tabela comparativa entre 5 doadoras da raça Senepol quanto ao AOL, MAR, EGS e número de oócitos encaminhados para a maturação *in vitro*.

| ANIMAL | PESO | IDADE DGT | | AOL | MAR | EGS | OÓCITOS |
|--------|------|-------------|---------|--------------|-------------|-------------|--------------|
| 1 | 480 | 2,67 | | 81,16 | 2,72 | 4,80 | 120 |
| 2 | 484 | 1,47 | | 69,53 | 3,56 | 4,24 | 55 |
| 3 | 529 | 2,75 | GOURMET | 78,35 | 4,60 | 9,88 | 51 |
| 4 | 435 | 2,48 | GOURMET | 75,18 | 4,26 | 4,24 | 50 |
| 5 | 424 | 1,45 | | 78,64 | 2,71 | 4,72 | 41 |
| | 470 | 2,16 | | 76,57 | 3,57 | 5,58 | 63,40 |

Fonte: elaborada pelos autores.

Na **Tabela 5**, é possível verificar uma relação de doadoras de oócitos com mensurações abaixo do desejável, portanto, é necessário fazer um acasalamento corretivo, selecionando touros melhoradores. Doadoras com AOL acima de 60 cm² e abaixo de 75 cm² são consideradas medianos (amarelo) enquanto as abaixo de 60 cm² são ruins (vermelho). A tabela também ilustra o número de oócitos aspirados por vacas que foram levados para a maturação *in vitro*.

Tabela 5. Tabela comparativa entre 7 doadoras da raça Senepol quanto ao AOL, MAR, EGS e número de oócitos encaminhados para maturação *in vitro*.

| RG | PESO | IDADE DGT | AOL | MAR | EGS | OÓCITOS |
|----|------|-------------|--------------|-------------|-------------|--------------|
| 1 | 316 | 1,60 | 53,87 | 3,36 | 2,59 | 75 |
| 2 | 300 | 1,52 | 47,90 | 2,37 | 2,18 | 61 |
| 3 | 354 | 2,01 | 54,36 | 4,08 | 2,60 | 54 |
| 4 | 370 | 2,21 | 64,43 | 3,05 | 2,25 | 40 |
| 5 | 400 | 2,45 | 74,77 | 3,33 | 2,76 | 25 |
| 6 | 381 | 2,00 | 61,37 | 3,18 | 2,48 | 17 |
| 7 | 315 | 1,69 | 53,46 | 2,97 | 2,11 | 5 |
| | 348 | 1,93 | 58,59 | 3,19 | 2,42 | 39,57 |

Fonte: elaborada pelos autores.

Na **Tabela 6**, estão apresentados cinco diferentes reprodutores da raça Senepol e suas respectivas medidas. Quando o objetivo maior da produção se refere à obtenção de carne gourmet, o ideal seria utilizar o reprodutor que traz a maior medida de AOL e marmoreio, encontrada no Touro 1. Os descendentes do Touro 1 serão favorecidos pela genética paterna para apresentarem maior rendimento de carcaça por animal abatido, além de uma qualidade de carne maior caracterizada pelo maior escore de marmoreio. Importante ressaltar que o ideal é que de todas as características apresentem índices superiores e não apenas uma específica com índice excelente, ou seja, essas características devem se apresentar todas (AOL, MAR e EGS) promissoras de forma conjunta. Objetivamente, o AOL ótimo representa uma carcaça com grande quantidade de carne e rendimento; MAR ótimo representa palatabilidade e suculência da carne; EGS ótimo determina o acabamento de carcaça e fertilidade. Nesse contexto, apenas o Touro 1 reúne o conjunto tríade nessa seleção.

Tabela 6. Avaliação de carcaça de touros da raça Senepol.

| ANIMAL | AOL | MAR | EGS |
|--------|--------|------|-------|
| 1 | 141,55 | 3,61 | 10,11 |
| 2 | 113,12 | 0,62 | 3,42 |
| 3 | 83,48 | 2,29 | 7,86 |
| 4 | 88,33 | 0,82 | 2,20 |
| 5 | 61,14 | 3,82 | 3,54 |

Fonte: elaborada pelos autores.

Por meio da técnica de ultrassonografia de carcaça, torna-se possível realizar acasalamentos corretivos, separar os melhores animais para multiplicação genética ou, ainda, excluir os animais com piores índices, mantendo a homogeneidade do rebanho.

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Brasil é um dos maiores exportadores de carne *commodities* do mundo, porém, importa carnes nobres. Esse fato está relacionado à baixa qualidade das carcaças brasileiras. Desse modo, é necessário selecionar e mapear os animais, a fim de promover a multiplicação genética dos animais superiores. Dessa maneira, a ultrassonografia de carcaça surgiu para auxiliar a seleção desses animais. Essa técnica caracteriza um avanço tecnológico, revolucionando a compreensão básica da biologia em bovinos e selecionando carcaças de melhor qualidade, as quais possuem alta relevância na indústria frigorífica. As aplicações práticas do ultrassom na indústria da carne bovina apresentam grande potencial para melhorar os sistemas de produção. Portanto, a técnica é essencial para a seleção de doadoras e reprodutores da raça Senepol, já que os seus resultados possuem alta precisão e garantem boa herdabilidade, isto é, serão transmitidas para os seus descendentes.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DE BOVINOS SENEPOL (ABCB SENEPOL). Rebanho registrado de Senepol cresce no Brasil. **ABCB Senepol**, Uberlândia, 2019. Disponível em: <https://senepol.org.br/rebanho-registrado-de-senepol-cresce-no-brasil/>. Acesso em: 30 maio 2023.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DE BOVINOS SENEPOL (ABCB Senepol). Características. **ABCB Senepol**, Uberlândia, 2017. Disponível em: <https://senepol.org.br/caracteristicas/>. Acesso em: 23 dez. 2022.
- BRAZILIAN BEEF. **Beef Report**: perfil da pecuária no Brasil 2022. [S. l.]: ABIEC; Apex Brasil, 2022. Disponível em: <https://www.abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2022/>. Acesso em: 10 dez. 2022.
- DE PAULA, D. F. **Senepol**: feito para o Brasil. 1. ed. Campo Grande: ABCB Senepol, 2014.
- HUSON, H. J.; KIM, E. S.; GODFREY, R. W.; OLSON, T. A.; MCCLURE, M. C.; CHASE, C. C.; SONSTEGARD, T. S. Genome-wide association study and ancestral origins of the slick-hair coat in tropically adapted cattle. **Frontiers in Genetics**, Lausanne, v. 5, p. 1-12, 2014.
- MEO FILHO, P. D.; SILVA, M. L. P.; SAKAMOTO, L. S.; ALENCAR, M. M.; NASSU, R. T.; BERNDT, A.; TULLIO, R. R. Avaliação das correlações entre medidas de espessura de gordura subcutânea e área de olho de lombo na carcaça e por ultrassonografia em bovinos cruzados, machos e fêmeas, terminados em confinamento. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, 24., 2014, Vitória. **Anais [...]**. Vitória: Associação Brasileira de Zootecnistas; Zootec, 2014.
- OKAMURA, V. **Estrutura genética da raça Senepol no Brasil por meio de análise de pedigree**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2015.
- ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS. **População mundial chegará a 8 bilhões em novembro de 2022**. ONU, 2022. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt->

br/189756-popula%C3%A7%C3%A3o-mundial-chegar%C3%A1-8-bilh%C3%B5es-em-novembro-de-2022. Acesso em: 2 jun. 2023.

PRADO, C. S.; PÁDUA, J. T.; CORRÊA, M. P. C.; FERRAZ, J. B. S.; RESENDE, L. S. Comparação de diferentes métodos de avaliação da área de olho de lombo e cobertura de gordura em bovinos de corte. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 5, n. 3, p. 141-148, 2004.

RIBEIRO, A.; ALENCAR, M. M.; SILVA, J. R. M. C.; RAMOS, A.; PAÇO, A.; IBELLI, A.; STARLING, J. Características das glândulas sudoríparas de bovinos Nelore, Senepol x Nelore e Angus x Nelore. *In*: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 47., 2010, Salvador. **Anais** [...]. Salvador: SBZ, 2010.

ROSA, A. N.; MARTINS, E. N.; MENEZES, G. O.; SILVA, L. O. C. (ed.). **Melhoramento genético aplicado em gado de corte**: Programa Geneplus-Embrapa. Brasília: Embrapa, 2013.

SCHIERMIESTER, L. N.; THALLMAN, R. M.; KUEHN, L. A.; KACHMAN, S. D.; SPANGLER, M. L. Estimation of breed-specific heterosis effects for birth, weaning, and yearling weight in cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 93, n. 1, p. 46-52, 2015.

SILVA, A. L.; BORDIN, R. A.; BUENO, R. Atributos relacionados à carne do gado Senepol. **Tekhne e Logos**, Botucatu, v. 10, n. 1, p. 27-36, 2019.

SILVA, A. L.; SATO, G. Y. P.; BORDIN, R. A.; REIS, H. M. G. A raça Senepol como opção para melhoramento genético em adaptabilidade ao clima tropical. **Tekhne e Logos**, v. 9, n. 1, p. 16-30, 2018.

SILVA, M. J. F. B.; LINS, L. F.; LINS, N. B. O.; SIQUEIRA, M. G. F. M.; MOURA, A. P. B. L.; CARVALHO NETO, P. M.; BARBOSA, S. B. P.; DUTRA JÚNIOR, W. M. Avaliação de carcaça bovina: uma revisão sobre o uso do ultrassom. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, Recife, v. 11, n. 4, p. 279-284, 2018.

SOSA, F.; CARMICKLE, A. T.; OLIVEIRA, L. J.; SAGHEER, M.; SALEEM, M.; YU, F. H.; HANSEN, P. J. Effects of the bovine SLICK1 mutation in PRLR on sweat gland area, FOXA1 abundance, and global gene expression in skin. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 105, n. 11, p. 9206-9215, 2022.

SUGISAWA, L.; MATOS, B. C.; SUGISAWA, J. M. Uso da ultrassonografia na avaliação de características de carcaça e de qualidade da carne. *In*: ROSA, A. N.; MARTINS, E. N.; MENEZES, G. O.; SILVA, L. O. C. (ed.). **Melhoramento genético aplicado em gado de corte**: Programa Geneplus-Embrapa. Brasília: Embrapa, 2013. Disponível em: https://old.cnpqg.embrapa.br/mkt/geneplus29/capitulos-livro/Cap09_Ultrassonografia_Carca%C3%A7a.pdf. Acesso em: 2 jan. 2023.

SUGISAWA, L. **Ultra-sonografia para predição das características e composição da carcaça de bovinos**. 2002. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

YOKOO, M. J. I.; WERNECK, J. N.; PEREIRA, M. C.; ALBUQUERQUE, L. G. D.; KOURY FILHO, W.; SAINZ, R. D.; ARAUJO, F. R. Correlações genéticas entre escores visuais e características de carcaça medidas por ultrassom em bovinos de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 2, p. 197-202, 2009.

CAPÍTULO 21

USO DE DIFERENTES ÁCIDOS GRAXOS EM TECIDOS REPRODUTIVOS CULTIVADOS *IN VITRO*

Lucas de Oliveira Bezerra*

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Instituto de Biociências, Programa de Pós-
Graduação em Ciências Biomoleculares e
Farmacológicas, Botucatu, São Paulo, Brasil.

***Autor correspondente:**

lucas.bezerra@unesp.br

Laura Chuba Machado Rolniche

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.

Valeska de Castro Lourenço

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.

Adriano Felipe Mendes

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Instituto de Biociências, Programa de Pós-
Graduação em Ciências Biomoleculares e
Farmacológicas, Botucatu, São Paulo, Brasil.

Mariângela Bueno Cordeiro

Maldonado

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências e Letras, Programa
de Pós-Graduação em Biociências -
Caracterização e Aplicação da Diversidade
Biológica, Assis, São Paulo, Brasil.

Claudia Maria Bertan Membrive

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.
Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Instituto de Biociências, Programa de Pós-
Graduação em Ciências Biomoleculares e
Farmacológicas, Botucatu, São Paulo, Brasil.

Resumo

A mortalidade embrionária precoce, ocasionada por falhas no reconhecimento materno-fetal nas primeiras três semanas após a fertilização, representa a maior causa de ineficiência reprodutiva em fêmeas bovinas de corte. Estratégias que favoreçam tal reconhecimento se baseiam em minimizar a capacidade de síntese da prostaglandina F2 α pelo endométrio materno e/ou maximizar o estímulo anti-luteolítico induzido pelo conceito, incluindo o aumento da síntese de prostaglandina E2, sintetizada pelo endométrio materno e pelas células trofoblásticas do embrião e conceito. A prostaglandina E2 tem sido considerada um fator de ação luteotrófica que estimula a produção de progesterona no corpo lúteo, fundamental no êxito do estabelecimento da prenhez. Os ácidos graxos poliinsaturados (ômega-3 e ômega-6) e monoinsaturados (ômega-9) podem modular a proporção de prostaglandina F2 α e prostaglandina E2 produzidas pelas células trofoblásticas de embriões e conceitos. A suplementação lipídica, com ácidos graxos específicos em determinados sistemas de cultivo *in vitro*, tem demonstrado efeitos promissores. Neste capítulo, serão apresentados os lipídios empregados em sistemas de cultivo *in vitro*, com o objetivo de modificar a síntese de prostaglandina F2 α e prostaglandina E2, de forma a favorecer o reconhecimento materno-fetal. Alguns desses estudos, inclusive realizados por este grupo, serão apresentados ao longo deste capítulo.

1 INTRODUÇÃO

Um dos principais fatores que comprometem a eficiência reprodutiva de fêmeas bovinas de corte é a mortalidade embrionária precoce (MEP), ocasionada por falhas no reconhecimento materno-fetal (RMF) no período compreendido entre 15 e 17 dias após a fecundação, que acomete 20 a 40% das vacas após o acasalamento. Para o sucesso no estabelecimento da prenhez, o concepto (embrião e membranas anexas) deve produzir, competentemente, moléculas que interajam com o endométrio, inibindo a síntese de prostaglandina F₂α (PGF₂α) e a luteólise. Tal ação preserva, funcionalmente e estruturalmente, o corpo lúteo (CL), mantendo altas concentrações de progesterona (P₄) circulantes. A PGF₂α apresenta efeito luteolítico, promovendo a regressão funcional e estrutural do CL, imprescindível para que, na ausência do RMF, a fêmea possa apresentar estros 3 a 4 dias após a regressão, assim, ganhando uma nova chance de acasalamento.

O interferon-tau (IFN-τ), sintetizado e secretado pelas células trofoblásticas do concepto, foi caracterizado como o principal fator envolvido no RMF na espécie bovina. Quando o concepto produz de maneira competente o IFN-τ, a síntese de PGF₂α é suprimida no endométrio, enquanto se registra um aumento na síntese de prostaglandina E₂ (PGE₂). Na ocorrência de um RMF bem-sucedido, a síntese de PGE₂ é aumentada no endométrio e nas células trofoblásticas do embrião e concepto. A PGE₂ exerce efeitos anti-luteolíticos e luteotróficos, ambos fundamentais para o êxito da prenhez.

O IFN-τ e a PGE₂, ambos de ação luteotrófica, garantem a permanência do CL e manutenção de altas concentrações circulantes de P₄, condição fundamental para o estabelecimento da prenhez. Na incapacidade do concepto em promover tais ações coordenadas, serão determinadas a luteólise e a mortalidade embrionária precoce. Assim, estratégias capazes de reduzir a capacidade da síntese de PGF₂α e aumentar a síntese de PGE₂ pelo endométrio, embrião e/ou concepto se tornam de grande interesse econômico no combate a MEP.

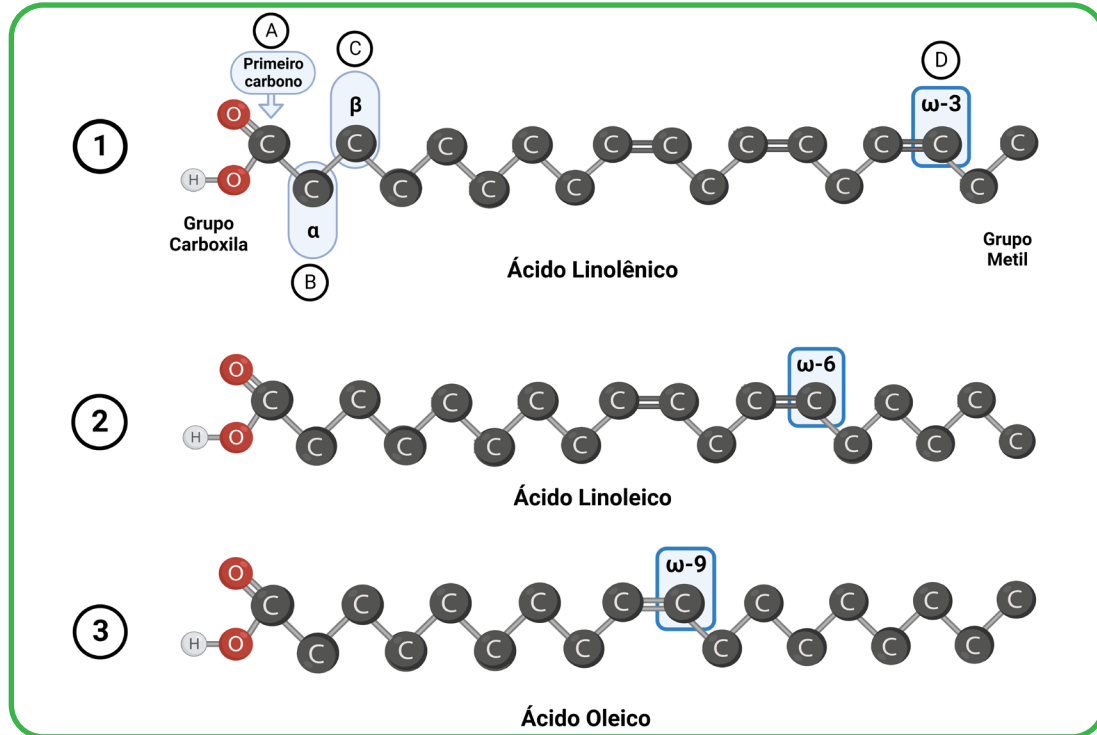
As células trofoblásticas bovinas (CT-1) representam uma linhagem celular derivada de blastocistos produzidos *in vitro* com 10 a 11 dias de desenvolvimento (TALBOT *et al.*, 2000). Para avaliar os efeitos dos ácidos graxos, especificamente no embrião e concepto, o grupo de pesquisa do Laboratório de Investigação da Fisiologia do Endométrio e Embrião (LIFE) tem utilizado dois modelos biológicos: o cultivo de células trofoblásticas e a produção *in vitro* de embriões bovinos. Alguns resultados promissores obtidos pelo grupo LIFE serão apresentados e discutidos.

2 CARACTERIZAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS

Os ácidos graxos são ácidos orgânicos hidrocarbonados de caráter hidrofóbico, compostos por cadeias carbônicas contendo carbono (C), oxigênio (O) e hidrogênio (H). Conforme ilustrado na Figura 1, os ácidos graxos apresentam o carbono de uma das extremidades ligado a um grupo carboxila

(A), sendo esse denominado de primeiro carbono. O segundo carbono é denominado alfa (B), o terceiro beta (C) e o carbono do grupo metil, situado na extremidade oposta, é designado de ômega (D). O carbono ômega constitui três famílias com base em sua estrutura química: ômega-3 (n-3), ômega-6 (n-6) e ômega-9 (n-9).

Figura 1. Representação da cadeia carbônica da família dos ômeegas 3, 6 e 9.



Legenda: (1) Representação do ácido linolênico classificado como ômega-3 (ω -3). (A) Primeiro carbono, ligado ao grupo carboxila. (B) Carbono - alfa (α). (C) Carbono - beta (β). (D) Carbono do grupo metil, denominado ômega (ω). (2) Ácido linoleico classificado como ômega-6 (ω -6). (3) Ácido oleico classificado como ômega-9 (ω -9).

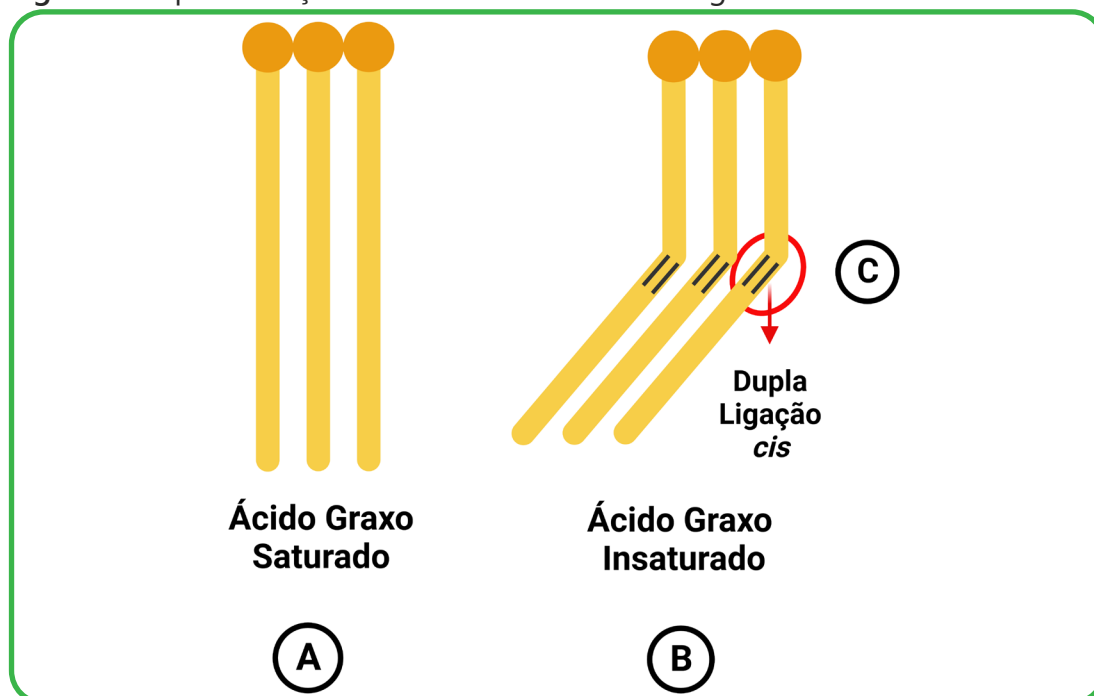
Fonte: elaborada pelos autores. Ilustração: Laura Chuba Machado Rolniche.

Na presença de apenas uma dupla ligação, denominam-se ácidos graxos monoinsaturados (MUFA) e, quando apresentam duas ou mais duplas ligações, são nomeados de ácidos graxos poliinsaturados (AGPI). Os AGPI possuem mais de uma ligação dupla presente na molécula, onde a primeira ligação dupla está localizada a 3, 6 ou 9 carbonos da extremidade metil da molécula. O ácido linolênico (ALA) é um AGPI com 18 átomos de carbono e apresenta três ligações duplas, entre os carbonos 9-10, entre os carbonos 12-13 e entre os 15-16, esse denominado ômega-3. O ácido linoleico (AL) é um ácido AGPI que apresenta em sua estrutura 18 átomos de carbono e duas ligações duplas localizadas nos carbonos 9 e 13, denominado ômega-6. O ácido oleico (AO) é um ácido graxo MUFA com 18 átomos de carbono na cadeia e uma ligação dupla no nono carbono, denominado ômega-9.

O comprimento da cadeia carbônica varia de acordo com o número de

carbonos que a compõem, frequentemente, possuindo um número par de átomos. A cadeia carbônica constituída por até 4 carbonos é denominada de cadeia curta, de 6 a 12 carbonos designada de cadeia média e acima de 12 carbonos de cadeia longa. Os ácidos graxos são classificados como saturados (AGS), quando não há presença de duplas ligações, e insaturados (AGI), quando contêm duplas ligações, conforme ilustrado na Figura 2. As cadeias de AGS apresentam, em cada ligação de carbono-carbono, uma ligação de livre rotação, característica que estabelece flexibilidade no ponto de ligação, formando agrupamentos mais compactos e interações mais fortes entre as moléculas de ácidos graxos, conferindo, assim, maior estabilidade às interações da bicamada lipídica. As cadeias em configuração *cis* se dão quando moléculas de hidrogênio se encontram no mesmo lado do plano, enquanto aqueles que estão em lados opostos se denominam *trans*. Na Figura 2, os AGI com dupla ligação em *cis* apresentam curvatura na cadeia e os AGPI em configuração *cis* conferem mais curvaturas, conseqüentemente, não se agrupam de modo tão compacto, proporcionando interações mais fracas, comparada aos AGS (LEHNINGER *et al.*, 2002).

Figura 2. Representação da estrutura de um ácido graxo saturado e insaturado.



Legenda: (A) Exemplificação de ácido graxo saturado, sem a presença de ligação dupla. (B) Ilustração de um ácido graxo insaturado, com duplas ligações. (C) Dupla ligação em configuração *cis*, conferindo curvatura a cadeia carbônica.

Fonte: elaborada pelos autores. Ilustração: Laura Chuba Machado Rolniche.

