

REVISTA DO

COMEIA

CONGRESSO MINEIRO DE INOVAÇÕES AGROPECUÁRIAS



VOL. 1 / N.2 / OUT. 2019

REVISTA DO
COMEIA
CONGRESSO MINEIRO DE INOVAÇÕES AGROPECUÁRIAS

XI CONGRESSO MINEIRO DE INOVAÇÕES AGROPECUÁRIAS
ORGANIZADO PELOS CURSOS DE AGRONOMIA, MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CENTRO UNIVERSITÁRIO DE PATOS DE MINAS

REITOR

Milton Roberto de Castro Teixeira

PRÓ- REITOR DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

Henrique Carivaldo de Miranda Neto

PRÓ-REITOR DE PLANEJAMENTO, ADMINISTRAÇÃO E FINANÇAS

Renato Borges Fernandes

DIRETORA DE GRADUAÇÃO

Maria Marta do Couto Pereira Rodrigues

COORDENADORA DE PÓS-GRADUAÇÃO, PESQUISA E EXTENSÃO

Adriana de Lanna Malta Tredezini

COORDENADOR DO CURSO DE AGRONOMIA

Lucas da Silva Mendes

COORDENADORA DO CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

Alice Pratas Glycério de Freitas

COORDENADOR DO CURSO DE ZOOTECNIA

Luiz Fernando Rocha Botelho

A Revista do COMEIA é um periódico acadêmico e científico, editado semestralmente, destinado à publicação de trabalhos apresentados durante o Congresso Mineiro de Inovações Agropecuárias, realizado anualmente pelos cursos de Agronomia, Medicina Veterinária e Zootecnia do Centro Universitário de Patos de Minas.

Catálogo na Fonte
Biblioteca Central do UNIPAM

R454 Revista do COMEIA [recurso eletrônico] / Centro Universitário de Patos de Minas. – Dados eletrônicos. – v. 1, n. 1 (2018)-. – Patos de Minas : UNIPAM, 2018-

Semestral

Disponível em: <<https://revistas.unipam.edu.br>>

ISSN 2596-3260

1. Ciências agrárias – periódicos. 2. Agronomia. 3. Medicina Veterinária.
4. Zootecnia. I. Centro Universitário de Patos Minas. II. Título.
CDD 630.5

COMISSÕES ORGANIZADORAS

Prof. MSc. Luiz Fernando Rocha Botelho
(Presidente da Comissão)

FINANÇAS

Prof. MSc. Lucas da Silva Mendes - Agronomia
Profa. MSc. Alice Pratas Glycério de Freitas – Medicina Veterinária
Prof. DSc. Walter Vieira da Cunha - Zootecnia

INFRAESTRUTURA

Prof. MSc. Cristiane Quitéria Caldeira - Medicina Veterinária
Prof. MSc. Lucas da Silva Mendes - Agronomia
Prof. MSc. Bruno Bernardes de Andrade - Zootecnia

DIVULGAÇÃO

Profa. DSc. Nadia Grandi Bombonato - Medicina Veterinária
Prof. DSc. Carlos Henrique Eiterer de Souza - Agronomia
Prof. DSc. Walter Vieira da Cunha - Agronomia
Profa. MSc. Alice Pratas Glycério de Freitas - Medicina Veterinária

CIENTÍFICA

Profa. DSc. Matilde da Conceição Pessoa - Zootecnia
Profa. DSc. Mariana Assunção de Souza – Medicina Veterinária
Prof. DSc. Luís Henrique Soares - Agronomia
Nicolle Pereira Soares – Medicina Veterinária
Walquíria Fernanda Teixeira – Agronomia

SOCIAL

Profa. DSc. Nadia Grandi Bombonato - Medicina Veterinária
Prof. DSc. Carlos Henrique Eiterer de Souza - Agronomia
Prof. DSc. Walter Vieira da Cunha - Agronomia
Profa. MSc. Alice Pratas Glycério de Freitas - Medicina Veterinária

ORGANIZAÇÃO DO DIA DE CAMPO

Prof. MSc. Diego Henrique da Mota - Agronomia
Profa. MSc. Gabriella Daier Oliveira Pessoa - Agronomia
Prof. DSc. Dalton César Milagres Rigueira – Medicina Veterinária
Prof. MSc. Luiz Fernando Rocha Botelho - Zootecnia

EDITOR RESPONSÁVEL

Luiz Fernando Rocha Botelho

CONSELHO EDITORIAL INTERNO

André Santana Andrade, Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM
Bethânia Cristhine de Araújo, Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM
Carlos Henrique Eiterer de Souza, Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM
Cristiane Quitéria Caldeira, Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM
Dalton Cesar Milagres Rigueira, Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM
Daniela Silva Souza, Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM
Eliane de Sousa Costa, Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM
Elisa Queiroz Garcia, Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM
Evandro Binotto Fagan, Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM
Flávio Moreira de Almeida, Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM
Gabriella Daier Oliveira Pessoa Carneiro, Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM
Guilherme Nascimento Cunha, Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM
Hélio Henrique Vilela, Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM
Jacqueline Ribeiro de Castro, Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM
Janaine Myrna Rodrigues Reis, Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM
José Mauricio da Rocha Junior, Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM
Juliana Borges Pereira, Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM
Lorrayne de Barros Bosquetti, Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM
Matilde Da Conceição Pessoa, Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM
Matheus Matioli Mantovani, Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM
Maurício Antônio de Oliveira Coelho, Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM
Nadia Grandi Bombonato, Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM
Nicolle Pereira Soares, Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM
Renata Nepomuceno da Cunha, Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM
Rossana Pierangeli Godinho Silva, Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM
Thaís Reis dos Santos, Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM