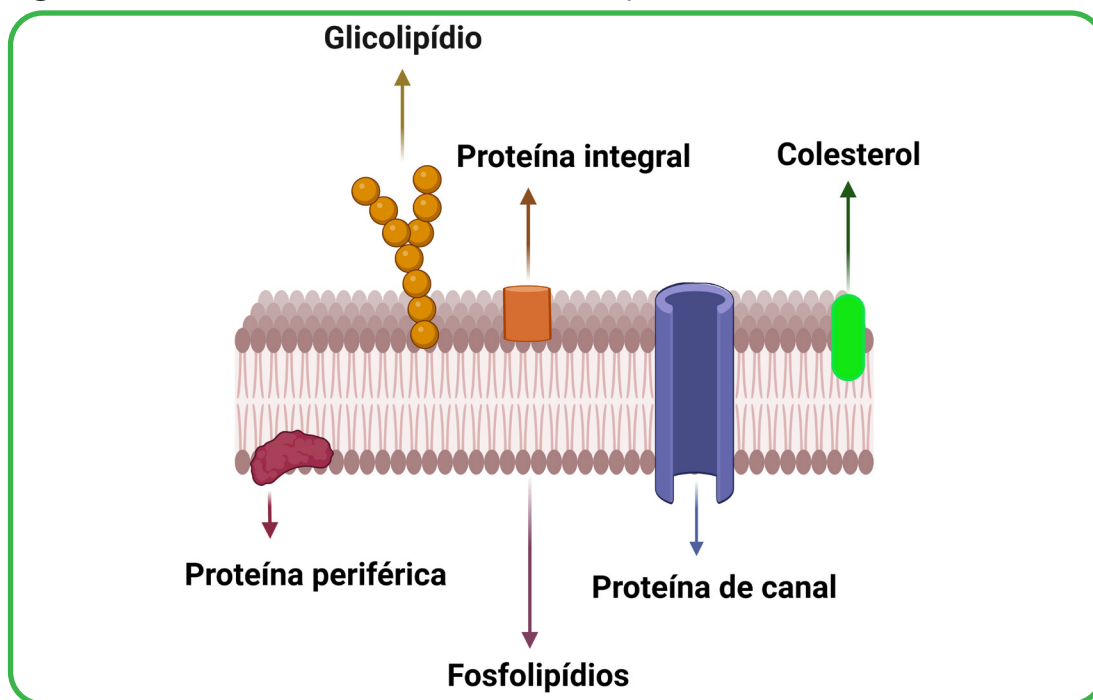
Os ácidos graxos podem ser extraídos de diversas matérias-primas, provenientes de fontes de origem vegetal e animal. O grau de insaturação da cadeia carbônica e o seu comprimento determinam as propriedades físicas dos ácidos graxos. Quanto mais longa a cadeia, menor o número de duplas

ligações e menor a solubilidade em água. Em relação ao ponto de fusão, em temperatura ambiente (25°C), os ácidos graxos saturados se encontram em estado sólido e, predominantemente, compõem os produtos de origem animal. Os ácidos graxos insaturados, em temperatura ambiente (25°C), se encontram em estado líquido e, predominantemente, compõem os produtos de origem vegetal (GONZÁLEZ; SILVA, 2022).

3 COMPOSIÇÃO LIPÍDICA CELULAR

As células do organismo animal sintetizam lipídios, continuamente, que remodelam a composição lipídica das membranas celulares, incorporando ácidos graxos de modo a proporcionar importante fonte de variabilidade lipídica (HARAYAMA; RIEZMAN, 2018). Como ilustrado na Figura 3, a membrana plasmática das células apresenta uma espessura de 7,5 a 10nm, sendo formada por uma dupla camada fosfolipídica, com proteínas posicionadas entre os lipídios. Tal estrutura, semipermeável, atua delimitando as células do ambiente externo e estabelece uma barreira que define os componentes que entram e saem da célula. Os fosfolipídios constituem a base da membrana, enquanto as proteínas determinam funções fisiológicas exercidas pela referida célula. Os fosfolipídios apresentam uma região hidrofóbica (não tem afinidade com a água) e uma hidrofílica (tem afinidade com a água). A região hidrofílica está voltada para o espaço intersticial e citosol, ambos compartimentos aquosos. A região hidrofóbica está voltada para a parte interna da membrana, se organizando de forma a se isentar do contato com a água. Os glicolipídios e os esteróis fazem parte da composição da membrana, juntamente com os fosfolipídios. As proteínas que fazem parte da membrana transpassam, totalmente ou parcialmente, a mesma, e constituem canais proteicos essenciais para a passagem de íons e água, desempenham ponto de ancoragem para a adesão de células adjacentes, além de constituírem proteínas carreadoras, receptores e enzimas. A membrana apresenta a característica de fluidez, ou seja, seus componentes possuem a capacidade de transitar, continuamente, pela estrutura. As proteínas, quando comparadas com os fosfolipídios, apresentam uma movimentação mais lenta. Cada tipo celular distinto apresenta diferentes quantidades e tipos de proteínas presentes na membrana.

Figura 3. Modelo ilustrativo da membrana plasmática de uma célula animal.



Legenda: Modelo ilustrativo da membrana plasmática de uma célula animal composta pelos fosfolipídios que formam a bicamada lipídica, glicolipídios que desempenham um papel estrutural para manter a estabilidade da membrana, proteína integral receptoras de membrana, proteína de canal atua no transporte de substâncias para dentro e fora da célula, proteína periférica serve como ponto de ancoragem para a adesão de células adjacentes e por fim o colesterol um dos responsáveis pela fluidez da membrana celular.

Fonte: elaborada pelos autores. Ilustração: Lucas de Oliveira Bezerra.

A fluidez da membrana é controlada por vários fatores químicos e físicos. A quantidade de duplas ligações nas caudas hidrofóbicas dos lipídios influenciam a fluidez. Quanto maior o número de insaturações, mais fluida é a membrana, pois a possibilidade de interação entre moléculas vizinhas é menor. A temperatura exerce influência sobre a fluidez, quanto mais alta a temperatura maior a fluidez, e quanto menor a temperatura, menos fluida será a membrana. O colesterol, principal esteroide das células animais, também influencia na fluidez, quanto maior a quantidade de colesterol, menos fluida será a membrana. Pelo fato de o colesterol ser uma molécula mais rígida e menor, sua interação com os lipídios adjacentes minimiza sua capacidade de deslocamento.

Curiosamente, diferentes organismos produzem diferentes tipos de esteróides. Enquanto as células de mamíferos produzem colesterol e sitosterol, os vegetais produzem fitoesteróides e campesterol, como principais esteróides, e os fungos produzem ergosterol (NES, 2011). Os esteróides detêm estrutura distinta comparado aos fosfolipídios e glicolipídios. As células possuem a capacidade de modular, especificamente, a quantidade de diferentes esteróides nas membranas plasmáticas (KLOSE; SURMA; SIMONS, 2013), além de suportar o estresse mecânico, através da regulação da fluidez e a permeabilidade das

bicamadas fosfolipídicas, principalmente em temperaturas extremas. No entanto, os esteróis também exercem papéis na função de sinalização da membrana (RODRIGUEZ *et al.*, 1985; XU *et al.*, 2005) e na diferenciação e proliferação celular (GUO; VENKATRAMESH; NES, 1995).

Os glicerofosfolípidos se trata de um grupo fosfato com duas cadeias de ácidos graxos esterificados para ambas as posições, sn1 e sn2 do glicerol (FAHY *et al.*, 2011). Em mamíferos, os fosfolípidos apresentam o ácido graxo ligado à posição sn1, sendo maioritariamente saturado nas cadeias mono, e as poliinsaturadas são frequentemente esterificadas na posição sn2. A fosfatidilcolina é o fosfolípido mais comumente encontrado nas membranas dos mamíferos.

Os glicolípídios podem carregar um ou diversos carboidratos, além de conter glicerol ou esfingosina, enquanto no grupo dos fosfolípidos contém somente fosfato. O papel desempenhado pelos glicolípídios é manter a estabilidade da membrana e auxiliar no reconhecimento celular. Tal papel é imprescindível para a resposta imune e possibilita que as células se conectem umas às outras para formar os tecidos (SCHNAAR, 2004). Os glicolípídios também podem agir como receptores para vírus e outros patógenos durante a entrada desses nas células (KARVE; WEISS, 2014; NASIR *et al.*, 2015). Os gangliosídeos e os cerebrosídeos compõem as classes de glicolípídios encontrados em células eucarióticas, enquanto o lipopolissacarídeo (LPS) é um glicolípido presente na membrana plasmática externa de bactérias.

A variação de grupos e cadeias alifáticas, que fazem parte da composição dos lipídios de membrana, possibilita a existência de mais de 1000 tipos lipídicos diferentes em uma célula eucariótica (SUD *et al.*, 2007). Tendo em vista as várias funcionalidades e propriedades moleculares de todos esses lipídios, é compreensível tamanha variação na composição lipídica celular. A seguir, serão abordados os ácidos graxos mais comumente utilizados nos tecidos reprodutivos e seus possíveis efeitos em estudos *in vitro*.

4 PRINCIPAIS ÁCIDOS GRAXOS UTILIZADOS EM TECIDOS REPRODUTIVOS

Para a compreensão de um conjunto de mecanismos desempenhados pela suplementação lipídica, inclusive na reprodução, alguns modelos biológicos de estudos estão ganhando destaque nos últimos anos, como, por exemplo, o cultivo *in vitro* de embriões bovinos e CT-1. Dentre as substâncias que vêm sendo avaliadas, os AGPI ganham destaque, onde sua utilização se faz em diversos tecidos reprodutivos (células embrionárias, endometriais, placentárias) e com diferentes objetivos.

Relatou-se que a suplementação lipídica com AGPI pode melhorar o desenvolvimento oocitário (FAYEZI *et al.*, 2018), promover maior desenvolvimento do embrião (FOULADI-NASHTA *et al.*, 2007), melhorar a qualidade dos embriões (RYAN; SPOON; WILLIAMS, 1992; THANGAVELU *et al.*, 2007), incrementar a eficiência na produção *in vitro* de embriões (PIVE) e modificar a biossíntese

de eicosanóides, incluindo as PGF2 α e PGE2 (MATTOS *et al.*, 2003; MEIER *et al.*, 2009; CHENG *et al.*, 2003);

Dentre os ácidos graxos utilizados nas suplementações de tecidos reprodutivos cultivados *in vitro*, podemos dar destaque para os da família ômega n-3, n-6 e n-9, que serão detalhados a seguir. Tais ácidos graxos exercem diferentes efeitos sobre as células, dependendo do tipo de tecido e das concentrações utilizadas.

4.1 ÔMEGA 3: COMPOSIÇÃO E POSSÍVEL UTILIZAÇÃO

Os animais não podem sintetizar os ácidos graxos n-3 ou n-6, pois não possuem as enzimas dessaturases apropriadas. Os lipídios, classificados como ômega 3, diferem, quimicamente, de acordo com sua forma e seu tamanho. Os mais relevantes, no contexto reprodutivo, são o ácido eicosapentaenoico (EPA) e o ácido docosahexaenoico (DHA). O EPA contém 20 átomos de carbono e 5 duplas ligações. O DHA possui uma cadeia de 22 carbonos (C22:6) e, assim como o EPA, é encontrado, principalmente, em óleos de peixes.

Existem evidências que o EPA e o DHA diminuem a biossíntese e a liberação de PGF2 α endometrial, condição que seria benéfica ao RMF. No estudo realizado por Mattos *et al.* (2003), a diminuição da síntese de PGF2 α em células endometriais bovinas (células BEND) por EPA foi dependente da dose, em que a dose de 10 a 20 μ M inibiu a liberação de PGF2 α , quando incubadas por 24 horas. A inibição das prostaglandinas por AGPI decorre da modificação lipídica ocasionada na estrutura da membrana plasmática, decorrente da troca do ácido araquidônico (AA) endógeno por ácidos graxos exógenos, condição que promove uma redução na disponibilidade de AA na membrana da célula endometrial, restringindo o substrato para a síntese de prostaglandinas da série 2 (LANDS, 1992; WATHES; ABAYASEKARA; AITKEN, 2007).

Meier *et al.* (2009) avaliaram os efeitos do EPA, DHA e AL na síntese de PGF2 α e PGE2 endometrial e no tecido trofoblástico durante uma rápida cultura. Em geral, tais tratamentos não mostraram efeito na síntese de PGE2 nos tecidos trofoblásticos, embora uma tendência tenha sido constatada (P = 0,17), a dos ácidos graxos ômega 3 (EPA e DHA) reduzirem a liberação de PGE2. Na adição de 1 nM de EPA no meio de maturação de oócitos bovinos, observou-se a redução do conteúdo lipídico e a menor produção de espécies reativas de oxigênio em blastocistos no dia 8 do período de cultivo (NIKOLOFF *et al.*, 2021).

A suplementação de DHA no meio de cultura (1 e 20 μ M), em oócitos cultivados, incrementa a proliferação e a esteroidogênese de células da granulosa (MAILLARD *et al.*, 2018), melhora a qualidade de oócitos cultivados *in vitro* e a taxa de blastocistos no dia 7 (OSEIKRIA *et al.*, 2016). O DHA atua sobre as funções celulares através de diferentes mecanismos, como a regulação de fatores de transcrição, a produção de AA, a modificação da quantidade e o perfil lipídico da membrana ou por meio da ligação ao receptor (CALDER, 2012).

O ALA está envolvido no crescimento e na diferenciação do oócito

produzido pelos folículos ovarianos presente no fluido folicular. Ghaffarilaleh *et al.* (2014) mostraram que, após 24 horas de maturação oocitária, os grupos de tratamento com ALA apresentaram concentrações, significativamente, maiores de PGE₂, comparados ao grupo controle. Ainda nesse estudo, relatou-se que a concentração de P₄ aumentou após o tratamento com 100 µM de ALA, em comparação com o grupo controle.

Os AGPI n-3 exercem efeitos no desenvolvimento folicular, na proliferação, na esteroidogênese de células da granulosa, na qualidade de oócitos e na síntese de prostaglandinas na reprodução de bovinos e, principalmente, afetam diretamente as células reprodutivas como foliculares, trofoblásticas e uterinas, apresentando resultados promissores para o futuro.

4.2 ÔMEGA 6: COMPOSIÇÃO E POSSÍVEL UTILIZAÇÃO

Dentre os ácidos graxos ômega 6, o ácido linoleico (AL) e o ácido linoleico conjugado (CLA) se destacam no contexto reprodutivo. Nos ácidos graxos ômega 6, a dupla ligação ocorre entre o 6º e o 7º átomo de carbono. São encontrados, principalmente, em óleos de sementes. O ácido linoleico, ou ácido 9-12-octadecadienoico, é AGPI com 18 carbonos e duas insaturações.

O AL e os isômeros de CLA cis-9, trans11 (c9, t11) e trans-10, cis-12 (t10, c12), reconhecidamente, proporcionam alterações na biossíntese de eicosanoides, como as prostaglandinas. O menos compreendido é o AL, quando se trata de seu efeito na biossíntese de PGF₂α endometrial. No organismo, pode ser convertido em AA, estimulando a biossíntese de PGF₂α ou, também, sofrer mais dessaturação, tornando precursor dos ácidos graxos ômega 3 (WATHES; ABAYASEKARA; AITKEN, 2007). As células BEND não sofreram estímulos para a síntese de prostaglandinas pelo AL (MATTOS *et al.*, 2003), as vacas que receberam uma dieta rica em AL e indução por ocitocina não tiveram a biossíntese e liberação de prostaglandinas aumentada (CHENG *et al.*, 2001). Robinson *et al.* (2002) observaram que dietas à base de AL incrementaram a liberação de PGF₂α induzida por ocitocina, no dia 17 do ciclo estral (D0 = dia do estro).

O CLA se trata de uma mistura de isômeros do ácido linoleico (18:2 n-6), em que as duplas ligações são conjugadas ao invés de se manterem na formação interrompida metilênica típica, produzido por animais no rúmen através do processo de fermentação, envolvendo a bactéria *Butyrovibrio fibrisolvens*, ou pela síntese via α9-dessaturase do ácido 11-trans octadecanóico. Existem diferentes isômeros de CLA, e esses isômeros proporcionam diferentes estímulos a depender do tecido e da concentração utilizada.

Moussavi *et al.* (2013), no meio de cultura de células epiteliais endometriais bovinas, suplementadas durante 24 horas a quantidades >50 µM de CLA, constataram que as concentrações de PGE₂ e PGF₂α diminuíram significativamente. Nesse estudo, os isômeros de CLA t10, c12 promoveram uma diminuição na produção de prostaglandina de forma mais acentuada do que os isômeros c9, t11. Em células endometriais de ovelhas, com ou

sem ocitocina ou lipopolissacarídeo, o CLA suprimiu a geração de $\text{PGF}_2\alpha$ de forma dose-dependente, enquanto baixas doses de CLA 20 μM aumentaram a biossíntese de PGE_2 (CHENG *et al.*, 2003).

A adição de 100 μM de c9, t11, antes da vitrificação, proporcionou uma melhor qualidade dos embriões bovinos após o descongelamento (ABSALÓN-MEDINA *et al.*, 2014). Algumas investigações demonstraram que a inclusão de CLA, ao meio de maturação, aumentou a competência de desenvolvimento de oócitos bovinos, melhorou a produção de blastocistos de oócitos suínos e exerceu um efeito benéfico na taxa de blastocistos de oócitos bovinos sob estresse térmico (ABAZARIKIA *et al.*, 2020; JIA *et al.*, 2014; LAPA *et al.*, 2011). O CLA é capaz de se comportar como um eliminador de radicais livres e exerce, também, funções antioxidantes, que protege a formação e a funcionalidade das organelas intracelulares.

4.3 ÔMEGA 9: COMPOSIÇÃO E POSSÍVEL UTILIZAÇÃO

As gorduras ômega 9 são ácidos graxos monoinsaturados, que possuem apenas uma ligação dupla no nono carbono, a partir da extremidade oposta à carboxila. O ácido graxo ômega 9 mais comum e mais utilizado nas suplementações é o AO que representa o principal ácido graxo na dieta animal. Sementes e óleos vegetais são as principais fontes desse ácido graxo.

O AO foi relacionado com benefícios no contexto reprodutivo e é o principal ácido graxo insaturado presente em oócitos, onde atua neutralizando os efeitos negativos dos ácidos graxos saturados durante o desenvolvimento oocitário e, conseqüentemente, favorecendo o desenvolvimento embrionário pré-implantação (FAYEZI *et al.*, 2018). O AO, além de presente em grandes quantidades em oócitos, é, também, abundante no fluido folicular de vacas pós-parto, juntamente com os ácidos palmítico e esteárico (LEROY *et al.*, 2005). Aardema *et al.* (2011) demonstraram que a AO compensa os efeitos prejudiciais na competência de oócitos causados pelos ácidos palmítico e esteárico.

5 AÇÃO DOS AGPI NA SÍNTESE DE PROSTAGLANDINAS

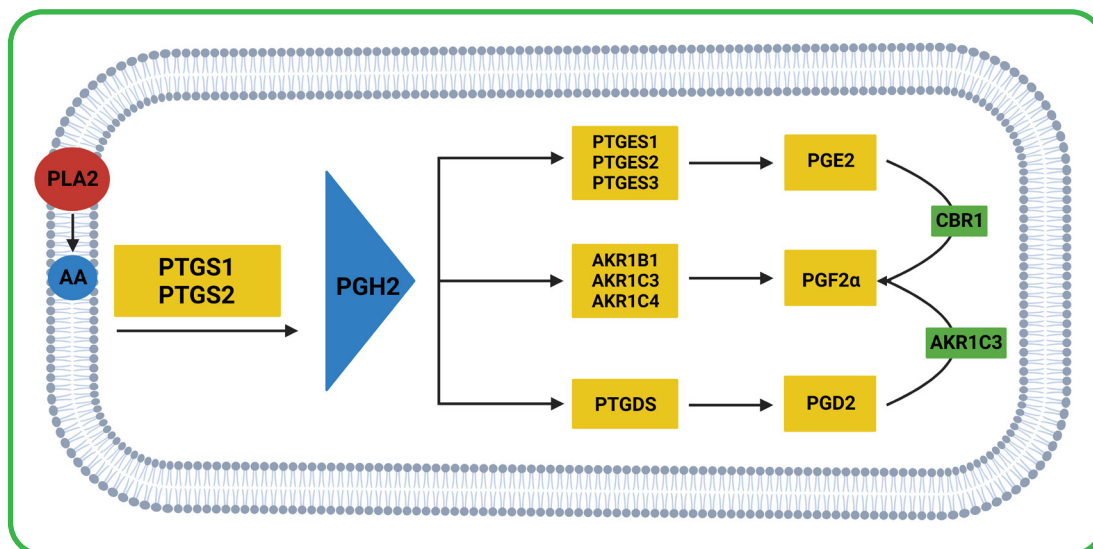
A disponibilidade de ácido graxo insaturado é pré-requisito necessário para a formação de eicosanóides, dentre esses, as prostaglandinas. Os eicosanóides são metabólitos oxigenados dos ácidos graxos essenciais, compostos por PGs, leucotrienos (LT), prostaciclina (PCI), tromboxanos (TX) e derivados dos ácidos graxos hidroxilados. Tais compostos, derivados de vinte carbonos (C20), exercem inúmeros efeitos importantes nos tecidos dos animais e estão envolvidos em várias funções reprodutivas (NELSON; COX, 2005). Grande parte dos eicosanóides relevantes derivam do AA através de diferentes vias de síntese, sendo o principal ácido presente na constituição das membranas fosfolipídicas. O AA livre é convertido, mediante oxidação por incorporação de oxigênio (O_2), em prostaglandina H_2 (PGH_2), composto precursor das prostaglandinas ativas e dos TX.

A biossíntese e a liberação de PGF₂α endometrial bovina são inibidas quando expostas ao AGPI de cadeia longa (CHENG *et al.*, 2001). A inibição das prostaglandinas por AGPI é resultado da substituição do AA endógeno por ácidos graxos exógenos, reduzindo a disponibilidade do precursor dos ácidos graxos e atuando como inibidores competitivos para a conversão do AA nos prostanóides.

Existem duas isoformas de prostaglandina-endoperóxido sintase (PTGS): a prostaglandina endoperóxido H sintase 1 (PTGS1 ou COX-1) e a prostaglandina endoperóxido H sintase 2 (PTGS2 ou COX-2). A PTGS1 é uma enzima expressa de forma constitutiva nos tecidos, enquanto a expressão de PTGS2 ocorre a partir de estímulos celulares. Ambas as isoformas das PTGS possuem a função de converter o AA em Prostaglandina G₂ (PGG₂). Subsequentemente, as peroxidases realizam a redução de PGG₂ e PGH₂, conhecidas como o principal substrato predecessor na síntese de todos os prostanoides. Quando a via de metabolização é a da ciclooxigenase, ocorre a formação de endoperóxidos lábeis, como os prostanoides: PGs, TX e PCI.

Conforme ilustrado na Figura 4, grande parte dos eicosanoides relevantes deriva do AA através de diferentes vias de síntese. No endométrio de fêmeas bovinas, a PGH₂ é convertida pelas enzimas PGE sintases (PTGES1, PTGES2 ou PTGES3) em PGE₂, enquanto a PGF sintase (AKR1B1, AKR1C3, AKR1C4) em PGF₂α. Uma vez que PGF₂α e PGE₂ são produzidas a partir de PGH₂, as concentrações específicas dessas PG dependem da disponibilidade de PGH₂ e da atividade específica de PGF e PGE isomerase e síntase (MOUSSAVI *et al.*, 2013).

Figura 4. Via de síntese, sinalização e metabolismo de eicosanoides no endométrio de fêmeas bovinas.



Legenda: A enzima fosfolipase A2 (PLA2) libera o ácido araquidônico (AA) da membrana fosfolipídica, esse pode ser convertido pela prostaglandina sintase 1 (PTGS1) ou prostaglandina sintase 2 (PTGS2) à PGH2, precursora de todos os prostanóides. A PGH2 é convertida pelas enzimas PGE sintases (PTGES1, PTGES2 ou PTGES3) em PGE2; PGF sintase (AKR1B1, AKR1C3, AKR1C4) em PGF2 α . Depois de sintetizadas, a PGD2 pode ser convertida à PGF2 α pela ação da enzima AKR1C3, assim como a PGE2 que pode ser convertida à PGF2 α pela ação da enzima CBR1.

Fonte: elaborada pelos autores. Ilustração: Laura Chuba Machado Rolniche e Lucas de Oliveira Bezerra.

As prostaglandinas compreendem muitos subtipos, os quais possuem diferentes funções. A PGE tem sido amplamente investigada, em função do seu importante papel como imunomoduladora. Entre os tromboxanos, apenas o tromboxano A (TXA) é ativo, sendo o tromboxano B (TXB) inativo. Todos aqueles metabólitos formados a partir de AA (precursor mais importante) recebem um sufixo "2" (PGE2, TXA2, PCI2) e aqueles oriundos do ácido eicosapentaenoico recebem o sufixo "3" (PGE₃, TXA₃, PCI₃). O ácido dihomo-gama-linolênico origina PG do tipo 1, das quais a PGE1 é a mais importante do grupo. As enzimas pertencentes à família aldo-cetoreductase (AKR) AKR1B1, AKR1C3 e AKR1C4, convertem a PGH2 em PGF2 α . Contudo, outras PG servem de substrato para a síntese de PGF2 α , por exemplo, a PGD2, que pode ser convertida pela AKR1B1 ao metabólito 9 α ,11 β PGF2 e a PGE2; e o último pode ser transformado pela CBR1 em PGF2 α .

A PGE2 possui quatro subtipos de receptores (PGER1, PGER2, PGER3 e PGER4), uma vez ativados, promovem diferentes efeitos celulares. Os receptores PGER2 e PGER4 estão ligados à proteína G e, após serem ativados, estimulam a liberação de monofosfato cíclico de adenosina (AMPc). Em bovinos, foram identificadas mais quatro isoformas de PGER3 (EP_{3A}, EP_{3B}, EP_{3C}, EP_{3D}). Essas isoformas apresentam semelhante especificidade aos seus agonistas, entretanto, estão ligadas a diferentes proteínas G, que promovem diferentes formas de sinalização

intracelular, permitindo tanto respostas estimulantes como inibitórias sobre o AMPc. Além disso, assim como os receptores PTGER3, promovem a mobilização do cálcio intracelular e de inositol trifosfato (IP_3), quando ativados. Assim, os efeitos biológicos da PGE2 dependerão do tipo de receptor expresso. Os receptores PGFR induzem o aumento da mobilização intracelular de cálcio por mecanismo independente de IP_3 . Os receptores PTGDR são acoplados à proteína G, estimulando a adenilato ciclase e aumentando o AMPc. Desse modo, essa variedade de receptores e as suas especificidades, aliadas às diversas isoformas de PG, possibilitam ampla diversidade de respostas biológicas.

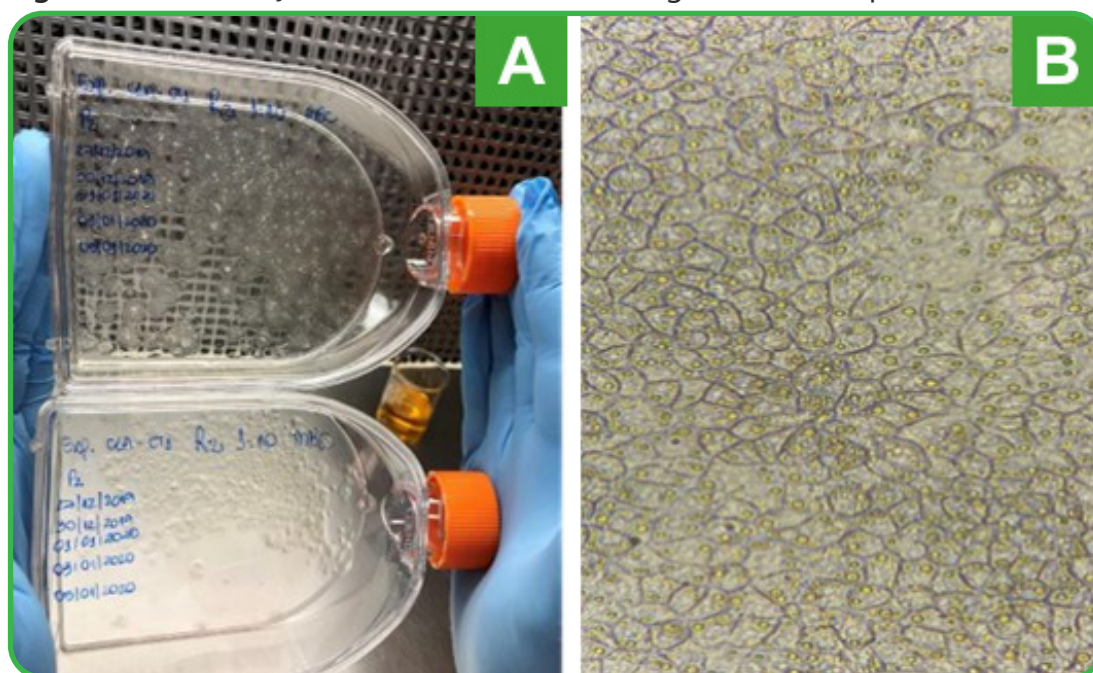
Da mesma forma que as PG e prostaciclina, os tromboxanos são sintetizados a partir da PGH2 por sintases específicas, que exercem suas funções biológicas através de receptores específicos, localizados na superfície das células-alvo. Até o momento, não foram identificadas isoformas de PGI2 ou de TBXA2 em bovinos. Dessa forma, PTGIS e TBXAS1 são as únicas enzimas responsáveis pela síntese de PGI2 e de TBXA2, respectivamente, na espécie.

6 CÉLULAS TROFOBLÁSTICAS COMO MODELO BIOLÓGICO

As CT-1 constituem um interessante modelo biológico de estudo para o maior entendimento dos mecanismos envolvidos no RMF, que determinam o êxito no estabelecimento da prenhez. Tais células embrionárias se encontram, originalmente, na camada celular mais externa de um blastocisto, as células são imortalizadas e originadas de blastocistos produzidos *in vitro* com 10 a 11 dias de desenvolvimento. Essas células se organizam ao longo da extremidade do blastocisto em desenvolvimento e começam a secretar hormônios destinados a preparar o endométrio (revestimento do útero), para a implantação. Inicialmente, o blastocisto se acumula no útero, até que o trofoblasto se conecte com sucesso ao revestimento e aos implantes uterinos.

Aliadas ao cultivo *in vitro* de embriões, as CT-1 são capazes de elucidar problemas reprodutivos relacionados à síntese de prostaglandinas e ao RMF, sem a necessidade de abater uma fêmea prenhe para obtenção dessas células *in vivo*. A PGE2 também é sintetizada pelas CT-1 dos embriões e conceptos, onde exerce funções no desenvolvimento inicial dos embriões, na manutenção das concentrações de P4 e na receptividade endometrial, dessa forma é requerido um aumento na síntese de PGE2 pelas CT-1 para a maximização do RMF. Atualmente, o LIFE utiliza como modelo biológico as CT-1 (Figura 5), originadas de blastocistos com 10 dias de cultivo e imortalizadas, ou seja, elas se multiplicam, indefinidamente, em cultura.

Figura 5. Visualização das CT-1, modelo biológico utilizado pelo LIFE.

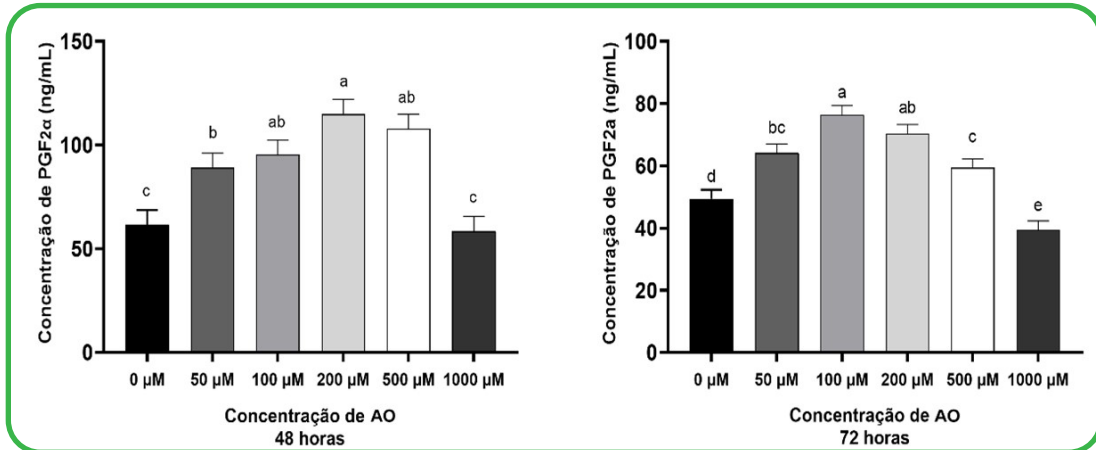


Legenda: (A) Garrafas de cultivo com 24 dias de incubação. (B) Imagem de microscopia (Nikon, 400X) das CT-1 que apresenta formato cubóide com 7 dias de cultivo.

Fonte: arquivo pessoal do autor Lucas de Oliveira Bezerra.

Foi desenvolvido no LIFE um trabalho com cultivo de CT-1, em que se evidenciaram efeitos da suplementação com AO sobre a síntese de PGE2 e PGF2 α durante 48 e 72 horas de cultivo. A Figura 6 demonstra que, no tempo de 48 horas, a concentração de PGF2 α foi maior nos tratamentos com 50 μ M, 100 μ M, 200 μ M e 500 μ M de AO, comparados ao grupo controle (0 μ M). A concentração de PGF2 α , após 72 horas de tratamento, foi maior para os grupos 50 μ M, 100 μ M, 200 μ M e 500 μ M de AO, comparados ao grupo controle (0 μ M). Entretanto, com 72 horas, a concentração de 1000 μ M diminuiu a síntese de PGF2 α , comparada ao grupo controle (LOURENÇO, 2022).

Figura 6. Média \pm erro padrão (ng/mL) das diferentes concentrações de PGF2 α em meio de cultivo das CT-1, mensuradas pela técnica de ELISA, tratadas com diferentes concentrações de AO (50 μ M, 100 μ M, 200 μ M, 500 μ M, 1000 μ M, e o grupo controle) nos tempos 48 e 72 horas de tratamento.

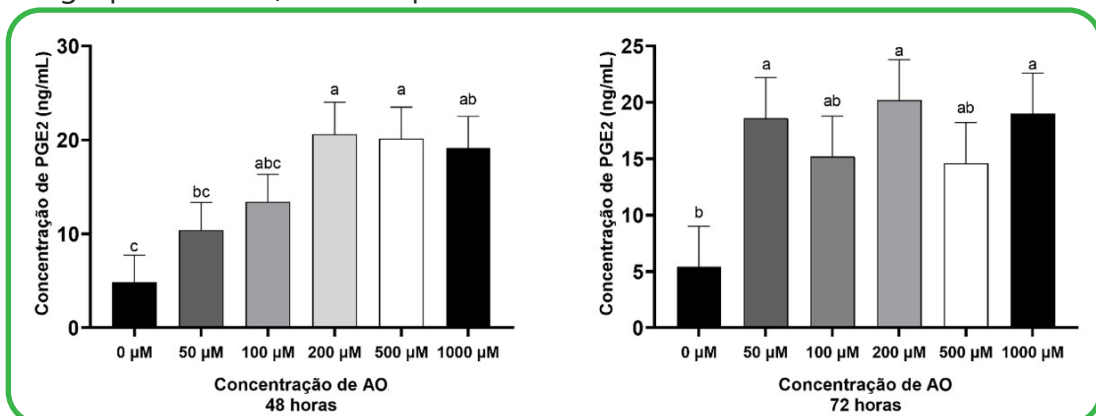


Legenda: a, b, c Letras diferentes indicam diferença estatística considerando um nível de significância de 5% ($P \leq 0,05$).

Fonte: elaborada pelos autores.

Conforme ilustrado na Figura 7, as CT-1 suplementadas com 200 μ M, 500 μ M e 1000 μ M de AO apresentaram um aumento na síntese de PGE2 48 horas após o tratamento, comparada ao grupo controle (0 μ M). Com 72 horas de tratamento, evidenciou-se que a síntese de PGE2 foi aumentada quando as CT-1 foram suplementadas com 50 μ M, 200 μ M e 1000 μ M de AO, comparada ao grupo controle (LOURENÇO, 2022).

Figura 7. Média \pm erro padrão (ng/mL) das diferentes concentrações de PGE2 em meio de cultivo das CT-1, mensuradas pela técnica de ELISA, tratadas com diferentes concentrações de AO (50 μ M, 100 μ M, 200 μ M, 500 μ M, 1000 μ M e o grupo controle) nos tempos 48 e 72 horas de tratamento.

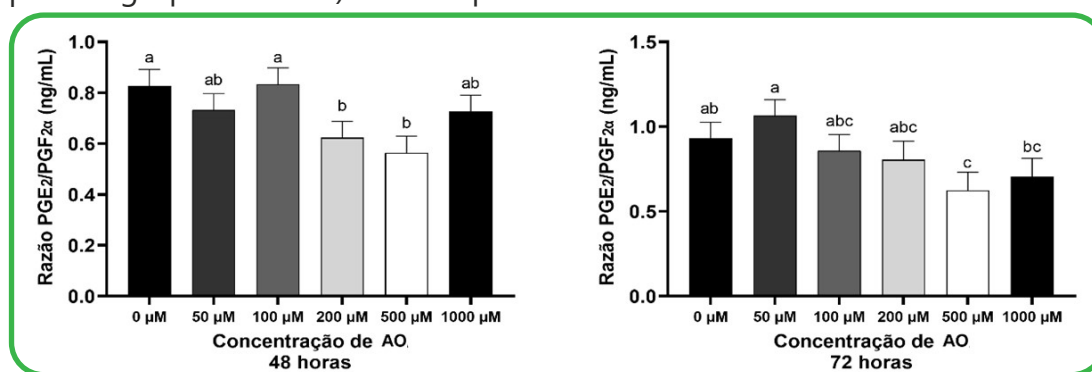


Legenda: a, b, c Letras diferentes indicam diferença estatística considerando um nível de significância de 5% ($P \leq 0,05$).

Fonte: elaborada pelos autores.

Na Figura 8, estão representadas as razões PGE2/PGF2α durante a suplementação do meio de cultivo *in vitro* das CT-1 com diferentes concentrações de AO, nos tempos 48 e 72 horas de cultivo. Com 48 horas, a razão PGE2/PGF2α foi menor quando as CT-1 foram suplementadas com 200 μM e 500 μM de AO, comparada ao grupo controle (0 μM), e com 72 horas, a razão PGE2/PGF2α foi menor apenas quando as CT-1 foram suplementadas com 500 μM de AO, comparada ao grupo controle (LOURENÇO, 2022).

Figura 8. Média ± erro padrão (ng/mL) da razão das concentrações de PGE2/PGF2α em meio de cultivo das CT-1, mensuradas pela técnica de ELISA, tratadas com diferentes concentrações de AO (50 μM, 100 μM, 200 μM, 500 μM, 1000 μM e o grupo controle) nos tempos 48 e 72 horas de tratamento.



Legenda: a, b, c Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística considerando um nível de significância de 5% ($P \leq 0,05$).

Fonte: elaborada pelos autores.

Lourenço, em 2022, concluiu que a concentração de 1000 μM de AO, por 72 horas, apresentou redução da síntese de PGF2α e aumento da síntese de PGE2, não tendo alterado a razão PGE2/PGF2α, condição benéfica ao RMF. Outros estudos devem ser realizados com as CT-1, para determinação do melhor AGPI a ser utilizado e a melhor dose a favor da modulação da síntese de PGE2. É importante ressaltar que, após a obtenção do melhor resultado encontrado *in vitro* e o entendimento do metabolismo e do mecanismo de ação dos ácidos graxos, os dados irão proporcionar base para a elaboração de estratégias a campo, com intuito de melhorar o RMF e, conseqüentemente, melhorar os índices reprodutivos de fêmeas de corte e maximizar os índices econômicos da propriedade.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O tipo de lipídio utilizado nas suplementações de tecidos cultivados *in vitro* se torna de suma importância para a avaliação do metabolismo e estímulos exercidos sobre o tecido reprodutivo, gerando respostas distintas conforme o ácido graxo utilizado. Os AGI n-3, n-6 e n-9 desempenham um papel benéfico na reprodução em bovinos, como demonstrado na literatura, aumentando a eficiência das respostas dos tecidos reprodutivos e sucesso

no RMF. Mais estudos nessa linha de pesquisa são de extrema relevância a fim de subsidiar trabalhos voltados para a reprodução de fêmeas de corte e conseqüentemente obtermos um incremento na eficiência reprodutiva de bovinos de corte no Brasil.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro conferido (Processos nº 2018/24168-1 e nº 2022/01110-3).

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelas bolsas concedidas aos alunos de Pós-Graduação.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS

- ABAZARIKIA, A. H.; ZHANDI, M.; SHAKERI, M.; TOWHIDI, A.; YOUSEFI, A. R. In vitro supplementation of trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid ameliorated deleterious effect of heat stress on bovine oocyte developmental competence. **Theriogenology**, New York, v. 142, p. 296-302, 2020.
- ABSALÓN-MEDINA, V. A.; BEDFORD-GUAUS, S. J.; GILBERT, R. O.; SIQUEIRA, L. C.; ESPOSITO, G.; SCHNEIDER, A.; CHEONG, S. H.; BUTLER, W. R. The effects of conjugated linoleic acid isomers cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12 on *in vitro* bovine embryo production and cryopreservation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 97, n. 10, p. 6164-6176, 2014.
- AARDEMA, H; PLAM, V; LOLICATO, F; ROELEN, BAJ; KNIJIN HM; VAANDRAGER, AB; HELMS, JB; GADELLA, BM. Oleic acid prevents detrimental effects of saturated fatty acids on bovine oocyte developmental competence. **Biology of Reproduction**, v. 85, p. 62-9, 2011.
- CALDER, P. C. Mechanisms of action of (n-3) fatty acids. **Journal of Nutrition**, New York, v. 142, n. 3, p. 592-599, 2012.
- CHENG, Z.; ELMES, M.; ABAYASEKARA, D. R. E.; WATHES, D. C. Effects of conjugated linoleic acid prostaglandins produced by cells isolated from maternal intercotyledonary endometrium, fetal allantochorion and amnion in late pregnant ewes. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1633, n. 3, p. 170-178, 2003.
- CHENG, Z.; ROBINSON, R. S.; PUSHPAKUMARA, P. G. A.; MANSBRIDGE, R. J.; WATHES, D. C. Effect of dietary polyunsaturated fatty acids on uterine prostaglandin synthesis in the cow. **Journal of Endocrinology**, Bristol, v. 171, n. 3, p. 463-473, 2001.
- FAHY, E.; COTTER, D.; SUD, M.; SUBRAMANIAM, S. Lipid classification, structures and tools. **Biochimica et Biophysica Acta: Molecular and Cell Biology of Lipids**, Amsterdam, v. 1811, n. 11, p. 637-647, 2011.
- FAYEZI, S.; LEROY, J. L.; NOVIN, M. G.; DARABI, M. Oleic acid in the modulation of oocyte and preimplantation embryo development. **Zygote**, Cambridge, v. 26, n. 1, p. 1-13, 2018.

FOULADI-NASHTA, A. A.; GUTIERREZ, C. G.; GONG, J. G.; GARNSWORTHY, P. C.; WEBB, R. Impact of dietary fatty acids on oocyte quality and development in lactating dairy cows. **Biology of Reproduction**, Champaign, v. 77, n. 1, p. 9-17, 2007.

GHAFFARILALEH, V.; FOULADI-NASHTA, A.; PARAMIO, M. T. Effect of α -linolenic acid on oocyte maturation and embryo development of prepubertal sheep oocytes. **Theriogenology**, v. 82, n. 5, p. 686-696, 15 set. 2014.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. Porto Alegre: UFRGS, 2022.

GUO, D.A.; VENKATRAMESH, M.; NES, W. D. Developmental Regulation of Sterol Biosynthesis in *Zea mays*. **Lipids**, Chicago, v. 30, n. 3, p. 203-219, 1995.

HARAYAMA, T.; RIEZMAN, H. Understanding the diversity of membrane lipid composition. **Nature reviews: Molecular cell biology**, London, v. 19, n. 5, p. 281-296, 2018.

JIA, B.; WU, G.; FU, X.; MO, X.; DU, M.; HOU, Y.; ZHU, S. trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid enhances in vitro maturation of porcine oocytes. **Molecular Reproduction and Development**, Hoboken, v. 81, n. 1, p. 20-30, 2014.

KARVE, S. S.; WEISS, A. A. Glycolipid binding preferences of shiga toxin variants. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 9, n. 7, p. 1-10, 2014.

KLOSE, C.; SURMA, M. A.; SIMONS, K. Organellar lipidomics-background and perspectives. **Current Opinion in Cell Biology**, London, v. 25, n. 4, p. 406-413, 2013.

LANDS, W. E. Biochemistry and physiology of n-3 fatty acids. **FASEB**, Bethesda, v. 6, n. 8, p. 2530-2536, 1992.

LAPA, M.; MARQUES, C. C.; ALVES, S. P.; VASQUES, M. I.; BAPTISTA, M. C.; CARVALHAIS, I.; PEREIRA, M. S.; HORTA, A. E. M.; BESSA, R. J. P.; PEREIRA, R. M. Effect of trans-10 cis-12 conjugated linoleic acid on bovine oocyte competence and fatty acid composition. **Reproduction in Domestic Animals**, Berlin, v. 46, n. 5, p. 904-910, 2011.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger princípios de bioquímica**. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 2002.

LEROY, J. L. M. R.; VANHOLDER, T.; MATEUSEN, B.; CHRISTOPHE, A.; OPSOMER, G.; DE KRUIF, A.; GENICOT, G.; VAN SOOM, A. Non-esterified fatty acids in follicular fluid of dairy cows and their effect on developmental capacity of bovine oocytes in vitro. **Reproduction**, [s. l.], v. 130, n. 4, p. 485-495, 2005.

LOURENÇO, V.C. **Efeitos da suplementação com ácido oleico e linoleico conjugado na secreção de prostaglandina E2 e F2 α em células trofoblásticas bovinas**. 2022. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Dracena, 2022.

MAILLARD, V.; DESMARCHAIS, A.; DURCIN, M.; UZBEKOVA, S.; ELIS, S. Docosahexaenoic acid (DHA) effects on proliferation and steroidogenesis of bovine granulosa cells. **Reproductive Biology and Endocrinology**, London, v. 16, n. 1, p. 1-18, 2018.

MATTOS, R.; GUZELOGLU, A.; BADINGA, L.; STAPLES, C. R.; THATCHER, W. W. Polyunsaturated fatty acids and bovine interferon-tau modify phorbol ester-induced secretion of prostaglandin F2 alpha and expression of prostaglandin endoperoxide synthase-2 and phospholipase-A2 in bovine endometrial cells. **Biology of Reproduction**, Champaign, v. 69, n. 3, p. 780-787, 2003.

MEIER, S.; LEDGARD, A. M.; SATO, T. A.; PETERSON, A. J.; MITCHELL, M. D. Polyunsaturated fatty acids differentially alter PGF2a and PGE2 release from bovine trophoblast and endometrial tissues during short-term culture. **Animal Reproduction Sciences**, Amsterdam, v. 111, n. 2-4, p. 353-360, 2009.

MOUSSAVI, A. H.; BUTLER, W. R.; BAUMAN, D. E.; GILBERT, R. O. Effects of conjugated linoleic acids on prostaglandin secretion by bovine endometrial epithelial cells in vitro. **Animal Journal Veterinary Research**, Schaumburg, v. 74, n. 3, p. 491-498, 2013.

NASIR, W.; BALLY, M.; ZHDANOV, V. P.; LARSON, G.; HÖÖK, F. Interaction of virus-like particles with vesicles containing glycolipids: kinetics of detachment. **Journal of Physical Chemistry B**, Washington, v. 119, n. 35, p. 11466-11472, 2015.

NELSON, D. L. & COX, M. M. **Lehninger principles of biochemistry**. 4th ed. New York: Freeman and Company, 1216 p, 2005.

NES, W. D. Biosynthesis of cholesterol and other sterols. **Chemical Reviews**, [s. l.], v. 2011, n. 111, p. 6423-6451, 2011.

NIKOLOFF, N.; CARRANZA, A. C.; FABRA, M. C.; CAMPAGNA, A.; ANCHORDOQUY, J. P.; ANCHORDOQUY, J. M.; FARNETANO, N.; FURNUS, C. C. Eicosapentaenoic acid supplemented to in vitro maturation medium results in lesser lipid content and intracellular reactive oxygen species in blastocysts of cattle. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 229, p. 1-9, 2021.

OSEIKRIA, M.; ELIS, S.; MAILLARD, V.; CORBIN, E.; UZBEKOVA, S. N-3 polyunsaturated fatty acid DHA during IVM affected oocyte developmental competence in cattle. **Theriogenology**, New York, v. 85, n. 9, p. 1625-1634, 2016.

ROBINSON, RS; PUSHPAKUMARA, PGA; CHENG, Z; PETERS, AR; ABAYA SEKARA, DRE; WATHES, DC. Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on ovarian and uterine function in lactating cows. **Reproduction**, v. 124, p. 119131, 2002.

RODRIGUEZ, R. J.; LOW, C.; BOTTEMA, C. D. K.; PARKS, L. W. Multiple functions for sterols in *Saccharomyces cerevisiae*. **Biochimica et Biophysica Acta: Lipids and Lipid Metabolism**, Amsterdam, v. 837, n. 3, p. 336-343, 1985.

RYAN, D. P.; SPOON, R. A.; WILLIAMS, G. L. Ovarian follicular characteristics, embryo recovery, and embryo viability in heifers fed high fat diets and treated with follicle-stimulating hormone. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, n. 11, p. 3505-3513, 1992.

SCHNAAR, R. L. Glycolipid-mediated cell-cell recognition in inflammation and nerve regeneration. **Archives of biochemistry and biophysics**, San Diego, v. 426, n. 2, p. 163-172, 2004.

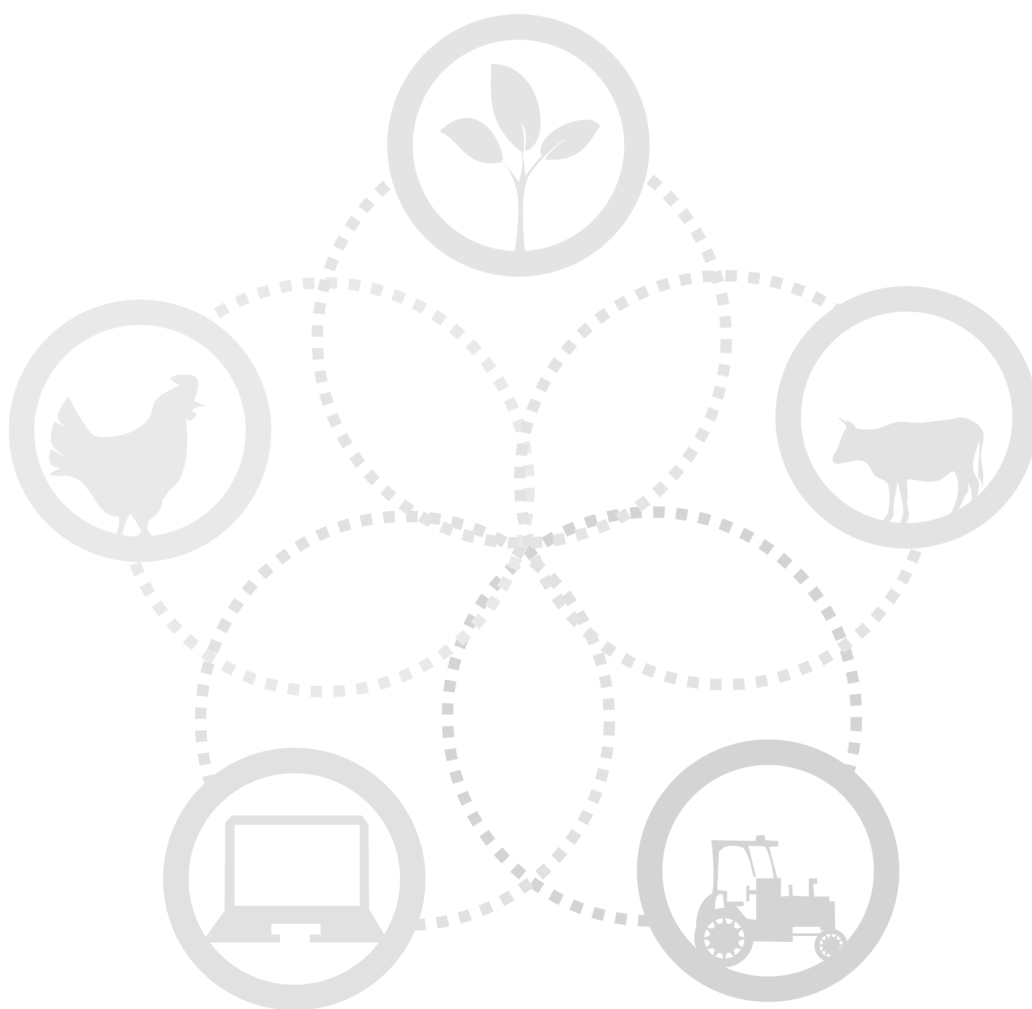
SUD, M.; FAHY, E.; COTTER, D.; BROWN, A.; DENNIS, E. A.; GLASS, C. K.; MERRILL, A. H.; MURPHY, R. C.; RAETZ, C. R. H.; RUSSELL, D. W.; SUBRAMANIAM, S. LMSD: LIPID MAPS structure database. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 35, n. suppl., p. 527-532, 2007.