CONSELHO EDITORIAL EXTERNO

Alisson de Souza Costa, Universidade Federal de Uberlândia – UFU
Bruno Sérgio Vieira, Universidade Federal de Uberlândia/Campus Monte Carmelo, MG
Derblai Casaroli, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO
Diogo Anastácio Garcia, BRF S.A
Durval Dourado Neto, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), SP
Everaldo Antônio Lopes, Universidade Federal de Viçosa - Campus Rio Paranaíba, MG;
Francisco de Araújo Neto, Instituto Federal Goiano, IFG
Igor Paula de Castro, Universidade Federal de Uberlândia – UFU

Izabel Costa Silva Neta, Agroceres
Jaqueline Fátima Rodrigues, Universidade Federal de Goiás, Campus Jataí
Julyana Machado da Silva Martins
Láís Costa Brito, Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA
Laura Lúcia dos Santos Oliveira, Universidade Estadual de Montes Claros, Campos Janaúba
Lázaro Antônio Santos, Universidade Federal de Uberlândia – UFU
Leidyane Godinho Silva, Escola Agrotécnica Estadual Afonso de Queiroz
Leonardo da Silva Fonseca, Universidade Federal dos Vales Jequitinhonha e Mucuri –
Diamantina
Lorena Tannus Reis, Universidade Federal de Uberlândia – UFU
Marco Aurélio Guerra Pimentel, Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas – MG
Naiara Caixeta, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP Jaboticabal
Nhayandra Cristina Dias e Silva, Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS
Pollyanna Mafra Soares, Faculdade Associadas de Uberaba - FAZU
Ronan Magalhaes de Souza, Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA
Suzana Akemi Tsuruta, Universidade Federal de Uberlândia – UFU
Telma Miranda dos Santos, Faculdade do Noroeste de Minas – FINOM
Walber de Oliveira Rabelo, Rações Vereda
Walquíria Fernanda Teixeira, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”
(ESALQ/USP), SP

REVISÃO

Elizene S. Oliveira Nunes
Ana Maria Caixeta Camargo

DIAGRAMAÇÃO

Elizene S. Oliveira Nunes
Paula Boaventura Veloso

EDITORIAL

A partir de uma iniciativa da comissão organizadora do Congresso Mineiro de Inovações Agropecuárias do Centro Universitário de Patos de Minas – UNIPAM, bem como dos coordenadores dos cursos envolvidos, nasceu, em 2018, a Revista do COMEIA, com o intuito de propiciar maior visibilidade aos resultados das pesquisas apresentadas durante o congresso. A revista teve sua primeira edição em maio de 2019, com uma primeira leva de trabalhos apresentados na XI edição do Congresso, que ocorreu em 2018. Agora, em outubro, é lançado este número 2, disponibilizando outros trabalhos resultantes dessa edição do congresso e aprovados pelo conselho da revista para publicação.

A edição traz, portanto, uma valiosa contribuição aos estudiosos e interessados em Ciências Agrárias, Ciência Animal e Vegetal, considerando-se a diversidade presente nas abordagens dos autores dos artigos que integram esse exemplar. Vale ressaltar que, embora a temática em cada artigo seja distinta, cada texto traduz a preocupação e o compromisso de seus autores, no sentido de ampliar, aprofundar e mesmo provocar questionamentos nos ramos da Agronomia, da Medicina Veterinária, da Zootecnia e de áreas afins. A cada pesquisa publicada são retratados os principais focos de interesse dos pesquisadores, contribuindo, assim, para o avanço nos conhecimentos e na disseminação dos resultados, a fim de popularizar aos produtores os resultados obtidos em meio acadêmico.

Além da divulgação dos resultados obtidos, o autor, ao publicar seu artigo científico na *Revista do COMEIA*, aprimora seu Currículo Lattes e amplia a visibilidade ao mercado de trabalho e em meio à comunidade acadêmica e científica.

O Congresso Mineiro de Inovações Agropecuárias (COMEIA) teve início em 2008, idealizado pelos então coordenadores de curso de Agronomia e de Zootecnia, juntamente com a reitoria. Ao longo dos anos, o COMEIA tomou dimensões cada vez maiores, tornando-se o maior evento científico da área agropecuária do estado, contando, em média, com a participação de 1200 inscritos. Essa visibilidade do evento oportuniza, aos congressistas, atualização técnica e científica e estreitamento de relações profissionais. O congresso apresenta, ainda, como diferencial, o tradicional Dia de Campo, no qual os alunos dos cursos de Agronomia, de Medicina Veterinária e de Zootecnia, juntamente com empresas de pesquisas e do ramo comercial, preparam um evento técnico com as maiores inovações do ramo, a fim de trazer aos produtores e acadêmicos as maiores novidades do agronegócio.