TALBOT, N. C.; CAPERNA, T. J.; EDWARDS, J. L.; GARRETT, W.; WELLS, K. D.; EALY, A. D. Bovine blastocyst-derived trophectoderm and endoderm cell cultures: interferon tau and transferrin expression as respective *in vitro* markers. **Biology of Reproduction**, Champaign, v. 62, n. 2, p. 235-247, 2000.

THANGAVELU, G.; COLAZO, M. G.; AMBROSE, D. J.; OBA, M.; OKINE, E. K.; DYCK, M. K. Diets enriched in unsaturated fatty acids enhance early embryonic development in lactating Holstein cows. **Theriogenology**, New York, v. 68, n. 7, p. 949-957, 2007.

WATHES, D. C.; ABAYASEKARA, D. R. E.; AITKEN, R. J. Polyunsaturated fatty acids in male and female reproduction. **Biology of Reproduction**, Champaign, v. 77, n. 2, p. 190-201, 2007.

XU, F.; RYCHNOVSKY, S. D.; BELANI, J. D.; HOBBS, H. H.; COHEN, J. C.; RAWSON, R. B.; GOLDSTEIN, J. L. Dual roles for cholesterol in mammalian cells. **PNAS**, [s. l.], v. 102, n. 41, p. 14551-14556, 2005.



CAPÍTULO 22

SISTEMAS TRIDIMENSIONAIS COM HIDROGEL DE ALGINATO APLICADOS À PRODUÇÃO *IN VITRO* DE EMBRIÕES BOVINOS

Adriano Felipe Mendes*

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Instituto de Biociências, Programa de Pós-
Graduação em Ciências Biomoleculares e
Farmacológicas, Botucatu, São Paulo, Brasil.

***Autor correspondente:**

adriano.felipemendes07@gmail.com

Dayane Colhados Cabrini

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.

Lucas de Oliveira Bezerra

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Instituto de Biociências, Programa de Pós-
Graduação em Ciências Biomoleculares e
Farmacológicas, Botucatu, São Paulo, Brasil.

Laura Chuba Rolniche

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.

Valeska de Castro Lourenço

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.

Claudia Maria Bertan Membrive

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.
Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Instituto de Biociências, Programa de Pós-
Graduação em Ciências Biomoleculares e
Farmacológicas, Botucatu, São Paulo, Brasil.

Resumo

O alginato é um polímero natural proveniente de algas marrons que, a partir da adição de um íon bivalente, como o cálcio, e um pH adequado, pode formar um hidrogel estável com propriedades semelhantes à matriz extracelular. Trata-se de um polissacarídeo constituído por dois monômeros, o ácido 1,4- β -D-manurônico (MA) e o ácido 1,4- α -L-gulurônico (GA), que formam uma longa cadeia polimérica de natureza aniônica. O hidrogel de alginato é um material amplamente utilizado em aplicações biomédicas, especialmente em cultivos celulares. É um material polimérico biocompatível, facilmente moldável, que pode ser utilizado para encapsular células ou tecidos. Na pecuária de corte, a produtividade está diretamente relacionada à eficiência reprodutiva das fêmeas, tornando necessária a implantação crescente de biotecnologias reprodutivas, como a produção *in vitro* de embriões e a transferência de embriões em tempo fixo (TETF). As variações nos sistemas de cultivo utilizados na produção *in vitro* de embriões são abordadas em muitos estudos. Comumente, a produção *in vitro* de embriões em bovinos é realizada em placas, contendo exclusivamente meio de cultura, denominado de sistema de cultivo bidimensional. Para aperfeiçoar a produção *in vitro* de embriões em bovinos, é preciso compreender o dinâmico desenvolvimento das diferentes células e dos tecidos envolvidos. Não basta maturar o oócito com eficiência, é preciso compreender o desenvolvimento desse gameta desde a fase folicular. Também é preciso entender que os embriões produzidos *in vitro* em sistema de cultivo bidimensional carecem de estímulos maternos e estão expostos à uma força mecânica, diferente daquela promovida pela matriz extracelular *in vivo*. O hidrogel de alginato tem sido utilizado como uma matriz promissora para o cultivo de células e tecidos, fornecendo um ambiente mais mimetizado da condição fisiológica, em comparação ao cultivo bidimensional. O presente capítulo aborda o panorama da produção *in vitro* de embriões bovinos e apresenta os avanços dos cultivos tridimensionais baseados na utilização de matrizes de hidrogel de alginato em folículos ovarianos, embriões e outros tecidos reprodutivos.

1 INTRODUÇÃO

Na pecuária de corte, a produtividade está diretamente relacionada à eficiência reprodutiva das fêmeas e à melhoria na qualidade genética dos bezerros nascidos. Para tanto, nos últimos anos, houve um aumento crescente das biotecnologias aplicadas à reprodução animal, dentre elas, a inseminação artificial em tempo fixo (IATF), a produção *in vitro* de embriões (PIVE) e a transferência de embriões em tempo fixo (TETF).

A PIVE é amplamente utilizada em muitas espécies. Estima-se que existam mais de 8 milhões de bebês nascidos no mundo através dessa biotécnica (EUROPEAN SOCIETY OF HUMAN REPRODUCTION AND EMBRYOLOGY, 2018). Para fêmeas bovinas, a PIVE constitui uma importante biotecnologia, especialmente quando se pretende a rápida multiplicação da genética materna, gerando um maior número de bezerros das fêmeas de alto valor genético. A PIVE também se torna uma alternativa para fêmeas com problemas reprodutivos, que estariam impossibilitadas de parirem seus bezerros, inclusive tornando férteis fêmeas biologicamente inférteis, uma vez que o embrião é transferido à fêmea receptora que será responsável pela prenhez e posterior parto.

No Brasil, a utilização da PIVE em bovinos é bastante expressiva e, no mundo, dados do Comitê da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões (IETS) registram que, em 2019, aproximadamente 1.031.567 embriões bovinos transferíveis foram produzidos *in vitro*, dos quais 525.078 foram produzidos na América do Norte, 430.355, na América do Sul, 62.009 na Europa, 10.480 na Austrália e 3.645 na África (VIANA, 2020). Sendo assim, tal técnica possui grande expressividade e potencial de utilização, seja nas questões sociais em humanos ou nas questões econômicas na pecuária.

A PIVE em bovinos tem sido comumente empregada com a finalidade de potencializar o aproveitamento de fêmeas geneticamente superiores. De maneira geral, as fêmeas submetidas à IATF produzem 1 bezerro/fêmea/ano e até 10 bezerros durante sua vida produtiva (LOIOLA *et al.*, 2014). Tal número pode ser ampliado com o emprego da PIVE. Quando se realiza a aspiração folicular guiada por ultrassom (OPU) obtêm-se, em média, 30 oócitos viáveis por coleta, onde coletas seriadas podem ser feitas, consecutivamente, a cada 20 dias. De maneira geral, considera-se que 40,8% dos oócitos cultivados chegam a embriões e, desses, 33% resultam em prenhez quando são transferidos. Com o uso intensivo da OPU e a PIVE associadas, tal escala na produção de bezerros possibilita às fêmeas geneticamente superiores a contabilização de uma grande prole ao longo da vida produtiva e reprodutiva (LOIOLA *et al.*, 2014; WRENZYCKI, 2016; DALL'ACQUA *et al.*, 2018).

Em 2014, no mundo, a PIVE alcançou o ápice da biotécnica em número de embriões produzidos e transferidos, na qual a OPU, prosseguida pela TETF, obteve um avanço mundial de 16,7%, comparado ao ano de 2013. No mesmo ano, o Brasil gerou 70,8% dos embriões produzidos por PIVE no mundo (PERRY, 2014). O Brasil ampliou mais de sete vezes a PIVE em bovinos entre 2001, quando produziu 50.000 embriões, e 2013, com a produção de 366.517

embriões (KADARMIDEEN *et al.*, 2015). Em 2018, foram produzidos no Brasil um total de 364.802 embriões bovinos, sendo 341.583 pela técnica de PIVE, representando 93,63% do total de embriões bovinos produzidos (VIANA, 2019) Os atuais índices revelam a competência do mercado brasileiro em programas de OPU e PIVE em larga escala.

A PIVE envolve as etapas de coleta, maturação e fecundação dos oócitos, seguidas pelo cultivo *in vitro* dos embriões. A eficiência das etapas de maturação e fecundação *in vitro* é semelhante à obtida *in vivo*, entretanto, a porcentagem de oócitos que são maturados *in vitro* e que se desenvolvem até a fase de blastocisto é de apenas 40,8% (DALL'ACQUA *et al.*, 2018). Além disso, os blastocistos gerados na PIVE ainda apresentam menores taxas de prenhez e são menos resistentes à criopreservação, quando comparados aos produzidos *in vivo* (MELLO *et al.*, 2016). Constatou-se que embriões produzidos *in vitro* possuem alterações epigenéticas, quando comparados aos embriões produzidos *in vivo* (CANOVAS *et al.*, 2017), alterações essas que podem influenciar o desenvolvimento dos embriões e, até mesmo, a saúde dos bezerros após o nascimento (BOUILLON *et al.*, 2016).

Diante de tais alterações, deve-se considerar que, *in vivo*, o desenvolvimento dos embriões ocorre no oviduto, que constitui um ducto longo e sinuoso, responsável por fornecer os nutrientes necessários para a manutenção e o desenvolvimento inicial do embrião (MOORE; PERSAUD; TORCHIA, 2016). De forma diferente, a PIVE é realizada em placas, onde os embriões ficam livres no meio de cultivo e padecem da ausência de estímulos do tecido materno. Além disso, *in vivo*, existem movimentos de contração muscular realizados pelo oviduto, que fazem com que o embrião se movimente, repetidamente, para frente e para trás até o momento que o mesmo chega ao útero, por volta do quinto dia de desenvolvimento. Tal força mecânica, exercida pelo embrião *in vivo*, não é observada nos cultivos *in vitro* (LI; WINUTHAYANON, 2017).

Embora a PIVE esteja estabelecida como biotécnica, atualmente, busca-se por melhores condições de cultivo que possam incrementar o número de embriões produzidos, em relação ao número de oócitos cultivados, além de aumentar o êxito na porcentagem de prenhez, em relação ao número de embriões transferidos. Dentre tais estudos, destacam-se as variações no sistema de cultivo (SWAIN; SMITH, 2011).

Comumente, a PIVE é realizada em placas contendo, exclusivamente, meio de cultura, esse denominado de sistema de cultivo bidimensional (2D). Entretanto, tal sistema oferece algumas limitações ao desenvolvimento dos embriões. No sistema de cultivo 2D, o embrião se adere à placa de cultivo, ocasião em que a superfície do embrião, em contato direto com a placa, sofre limitações quanto à área de troca entre o embrião e o meio de cultivo no ponto de adesão. Frente a tais fatores, surge a necessidade de buscar novas perspectivas para o cultivo de embriões. Uma alternativa pode ser a cultura *in vitro* em sistemas de cultivo tridimensionais (3D), técnica baseada na criação de um microambiente celular mais adequado e semelhante ao encontrado *in*

vivo, permitindo que a estrutura celular interaja com seu entorno nas suas três dimensões. Dependendo do sistema de cultivo 3D, o embrião não se adere à superfície da placa, condição que amplia sua área de superfície de troca entre o embrião e o meio de cultivo. O sistema 3D também é capaz de simular a força mecânica exercida pela matriz extracelular, condição que pode influenciar, favoravelmente, no desenvolvimento das células (WOODRUFF; SHEA, 2007). Atualmente, os sistemas 3D têm sido amplamente estudados.

A primeira descrição de cultivo 3D foi realizada em 1912, utilizando uma superfície feita de fios de seda para o cultivo de cardiomiócitos. Tal sistema possibilitou uma maior interação das células com o ambiente, pelo maior contato com diferentes planos do espaço (CARREL, 1912). A partir de então, tal técnica vem sendo utilizada, principalmente para testes mais preditivos de novos fármacos, objetivando diminuir a experimentação animal (RATUND; BALLESTRERI; GRIVICICH, 2015). Além disso, também vem sendo utilizada no cultivo de células tronco, em que permite maior aeração e nutrientes para as células e causa impacto positivo no alinhamento do citoesqueleto, na expressão gênica e na expressão de proteínas, contribuindo com melhorias na diferenciação das células tronco (WANG *et al.*, 2018).

O sistema 3D pode ser produzido a partir de diferentes tipos materiais, como esponjas homeostáticas, microcarreadores, impressão 3D, hidrogéis e nanopartículas magnéticas (DOMANSKY *et al.*, 2005; MELCHELS *et al.*, 2012; TÜRKER; DEMIRÇAK; ARSLAN-YILDIZ, 2018; HOFFMAN, 2018; WANG *et al.*, 2018).

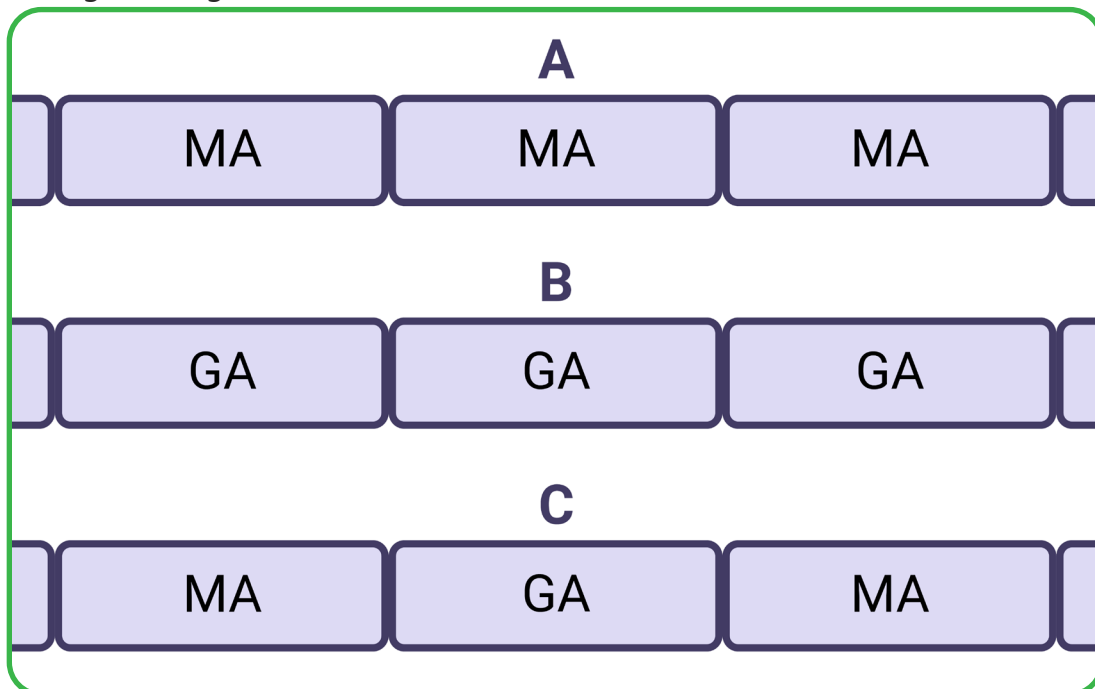
Existem alguns estudos empregando cultivos 3D em experimentos associados à reprodução. A maioria dos estudos existentes foram realizados com folículos ovarianos em diferentes espécies e estágios de desenvolvimento (PANGAS *et al.*, 2003; XU *et al.*, 2013; BRITO *et al.*, 2014). Poucos estudos foram realizados com desenvolvimento embrionário (ZHAO *et al.*, 2015; FERRAZ *et al.*, 2018). Antonino *et al.* (2019) demonstraram em folículos secundários um aumento da viabilidade e maior taxa de maturação em oócitos bovinos cultivados em 3D. Brito *et al.* (2014) utilizaram folículos pré-antrais em cultivo 3D e, também, visualizaram maior taxa de maturação e de crescimento folicular. Diante desse contexto, sugere-se que o cultivo em sistemas 3D possui resultados bastante promissores nessa área e que podem aprimorar o cultivo *in vitro* de diferentes tipos de células.

Conforme descrito anteriormente, existem diferentes formas de se produzir sistemas de cultivo tridimensional. Este capítulo tem como foco a utilização de matrizes de hidrogel de alginato para a formação de sistemas 3D. Ao longo deste capítulo, será apresentada a estrutura molecular desse polissacarídeo e como ele tem sido utilizado no cultivo de células e de tecidos reprodutivos, com o intuito de aumentar a compreensão da fisiologia reprodutiva e, por conseguinte, aplicar estratégias capazes de aumentar o sucesso de biotécnicas reprodutivas.

2 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS DO HIDROGEL DE ALGINATO

O alginato é um polímero natural obtido por diferentes espécies de algas marrons, que, a partir da adição de um íon bivalente, como o cálcio, e um pH adequado, pode formar um hidrogel estável com propriedades semelhantes à matriz extracelular (LEE; MOONEY, 2012). Trata-se de um polissacarídeo baseado em dois monômeros - ácido 1,4- β -D-manurônico (MA) e ácido 1,4- α -L-gulurônico (GA), que podem se apresentar, estruturalmente, de três formas: moléculas de MA ligadas sequencialmente, moléculas de GA ligadas sequencialmente e moléculas de MA e GA ligadas de forma alternada (**Figura 1**). Assim, uma longa cadeia polimérica de natureza aniônica é formada. O comprimento, bem como a porcentagem de cada um dos monômeros presentes, conferem alterações nas propriedades físicas do composto (GUO *et al.*, 2020).

Figura 1. Ilustração de três sequências de monômeros que compõem o polímero hidrogel de alginato.



Legenda: A. Moléculas de ácido 1,4- β -D-manurônico (MA) ligadas sequencialmente. B. Moléculas de ácido 1,4- α -L-gulurônico (GA) ligadas sequencialmente. C. Moléculas de ácido 1,4- β -D-manurônico (MA) e ácido 1,4- α -L-gulurônico (GA) ligadas alternadamente.

Fonte: elaborada pelos autores. Ilustração: Adriano Felipe Mendes.

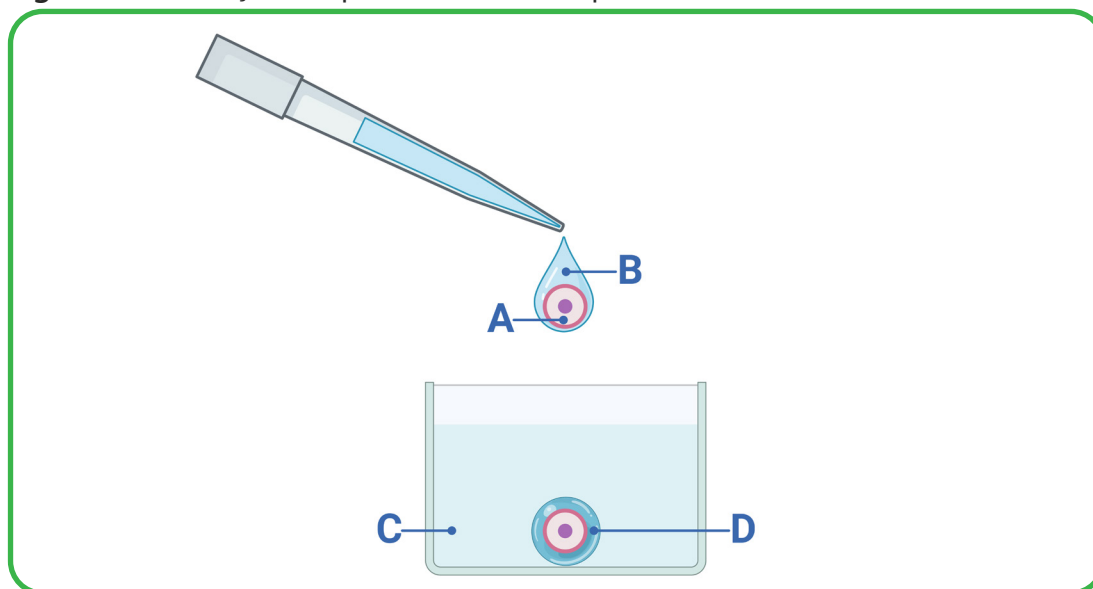
Os hidrogéis de alginato são estruturas altamente porosas, que facilitam a distribuição de macromoléculas, e sua preparação como andaime não necessita de ativadores tóxicos ou alteração de temperatura. Quando utilizado no encapsulamento de células, o hidrogel de alginato parece fornecer fluxo interno de quantidades adequadas de nutrientes e de oxigênio e fluxo externo de metabólitos celulares, não interferindo na viabilidade celular. Há, dessa forma, transmissão bidirecional de compostos de forma benéfica para o desenvolvimento das células no interior da cápsula (JALAYERI *et al.*, 2017).

3 EMPREGO DO HIDROGEL DE ALGINATO COMO MODELO BIOLÓGICO EM ESTUDOS DE REPRODUÇÃO ANIMAL

3.1 CULTIVO DE FOLÍCULOS OVARIANOS

Os folículos ovarianos podem ser cultivados em sistemas tridimensionais baseados no encapsulamento com o alginato (**Figura 2**). O encapsulamento pode ser realizado de diferentes formas. De forma resumida, tal processo é realizado em duas etapas. Primeiramente, o folículo ovariano a ser cultivado é envolvido por uma solução de alginato. Posteriormente, a segunda etapa consiste na indução da solidificação do alginato por gelificação. Essa última etapa consiste na imersão da gotícula de alginato, contendo o folículo ovariano, em uma solução com cálcio para que ocorra a reticulação. Esse processo não compromete a sobrevivência e o desenvolvimento *in vitro* dos folículos ovarianos.

Figura 2. Ilustração do processo de encapsulamento de folículos ovarianos.



Legenda: No processo, o folículo ovariano (A) é envolvido em uma solução de hidrogel de alginato (B) e depois transferido para uma solução de cálcio ($\text{CaCl}_2/\text{NaCl}$) (C) para que ocorra a polimerização. Após esse processo, o folículo encapsulado (D) é transferido para uma placa de cultivo.

Fonte: elaborada pelos autores. Ilustração: Adriano Felipe Mendes.

Brito *et al.* (2014) utilizaram as concentrações de 0,25%, 0,5% e 1% de matriz de alginato para determinar as condições ideais de cultura de folículos ovarianos caprinos. Os folículos ovarianos foram submetidos ao encapsulamento com alginato para a realização da cultura tridimensional. Os autores descobriram que a utilização de alginato a 0,25% resultou na formação de antro folicular semelhante ao grupo controle e apresentou desempenho superior às demais concentrações testadas (0,5 e 1%). Tal desempenho foi evidenciado pelas maiores taxas de retomada meiótica, maiores níveis de estradiol e progesterona, bem como maior abundância de dois transcritos-chave: CYP19A1 (citocromo

P450, família 19, subfamília A, polipeptídeo 1), responsável por catalisar a conversão de testosterona e estradiol, e HSDB3 (3-beta-hidroxiesteroide desidrogenase), que catalisa a síntese de progesterona e androstenediona a partir de pregnenolona e dihidroepiandrosterona. Com base nesses resultados, os autores concluíram que a utilização do sistema tridimensional, baseado em alginato a 0,25%, proporciona o desenvolvimento de folículos ovarianos caprinos pré-antrais e incrementa a taxa de retomada meiótica.

Embora Brito *et al.* (2014) tenham conseguido resultados promissores no cultivo de folículos ovarianos caprinos em sistema tridimensional baseado em alginato a 0,25%, outros pesquisadores forneceram dados que apontam diferentes necessidades quanto à concentração de alginato conforme a espécie alvo. Sadeghnia *et al.* (2016) apresentaram em seu estudo que a utilização de uma matriz de alginato mais rígida, à 2%, foi mais adequada para o desenvolvimento de folículos primordiais ovinos. Enquanto isso, folículos caninos pré-antrais e antrais pequenos tiveram seu crescimento aumentado em alginato a 0,5%, em comparação com 1,5% (SONGSASEN *et al.*, 2012).

Assim, torna-se evidente que existem variações na resposta do folículo ovariano de acordo com a espécie e o estágio de desenvolvimento da estrutura, diante das diferentes concentrações de alginato utilizadas. Já foi demonstrado que folículos primordiais de primatas apresentaram características de sobrevivência e desenvolvimento ótimas em matriz de alginato mais rígida, a 2%, em comparação com matriz mais macia, a 0,5% (HORNICK *et al.*, 2012). Matrizes mais rígidas são, geralmente, utilizadas para cultivar folículos pré-antrais menores, enquanto matrizes mais macias são utilizadas para folículos maiores.

3.2 CULTIVO DE EMBRIÕES

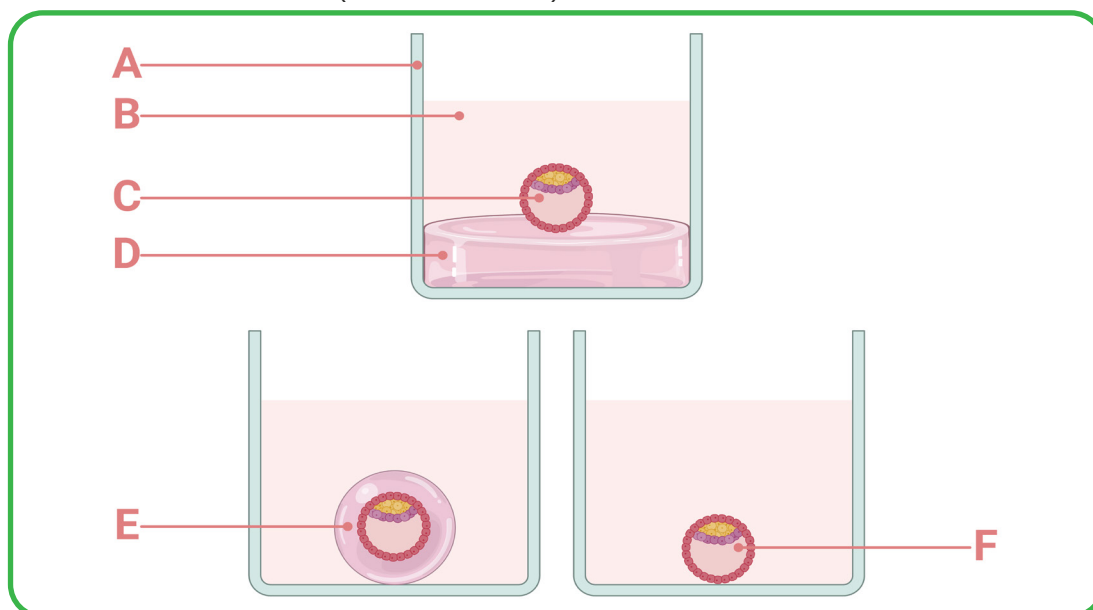
Embriões bovinos também podem ser cultivados *in vitro* em matrizes tridimensionais baseadas em alginato. Usualmente, embriões são produzidos *in vitro* sobre placas de Petri ou placas de múltiplos poços em meio de cultivo, caracterizando um sistema bidimensional (2D). Após a fertilização *in vitro*, os prováveis zigotos são cultivados em meio de cultivo *in vitro* para o desenvolvimento de blastocistos. No sistema bidimensional convencional, na espécie bovina, cerca de 40,8% das estruturas cultivadas se desenvolvem até o estágio de blastocisto. No sétimo dia de cultura, blastocistos bovinos podem ser transferidos para uma receptora ou criopreservados.

Em estudos *in vitro*, o período de cultivo pode ser estendido em dois dias, chegando ao nono dia de cultivo embrionário. Esses estudos permitem observar a cinética de eclosão embrionária, ou seja, a capacidade do embrião no estágio de blastocisto de romper a zona pelúcida. Embora seja possível o cultivo *in vitro* de embriões bovinos até o nono dia de desenvolvimento, estender ainda mais esse processo, para investigar eventos biológicos de estruturas mais tardias, é um grande desafio, pois os embriões acabam perecendo, possivelmente, pela falta de fatores maternos e pela superfície de

cultivo utilizada baseada, geralmente, em plástico.

Na busca por um ambiente mais fisiológico para o cultivo embrionário, as matrizes de alginato se tornam altamente relevantes. As células podem ser cultivadas em matrizes tridimensionais à base de alginato de diferentes formas, como, por exemplo, a sobreposição e o encapsulamento (**Figura 3**).

Figura 3. Ilustração do cultivo de embriões (blastocistos bovinos pós-eclosão) sobre matriz tridimensional (superior), encapsulado (inferior esquerda) ou em sistema bidimensional (inferior direita).



Legenda: A. Cavidade da placa de cultivo. B. Meio de cultivo. C. Embrião pós-eclosão sobre matriz tridimensional à base de hidrogel de alginato. D. Matriz tridimensional à base de hidrogel de alginato. E. Embrião encapsulado em matriz tridimensional à base de hidrogel de alginato. F. Embrião em sistema bidimensional sobre placa de cultivo.

Nota: Vale destacar que o embrião cultivado em sistema bidimensional fica em contato com a placa de cultivo, condição que limita a área de troca entre o embrião e o meio de cultivo. Os sistemas tridimensionais apresentados aqui constituem uma alternativa para este problema. Fonte: elaborada pelos autores. Ilustração: Adriano Felipe Mendes.

Zhao *et al.* (2015) compararam o desenvolvimento de embriões bovinos pós-eclosão em um sistema controle bidimensional, com dois sistemas tridimensionais baseados em alginato: encapsulamento e sobreposição. No primeiro, os embriões foram envolvidos em uma matriz tridimensional de alginato, do oitavo até o décimo oitavo dia de desenvolvimento. No segundo, o fundo do poço da placa de cultivo foi revestido com a mesma matriz. Os autores descobriram que tanto o encapsulamento quanto a sobreposição dos embriões com matrizes tridimensionais de alginato apoiaram a proliferação, o alongamento e a diferenciação celular de blastocistos pós-eclosão em um sistema de cultivo *in vitro* estendido. Dessa forma, esse estudo abre caminho para uma série de investigações acerca da dinâmica do desenvolvimento embrionário após a eclosão da zona pelúcida. *In vivo*, os embriões bovinos pós-eclosão precisam sinalizar sua presença para a fêmea, de modo a evitar

a luteólise e estabelecer a prenhez e, embora já seja conhecido o papel do interferon tau nessa espécie, há, ainda, muito para descobrir nesse contexto, pois os embriões são estruturas altamente dinâmicas e complexas.

Além dos bovinos, o encapsulamento de embriões com alginato pode, da mesma forma, beneficiar outras espécies. O sistema de encapsulamento com matrizes tridimensionais à base de alginato também foi testado em embriões suínos. Sargus-Patino *et al.* (2014) colheram embriões pré-implantacionais de fêmeas suínas nos dias 9, 10 ou 11 de prenhez e testaram o encapsulamento duplo com matriz tridimensional de alginato a 0,7%. Os autores mostraram que os embriões pré-implantacionais esféricos colhidos e encapsulados podem sofrer alterações morfológicas, com aumento da expressão de transcritos esteroidogênicos e produção de estradiol, de forma semelhante ao que ocorre com embriões que se desenvolvem *in vivo*. Dessa forma, os autores apresentaram um sistema de cultura embrionária capaz de dar suporte para estudos que buscam avaliar os mecanismos envolvidos no alongamento embrionário direcionados para aumentar o sucesso no estabelecimento da prenhez.

3.3 CULTIVO DE EMBRIÕES ASSOCIADO ÀS CÉLULAS ESTROMAIS ENDOMETRIAIS

Além de possibilitar o cultivo de embriões de diferentes espécies, as matrizes tridimensionais podem receber aprimoramentos. Um dos aprimoramentos possíveis consiste na inserção de células com potencial para melhorar a viabilidade das estruturas cultivadas na própria matriz *in vitro*. Nesse sentido, Arjmand *et al.* (2016) conduziram um estudo utilizando matrizes tridimensionais à base de hidrogel de alginato acrescidas de células estromais endometriais inseridas diretamente na matriz destinada ao encapsulamento de embriões humanos. Nesse estudo, uma molécula antioxidante foi testada no meio de cultivo, a melatonina. O aprimoramento da matriz se baseou no fato das células estromais endometriais serem fontes de fatores de crescimento, hormônios e citocinas necessárias para o desenvolvimento embrionário, enquanto a melatonina apresenta ação antioxidante e antiapoptótica, por meio da regulação negativa da expressão gênica de fatores pró-apoptóticos e da regulação positiva de genes antiapoptóticos. Os autores verificaram que os blastocistos cultivados em condições tridimensionais aprimoradas permaneceram viáveis e funcionais durante o período monitorado, medidos por um alto nível de secreção de hormônios relacionados à gravidez.

3.4 CULTIVO DE CÉLULAS TRONCO

As matrizes tridimensionais à base de alginato também podem ser utilizadas no processo de diferenciação de células tronco mesenquimais endometriais humanas. Ghasemi *et al.* (2022) apresentaram em seu estudo que, após 5 dias de encapsulamento em hidrogel de alginato (3%), as células tronco mesenquimais endometriais humanas mostraram ser capazes de diferenciação em células semelhantes a oócitos em uma dose ajustada de 10

μM de ácido retinóico e 50 ng/mL de proteína morfogenética óssea (BMP4). Esses autores validaram, ainda, a biocompatibilidade e a segurança do hidrogel de alginato produzido em células e, pela primeira vez, desenvolveram um sistema tridimensional à base de alginato para aumentar o desenvolvimento de células tronco mesenquimais endometriais humanas em células semelhantes a oócitos.

As matrizes tridimensionais apresentam um potencial de aplicação bastante amplo e, sendo assim, também já foram testadas em células-tronco espermatogonais, em que foi demonstrado que o alginato não altera a morfologia das células, não é citotóxico, assim como possui características antioxidantes que aumentam a viabilidade das células. Em relação aos níveis de expressão gênica dos genes da apoptose em células-tronco espermatogonais encapsuladas em alginato, parece que o alginato inibe, principalmente, a via da apoptose mitocondrial e fornece uma maior biocompatibilidade através da distribuição adequada de oxigênio e outros nutrientes (JALAYERI *et al.*, 2017). Por conta dos diversos benefícios apresentados, o hidrogel de alginato tem sido alvo de muitos estudos em engenharia de diversas células e tecidos (LEE; MOONEY, 2012).

Apesar de ser possível cultivar células tronco *in vitro* e induzir sua diferenciação em diferentes tipos celulares, alcançar a produção de gametas *in vitro* tem sido um grande desafio. As técnicas de reprodução assistida estão em constante aperfeiçoamento e conseguem, cada vez mais, ajudar casais com problemas de fertilidade. Nesse contexto, a engenharia de tecidos tem permitido grandes avanços no que diz respeito ao cultivo bem sucedido de diferentes tipos celulares, incluindo células e tecidos reprodutivos. O hidrogel de alginato, conforme apresentado ao longo deste capítulo, é um composto altamente versátil capaz de dar suporte a diferentes tipos celulares e possibilita a otimização de sistemas de cultivo, especialmente os tridimensionais, capazes de dar melhores condições de desenvolvimento *in vitro*.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As biotecnologias reprodutivas, como a PIVE, são adotadas mundialmente e sua eficiência permanece limitada. Nesse contexto, estudos são desenvolvidos para aperfeiçoar a biotécnica e melhorar seus resultados. Dentre esses estudos, destacamos, neste capítulo, a utilização de matrizes tridimensionais à base hidrogel de alginato. O hidrogel de alginato é um polissacarídeo natural extraído de algas marrons e apresenta grande versatilidade para aplicações em cultivos de células e tecidos, incluindo o contexto reprodutivo, foco deste capítulo. O hidrogel de alginato é um composto polimérico que pode adquirir a forma de um hidrogel com características semelhantes à matriz extracelular.

Neste capítulo foram apresentadas diferentes aplicações das matrizes tridimensionais à base de hidrogel de alginato. Em folículos ovarianos, o estágio de desenvolvimento da estrutura e a espécie utilizada são influenciados pela concentração de alginato presente na matriz. Foi apresentado que

folículos ovarianos pré-antrais caprinos respondem de forma positiva a uma concentração de 0,25%, enquanto folículos primordiais ovinos, pré-antrais caninos e primordiais de primatas podem ser cultivados a 2, 0,5 e 2%, respectivamente. Os embriões bovinos também são beneficiados por matrizes tridimensionais de alginato, as quais apoiam a proliferação, o alongamento e a diferenciação celular de blastocistos pós-eclosão em um sistema de cultivo *in vitro* estendido. Os embriões suínos, submetidos ao encapsulamento com matrizes tridimensionais de alginato, podem sofrer alterações morfológicas com aumento da expressão de transcritos esteroidogênicos e produção de estradiol, de forma semelhante ao que ocorre com embriões que se desenvolvem *in vivo*.

Além disso, foi apresentado que o hidrogel de alginato não altera a morfologia das células, não é citotóxico e possui, ainda, características antioxidantes em células-tronco espermatogonais, sendo esse efeito, possivelmente, mediado pela inibição da via da apoptose mitocondrial e pelo fornecimento de uma maior biocompatibilidade por meio da distribuição adequada de oxigênio e outros nutrientes. Esses efeitos em conjunto aumentam a viabilidade das células. Por conta dos diversos benefícios apresentados, as matrizes tridimensionais à base de hidrogel de alginato são amplamente adotadas nos mais diversos estudos de engenharia e cultivo de células e tecidos.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro (Processo nº 2022/01110-3).

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelas bolsas concedidas aos alunos de Pós-Graduação.

À Biocelltis Biotecnologia S.A pelo auxílio financeiro e suporte técnico.

REFERÊNCIAS

ANTONINO, D. C.; SOARES, M. M.; JÚNIOR, J. M.; ALVARENGA, P. B.; MOHALLEM, R. de F. F.; ROCHA, C. D.; VIEIRA, L. A.; SOUZA, A. G.; BELETTI, M. E.; ALVES, B. G.; JACOMINI, J. O.; GOULART, L. R.; ALVES, K. A. Three-dimensional levitation culture improves in-vitro growth of secondary follicles in bovine model. **Reproductive BioMedicine Online**, Amsterdam, v. 38, n. 3, p. 300-311, 2019.

ARJMAND, F.; KHANMOHAMMADI, M.; ARASTEH, S.; MOHAMMADZADEH, A.; KAZEMNEJAD, S.; AKHONDI, M. M. Extended culture of encapsulated human blastocysts in alginate hydrogel containing decidualized endometrial stromal cells in the presence of melatonin. **Molecular Biotechnology**, Cham, v. 58, n. 10, p. 684-694, 2016.

BRITO, I. R.; SILVA, C. M. G.; DUARTE, A. B. G.; LIMA, I. M. T.; RODRIGUES, G. Q.; ROSSETTO, R.; SALES, A. D.; LOBO, C. H.; BERNUCI, M. P.; ROSA-E-SILVA, A. C. J. S.; CAMPELLO, C. C.; XU, M.; FIGUEIREDO, J. R. Alginate hydrogel matrix stiffness influences the in vitro development of caprine preantral follicles. **Molecular reproduction and development**, Hoboken, v. 81, n. 7, p. 636-645, 2014.

BOUILLON, C.; LÉANDRI, R.; DESCH, L.; ERNST, A.; BRUNO, C.; CERF, C.; CHIRON,

A.; SOUCHAY, C.; BURGUET, A.; JIMENEZ, C.; SAGOT, P.; FAUQUE, P. Does embryo culture medium influence the health and development of children born after in vitro fertilization? **PLoS ONE**, San Francisco, v. 11, n. 3, p. 1-14, 2016.

CANOVAS, S.; ROSS, P. J.; KELSEY, G.; COY, P. DNA Methylation in embryo development: epigenetic impact of art (assisted reproductive technologies). **BioEssays**: news and reviews in molecular, cellular and developmental biology, Hoboken, v. 39, n. 11, p. 1-11, 2017.

CARREL, A. On the permanent life of tissues outside of the organism. **The Journal of experimental medicine**, New York, v. 15, n. 5, p. 516-528, 1912.

DALL'ACQUA, P. C.; NUNES, G. B.; SILVA, C. R.; FONTES, P. K.; NOGUEIRA, M. F. G.; MINGOTI, G. Z. Effect of pre-maturation culture using EGFR kinase inhibitor on embryo development, lipid metabolism and gene expression profile. *In*: INTERNATIONAL RUMINANT REPRODUCTION SYMPOSIUM, 10., 2018, Foz do Iguaçu. **Proceedings** [...]. Belo Horizonte: Animal Reproduction, 2018. v. 15, n. 1, p. 1115.

DOMANSKY, K.; INMAN, W.; SERDY, J.; GRIFFITH, L. G. Perfused microreactors for liver tissue engineering. *In*: IEEE ENGINEERING IN MEDICINE AND BIOLOGY SOCIETY, 27., 2005, Shangai. **Proceedings** [...]. Piscataway: IEEE Service Center, 2005. p. 7490-7492, 2005.

EUROPEAN SOCIETY OF HUMAN REPRODUCTION AND EMBRYOLOGY. More than 8 million babies born from IVF since the world's first in 1978: European IVF pregnancy rates now steady at around 36 percent, according to ESHRE monitoring. **ScienceDaily**, [s. l.], 3 jul. 2018. Disponível em: www.sciencedaily.com/releases/2018/07/180703084127.htm. Acesso em: 31 maio 2023.

FERRAZ, M. A. M. M.; RHO, H. S.; HEMERICH, D.; HENNING, H. H. W.; VAN TOL, H. T. A.; HÖLKER, M.; BESENFELDER, U.; MOKRY, M.; VOS, P. L. A. M.; STOUT, T. A. E.; LE GAC, S.; GADELLA, B. M. An oviduct-on-a-chip provides an enhanced in vitro environment for zygote genome reprogramming. **Nature communications**, London, v. 9, n. 1, p. 1-14, 2018.

GHASEMI, D.; EBRAHIMI-BAROUGH, S.; NEKOOFAR, M. H.; MOHAMADNIA, A.; LOTFIBAKHSHAIESH, N.; BAHRAMI, N.; KARIMI, R.; NOOSHABADI, V. T.; AZAMI, M.; HASANZADEH, E.; AI, J. Differentiation of human endometrial stem cells encapsulated in alginate hydrogel into oocyte-like cells. **BiolImpacts**, [s. l.], v. 13, n. 3, p. 229-240, 2022.

GUO, X.; WANG, Y.; QIN, Y.; SHEN, P.; PENG, Q. Structures, properties and application of alginic acid: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v. 162, p. 618-628, 2020.

HOFFMAN, R. M. 3D sponge-matrix histoculture: an overview. *In*: HOFFMAN, R. (ed.). **Methods in Molecular Biology**. New York: Humana Press, 2018. p. 11-17.

HORNICK, J. E.; DUNCAN, F. E.; SHEA, L. D.; WOODRUFF, T. K. Isolated primate primordial follicles require a rigid physical environment to survive and grow in vitro. **Human reproduction**, Oxford, v. 27, n. 6, p. 1801-1810, 2012.

JALAYERI, M.; PIRNIA, A.; NAJAFABAD, E. P.; VARZI, A. M.; GHOLAMI, M. Evaluation of alginate hydrogel cytotoxicity on three-dimensional culture of type A spermatogonial stem cells. **International journal of biological macromolecules**, Amsterdam, v. 95, p. 888-894, 2017.

KADARMIDEEN, H. N.; MAZZONI, G.; WATANABE, Y. F.; STROBECH, L.; BARUSELLI, P. S. Seleção genômica de embriões produzidos in vitro e por transferência nuclear de células somáticas para a aceleração do melhoramento genético na produção bovina. *In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES*, 29., 2015, Gramado. **Anais [...]**. Gramado: Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões, 2015. p. 67-75.

LEE, K. Y.; MOONEY, D. J. Alginate: properties and biomedical applications. **Progress in polymer science**, London, v. 37, n. 1, p. 106-126, 2012.

LI, S.; WINUTHAYANON, W. Oviduct: roles in fertilization and early embryo development. **Journal of Endocrinology**, Bristol, v. 232, n. 1, p. R1-R26, 2017.

LOIOLA, M. V. G.; CHALHOUB, M.; RODRIGUES, A. S.; FERRAZ, P. A.; BITTENCOURT, R. F.; RIBEIRO FILHO, A. L. Validação de um programa de produção in vitro de embriões bovinos com transporte de oócitos e de embriões por longas distâncias. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 15, n. 1, p. 93-101, 2014.

MELCHELS, F. P. W.; DOMINGOS, M. A. N.; KLEIN, T. J.; MALDA, J.; BARTOLO, P. J.; HUTMACHER, D. W. Additive manufacturing of tissues and organs. **Progress in Polymer Science**, [s. l.], v. 37, n. 8, p. 1079-1104, 2012.

MELLO, R. R. C.; FERREIRA, J. E.; SOUSA, S. L. G. De; MELLO, M. R. B.; PALHANO, H. B. Produção in vitro (PIV) de embriões em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 40, n. 2, p. 58-64, 2016.

MOORE, K. L.; PERSAUD, T. V. N.; TORCHIA, M. G. **Embriologia básica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

PANGAS, S. A.; SAUDYE, H.; SHEA, L. D.; WOODRUFF, T. K. Novel approach for the three-dimensional culture of granulosa cell-oocyte complexes. **Tissue engineering**, New York, v. 9, n. 5, p. 1013-1021, 2003.

PERRY, G. 2013 Statistics of embryo collection and transfer in domestic farm animals. **IETS Data Retrieval Committee**, [s. l.], p. 1-13, 2014.

RATUND, G.; BALLESTRERI, E.; GRIVICICH, I. Efeito da quimioterapia em modelo de esferoides (3D). *In: ENCONTRO ULBRA DE BOSISTAS CNPQ E FAPERGS*, 1., 2015. **Anais [...]**. [S. l.]: Ulbra, 2015. p. 1-4.

SADEGHNIA, S.; AKHONDI, M. M.; HOSSEIN, G.; MOBINI, S.; HOSSEINI, L.; NADERI, M. M.; BOROUJENI, S. B.; SARVARI, A.; BEHZADI, B.; SHIRAZI, A. Development of sheep primordial follicles encapsulated in alginate or in ovarian tissue in fresh and vitrified samples. **Cryobiology**, Amsterdam, v. 72, n. 2, p. 100-105, 2016.

SARGUS-PATINO, C. N.; WRIGHT, E. C.; PLAUTZ, S. A.; MILES, J. R.; VALLET, J. L.; PANNIER, A. K. In vitro development of preimplantation porcine embryos using alginate hydrogels as a three-dimensional extracellular matrix. **Reproduction, fertility, and development**, East Melbourne, v. 26, n. 7, p. 943-953, 2014.

SONGSASEN, N.; WOODRUFF, T. K.; WILDT, D. E. In vitro growth and steroidogenesis of dog follicles are influenced by the physical and hormonal microenvironment. **Reproduction**, Cambridge, v. 142, n. 1, p. 113-122, 2011.

SWAIN, J. E.; SMITH, G. D. Advances in embryo culture platforms: novel approaches to improve preimplantation embryo development through modifications of the

microenvironment. **Human Reproduction Update**, Oxford, v. 17, n. 4, p. 541-557, 2011.

TÜRKER, E.; DEMIRÇAK, N.; ARSLAN-YILDIZ, A. Scaffold-free three-dimensional cell culturing using magnetic levitation. **Biomaterials science**, [s. l.], v. 6, n. 7, p. 1745-1753, 2018.

VIANA, J. H. M. 2019 Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals. **Embryo Technology Newsletter**, Champaign, v. 38, n. 4, p. 1-15, 2020.

VIANA, J. H. M. Produção e transferência de embriões bovinos em 2018. **Jornal O Embrião**, [s. l.], n. 64, p. 7, 2019.

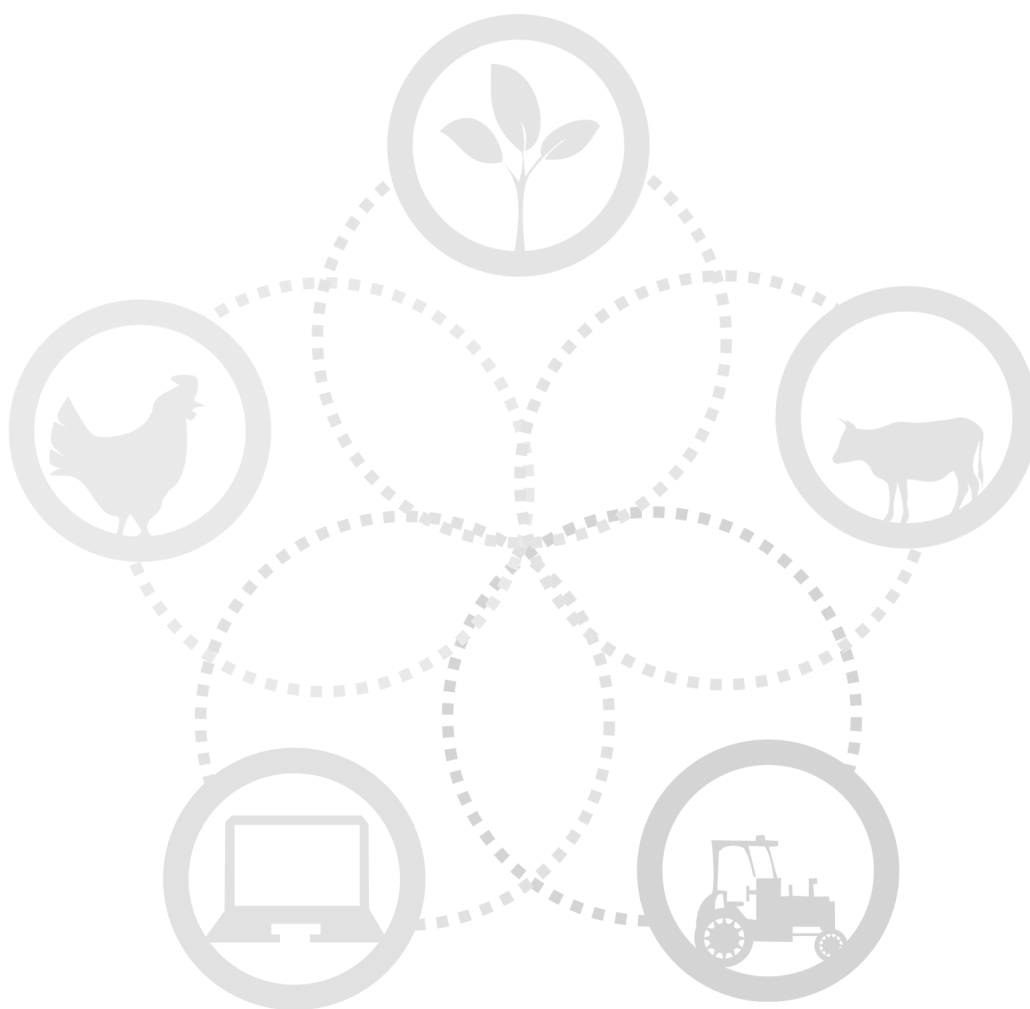
WANG, X.; YOUNG, D. J.; WU, Y. L.; LOH, X. J. Thermogelling 3D Systems towards Stem Cell-Based Tissue Regeneration Therapies. **Molecules**, Basel, v. 23, n. 3, p. 1-14, 2018.

WOODRUFF, T. K.; SHEA, L. D. The role of the extracellular matrix in ovarian follicle development. **Reproductive sciences**, Thousand Oaks, v. 14, n. 8 supl., p. 6-10, 2007.