Em 2018, o Congresso tomou uma dimensão ainda maior por contar com a presença não só de inscritos do estado, mas também de uma caravana vinda do IFCE – Instituto Federal do Ceará, campus Crato, possibilitando um intercâmbio técnico-científico entre regiões. Nomes como Antônio Cabrera (atual ministro do MAPA), Paulo Storani (ex-capitão do BOPE/Tropa de elite), Luiz Carlos Molion (UFAL), Andréa Mesquita (Território da Carne), Bruno Oliver Rosa (Agrocerec Multimix), João Paulo Elsen Saut (UFU), Pedro Veiga Rodrigues Paulino (Cargill Nutrição Animal), Derly Silva (UFV) e Maria Amélia Santos (UFU) já passaram pelo COMEIA.

Convictos de que o COMEIA e a *Revista do COMEIA* são espaços de diálogo técnico e científico, possibilitando, assim, construção e aprimoramento de conhecimentos, desejamos a todos uma boa leitura deste novo número.

LUIZ FERNANDO ROCHA BOTELHO - Editor da Revista

SUMÁRIO

FORMAS DE APLICAÇÃO DE AZOSPIRILLUM BRASILENSE NA CULTURA DO MILHO.....08

Júlio César dos Santos

Maurício Antônio de Oliveira Coelho

USO DE NOVAS CEPAS DE BACILLUS SP. NO CONTROLE DA SPODOPTERA FRUGIPERDA EM DIETA ARTIFICIAL.....19

Marcílio Henrique Brandão

Maria Clara Dornelas

Mariana Castro Viana

Walter Vieira da Cunha

UTILIZAÇÃO DE INDUTORES DE RESISTÊNCIA ASSOCIADOS COM FUNGICIDA NA CULTURA DE SOJA.....28

Víctor Barros Pacheco

Evandro Binotto Fagan

INFLUÊNCIA DO PRÉ E PÓS DIPPING NA QUALIDADE DE LEITE DE BÚFALAS MURRAH.....41

Nayara de Paula Oliveira

Luiz Fernando Rocha Botelho

Walber de Oliveira Rabelo

Juliana Borges Pereira

VIABILIDADE ECONÔMICA DA PRODUÇÃO DE BEZERROS POR INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO (IATF) COM REPASSE E MONTA NATURAL.....50

Rogério Amorim dos Reis

Larissa de Melo Coelho

Tainara Luana da Silva Soares

Adriane Aparecida Galvão Ferreira

Gilson Passos de Moraes

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE ANTI-HELMINTICOS INJETÁVEIS EM BOVINOS ADULTOS.....63

Gabriel Ribeiro de Souza

Deusa Helena Gonçalves

MANEJO PRÉ-ABATE E QUALIDADE DE CARÇAÇAS BOVINAS EM FRIGORÍFICO.....73

Guilherme Moreira Silva

Alice Pratas Glycerio de Freitas

PERFIL SANITÁRIO E MICROBIOLÓGICO DE ESTABELECIMENTOS COMERCIAIS DE CARNE.....85

Ana Paula Pereira Fiuza

Luiz Fernando Rocha Botelho

Juliana Borges Pereira

Jéssica Rodrigues Bolina Amorim

FORMAS DE APLICAÇÃO DE *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* NA CULTURA DO MILHO

Júlio César dos Santos

Engenheiro Agrônomo pelo UNIPAM.

E-mail: juliocs.cp@hotmail.com

Maurício Antônio de Oliveira Coelho

Professor orientador (UNIPAM), Pesquisador, EPAMIG OESTE/Bolsista da FAPEMIG, Patos de Minas/MG.

E-mail: mauricioac@unipam.edu.br

RESUMO: O gênero *Azospirillum* abrange um grupo de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) de vida livre que é encontrado em praticamente todos os lugares da terra. O uso de *Azospirillum brasilense* pode contribuir com o desenvolvimento de gramíneas por meio de antagonismo de agentes patogênicos, produção de fitormônios, aumento da taxa fotossintética, auxílio na absorção de água e nutrientes e no processo de fixação biológica de nitrogênio. Nesse sentido, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da aplicação de *Azospirillum brasilense* na produtividade do milho (*Zea mays*). O presente trabalho foi instalado na safra 2017/2018 no campo experimental Sertãozinho, pertencente à EPAMIG, localizada entre os municípios de Patos de Minas e Presidente Olegário, no estado de Minas Gerais. Utilizou-se o delineamento em blocos ao acaso (DBC) com seis tratamentos e cinco repetições, no esquema fatorial 2x3 (dois híbridos e três formas de aplicação de *Azospirillum brasilense*). Os híbridos utilizados foram DKB290 e DKB390 e as formas de aplicação foram aplicação foliar, tratamento de sementes e testemunha sem inoculação. Os parâmetros analisados foram altura de plantas no estágio R₁, massa seca no estágio de V₄ e R₁, SPAD nos terços inferior, médio e superior nos estágios de R₁ e R₇ e produtividade ao final. Os resultados mostraram diferença significativa para aplicação foliar de *A. brasilense* em relação à testemunha para as variáveis SPAD médio e superior e produtividade. Conclui-se que a aplicação foliar de *Azospirillum brasilense* na dose de 500mLha⁻¹ em V₄ na cultura do milho promoveu o aumento do teor de clorofila nos terços médio e superior para ambos os híbridos. A aplicação foliar também trouxe incremento de produtividade para o híbrido DBK390.