WRENZYCKI, C. Sistemas de cultivo in vitro: quão longe estamos das condições ideais? In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 30., 2016, Foz do Iguaçu. **Anais** [...]. Foz do Iguaçu: Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões, 2016. p. 155-159.

XU, J.; LAWSON, M. S.; YEOMAN, R. R.; MOLSKNESS, T. A.; TING, A. Y.; STOUFFER, R. L.; ZELINSKI, M. B. Fibrin promotes development and function of macaque primary follicles during encapsulated three-dimensional culture. **Human reproduction**, Oxford, [s. l.], v. 28, n. 8, p. 2187-2200, 2013.

ZHAO, S.; LIU, Z. X.; GAO, H.; WU, Y.; FANG, Y.; WU, S. S.; LI, M. J.; BAI, J. H.; LIU, Y.; EVANS, A.; ZENG, S. M. A three-dimensional culture system using alginate hydrogel prolongs hatched cattle embryo development in vitro. **Theriogenology**, New York, v. 84, n. 2, p. 184-192, 2015.



CAPÍTULO 23

PARTICIPAÇÃO DO INTERFERON-TAU E DOS ISGs NA MODULAÇÃO DO SISTEMA IMUNE DURANTE O INÍCIO DA PRENHEZ EM FÊMEAS BOVINAS

Isabella Rio Feltrin*

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Instituto de Biociências, Programa de Pós-
Graduação em Ciências Biomoleculares e
Farmacológicas, Botucatu, São Paulo, Brasil.

***Autora correspondente:**

isabella.feltrin@unesp.br

Guilherme Pugliesi

Universidade de São Paulo (USP), Faculdade
de Medicina Veterinária e Zootecnia,
Departamento de Reprodução Animal,
Pirassununga, São Paulo, Brasil.

Claudia Maria Bertan Membrive

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia Animal, Dracena, São Paulo, Brasil.

Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Instituto de Biociências, Programa de Pós-
Graduação em Ciências Biomoleculares e
Farmacológicas, Botucatu, São Paulo, Brasil.

Resumo

O reconhecimento materno da prenhez é um processo complexo que envolve uma série de fatores, dentre eles, a supressão da síntese de prostaglandina F_{2α} endometrial, para manter a produção de progesterona pelo corpo lúteo. Em fêmeas ruminantes, o interferon-tau, produzido pelo concepto, é a principal molécula envolvida nesse processo. Para que ocorra o estabelecimento bem-sucedido da prenhez, o concepto semi-alogênico, em razão de metade da genética ser paterna, precisa evitar a sua rejeição pelo organismo materno. Para tanto, o interferon-tau exerce ações parácrinas e endócrinas que regulam o sistema imune da mãe, prevenindo a rejeição do concepto. O interferon-tau atua no endométrio, de forma parácrina, regulando positivamente alguns genes (*Interferon Stimulated Genes* [ISGs]), possivelmente, importantes para o alongamento do concepto, a implantação e o estabelecimento do reconhecimento materno da prenhez. Ainda, através de ações endócrinas, o interferon-tau estimula a expressão de ISGs em células e tecidos extrauterinos, inclusive nas células imunes mononucleares, que incluem linfócitos e monócitos, e polimorfonucleares, que incluem neutrófilos, basófilos e eosinófilos, presentes na circulação periférica. A possibilidade da identificação de ISGs nas células imunes circulantes, a partir de uma amostra de sangue coletada no início do processo de reconhecimento materno da prenhez, determina uma metodologia biomolecular inovadora na predição da prenhez. Tal metodologia, aliada à utilização da ultrassonografia Doppler, constitui uma alternativa promissora no diagnóstico precoce da prenhez. Em programas comerciais de inseminação artificial em tempo fixo, quando o reconhecimento materno da prenhez não é estabelecido com êxito, a predição precoce da prenhez possibilita a redução do intervalo em dias entre o emprego de duas inseminações artificiais em tempo fixo consecutivas. Neste capítulo, abordaremos as principais ações diretas e indiretas do interferon-tau, especialmente sobre a modulação do sistema imune materno durante o início da prenhez, e as possíveis aplicações da identificação dos ISGs como método de predição precoce da prenhez em fêmeas ruminantes.

1 INTRODUÇÃO

As perdas embrionárias ocorridas em fêmeas bovinas de corte, entre o 14º e 19º dias após o estro, impactam, significativamente, a eficiência reprodutiva. Tais perdas decorrem do insucesso no reconhecimento materno da prenhez (RMP). Para que o RMP seja sucedido com êxito, o concepto (embrião e membranas anexas) deve produzir, competentemente, moléculas que estabelecerão uma sinalização às células endometriais, impedindo a síntese de prostaglandina F2 α (PGF2 α) endometrial. A PGF2 α é a principal molécula envolvida na regressão funcional e estrutural do corpo lúteo (CL), processo denominado de luteólise. O CL é responsável pela síntese de progesterona (P4), assim, a manutenção do CL se torna imprescindível para a produção de altas concentrações circulantes de P4, condição fundamental para o RMP.

A simples existência de um concepto no ambiente uterino não determina o sucesso do RMP. Falhas no RMP, por incompetência do concepto em realizar tal sinalização, acomete de 20 a 40% das fêmeas bovinas de corte acasaladas. Quando o RMP não é realizado com êxito, a síntese de PGF2 α é estimulada e determina a regressão funcional e estrutural do CL. O abrupto decréscimo nas concentrações circulantes de P4 caracteriza uma condição fisiológica totalmente incondizente com a prenhez, decretando a mortalidade embrionária precoce. Diante de tal desafio fisiológico, o período compreendido entre o 14º e o 19º dia após o estro é referenciado como "período crítico". A principal molécula envolvida no RMP em fêmeas ruminantes foi identificada em 1987 e denominada de Interferon-tau (IFN- τ). O IFN- τ atua inibindo a síntese de PGF2 α endometrial durante o período crítico, assim, estabelecendo o RMP. O IFN- τ é uma molécula constituída por 172 aminoácidos, classificado como membro da família de interferons do tipo I, e é secretado pelas células trofoblásticas do concepto (embrião e membranas anexas) no período compreendido entre o 10º e o 22º ao 25º dia após o estro. O IFN- τ participa no RMP desenvolvendo ações de natureza autócrina, parácrina e endócrina. Dentre as ações endócrinas, destaca-se o aumento na expressão de genes específicos (*Interferon Stimulated Genes* [ISGs]) nas células sanguíneas brancas. Tal ação merece destaque por favorecer a condição imunológica uterina, de forma a tornar possível a não rejeição de um material genético alheio, pertencente ao embrião e concepto, pelo útero materno. Essa condição de não rejeição é estabelecida com sucesso em 50% das fêmeas de corte acasaladas, que se tornam prenhes após o acasalamento. As alterações nos ISGs podem ser identificadas nas células brancas da circulação periférica e têm sido alvo de muitos estudos, na tentativa de desenvolvimento de kits comerciais para o diagnóstico precoce da prenhez.

2 PRODUÇÃO DE IFN- τ PELO EMBRIÃO E CONCEPTO

Fazendo uma retrospectiva no desenvolvimento embrionário, o embrião bovino inicia o seu desenvolvimento na ampola do oviduto. Por volta do 5º dia após o estro, o embrião vai para a cavidade uterina, onde atinge, sequencialmente, o estágio de mórula (de 4 a 7 dias de desenvolvimento) e

o blastocisto (de 7 a 12 dias de desenvolvimento). O blastocisto, por volta do 9º ao 11º dia, medindo, aproximadamente, 340 µm de diâmetro, apresenta a eclosão da zona pelúcida; a partir de então, assume uma forma ovóide e aumenta o seu comprimento para, aproximadamente, 30 mm, no 14º dia de desenvolvimento. A partir desse momento, o concepto sofre um intenso e progressivo alongamento (aumento no comprimento), alcançado pela rápida multiplicação das células do trofotoderma, quando mede, aproximadamente, 190 mm, no 19º dia de desenvolvimento.

O IFN- τ é expresso, especificamente, nas células mononucleares do trofotoderma do concepto, e seu pico de produção é alcançado no 15º dia de desenvolvimento em ovelhas e 20º dia em fêmeas bovinas (GODKIN *et al.*, 1984, FARIN; IMAKAWA; ROBERTS, 1989, GUILLMOT *et al.*, 1990). Em ovinos, pequenas quantidades de IFN- τ são produzidas em blastocistos, com 8 a 10 dias de desenvolvimento (ASHWORTH; BAZER, 1989), alcançando a produção máxima entre 14 e 16 dias, e declínio para concentrações indetectáveis aos 25 dias de desenvolvimento (BAZER *et al.*, 1992; ROBERTS *et al.*, 1999). Em fêmeas bovinas, Sponchiado *et al.* (2017) sugerem que a liberação do IFN- τ já se inicia no estágio de blastocisto, no 7º dia de desenvolvimento. Segundo Spencer, Forde e Lonergan (2016), o aumento considerável na produção IFN- τ é evidenciado quando o concepto inicia a fase de alongamento, aproximadamente com 15 dias de desenvolvimento, atingindo o pico aos 20 dias. A expressão do IFN- τ é finalizada com o início da implantação do embrião, aos 25 dias de prenhez, pois o contato do trofoblasto com o endométrio interrompe sua produção. Alguns estudos definiram que o RMP ocorre, especificamente, de 12 a 13 dias após o estro em ovinos e de 16 a 17 em fêmeas bovinas.

Em um estudo, no qual os cornos uterinos foram fisicamente isolados em ovelhas, verificou-se que a luteólise foi impedida, quando os embriões foram transferidos no corno ipsilateral (do mesmo lado) ao CL; entretanto, quando os embriões foram transferidos no corno contralateral (do lado oposto) aos CL, a luteólise foi desencadeada (MOOR; ROWSON, 1966). A partir dessas observações, constatou-se que a PGF2 α , produzida pelas células endometriais do corno uterino direito, exerce ação luteolítica nos CL existentes no ovário direito, sendo o mesmo válido para o corno e ovário esquerdo. Tal relação ipsilateral ocorre por uma via de transporte por contracorrente da veia uterina para a artéria ovariana. Para que a troca por "contracorrente" ocorra, é necessário que os dois vasos sanguíneos envolvidos estejam bastante próximos (nesse caso, a artéria ovariana está enovelada em torno da veia uterina) e com fluxos sanguíneos em sentido oposto. Dessa forma, a PGF2 α produzida no corno uterino sai da veia uterina e entra na artéria ovariana por difusão passiva, devido à diferença de concentração. A PGF2 α , na artéria ovariana, chega ao CL ipsilateral ao corno uterino que a produziu.

Em fêmeas bovinas, foi reportada a existência de uma proteína transportadora de PGF2 α (PGT), que age mediando o transporte da PGF2 α da veia uterina para a artéria ovariana. O RNA mensageiro (RNAm) para PGT é

expresso no endométrio, no miométrio e no plexo útero-ovário (PUO), ao longo do ciclo estral. No endométrio, o grau de expressão de RNAm dessa proteína se mostrou variável durante o ciclo estral, alcançando a máxima expressão entre os dias 16 e 18 após o estro. O transporte da PGF2 α diretamente do corno uterino para o ovário ipsilateral, sem a passagem pela circulação periférica, previne que a PGF2 α seja, imediatamente, metabolizada pelos pulmões, o que reduziria sobremaneira sua ação, visto que, em apenas uma passagem pelos pulmões, a metabolização da PGF2 α em 13,14-dihydro-15-keto-PGF2 α (PGFM) é de 90% em bovinos.

O IFN- τ é uma proteína formada por 172 aminoácidos e está presente somente nos ruminantes. A expressão do gene do IFN- τ se inicia no embrião, independentemente do mesmo estar ou não na cavidade uterina, uma vez que a expressão é evidenciada em embriões cultivados em sistemas *in vivo* e *in vitro*. Entretanto, a produção de IFN- τ é fortemente influenciada pelo ambiente uterino, considerando que embriões cultivados *in vitro* aumentam a produção de IFN- τ , quando são expostos ao ambiente uterino.

3 CAPACIDADE DE PRODUÇÃO DE IFN- τ PELO EMBRIÃO E CONCEPTO

A capacidade de alongamento do concepto é altamente dependente da quantidade e composição das moléculas que constituem o ambiente uterino, que, em conjunto, constituem o histotrofo. Assume-se que a produção de histotrofo é proporcional às concentrações circulantes de P4. Carter *et al.* (2008) implantaram, em vacas inseminadas, um dispositivo intravaginal contendo P4, no 3º dia após o estro, mantendo o mesmo até o 7º dia. No 16º dia após a inseminação, as fêmeas foram abatidas e, por lavagem uterina, os conceptos foram recuperados. Observou-se que, nas fêmeas tratadas com o dispositivo e que manifestaram maiores concentrações de P4 entre o 3º e 7º dia, os conceptos apresentaram maior comprimento, maior área de trofotoderma e maior síntese de IFN- τ comparados ao grupo controle.

Clemente *et al.* (2009) investigaram se os efeitos da P4 no favorecimento do crescimento do concepto seria decorrente de um efeito direto no mesmo. Para tanto, os embriões produzidos *in vitro* foram suplementados ou não com P4 e, na sequência, foram transferidos às receptoras que apresentavam perfil plasmático semelhante ao de P4. Os autores observaram que o tratamento *in vitro* dos embriões com P4 não modificou o comprimento do concepto e a síntese de IFN- τ . Tal estudo permitiu evidenciar que os efeitos positivos da P4 no crescimento do concepto não decorre de um efeito direto no mesmo.

Os mesmos autores, então, transferiram os embriões produzidos *in vitro*, sem tratamento prévio com P4, para receptoras com altas concentrações circulantes de P4 entre o 3º e 7º dias após o estro ou para receptoras com baixas concentrações circulantes de P4 no mesmo período. No 14º dia após o estro, as receptoras foram abatidas e verificou-se que, nas receptoras com altas concentrações circulantes P4, os conceptos apresentavam maior comprimento, maior área de trofotoderma e maior síntese de IFN- τ , comparados às

receptoras com baixas concentrações circulantes P4. Esse estudo demonstrou que a P4 age diretamente no microambiente uterino, e, quando em altas concentrações, favorece indiretamente o concepto, que alcança um maior comprimento, maior expansão das células trofoblásticas e maior capacidade de síntese de IFN- τ . Em um estudo de O'Hara *et al.* (2014), foi demonstrado que altas concentrações circulantes de P4, especificamente entre o 3º e 7º dia após o estro, favorece a síntese de IFN- τ pelo concepto, aumentando sua competência para o estabelecimento do RMP; sendo que foi observado um estímulo menor, quando o aumento de P4 foi ocasionado entre o 3º e 5º dia após o estro.

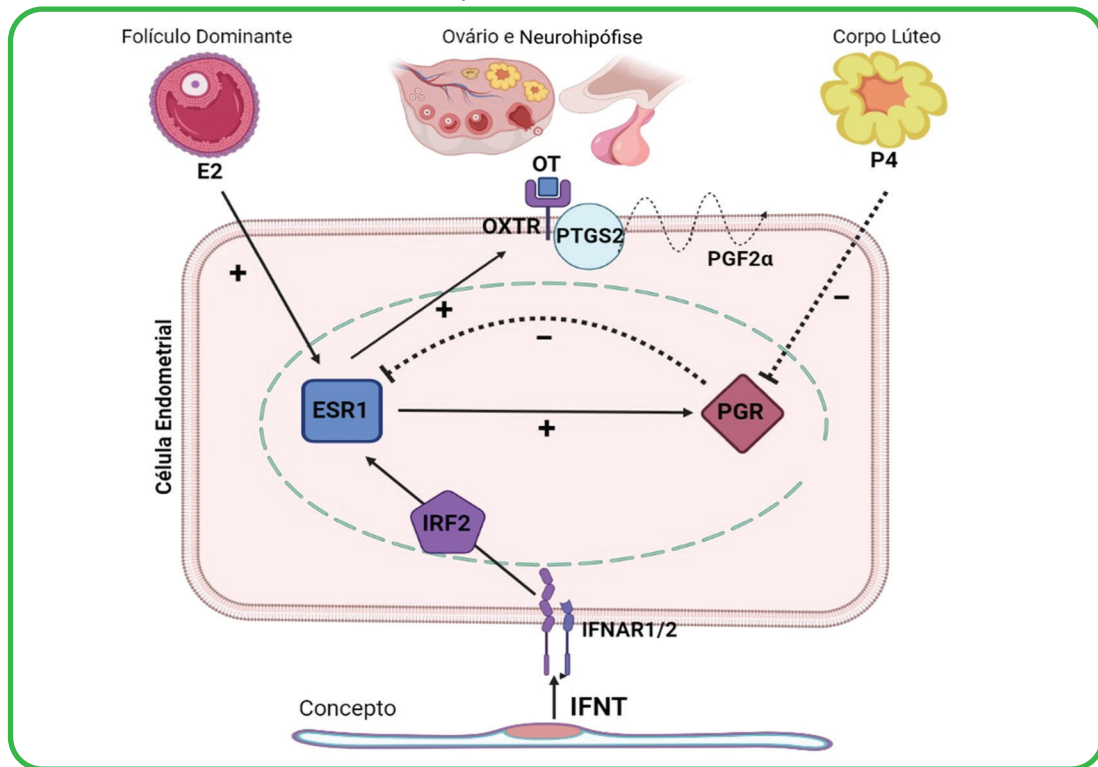
Em síntese, quanto maior as concentrações circulantes de P4, maior a quantidade de histotrofo no ambiente uterino e, conseqüentemente, maior o alongamento e o comprimento do concepto. Quanto maior o comprimento o concepto, maior a produção de IFN- τ , condição diretamente relacionada ao maior êxito do RMP.

4 EFEITOS AUTÓCRINOS E PARÁCRINOS DO IFN- τ NO RECONHECIMENTO MATERNO DA PREENHEZ

O IFN- τ pode atuar no RMP nos ruminantes de maneira autócrina sobre o próprio concepto, porém, essa sinalização não está bem compreendida, pela dificuldade de isolar os efeitos autócrinos dos parácrinos. A ação autócrina do IFN- τ foi sugerida por Wang *et al.* (2013), quando observaram que células do trofotoderma ovino cultivadas *in vitro* com IFN- τ recombinante bovino apresentavam aumento na proliferação celular e na expressão dos ISGs, sendo tais efeitos dose-dependente.

A ação parácrina do IFN- τ se inicia quando o IFN- τ , secretado pelas células trofoblásticas, é lançado no lúmen uterino e se liga aos receptores específicos (IFNAR), localizados na membrana das células endometriais. Tais receptores são constituídos por duas subunidades: o IFNAR1 (receptor do tipo 1) e o IFNAR2 (receptor do tipo 2). A ligação do IFN- τ ao IFNAR inicia a cascata de sinalização JAK/STAT, resultando na formação do fator de transcrição ISGF3, que é transportado ao núcleo da célula, onde inibe a transcrição gênica dos receptores endometriais de estradiol (ESR) e, conseqüentemente, a formação dos receptores de ocitocina (OXTR). A ausência de OXTR impede que a ocitocina (OT) se ligue aos seus receptores, dessa forma, inibindo a síntese e a ocorrência dos pulsos de PGF2 α endometrial, impedindo a luteólise. Os mecanismos envolvidos nas ações antiluteolíticas do IFN- τ estão ilustrados nas **Figuras 1 e 2**.

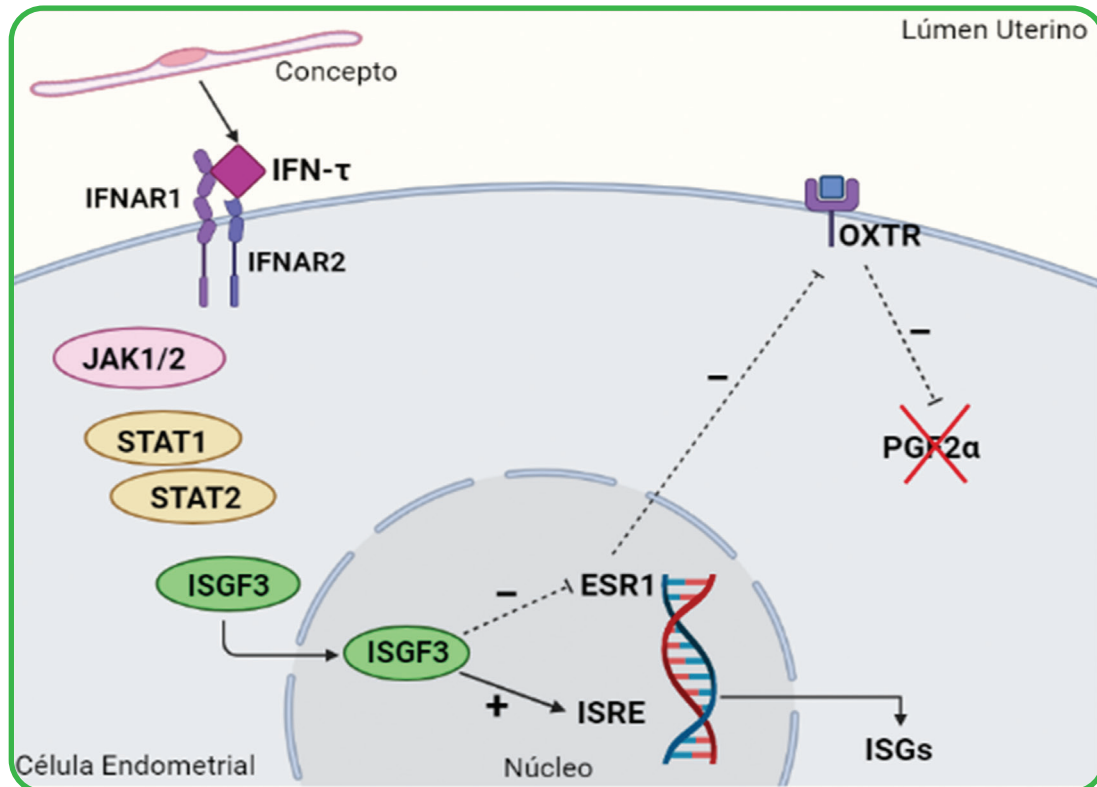
Figura 1. Desenho esquemático que ilustra os mecanismos envolvidos na luteólise e os efeitos do IFN- τ , suprimindo tal mecanismo na célula endometrial.



Nota: No momento que antecede a luteólise, a expressão dos receptores endometriais de estradiol (ESR1) e receptores endometriais de ocitocina (OXTR) aumenta em resposta ao estradiol (E2) produzido pelo folículo dominante no ovário. A ocitocina (OT), produzida pela neurohipófise e pelo CL no ovário, é liberada e se liga aos OXTR, desencadeando a cascata de síntese de PGF2 α via dependente de prostaglandina-endoperoxidase sintase 2 (PTGS2). No diestro, a progesterona (P4), produzida pelo CL, se liga aos seus receptores endometriais (PGR), causando feedback negativo nos ESR1 e OXTR por 8 a 10 dias. Durante o RMP, o IFN- τ se liga aos receptores de IFN tipo I (IFNAR1/2), inibindo a transcrição do gene ESR1, através da via de sinalização do fator regulatório do interferon 2 (IRF2), assim, impedindo a formação de OXTR, mantendo, dessa maneira, a produção de P4 necessária para o estabelecimento e a manutenção da prenhez.

Fonte: elaborada pelos autores e adaptada de Hansen, Sinedino e Spencer (2017).

Figura 2. Mecanismo de ação parácrina do IFN- τ durante o RMP nas células endometriais de fêmeas ruminantes.



Nota: O IFN- τ produzido pelo conceito é secretado no lúmen uterino e se liga aos receptores para interferon tipo I (IFNAR1 e IFNAR2), ativando a cascata de sinalização JAK/STAT. Uma vez ativada a cascata, ocorre a formação do fator de transcrição ISGF3, que é translocado ao núcleo da célula endometrial. O ISGF3 inibe a transcrição do receptor endometrial de estradiol (ESR1) e, conseqüentemente, do receptor endometrial de ocitocina (OXTR). A falta de sinalização da ocitocina (OT) no seu receptor inibe a síntese e liberação da PGF2 α . O ISGF3 se liga à região responsiva aos estímulos de interferons (ISRE), iniciando a síntese de genes estimulados por IFN- τ (ISGs).

Fonte: elaborada pelos autores.

A inibição da síntese de PGF2 e da luteólise pelo IFN- τ é o mecanismo chave para o êxito do RMP. O IFN- τ nas células do estroma e do epitélio endometrial ainda aumentam a síntese de prostaglandina E2 (PGE2) nas células endometriais, onde atua desfavorecendo a via de formação da PGF2 α e favorecendo a via de síntese da PGE2. Além disso, o IFN- τ age aumentando os receptores de PGE2 nas células endometriais.

5 EFEITOS ENDÓCRINOS DO IFN-T NO CORPO LÚTEO DURANTE O RECONHECIMENTO MATERNO DA PREENHEZ

As ações do IFN- τ foram relacionadas por Arosh, Banu e McCracken (2016). Em sua ação endócrina, o IFN- τ produzido pelo conceito no lúmen uterino é transportado para a veia uterina, onde pode seguir dois caminhos: A) o IFN- τ vai para a circulação sistêmica, onde estimula a expressão de genes

específicos (ISGs) nas células imunes; B) o IFN- τ , pela via de transporte por contracorrente, passa da veia uterina para a artéria ovariana, chegando ao ovário, onde irá promover um conjunto de ações no CL.

No CL, o IFN- τ exerce várias funções: A) aumenta a proliferação celular; B) estimula a expressão de genes que promovem o aumento da secreção de P4 no CL; C) promove a sobrevivência das células endoteliais, mantendo a perfusão sanguínea do CL; D) aumenta o RNAm para as proteínas que medeiam a angiogênese. Diante desse conjunto de mecanismos, o IFN- τ desfavorece a luteólise funcional no CL. Além disso, o IFN- τ promove no CL várias outras ações: A) diminui a síntese de citocinas no CL; B) previne a resposta das células do sistema imune que participam da luteólise estrutural; C) diminui o RNAm das proteínas que medeiam a apoptose, protegendo o CL da morte celular; D) aumenta a proliferação celular no CL e diminui a abundância de RNAm nas células endoteliais, de forma a prevenir a luteólise. Assim, o IFN- τ atua, também, desfavorecendo a luteólise estrutural no CL. Nesse contexto, sabe-se que existe um influxo de neutrófilos no CL durante o RMP, em que o IFN- τ altera a funcionalidade das células imunes, desfavorecendo a luteólise funcional e estrutural.