PALAVRAS-CHAVE: BPCP. *Zea mays*. Aplicação foliar.

ABSTRACT: Genus *Azospirillum* is a group of free-living plant growth promoting bacteria (PGPB) that is found almost everywhere on earth. The use of *Azospirillum brasilense* can contribute to grass development through antagonism of pathogens, phytohormones production, increased photosynthetic rate, aid in water and nutrient absorption and biological nitrogen fixation process. The present work was installed in the 2017/2018 crop in the experimental field Sertãozinho, belonging to EPAMIG, located between Patos de Minas and Presidente Olegário counties, in Minas Gerais state. A randomized block design (RBD) with six treatments and five replications was

used, in a 2x3 factorial scheme (two hybrids and three forms of application of *Azospirillum brasilense*). The hybrids used were DKB290 and DKB390 and the application forms were foliar application, seed treatment and control without inoculation. The parameters analyzed were plant height at R₁ stage, dry mass at V₄ and R₁ stage, SPAD at lower, middle and upper thirds at R₁ and R₇ stages and yield at the end. The results showed significant difference for *A. brasilense* foliar application in relation to the control for the medium and superior SPAD variables and yield. Therefore, it can be concluded that the foliar application of *Azospirillum brasilense* at 500mLha⁻¹ dose at V₄ stage in corn crop promoted the increase of chlorophyll content in the middle and top thirds for both hybrids. The foliar application also brought yield increasing for DBK390 hybrid.

KEYWORDS: PGPB. *Zea mays*. Foliar application.

INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays*) é uma planta nativa das Américas e base alimentar de todas as civilizações do continente. Das mais de 300 raças de milho identificadas no mundo, praticamente todas tiveram sua origem nos trabalhos pioneiros das civilizações (LERAYER, 2006). A cultura tem grande importância no Brasil e a safra de 2017/2018 produziu em torno de 90 milhões de toneladas. É uma cultura exigente e responsiva à aplicação de fertilizantes, principalmente os nitrogenados, apresentando incremento na produção final (OHLAND *et al.*, 2005; FANCELLI; DOURADO NETO, 2010).

Uma alternativa utilizada para esse aumento de produtividade é a aplicação de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP). Essas bactérias correspondem a um grupo de microrganismos benéficos às plantas, devido à capacidade de colonizar a superfície das raízes, rizosfera, filosfera e tecidos internos das plantas (DAVISON, 1988; KLOEPPER; LIFSHITZ; ZABLOTOWICZ, 1989).

O gênero *Azospirillum* abrange um grupo de BPCP de vida livre presente em praticamente todos os lugares da terra onde há relatos de que as bactérias desse gênero podem ser endofíticas facultativas (DÖBEREINER; PEDROSA, 1987; HUERGO *et al.*, 2008). Existem mais de 14 espécies descritas nesse gênero, sendo o *Azospirillum brasilense* o de maior importância.

O efeito da bactéria *A. brasilense* no desenvolvimento das gramíneas, tem sido pesquisado nos últimos anos, não somente quanto ao rendimento das culturas, mas também com relação às causas fisiológicas que, possivelmente, aumentam esse rendimento dentre as quais se destacam antagonismo de agentes patogênicos, produção de fitormônios, aumento da taxa fotossintética, auxílio na absorção de água e nutrientes e no processo de fixação biológica de nitrogênio (HUERGO *et al.*, 2008).

Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar diferentes formas de aplicação de *Azospirillum brasilense* nos híbridos de milho DKB290 e DKB390.

METODOLOGIA

O presente trabalho foi instalado na safra 2017/2018 no Campo Experimental Sertãozinho pertencente à EPAMIG, localizada entre os municípios de Patos de Minas e Presidente Olegário no estado de Minas Gerais. Os resultados da análise de solo da área onde o experimento foi instalado estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Resultado da análise química do solo da Estação experimental de Sertãozinho/EPAMIG antes da instalação do experimento. Patos de Minas. 2018.

Profundidade	pH	P rem.	P (Mehlich ⁻¹)	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al	V ⁽¹⁾	m ⁽²⁾	MO
cm	(H ₂ O)	g L ⁻¹	mg dm ⁻³			cmolc dm ⁻³			%		dag kg ⁻¹
0-20	5,8	46,7	8,46	73,56	2,36	0,88	0,04	4,99	40,72	1,15	3,3

V⁽¹⁾ = Saturação por bases, m⁽²⁾ = saturação por alumínio.

Fonte: Dados do trabalho (2018)

Na semeadura utilizaram-se híbridos DKB290 e DKB390. Foi realizada análise de solo (Tabela 1) e, a partir dela, aplicaram-se 140 kg.ha⁻¹ do formulado 10-20-20 em cobertura. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso (DBC) com 5 repetições, sendo adotado o esquema fatorial com duas fontes de variação. As fontes de variação foram o tipo de híbrido e a forma de aplicação do produto (fatorial 2x3), conforme está descrito na Tabela 2.