Além do IFN- τ , o embrião bovino, a partir do 13º dia de desenvolvimento, também secreta a PGE2 e a prostaglandina I2 (PGI2), que atuam de forma parácrina no endométrio, regulando a expressão de genes e de funções importantes para a receptividade uterina, o crescimento e o desenvolvimento do conceito durante a fase inicial da prenhez. É de conhecimento que as PGE2 e PGI2 desempenham ações luteotróficas importantes no CL, favorecendo a secreção de P4. O IFN- τ favorece a síntese de PGE2 endometrial (quando não prioriza a síntese de PGF2 α e prioriza PGE2), que irá exercer um conjunto de ações luteotróficas em função da manutenção e atividade do CL. Os principais mecanismos de ação da PGE2 são: A) diminui a sensibilidade do CL à ação da PGF2 α ; B) estimula o aumento da produção de P4 nas células luteais; C) aumenta as concentrações de AMPc no tecido luteal e a ativação da PKA, que estimula a síntese de P4. Portanto, temos três mecanismos conjugados que favorecem o RMP, sendo eles, a inibição na síntese de PGF2 α , a maior resistência do CL às ações luteolíticas da PGF2 α e o amplo conjunto de ações luteotróficas desencadeadas pelo IFN- e PGE2.

6 EFEITOS ENDÓCRINOS DO IFN-T NAS CÉLULAS BRANCAS DO SANGUE DURANTE O RECONHECIMENTO MATERNO DA PRENHEZ

O embrião é uma estrutura semi-alogênica, pois contém metade do DNA oriundo do indivíduo paterno. Assim, considerando que 50% das fêmeas bovinas se tornam prenhes após a primeira cobertura ou inseminação, o material genético paterno divergente não é rejeitado pelo organismo da fêmea. Para o sucesso no RMP, tanto o conceito quanto o sistema imunológico materno agem em sinergismo para permitir que a prenhez se estabeleça. O sistema imunológico da vaca é formado por dois componentes principais: o sistema

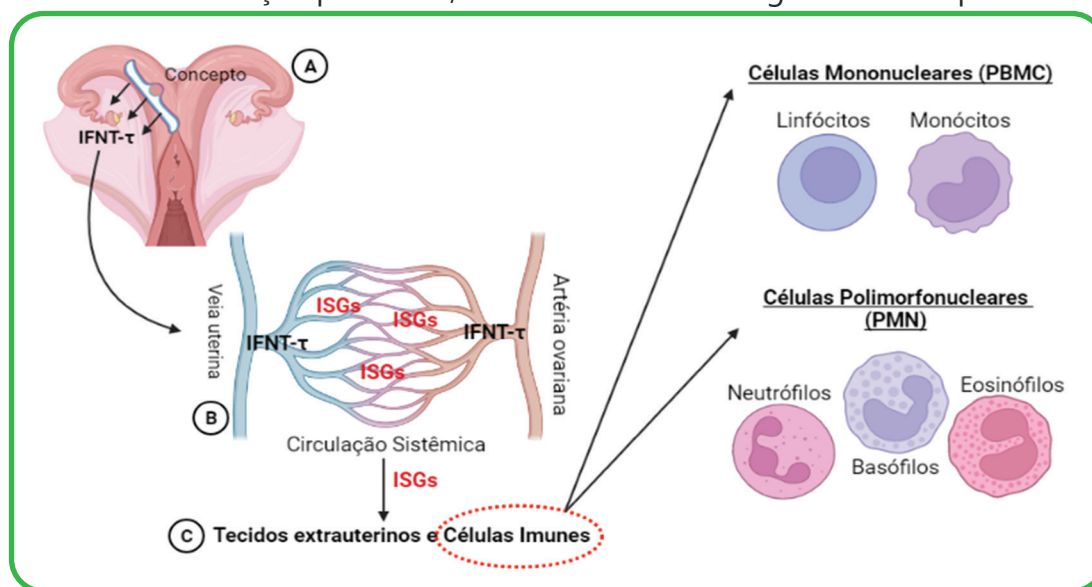
imune adaptativo (imunidade adquirida) e o inato (imunidade natural). O sistema imune inato tem sido o principal responsável pelas alterações imunológicas observadas durante o RMP. Segundo Green *et al.* (2010), o IFN- τ estimula ISGs nas células sanguíneas brancas de ovelhas e vacas.

O IFN- τ produzido pelo concepto e lançado no lúmen uterino é liberado na veia uterina, chegando à circulação sistêmica, alcançando diversos tecidos, nos quais passa a exercer efeitos endócrinos. Os efeitos endócrinos do IFN- τ foram confirmados em diversos estudos, em que se evidenciou a expressão dos ISGs no fígado (MEYERHOLZ *et al.*, 2016), nas células luteais (BRIDI *et al.*, 2018) e nas células imunes na corrente sanguínea (PUGLIESI *et al.*, 2014; FELTRIN *et al.*, 2022). Além disso, o IFN- τ também foi identificado em vesículas extracelulares, que são biomoléculas transportadoras de proteínas, lipídios e ácidos nucleicos secretadas pelo concepto e que caem na circulação sistêmica para exercer seus efeitos em outros tecidos (NAKAMURA *et al.*, 2016).

Nesse contexto, duas hipóteses foram formuladas por Hansen, Sinedino e Spencer (2017) para elucidar por quais mecanismos o IFN- τ desempenha seus efeitos endócrinos. A primeira hipótese sugere que o IFN- τ é uma glicoproteína de potente ação e de rápida depuração na circulação sistêmica, fazendo com que baixas concentrações de IFN- τ fossem suficientes para exercer suas ações. Tal hipótese é reforçada pelas observações de Schalue-Francis *et al.* (1991), que verificaram apenas 58 unidades antivirais por mL de IFN- τ na veia uterina. A segunda hipótese sugere que o IFN- τ poderia estimular a expressão de ISGs através de vesículas extracelulares, o que explicaria sua concentração, relativamente baixa, encontrada na circulação periférica. O IFN- τ possui alta afinidade pelos seus receptores e uma meia-vida plasmática curta, de 7 a 9 horas (ZHAO *et al.*, 2019), ou seja, o IFN- τ demora de 7 a 9 horas para que sua concentração plasmática se reduza pela metade. Assim, baixas concentrações circulantes de IFN- τ já seriam suficientes para estimular os IFNAR.

O IFN- τ induz a síntese e a secreção de ISGs, não apenas no útero, mas, também, nas células sanguíneas circulantes em ovelhas e vacas. Segundo Melo *et al.* (2020), a expressão dos ISGs clássicos em células imunes, em ruminantes, ocorre em células mononucleares, que incluem linfócitos e monócitos (PBMC), e em polimorfonucleares, que incluem neutrófilos, basófilos e eosinófilos (PMN). A indução de ISGs nas células imunes e a morfologia de cada tipo celular estão ilustradas na **Figura 3**.

Figura 3. Desenho esquemático que ilustra a indução de ISGs em células imunes da circulação periférica, bem como a morfologia de cada tipo celular.



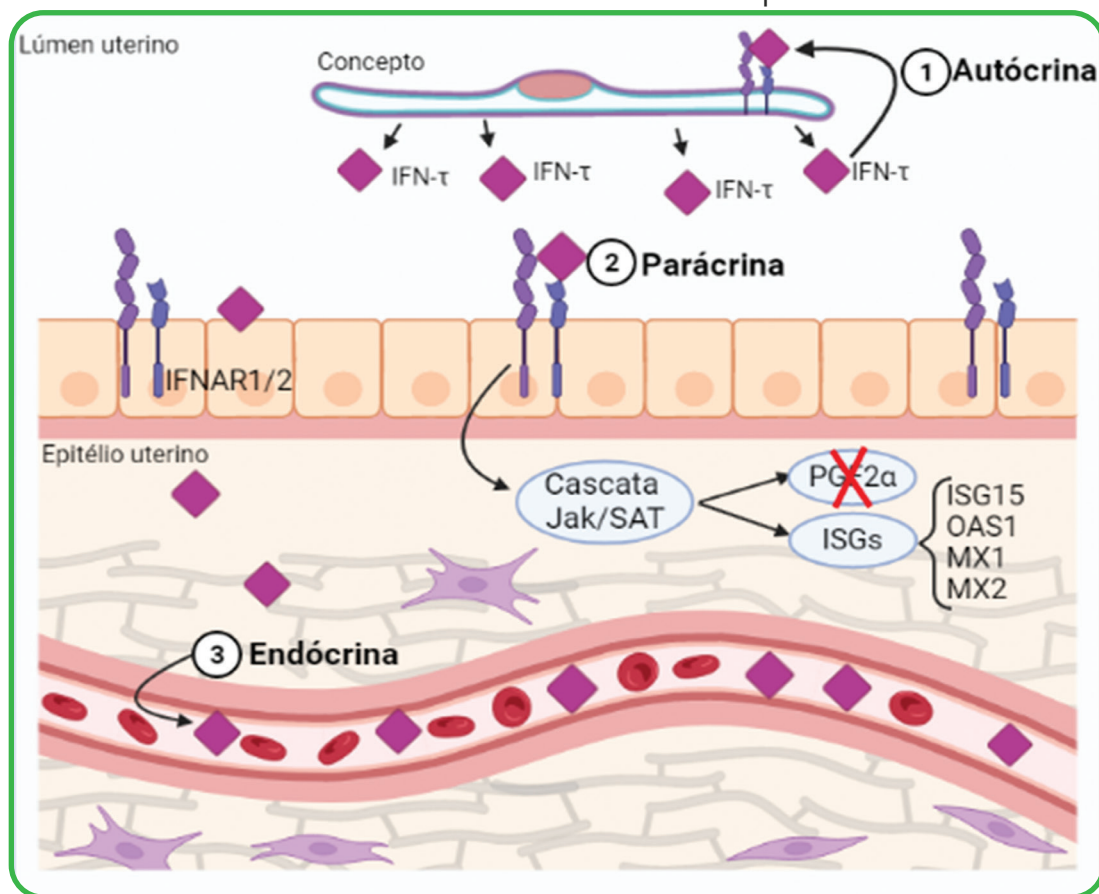
Legenda: (A) O IFN- τ produzido pelo conceitoo atinge a circulação sistêmica através da sua saída pela veia uterina. (B) Uma vez na corrente sanguínea, o IFN- τ alcança células e tecidos extrauterinos, como, por exemplo, as células imunes. (C) De acordo com a sua morfologia, as células imunes são classificadas em mononucleares (PBMC), sendo elas, os linfócitos e monócitos, e em polimorfonucleares (PMN), sendo elas, os neutrófilos, basófilos e eosinófilos.

Fonte: elaborada pelos autores.

As células imunes possuem papel importante durante o RMP, no entanto, as funções para cada ISG em PBMC e PMN ainda são pouco esclarecidas. A infusão de PBMC no lúmen uterino de novilhas cíclicas, no 4º dia do ciclo estral, melhorou a qualidade dos embriões transferidos no dia 7 e coletados no dia 15 (IDETA *et al.*, 2010). Segundo observado por Yang *et al.* (2016), as células imunes da corrente sanguínea, que foram isoladas no 18º dia de prenhez, apresentaram *downregulation* (menor expressão) de genes envolvidos no processo de luteólise, como *aldo-ceto redutase família 1 membro B (AKR1B1)*. Esses achados ilustram o papel das células imunes na manutenção da função do CL. Os genes comumente estimulados pelo IFN- τ , conhecidos como ISGs clássicos, são *ISG15* (gene estimulado pelo interferon 15), *OAS1* (2',5' oligoadenilato sintetase), *MX1* (gene 162 de resistência ao myxovirus 1) e *MX2* (gene 162 de resistência ao myxovirus 2). Embora os IFNAR estejam presentes no epitélio, estroma e glândulas endometriais, os genes *ISG15* e *OAS1* são expressos, apenas, nas células do estroma e das glândulas endometriais, enquanto o *MX1* e o *MX2* são expressos, somente, no epitélio luminal independente do estado de prenhez. A expressão de RNAm para *ISG15*, em leucócitos do sangue periférico de bovinos, foi maior nas vacas prenhes do que nas não prenhes, nos dias 18 e 20 após a inseminação artificial (IA) (GREEN *et al.*, 2010). Em bovinos, o pico da expressão ocorre no dia 20 de prenhez, assumindo níveis basais próximo ao 25º dia de prenhez (SHIRASUNA *et al.*, 2012; PUGLIESI *et al.*, 2014).

As ações autócrinas, parácrinas e endócrinas do IFN- τ estão sumarizadas na **Figura 4**. Os receptores IFNAR estão presentes na membrana de uma série de células e tecidos. Desse modo, o IFN- τ se liga aos receptores IFNAR1/2 presentes no trofocotoderma do conceito, desempenhando seus efeitos sobre o próprio conceito. O IFN- τ também se liga aos receptores IFNAR1/2 presentes na membrana plasmática das células endometriais, inibindo a transcrição de ESR e OXTR, conseqüentemente, bloqueando a síntese de PGF2 pelo endométrio. Finalmente, o IFN- τ alcança a circulação sistêmica, a partir da sua saída pela veia uterina, estimulando a expressão de ISGs em tecidos extrauterinos.

Figura 4. Desenho esquemático que ilustra as ações autócrinas, parácrinas e endócrinas do IFN- τ no reconhecimento materno da prenhez em ruminantes.



Legenda: 1) O IFN- τ se liga aos receptores para interferon tipo I (IFNAR1/2) presentes no trofocotoderma, exercendo efeitos sobre o próprio conceito; 2) O IFN- τ , produzido pelo conceito, inibe a transcrição de receptores endometriais de estradiol (ESR) e ocitocina (OXTR), inibindo a síntese de PGF2 α no endométrio e, ainda, induz a transcrição de genes estimulados por IFN- τ (ISGs); 3) O IFN- τ atinge a circulação sistêmica, a partir da sua saída pela veia uterina, estimulando a expressão de ISGs em tecidos extrauterinos.

Fonte: elaborada pelos autores e adaptada de Rocha *et al.* (2021).

7 MODULAÇÃO DO SISTEMA IMUNE NO INÍCIO DA PREENHIZ

Durante o início da prenhez, dois eventos imunológicos evitam a rejeição

do conceito semi-alogênico. O primeiro evento se inicia no acasalamento, quando o sêmen, em contato com o sistema reprodutivo da fêmea, induz a expressão de moduladores imunológicos, incluindo as interleucinas. A comunicação espermatozoide-útero gera uma resposta imune pró-inflamatória, que é necessária para remover o excesso de espermatozoides mortos e os possíveis patógenos invasores, que ingressam no trato reprodutivo durante o acasalamento ou a inseminação. No sentido oposto, a comunicação espermatozoide-oviduto gera uma resposta imune anti-inflamatória, totalmente necessária para a sobrevivência dos espermatozoides, até que ocorra a fertilização. O segundo evento ocorre quando as células trofoblásticas do conceito iniciam o contato com o endométrio materno. A interação imunológica entre o conceito bovino e o endométrio, durante o período de alongamento após a eclosão do blastocisto (12º e 13º dias após o estro) e no período de RMP (especialmente do 16º ao 19º dia após o estro), foi intensamente investigada. Entretanto, poucos estudos foram realizados no período anterior à eclosão dos blastocistos. Recentemente, Talukder *et al.* (2017), utilizando modelos *in vitro*, demonstraram que embriões no estágio de mórula (5º dia de desenvolvimento) e blastocisto (9º dia de desenvolvimento) induziram a expressão de ISGs (*ISG15*, *OAS1*, *MX2*), os fatores de transcrição (*STAT*) e os receptores (*IFNAR1* e *IFNAR2*) nas células epiteliais e imunes do útero.

Medawar (1953) propôs três possíveis mecanismos pelos quais o conceito semi-alogênico sobrevive ao sistema imunológico da mãe em vertebrados: A) o conceito é inerte e não expressaria antígenos de histocompatibilidade; B) haveria uma imunossupressão do sistema imunológico materno; C) a placenta atuaria como uma barreira protetora entre o conceito e as células imunes maternas.

Em relação a primeira hipótese, estudos recentes em bovinos demonstraram que os genes do complexo principal de histocompatibilidade classe I (MHC-I) são expressos durante o desenvolvimento do blastocisto (DOYLE *et al.*, 2009) e as células trofoblásticas, durante a segunda metade da prenhez (DAVIES; FISHER; SCHLAFER, 2000). O MHC-I é responsável pela potencial antigenicidade e a provável causa da resposta precoce das células fagocíticas endometriais e dendríticas (DOYLE *et al.*, 2009). Assim, esses resultados não corroboram com a hipótese de que o conceito seria uma estrutura imunologicamente inerte.

De acordo com a segunda hipótese, a imunomodulação da mãe está associada ao sucesso da prenhez em bovinos, no entanto, o número de estudos sobre este assunto ainda é escasso. Evidências sugerem que o IFN- τ pode modular a função imune do útero, estimulando moléculas imunossupressoras e genes que regulam a receptividade uterina e o desenvolvimento embrionário. Em um estudo conduzido por Mansouri-Attia *et al.* (2012), verificou-se que a expressão de ISGs, como *TNF α* , *ISG15*, *IL12B*, *PTX3*, proteína quimioatrativa de monócitos 1 (*MCP1*) e proteína quimioatrativa de monócitos 2 (*MCP2*), encontrava-se aumentada no tecido endometrial de bovinos. As proteínas MCP1 e MCP2 são potentes fatores quimiotáticos para monócitos, que são

um dos tipos celulares mais importantes durante a resposta imune materna ao embrião em bovinos. A resposta imune inata materna também é regulada pelo embrião, evidenciada por uma *downregulation* da interleucina 1 β (IL1 β) e do sistema do fator nuclear- $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$).

No decorrer da prenhez, os padrões imunológicos são modificados pela sinalização do conceito, sendo que esses padrões podem alternar entre um estado pró-inflamatório ou anti-inflamatório. Sendo assim, outro importante componente imunológico, fortemente modulado no útero, são os linfócitos, através das células T helper (Th). As células Th modulam o equilíbrio entre as respostas Th1 e Th2, que são balanceadas de acordo com as citocinas secretadas. As células Th1 geram citocinas, como IFN- γ , IL1 β e o fator de necrose tumoral alfa (TNF α). As células Th2 produzem IL4, IL5, IL6, IL10 e IL13 e regulam, negativamente, as respostas Th1. Nesse contexto, células trofoblásticas cultivadas *in vitro* e tratadas com células Th1, tiveram seu crescimento reduzido (BERKOWITZ *et al.*, 1988). Em contraste, as citocinas como IL12, liberadas pela resposta imune Th2, induziram a tolerância do conceito em camundongos (LI *et al.*, 1998). Portanto, as citocinas Th2 melhoram o sucesso da prenhez, enquanto as citocinas Th1, no endométrio, são desfavoráveis ao RMP. Em contrapartida, outros estudos demonstraram um ambiente do tipo Th1 em prenhez saudáveis (GERMAIN *et al.*, 2007; GUPTA *et al.*, 2005). Desse modo, são necessários, ainda, estudos para esclarecer os mecanismos pelos quais o conceito evita a rejeição, durante o início da prenhez em bovinos.

Em síntese, não ocorre a imunossupressão da resposta imune materna e o conceito não é imunologicamente inerte, devido à expressão fetal de antígenos de histocompatibilidade. Embora ocorra a supressão de algumas funções imunes no útero durante a prenhez, existem poucas evidências de que a prenhez leve à imunossupressão da mãe (OLIVEIRA *et al.*, 2012; OTT *et al.*, 2014). Entretanto, quando ocorre a prenhez, claramente ocorre uma estimulação diferente do sistema imunológico, que, oposto às interações hospedeiro-patógeno, envolvem alterações imunológicas relacionadas tanto à ativação quanto à supressão das funções imunes.

A última hipótese, proposta por Medawar (1953), se baseia na possibilidade de a placenta ser uma barreira entre o conceito e as células imunológicas maternas. A placenta é um órgão formado por tecidos maternos e fetais, responsável pelas trocas entre ambos os componentes. As vacas possuem uma placenta do tipo epitélio-corial; assim, as células binucleadas do trofotoderma começam a se fundir com o tecido epitelial e, provavelmente, além dele, a partir do 19º dia de gestação. Essa fusão gera híbridos materno-fetais, que são abundantes nos placentomas. Assim, o útero, embora tenha populações de células T suficientes para induzir a rejeição do conceito, apresenta uma diminuição na quantidade de linfócitos quando a placentação é iniciada, principalmente nos placentônios. Esse mecanismo, aparentemente, é mediado por células da própria placenta, com a finalidade de proteger o conceito do ataque do sistema imunológico.

8 APLICAÇÃO DOS ISGs NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DE PREENHEZ EM FÊMEAS BOVINAS

O diagnóstico de prenhez (DP) é parte essencial nas atividades que envolvem o manejo reprodutivo de bovinos de corte e leite. Após o emprego da IATF, as fêmeas acasaladas, que não se tornaram prenhes, devem ser submetidas à resincronização, para que se possa proceder uma nova IATF, em um intervalo de tempo que seja o menor possível. Para tanto, o desenvolvimento de métodos de detecção precoce da prenhez se torna fundamental para reduzir o intervalo entre duas IATF consecutivas, conseqüentemente, reduzindo o intervalo entre partos.

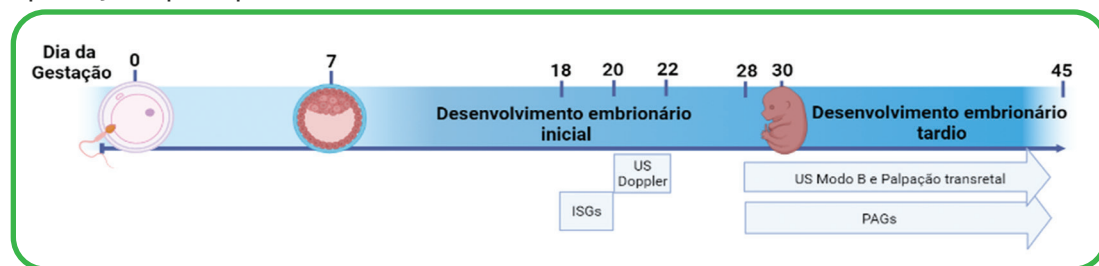
Dentre os métodos de DP utilizados em bovinos, o mais comum é a ultrassonografia transretal em modo B, realizada com alta acurácia entre 28 e 32 dias após a IATF, em que a prenhez é confirmada pela presença do feto na cavidade uterina. Nesse método, não é possível a identificação de vacas não prenhes, imediatamente após o RMP. Mais recentemente, o uso da ultrassonografia Color-Doppler passou a ser utilizada como uma importante ferramenta para um DP mais precoce, em que a prenhez é confirmada pela manutenção da irrigação no CL, entre os dias 20 e 22 de prenhez, com uma acurácia superior a 90% (PUGLIESI *et al.*, 2014, 2018; MOTTA *et al.*, 2020). Uma das principais vantagens dessa técnica é a sensibilidade próxima de 100%, que resulta em poucos diagnósticos falsos negativos. No entanto, resulta em 15 a 20% de diagnósticos falsos positivos, que podem ser ocasionados pelo atraso na ovulação em resposta ao protocolo de sincronização, pelos ciclos estrais prolongados com uma duração maior que 22 dias ou pela ocorrência da mortalidade embrionária precoce, anterior ao diagnóstico.

Nos últimos anos, diversos grupos de pesquisa vêm tentando desenvolver métodos biomoleculares que sejam capazes de detectar, precocemente, a prenhez ou as falhas no RMP. O uso de biomarcadores moleculares constitui uma ferramenta empregada, atualmente, nos rebanhos leiteiros dos Estados Unidos. Tais biomarcadores identificam, por ensaios imunoenzimáticos, proteínas associadas à prenhez aos 28 a 35 dias após o acasalamento, entretanto, não constituem um método de DP super precoce.

Considerando o emprego crescente da metodologia Color-Doppler e dos diagnósticos falsos positivos na referida técnica, busca-se encontrar biomarcadores que permitam realizar um DP super precoce, dessa forma, aumentando a acurácia do método Color-Doppler. Com os avanços das pesquisas, gerou-se, também, a possibilidade de realizar um DP indireto, por meio da expressão de ISGs em tecidos extrauterinos. Embora a expressão de ISGs exista nos diversos tecidos, as células imunes brancas da corrente sanguínea ainda são as mais promissoras na tentativa de se estabelecer um DP mais precoce. Considerando que o perfil de expressão de ISGs nas células imunes segue o mesmo perfil de secreção de IFN- τ , diversos grupos de pesquisa (STEVENSON *et al.*, 2007; GREEN *et al.*, 2010; PUGLIESI *et al.*, 2014) vêm tentando desenvolver um teste de DP precoce em bovinos. A maioria

dos estudos identificou o 18° e 20° dia da prenhez, como sendo os melhores momentos para comparar a expressão de *ISG15*, *MX1*, *MX2* e *OAS1* entre as fêmeas bovinas prenhes e não prenhes (GREEN *et al.*, 2010; SHIRASUNA *et al.*, 2012; PUGLIESI *et al.*, 2014). Nesses estudos, o perfil de expressão dos ISGs foi mantido independente da raça e origem do embrião (IA ou transferência de embriões). Os principais métodos de DP em ruminantes estão ilustrados na **Figura 5**.

Figura 5. Desenho esquemático que ilustra os principais métodos utilizados para o diagnóstico de prenhez em fêmeas ruminantes e seus períodos de aplicação que apresentam melhor acurácia.



Nota: Considerando o dia zero como o momento da fertilização, sete dias após esse período, ocorre a formação do blastocisto e, subsequentemente o desenvolvimento fetal. O período entre os dias 18 e 20 de gestação, é considerado o melhor momento para avaliação das ISGs nas células imunes do sangue periférico. Em seguida, entre os dias 20 a 22, a ultrassonografia Doppler torna-se uma alternativa, que pode ser aplicada com acurácia superior a 90%. Por fim, a partir do dia 28, a ultrassonografia modo B, a mensuração de glicoproteínas associadas à prenhez (PAG) e a palpação transretal podem ser aplicadas com alta acurácia.