Tabela 2. Tratamentos do experimento em milho conduzido no campo experimental de Sertãozinho/EPAMIG. Patos de Minas, 2018.

Aplicação de Azos (<i>Azospirillum brasilense</i>)	Híbridos	Concentração do Produto	Dose
Testemunha	DKB 290	-	-
Tratamento de Sementes	DKB 290	1x10 ⁸ UFC mL ⁻¹	2 mL kg ⁻¹
Aplicação Foliar V4	DKB 290	1x10 ⁸ UFC mL ⁻¹	500mL ha ⁻¹
Testemunha	DKB 390	-	-
Tratamento de Sementes	DKB 390	1x10 ⁸ UFC mL ⁻¹	2 mL kg ⁻¹
Aplicação Foliar V4	DKB 390	1x10 ⁸ UFC mL ⁻¹	500mL ha ⁻¹

UFC = Unidades formadoras de colônia

Fonte: Dados do trabalho (2018)

Realizou-se a semeadura manual, sendo 10 sementes por metro linear, observando a uniformidade da profundidade e distribuição na linha de plantio. Cada parcela constituiu-se de cinco linhas de cinco metros de comprimento com 0,4 m entre linhas e aproximadamente 20 cm entre sementes. Foi aplicado glifosato antes do plantio e também em V4 juntamente com *A. brasilense*, em V6 utilizou o inseticida Clorpirifós, devido à presença de lagartas do cartucho.

Os parâmetros analisados foram: altura de plantas (R₁), massa seca (V₄ e R₁), SPAD (Soil Plant Analysis Development) nos terços inferior, médio e superior (R₁ e R₇) e produtividade ao final do experimento. Para avaliação de massa seca, altura de plantas

e SPAD, foram utilizadas três plantas para cada avaliação, sendo estas coletadas aleatoriamente da área útil da parcela. Para a massa seca, foram levadas a estufa por 11 dias e em seguida pesadas utilizando uma balança de precisão com duas casas decimais. A altura de planta foi avaliada com auxílio de fita métrica, medindo desde o colo da planta até o ápice do caule. A avaliação de SPAD foi feita utilizando o equipamento medidor de clorofila modelo SPAD-502 Plus.

Para determinação da produtividade foram colhidas três linhas centrais da área útil da parcela quando o milho apresentava seus grãos duros. A colheita foi realizada manualmente e as espigas debulhadas com trilhadora elétrica estacionária. Em seguida, os grãos foram armazenados a temperatura ambiente, pesados em uma balança de precisão e mensurado a umidade com o aparelho Agrológic e, então, corrigidos para 13% em base úmida.

Os dados foram submetidos à análise de variância, em que foi observada significância nos efeitos simples e nas interações. Aplicou-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade com o software estatístico R versão 3.3.2.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resumo da análise de variância dos parâmetros avaliados no experimento de campo realizado na área experimental da EPAMIG é apresentado na Tabela 3.

Tabela 3. Resumo da Análise de Variância do experimento em milho conduzido no campo experimental de Sertãozinho/EPAMIG. Patos de Minas, 2018.

FV	GL	Quadrados Médios									
		AP	MSV4	MSR1	INFR1	MEDR1	SUPR1	INFR7	MEDR7	SUPR7	PROD
Forma de aplicação (FA)	4	0.0046 ^{ns}	0.0042 ^{ns}	0.0023 ^{ns}	0.2687 ^{ns}	160.7509*	86.738*	6.1252*	35.519 ^{ns}	21.2065 ^{ns}	1870.2771*
Híbrido (H)	1	0.1428*	0.0065 ^{ns}	0.0033 ^{ns}	0.0083 ^{ns}	0.0949 ^{ns}	4.033 ^{ns}	3.0114 ^{ns}	79.0163*	8.7796 ^{ns}	2392.1236*
Blocos	2	0.948*	0.014*	0.0007 ^{ns}	0.6137 ^{ns}	2.9538 ^{ns}	4.6204 ^{ns}	2.1224 ^{ns}	20.2287 ^{ns}	13.6465 ^{ns}	159.9963 ^{ns}
HxFA	2	0.0099 ^{ns}	0.0029 ^{ns}	0.315*	2.5333 ^{ns}	27.1551*	0.6724*	3.6934 ^{ns}	12.4674 ^{ns}	8.339 ^{ns}	789.8049*
Resíduo	20	0.0099	0.002	0.0052	0.538	4.9678	10.1667	1.2296	13.0406	12.9253	180.531
Total	29	0.0099	0.002	0.0052	0.538	4.9678	10.1667	1.2296	13.0406	12.9253	180.531
Média		2.47	0.2993	0.44	4.57	51.11	41.21	3.98	47.76	54.4	205
C.V (%)		4.4	15.07	16.5	16.03	4.36	7.74	24.07	7.57	6.62	6.55

AP= altura de planta, MSV4= massa seca V4, MSR1= massa seca R1, INFR1= SPAD terço inferior em R1, MEDR1= SPAD terço médio em R1, SUPR1= SPAD terço superior em R1, INFR7= SPAD terço inferior em R7, MEDR7= SPAD terço médio em R7, SUPR1= SPAD terço superior em R7 e PROD= produtividade.

Fonte: Dados do trabalho (2018)

As fontes de variação não apresentaram interação para variável altura de planta. Analisando os efeitos simples, também não houve diferença estatística entre as formas de aplicação de *Azospirillum brasilense*. Por outro lado, houve diferença estatística entre os tipos de híbridos, em que foi possível observar maior altura média no híbrido DKB290 (Tabela 4). A altura de planta é uma característica que é influenciada por diversos fatores, dentre eles condições climáticas, fornecimento adequado de água à planta, fertilidade do solo e disponibilidade de nutrientes.

Entretanto, a genética da semente é o fator determinante para essa variável (BARROS; CALADO, 2014).

Tabela 4. Altura de planta (m) em R₁, em função dos híbridos na cultura do milho. Campo experimental de Sertãozinho/EPAMIG. Patos de Minas, 2018.

Híbrido	Altura de planta (m)
DKB290	2,54 a
DKB390	2,41 b

Médias seguidas pela mesma letra minúscula não são estatisticamente diferentes ao nível de 0,05, conforme determinado pelo teste de Tukey.

Fonte: Dados do trabalho (2018)

Não houve interação significativa entre híbridos e formas de aplicação de *Azospirillum* para a massa seca no estágio V₄. Também não houve diferença estatística analisando os efeitos simples. Desse modo, o uso de *A. brasilense* não trouxe incremento até esse estágio de desenvolvimento. Os resultados corroboram com os estudos de Repke *et al* (2013), nos quais não foi encontrada diferença estatística na avaliação de massa seca em milho.

Os valores de massa seca de planta do estágio R₁ estão representados na Tabela 5. Houve interação entre as fontes de variação ($p < 0,05$).

Tabela 5. Massa seca de planta (kg) no estágio R₁, em função dos híbridos e modos de aplicação de Azos no milho. Campo experimental de Sertãozinho/EPAMIG. Patos de Minas, 2018.

Aplicação	Híbrido		Média Geral
	DKB290	DKB390	
Testemunha	0,37 bA	0,52 aA	0,45 a
Tratamento de Semente	0,45 aA	0,39 aB	0,42 a
Aplicação Foliar	0,46 aA	0,44 abA	0,45 a
Média Geral	0,43 a	0,45 a	
CV (%)	16,5		

Médias seguidas pela mesma letra minúscula dentro de uma linha ou a mesma letra maiúscula dentro de uma coluna não são estatisticamente diferentes ao nível de 0,05, conforme determinado pelo teste de Tukey.

Fonte: Dados do trabalho (2018)

A adubação com N não promoveu incremento de massa seca em nenhum dos tratamentos para o híbrido DKB290, já para o DKB 390, a testemunha foi 33% superior quando comparada ao tratamento de sementes e não se diferiu quando a aplicação foliar. Ao comparar os híbridos, o DKB390 foi superior na testemunha e o DKB290 foi ligeiramente superior na aplicação foliar. O nitrogênio (N) é um nutriente que apresenta estreita relação do crescimento das plantas de milho, pois o processo de crescimento do vegetal depende do N para realização da síntese de proteína, absorção iônica, fotossíntese, respiração, multiplicação e diferenciação celular, proporcionando uma vegetação verde e abundante, com aumento da folhagem e rápido crescimento

(OKUMURA; MARIANO; ZACCHEO, 2011). Sendo assim, a resposta quanto à adubação nitrogenada pode ter relação, novamente, com a genética do cultivar escolhido, por exercer melhor as funções mencionadas acima.

Analisando os efeitos simples do SPAD em terço médio (R_1), não houve diferença estatística para as formas de aplicação tampouco para tipo de híbrido em R_1 . Por outro lado, em R_7 a testemunha apresentou maior teor de clorofila. Na variável SPAD terço médio R_1 , houve interação entre os híbridos e os modos de aplicação de *Azospirillum* (Tabela 6).

Tabela 6. SPAD terço médio no estágio R_1 , em função dos híbridos e modos de aplicação de Azos na cultura do milho. Campo experimental de Sertãozinho/EPAMIG. Patos de Minas, 2018.

Aplicação	Híbrido		Média Geral
	DKB290	DKB390	
Testemunha	45,90 bA	48,75 bA	47,32 c
Tratamento de Semente	52,53 aA	48,88 bB	50,70 b
Aplicação Foliar	55,08 aA	55,55 aA	55,32 a
Média Geral	51,17 a	56,06 a	
CV (%)	4.36		

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não são estatisticamente diferentes ao nível de 0,05, conforme determinado pelo teste de Tukey.

Fonte: Dados do trabalho (2018)

Para o híbrido DKB290, o SPAD foi estatisticamente inferior à testemunha (sem aplicação de *A. brasilense*). O híbrido DKB390 foi estatisticamente superior quando a aplicação foi realizada via foliar. Comparando os dois híbridos, observou-se que o SPAD foi estatisticamente superior no híbrido DKB290 quando o *Azospirillum* foi aplicado via foliar (Tabela 9). O SPAD no terço médio em R_7 , o híbrido DKB390 apresentou superioridade quando comparado ao DKB290, conforme mostra a Tabela 7.