Fonte: elaborada pelos autores e adaptada de Pohler *et al.* (2020).

De modo geral, quando as vacas prenhes foram comparadas às não prenhes, os níveis sanguíneos médios de RNAm para *ISG15* em leucócitos foram maiores no período compreendido entre o 15° e o 32° dia de prenhez, alcançando níveis máximos no 20° dia. Além disso, a expressão relativa de *ISG15* em PBMC, durante vários dias, apresentou maior acurácia na predição da prenhez, quando comparada à uma única determinação no 20° dia (GREEN *et al.*, 2010). Ainda, estudos utilizando fêmeas bovinas, sob diferentes sistemas de produção, demonstraram aumento de ISGs em leucócitos em resposta à prenhez no 18° dia em novilhas leiteiras, sendo esse efeito não observado em vacas leiteiras em lactação (GREEN *et al.*, 2010; MONTEIRO JUNIOR *et al.*, 2014). Um estudo semelhante, conduzido em vacas de corte, demonstrou aumento no RNAm para *ISG15* em PBMC entre o 15° e 22° dia de prenhez, com pico de concentração no 20° dia (PUGLIESI *et al.*, 2014).

Em síntese, os estudos relatados em bovinos apoiam a ideia de que a detecção de ISGs no sangue é um indicador aceitável do estado de prenhez em ruminantes. Entretanto, são necessários progressos na metodologia, para que os métodos de maior acurácia e de fácil aplicação possam ser desenvolvidos e empregados rotineiramente no manejo reprodutivo de fêmeas bovinas de corte e leite. Nesse contexto, a expressão de ISGs em células imunes foi testada

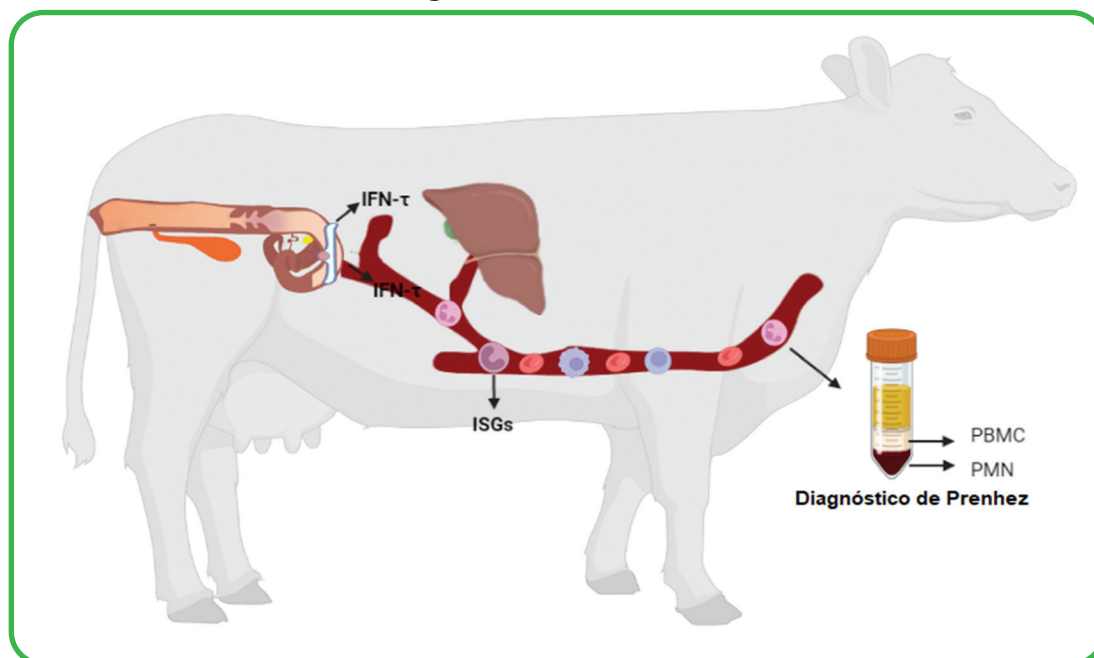
como um método diagnóstico prospectivo para detectar a prenhez no 20º dia em novilhas e vacas, resultando em 62% a 80% de acurácia, independentemente do tipo de célula (PBMC ou PMN) (PUGLIESI *et al.*, 2014; MELO *et al.*, 2020). Em outro estudo recente, a expressão de ISGs clássicos (*ISG15* e *OAS1*) e a de não clássicos (*RSAD2* e *IFI44*) em PMN foram avaliadas em novilhas e vacas no 20º dia após a IATF, onde foram testadas todas as combinações de genes. Observou-se um aumento na acurácia (92,7%) e redução de resultados falsos negativos (0,9%), quando dos quatro ISGs testados, um foi estimulado acompanhado da visualização por ultrassonografia Doppler de um CL ativo, com a presença de mais de 25% da perfusão sanguínea lútea sendo mantida no 22º dia de prenhez (FELTRIN *et al.*, 2022).

A imprecisão para predição do status gestacional através dos ISGs é resultado, em parte, da proporção de falso-positivos que pode ocorrer em decorrência mortalidade embrionária precoce ou pela indução de ISGs por outros tipos de estímulos. O IFNAR é um receptor não seletivo e pode ser estimulado por qualquer IFN tipo 1, o que significa que outros IFN podem se ligar a ele e estimular a expressão de ISGs, como, por exemplo, em infecções virais. Outro importante parâmetro a ser considerado são as taxas de falsos negativos, que devem ser nulas para o DP. Em um estudo que utilizou a expressão de ISGs clássicos para o DP precoce em bovinos no 20º dia, a taxa de falsos negativos chegou a 30% (MELO *et al.*, 2020). Os resultados falsos negativos podem estar relacionados com animais, em que o IFN- τ não sinaliza o suficiente para estimular a expressão do ISGs. Nesse contexto, sabe-se que o tamanho do conceito está diretamente correlacionado com a quantidade de IFN- τ liberado.

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O RMP nos ruminantes é um mecanismo complexo que envolve o sinergismo entre a sinalização adequada do conceito e a modulação do sistema imunológico materno. Mesmo após 30 anos de pesquisas, ainda pouco se sabe a respeito das ações envolvidas no desenvolvimento do embrião que são estimuladas no próprio conceito ou no útero. Nesse contexto, o IFN- τ exerce um papel central em tal mecanismo, por meio das suas ações autócrinas, parácrinas e endócrinas no RMP. Conforme ilustrado na **Figura 6**, a ação direta do IFN- τ em tecidos extrauterinos, principalmente nas células imunes, inicia uma nova área para a pesquisa básica, tornando-se uma alternativa inovadora e promissora para o desenvolvimento de métodos biomoleculares de predição de prenhez, através da expressão de ISGs.

Figura 6. Mecanismo de ação endócrino do interferon-tau (IFN- τ) no reconhecimento materno da gestação em ruminantes.



Nota: O IFN- τ produzido pelo conceitous alcança a circulação sistêmica por onde estimula a expressão de ISGs em tecidos extrauterinos, como as células imunes do sangue periférico (PBMC e PMN). Assim, é possível realizar o isolamento dessas células, utilizando amostras de sangue, e avaliar a expressão de ISGs como um método de predição da prenhez precoce. Fonte: elaborada pelos autores.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (Processos nº 2015/10606-9 e nº 2022/14936-7).

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS

AROSH, J. A.; BANU, S. K.; MCCRACKEN, J. A. Novel concepts on the role of prostaglandins on luteal maintenance and maternal recognition and establishment of pregnancy in ruminants. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 99, n. 7, p. 5926-5940, 2016.

ASHWORTH, C. J.; BAZER, F. W. Changes in ovine conceptus and endometrial function following asynchronous embryo transfer or administration of progesterone. **Biology of Reproduction**, Champaign, v. 40, n. 2, p. 425-433, 1989.

BAZER, F. W.; MIRANDO, M. A.; OTT, T. L.; HARNEY, J. P.; DUBOIS, D. H.; SCHALUE, T. K.; PONTZER, C. H.; HOSTETLER, C.; OHNSON, H. M.; OGLE, T. Roles of ovine trophoblast protein-1 and oestradiol/prolactin in the establishment of pregnancy in sheep and pigs. **Reproduction, Fertility and Development**, East Melbourne, v. 4, n. 3, p. 335-340, 1992.

BERKOWITZ, R. S.; HILL, J. A.; KURTZ, C. B.; ANDERSON, D. J. Effects of products of activated leukocytes (lymphokines and monokines) on the growth of malignant trophoblast cells in vitro. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 158, n. 1, p. 199-203, 1988.

BRIDI, A.; BERTOLIN, K.; RISSI, V. B.; MUJICA, L. K. S.; GLANZNER, W. G.; MACEDO, M. P.; COMIM, F. V.; GONÇALVES, P. B. D.; ANTONIAZZI, A. Q. Parthenogenetic bovine embryos secrete type I interferon capable of stimulating ISG15 in luteal cell culture. **Animal reproduction**, Belo Horizonte, v. 15, n. 4, p. 1268-1277, 2018.

CARTER, F.; FORDE, N.; DUFFY, P.; WADE, M.; FAIR, T.; CROWE, M. A.; EVANS, A. C.; KENNY, D. A.; ROCHE, J. F.; LONERGAN, P. Effect of increasing progesterone concentration from Day 3 of pregnancy on subsequent embryo survival and development in beef heifers. **Reproduction, Fertility, and Development**, East Melbourne, v. 20, n. 3, p. 368-375, 2008.

CLEMENTE, M.; DE LA FUENTE, J.; FAIR, T.; AL NAIB, A.; GUTIERREZ-ADAN, A.; ROCHE, J. F.; RIZOS, D.; LONERGAN, P. Progesterone and conceptus elongation in cattle: a direct effect on the embryo or an indirect effect via the endometrium? **Reproduction**, Bristol, v. 138, n. 3, p. 507-517, 2009.

DAVIES, C. J.; FISHER, P. J.; SCHLAFER, D. H. Temporal and regional regulation of major histocompatibility complex class I expression at the bovine uterine/placental interface. **Placenta**, London, v. 21, n. 2-3, p.194-202, 2000.

DOYLE, J.; ELLIS, S. A.; O'GORMAN, G. M.; APARICIO DONOSO, I. M.; LONERGAN, P.; FAIR, T. Classical and non-classical Major Histocompatibility Complex class I gene expression in in vitro derived bovine embryos. **Journal of Reproductive Immunology**, Limerick, v. 82, n. 1, p. 48-56, 2009.

FARIN, C. E.; IMAKAWA, K.; ROBERTS, R. M. In situ localization of mRNA for the interferon, ovine trophoblast protein-1, during early embryonic development of the sheep. **Molecular Endocrinology**, Baltimore, v. 3, n. 7, p. 1099-1107, 1989.

FELTRIN, I. R.; MELO, G. D.; FREITAS, P. P.; MORELLI, K. G.; PUGLIESI, G.; MEMBRIVE, C. M. B. Comparative response to bovine conceptus and accuracy as early pregnancy predictors of interferon-tau stimulated genes, and cytokines in immune cells. *In: ANNUAL MEETING OF THE BRAZILIAN EMBRYO TECHNOLOGY SOCIETY*, 35., 2022. **Anais** [...]. Belo Horizonte: Animal Reproduction, 2022. v. 19, p. 22146.

GERMAIN, S. J.; SACKS, G. P.; SOORANA, S. R.; SARGENT, I. L.; REDMAN, C. W. Systemic inflammatory priming in normal pregnancy and preeclampsia: the role of circulating syncytiotrophoblast microparticles. **Journal of immunology**, Bethesda, v. 178, n. 9, p. 5949-5956, 2007.

GODKIN, J. D.; BAZER, F. W.; THATCHER, W. W.; ROBERTS, R. M. Proteins released by cultured Day 15-16 conceptuses prolong luteal maintenance when introduced into the uterine lumen of cyclic ewes. **Journal of Reproduction and Fertility**, Colchester, v. 71, n. 1, p. 57-64, 1984.

GREEN, J. C.; OKAMURA, C. S.; POOCK, S. E.; LUCY, M. C. Measurement of interferon-tau (IFN- τ) stimulated gene expression in blood leukocytes for pregnancy diagnosis within 18-20d after insemination in dairy cattle. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 121, n. 1-2, p. 24-33, 2010.

GUILLOMOT, M.; MICHEL, C.; GAYE, P.; CHARLIER, N.; TROJAN, J.; MARTAL, J.

Cellular localization of an embryonic interferon, ovine trophoblastin and its mRNA in sheep embryos during early pregnancy. **Biology of the Cell**, Ivry-sur-Seine, v. 68, n. 3, p. 205-211, 1990.

GUPTA, A. K.; RUSTERHOLZ, C.; HOLZGREVE, W.; HAHN, S. Syncytiotrophoblast micro-particles do not induce apoptosis in peripheral T lymphocytes, but differ in their activity depending on the mode of preparation. **Journal of Reproductive Immunology**, Amsterdam, v. 68, n. 1-2, p. 15-26, 2005.

HANSEN, T. R.; SINEDINO, L. D. P.; SPENCER, T. E. Paracrine and endocrine actions of interferon tau (IFNT). **Reproduction**, Bristol, v. 154, n. 5, p. 45-59, 2017.

IDETA, A.; HAYAMA, K.; NAKAMURA, Y.; SAKURAI, T.; TSUCHIYA, K.; TANAKA, S.; YAMAGUCHI, T.; FUJIWARA, H.; IMAKAWA, K.; AOYAGI, Y. Intrauterine administration of peripheral blood mononuclear cells enhances early development of the pre-implantation bovine embryo. **Molecular Reproduction and Development**, Hoboken, v. 77, n. 11, p. 954-962, 2010.

LI, X. C.; ZAND, M. S.; LI, Y.; ZHENG, X. X.; STROM, T. B. On histocompatibility barriers, Th1 to Th2 immune deviation, and the nature of the allograft responses. **Journal of Immunology**, Baltimore, v. 161, n. 5, p. 2241-2247, 1998.

MANSOURI-ATTIA, N.; OLIVEIRA, L. J.; FORDE, N.; FAHEY, A. G.; BROWNE, J. A.; ROCHE, J. F.; SANDRA, O.; REINAUD, P.; LONERGAN, P.; FAIR, T. Pivotal role for monocytes/macrophages and dendritic cells in maternal immune response to the developing embryo in cattle. **Biology of Reproduction**, Champaign, v. 87, n. 5, p. 1-12, 2012.

MEDAWAR, P. B. Some immunological and endocrinological problems raised by evolution of viviparity in vertebrates. **Symposia of the Society for Experimental Biology**, [s. l.], v. 7, p. 320-338, 1953.

MELO, G. D.; MELLO, B. P.; FERREIRA, C. A.; GODOY FILHO, C. A. S.; ROCHA, C. C.; SILVA, A. G.; REESE, S. T.; MADUREIRA, E. H.; POHLER, K. G.; PUGLIESI, G. Applied use of interferon-tau stimulated genes expression in polymorphonuclear cells to detect pregnancy compared to other early predictors in beef cattle. **Theriogenology**, New York, v.152, p. 94-105, 2020.

MEYERHOLZ, M. M.; MENSE, K.; KNAACK, H.; SANDRA, O.; SCHMICKE, M. Pregnancy-Induced ISG-15 and MX-1 Gene expression is detected in the liver of holstein–friesian heifers during late peri-implantation period. **Reproduction in domestic animals**, Berlin, v. 51, n. 1, p. 175-177, 2016.

MONTEIRO JUNIOR, P. L.; RIBEIRO, E. S.; MACIEL, R. P.; DIAS, A. L.; SOLÉ, E. JR.; LIMA, F. S.; BISINOTTO, R. S.; THATCHER, W. W.; SARTORI, R.; SANTOS, J. E. Effects of supplemental progesterone after artificial insemination on expression of interferon-stimulated genes and fertility in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 97, n. 8, p. 4907-4921, 2014.

MOOR, R. M.; ROWSON, L. E. A. Local uterine mechanisms affecting luteal function in the sheep. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 11, n. 2, p. 307-310, 1966.

MOTTA, I. G.; ROCHA, C. C.; BISINOTTO, D. Z.; MELO, G. D.; ATAIDE JÚNIOR, G. A.; SILVA, A. G.; GONZAGA, V. H. G.; SANTOS, J. A.; FREITAS, B. G.; LEMES, K. M.; MADUREIRA, E. H.; PUGLIESI, G. Increased pregnancy rate in beef heifers

resynchronized with estradiol at 14 days after TAI. **Theriogenology**, New York, v. 147, p. 62-70, 2020.

NAKAMURA, K.; KUSAMA, K.; BAI, R.; SAKURAI, T.; ISUZUGAWA, K.; GODKIN, J. D.; SUDA, Y.; IMAKAWA, K. Induction of IFNT stimulated genes by conceptus-derived exosomes during the attachment period. **PLoS One**, [s. l.], v. 11, n. 6, p. 1-16, 2016.

O'HARA, L.; FORDE, N.; KELLY, A. K.; LONERGAN, P. Effect of bovine blastocyst size at embryo transfer on day 7 on conceptus length on day 14: can supplementary progesterone rescue small embryos? **Theriogenology**, New York, v. 81, n. 8, p. 1123-1128, 2014.

OLIVEIRA, L.; BARRETO, R.; PERECIN, F.; MANSOURI-ATTIA, N.; PEREIRA, F.; MEIRELLES, F. Modulation of maternal immune system during pregnancy in the cow. **Reproduction in domestic animals**, Berlin, v. 47, n. suppl. 4, p. 384-393, 2012.

OTT, T. L.; KAMAT, M. M.; VASUDEVAN, S.; TOWNSON, D.H.; PATE, J.L. Maternal immune responses to conceptus signals during early pregnancy in ruminants. **Animal Reproduction**, Belo Horizonte, v. 11, n. 3, p. 237-245, 2014.

POHLER, K. G.; REESE, S. T.; FRANCO, G. A.; OLIVEIRA FILHO, R. V.; PAIVA, R.; FERNANDEZ, L.; MELO, G.; VASCONCELOS, J. L. M.; COOKE, R.; POOLE, R. K. New approaches to diagnose and target reproductive failure in cattle. **Animal Reproduction**, Belo Horizonte, v. 17, n. 3, p. 1-19, 2020.

PUGLIESI, G.; MIAGAWA, B. T.; PAIVA, Y. N.; FRANÇA, M. R.; SILVA, L. A.; BINELLI, M. Conceptus-induced changes in the gene expression of blood immune cells and the ultrasound-accessed luteal function in beef cattle: How early can we detect pregnancy? **Biology of Reproduction**, Champaign, v. 91, n. 4, p. 1-12, 2014.

PUGLIESI, G.; DE MELO, G. D.; ATAÍDE, G. A. JR.; PELLEGRINO, C. A. G.; SILVA, J. B.; ROCHA, C. C.; MOTTA, I. G.; VASCONCELOS, J. L. M.; BINELLI, M. Use of Doppler ultrasonography in embryo transfer programs: feasibility and field results. **Animal Reproduction**, Belo Horizonte, v. 15, n. 3, p. 239-246, 2018.

ROBERTS, R. M.; EALY, A. D.; ALEXENKO, A. P.; HAN, C. S.; EZASHI, T. Trophoblast interferons. **Placenta**, London, v. 20, n. 4, p. 259-264, 1999.

ROCHA, C. C.; SILVEIRA, J. C.; FORDE, N.; BINELLI, M.; PUGLIESI, G. Conceptus-modulated innate immune function during early pregnancy in ruminants: a review. **Animal Reproduction**, Belo Horizonte, v. 18, n. 1, p. 1-16, 2021.

SCHALUE-FRANCIS, T. K.; FARIN, P. W.; CROSS, J. C.; KEISLER, D.; ROBERTS, R. M. Effect of injected bovine interferon-alpha I1 on estrous cycle length and pregnancy success in sheep. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 91, n. 1, p. 347-56, 1991.

SHIRASUNA, K.; MATSUMOTO, H.; KOBAYASHI, E.; NITTA, A.; HANEDA, S.; MATSUI, M.; KAWASHIMA, C.; KIDA, K.; SHIMIZU, T.; MIYAMOTO, A. Upregulation of interferon-stimulated genes and Interleukin-10 in peripheral blood immune cells during early pregnancy in dairy cows. **The Journal of Reproduction and Development**, Tokyo, v. 58, n. 1, p. 84-90, 2012.

SPENCER, T. E.; FORDE, N.; LONERGAN, P. Insights into conceptus elongation and establishment of pregnancy in ruminants. **Reproduction, Fertility, and Development**, East Melbourne, v. 29, n. 1, p. 84-100, 2016.

SPONCHIADO, M.; GOMES N. S.; FONTES, P. K.; MARTINS T.; DEL COLLADO M.; PASTORE, A. D.; PUGLIESI, G.; NOGUEIRA, M. F. G.; BINELLI, M. Pre-hatching embryo-dependent and independent programming of endometrial function in cattle. **Plos One**, San Francisco, v. 12, n. 4, p. 1-23, 2017.

STEVENSON, J. L.; DALTON, J. C.; OTT, T. L.; RACICOT, K. E.; CHEBEL, R. C. Correlation between reproductive status and steady-state messenger ribonucleic acid levels of the Myxovirus resistance gene, MX2, in peripheral blood leukocytes of dairy heifers. **American Society of Animal Science**, Champaign, v. 85, n. 9, p. 2163-2172, 2007.

TALUKDER, A. K.; YOUSEF, M. S.; RASHID, M. B.; AWAI, K.; ACOSTA, T. J.; SHIMIZU, T.; OKUDA, K.; SHIMADA, M.; IMAKAWA, K.; MIYAMOTO, A. Bovine embryo induces an anti-inflammatory response in uterine epithelial cells and immune cells in vitro: possible involvement of interferon-tau as an intermedicator. **Journal of Reproduction and Development**, Tokyo, v. 63, n. 4, p. 425-434, 2017.

WANG, X. L.; WANG, K.; HAN, G. C.; ZENG, S. M. A potential autocrine role for interferon tau in ovine trophectoderm. **Reproduction in Domestic Animals**, Berlin, v. 48, n. 5, p. 819-825, 2013.

YANG, L.; YAO, X. L.; LI, S.J.; CHEN, K.; WANG, Y. X.; CHEN, L.; ZHANG, L. Y. Expression of genes associated with Luteolysis in Peripheral blood mononuclear cells during early pregnancy in cattle. **Molecular Reproduction and Development**, Hoboken, v. 83, n. 6, p. 509-515, 2016.

ZHAO, J.; YU, H. Y.; ZHAO, Y.; LI, S. Q.; FU, X. L.; ZHOU, W.; XIA, B. B.; WANG, M. L.; CHEN, J. Pharmacokinetics of the recombinant ovine interferon-tau in lambs. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, Olsztyn, v. 22, n. 1, p. 75-82, 2019.



Prof. Dra. Claudia Maria Bertan Membrive

Médica veterinária com Mestrado, Doutorado e Pós-Doutorado na Universidade de São Paulo (USP/FMVZ), na área de Reprodução Animal. Desde 2002, é Professora na Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas (FCAT), Dracena. Livre-docente pela Unesp/FCAT. As áreas de pesquisa compreendem a "Fisiologia e biotecnologias da Reprodução em fêmeas bovinas". É responsável pelo Laboratório de Fisiologia do Endométrio e Embrião (LIFE), sediado na Unesp/FCAT, Câmpus de Dracena. É docente permanente do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia e Biotecnologia do Instituto de Biociências (IB) da Unesp de Botucatu e Vice-Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Animal da Unesp de Ilha Solteira e Dracena.



Prof. Dra. Elaine Mendonça Bernardes

Doutora em Economia Aplicada Universidade de São Paulo (USP/ESALQ) (2002), com estágio no Instituto H. H. Humphrey da Universidade de Minnesota (2001/2002), engenheira agrônoma (1986) e mestre (1992) pela USP/ESALQ. É Professora Assistente Doutora da Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Dracena. Tem experiência na área de Economia e Administração, com ênfase em Economia Agrária e dos Recursos Naturais, e atua em desenvolvimento rural e regional, capital humano e capital social.



Dr. Fábio Sampaio Rosas

Doutor e mestre em Ciência da Informação pela Universidade Estadual Paulista (Unesp), Supervisor da Seção Técnica de Biblioteca e Documentação da Unesp, Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Dracena, membro dos Grupos de Pesquisa "Estudos métricos da informação" e "Formação e atuação profissional em organização da informação", ambos da Unesp, Faculdade de Filosofia e Ciências, Marília.



Prof. Dr. Ricardo da Fonseca

Doutor em genética e melhoramento pela Universidade Federal de Viçosa (2003). É Professor Assistente Doutor da Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Dracena. Atua na área de zootecnia, com ênfase em genética e melhoramento dos animais domésticos.

CATALOGAÇÃO

Fábio Sampaio Rosas
CRB: 8/6665

NORMALIZAÇÃO

Stephanie Cerqueira Silva

REVISÃO GRAMATICAL

Stephanie Cerqueira Silva

CAPA

Profa. Dra. Maria José Vicentini Jorente
Stephanie Cerqueira Silva

DIAGRAMAÇÃO E PRODUÇÃO GRÁFICA

Stephanie Cerqueira Silva

IMAGEM DA CAPA

Foto de Tomasz Filipek na Unsplash
(<https://unsplash.com/pt-br/fotografias/CUWC-6MRcNg>)

FORMATO

21x29,7 cm (A4)

TIPOLOGIA

Segoe UI

EDITORAÇÃO



Laboratório de
Design e
Recuperação da
Informação

Esse livro se propõe a ser, ao mesmo tempo, uma referência a ser consultada por pesquisadores da área de ciências agrárias para interação e atualização sobre temas que vêm sendo trabalhados por pesquisadores das Ciências Animal, Vegetal e Florestal passando pelos vários aspectos da produção, genética e biotecnologia. Além disso, com capítulos introdutórios sobre temas emergentes, o livro é uma valiosa fonte de informação para pesquisadores em início de carreira ou iniciando novas linhas de pesquisa. Por meio de alguns capítulos, algumas informações básicas e fundamentais são fornecidas, acelerando o processo de conquista de novos conhecimentos de maneira sólida e acelerada.



ISBN 978-659809551-2