Tabela 7. SPAD terço médio no estágio R_7 , em função dos híbridos na cultura do milho. Campo experimental de Sertãozinho/EPAMIG. Patos de Minas, 2018

Híbrido	SPAD (mg.m^{-2})
DKB290	46,08 b
DKB390	49,41 a

Médias seguidas pela mesma letra minúscula dentro de uma coluna ou a mesma letra maiúscula dentro de uma linha não são estatisticamente diferentes ao nível de 0,05, conforme determinado pelo teste de Tukey.

Fonte: Dados do trabalho (2018)

Analisando os efeitos simples, pode-se observar que a aplicação foliar foi estatisticamente superior à testemunha (Tabela 8).

Tabela 8. SPAD terço superior no estágio R₁, em função dos modos de aplicação de Azos na cultura do milho. Campo experimental de Sertãozinho/EPAMIG. Patos de Minas, 2018

Aplicação	SPAD (mg.m ⁻²)
Testemunha	38,06 b
Tratamento de Semente	41,66 ab
Aplicação Foliar	43,90 a

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não são estatisticamente diferentes ao nível de 0,05, conforme determinado pelo teste de Tukey.

Fonte: Dados do trabalho (2018)

As Tabelas 9 e 10 apresentam os valores de SPAD para os terços inferior, médio e superior nos estágios R1 e R7.

Tabela 9. SPAD terços inferior, médio e superior nos estágios R₁ e R₇, em função dos modos de aplicação de Azos. Campo experimental de Sertãozinho/EPAMIG. Patos de Minas, 2018

Híbrido	SPADTIR1	SPADTIR7	SPADTMR1	SPADTMR7	SPADTSR1	SPADTSR7
Testemunha	4,72 a	5,30 a	47,32 c	45,99 a	38,06 b	52,74 a
Tratamento de Semente	4,60 a	4,73 ab	50,70 b	49,74 a	41,66 ab	54,84 a
Aplicação Foliar	4,40 a	3,73 b	55,30 a	47,99 a	43,90 a	55,62 a

SPADTIR1= SPAD terço inferior R1, SPADTIR7= SPAD terço inferior R7, SPADTMR1= SPAD terço médio R1, SPADTMR7= SPAD terço médio R7, SPADTSR1= SPAD terço superior R1, SPADTSR7= SPAD terço superior R7. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não são estatisticamente diferentes ao nível de 0,05, conforme determinado pelo teste de Tukey.

Fonte: Dados do trabalho (2018)

Na Tabela 9 é possível observar que a aplicação foliar foi estatisticamente superior ao controle e ao tratamento de semente no SPAD terço médio em R₁ e superior à testemunha na avaliação de SPAD terço superior em R₁. Por outro lado, na avaliação do SPAD terço inferior estágio R₇, a aplicação foliar foi estatisticamente inferior à testemunha. Para as demais avaliações de SPAD, não houve diferença estatística. O híbrido DKB390 foi estatisticamente superior ao DKB290 na avaliação de SPAD terço médio em R₇. Para as demais avaliações, não foi constatada diferença estatística (Tabela 10).

Tabela 10. SPAD terços inferior, médio e superior nos estágios R1 e R7, em função dos híbridos na cultura do milho. Campo experimental de Sertãozinho/EPAMIG. Patos de Minas, 2018.

HÍBRIDO	Terço inferior		Terço médio		Terço superior	
	R1	R7	R1	R7	R1	R7
DKB290	4,59 a	4,92 a	51,17 a	46,08 b	41,57 a	53,84 a
DKB390	4,55 a	4,27 a	51,05 a	49,41 a	40,84 a	54,95 a

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não são estatisticamente diferentes ao nível de 0,05, conforme determinado pelo teste de Tukey.

Fonte: Dados do trabalho (2018)

Quando os valores de SPAD são comparados, é possível observar maior teor de clorofila nos terços médio e superior, uma vez que essas folhas apresentam maior atividade fotossintética. O aumento da atividade fotossintética quando o *A. brasilense* é utilizado também foi constatado por Barassi *et al* (2008), onde eles relataram a melhoria em parâmetros fotossintéticos das folhas, incluindo o teor de clorofila e condutância estomática, maior prolina na parte aérea e melhoria no potencial hídrico.

Com o aumento da atividade fotossintética, ocorre também o incremento dos pigmentos fotossintéticos, tais como clorofila a e clorofila b e pigmentos fotoprotetivos auxiliares, como violaxantina, zeaxantina, aeroxantina, luteína, neoxantina e beta-caroteno, que resultariam em plantas mais verdes e sem estresse hídrico (BASHAN *et al.*, 2006). O uso de *A. brasilense* contribui com o aumento da atividade fotossintética da planta, pois esse microrganismo produz diversos metabólitos, dentre os quais destacam-se cinetina, ácido salicílico, ácido jasmônico, ácido indolbutírico, ácido indolacético e ácido giberélico (HUNGRIA *et al.*, 2011). O aumento da atividade fotossintética da planta pode influenciar de forma benéfica em outros parâmetros, como por exemplo a produtividade (NOVAKOWISKI *et al.*, 2011).

As médias de produtividade do ensaio estão presentes na Tabela 11. Houve interação entre as fontes de variação híbridos e formas de aplicação. A aplicação foliar foi estatisticamente superior à testemunha e para tratamento no híbrido DKB390. Isso confirma o que foi relatado por Novakowski *et al.* (2011), onde os tratamentos com maior atividade fotossintética apresentavam incremento de produtividade. Esse incremento de produtividade nos tratamentos com atividade fotossintética elevada foi observado no ensaio realizado na Estação experimental de Sertãozinho/EPAMIG.

Tabela 11. Produtividade (sc/ha), em função dos híbridos e modos de aplicação de Azos na cultura do milho. Campo experimental de Sertãozinho/EPAMIG. Patos de Minas, 2018

Aplicação	Híbrido	
	DKB290	DKB390
Testemunha	190 aA	195 bA
Tratamento de Semente	193 aA	206 bA
Aplicação Foliar	201 aB	243 aA
Média Geral	195 b	215 a
CV (%)	6,55	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula dentro de uma coluna ou a mesma letra maiúscula dentro de uma linha não são estatisticamente diferentes ao nível de 0,05, conforme determinado pelo teste de Tukey.

Fonte: Dados do trabalho (2018)

Apesar de não haver diferença estatística entre as formas de aplicação de Azos para o híbrido DKB290, foi observada uma tendência no aumento de produtividade de até 11 sc/ha quando o *A. brasilense* foi aplicado via pulverização foliar. Além disso, quando comparada a produtividade de ambos os híbridos, observou-se diferença estatística somente na aplicação foliar, entretanto pode-se constatar uma tendência nos demais tratamentos, nos quais o híbrido DKB390 apresenta produtividades mais elevadas. Em comparação com a testemunha, a aplicação foliar para o híbrido DKB390 promoveu incremento de 48 sc/ha em relação à testemunha.

Acredita-se que esses resultados possam ser explicados devido aos benefícios da fixação biológica de nitrogênio (DOBELLAERE *et al.*, 2001) e da ação desses microrganismos que alteram a morfologia e a fisiologia das raízes das plantas inoculadas, acarretando incremento na absorção de água e nutrientes (CUNHA *et al.*, 2014). A ação do *A. brasilense* está diretamente relacionada com os metabólitos que ele produz, destacando auxinas, citocininas, giberelinas e ácido jasmônico (HUNGRIA, 2011). O *A. brasilense* produz esses fitohormônios de forma equilibrada e possivelmente passíveis de serem absorvidos pelas folhas e estes contribuem para o aumento da atividade fotossintética e conseqüentemente incremento de produtividade (HUNGRIA, 2011).

CONCLUSÃO

Pode-se concluir que a aplicação foliar de *Azospirillum brasilense* na dose de 500mL/ha em V₄ na cultura do milho promoveu um aumento no teor de clorofila nos terços médio e superior para ambos os híbridos. A aplicação foliar também trouxe incremento de produtividade para o híbrido DBK390.

REFERÊNCIAS

BARASSI, C.A. *et al.* Potencialidad de *Azospirillum* en optimizar el crecimiento vegetal bajo condiciones adversas. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. ***Azospirillum* sp.**: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Asociación

- Argentina de Microbiologia, p. 49-59, 2008.
- BARROS, J. F. C., CALADO J. G. C. **A cultura do milho**. Universidade de Évora. Escola de Ciências e Tecnologia. Departamento de Fitotecnia. 2014. 52p.
- BASHAN, Y. *et al.* Increase in auxiliary photoprotective photosynthetic pigments in wheat seedlings induced by *Azospirillum brasilense*. **Biology and Fertility of Soils**, v. 42, p. 279-285, 2006.
- CUNHA, F. N. *et al.* efeito de *Azospirillum brasilense* na produtividade de milho no Sudoeste Goiano. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 13, n. 3, p. 261-272, 2014.
- DAVISON, J. Plant beneficial bacteria. **Bio/Technology**, v. 6, p. 282-286, 1988.
- DÖBEREINER, J.; PEDROSA, F.O. Nitrogenfixing bacteria in non leguminous crop plants. **Science Tech, Springer Verlag**, Madison, USA, 1987. p. 1-155.
- DOBBELAERE, S. *et al.* Response of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 28, p. 871-879, 2001.
- FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. **Milho: estratégias de manejo para alta produtividade**. Piracicaba: ESALQ/USP/LPV, 2010.
- HUERGO, L. F. *et al.* Regulation of nitrogen fixation in *Azospirillum brasilense*. In: CASSÁN, F.D.; GARCIA DE SALAMONE, I. ***Azospirillum sp.*: cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina**. Asociación Argentina de Microbiología, Argentina, 2008. p.17-35.
- HUNGRIA, M. *et al.* Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. **Plant and Soil**, v. 331, p. 413-425, 2011.
- KLOEPPER, J.W.; LIFSHITZ, R.; ZABLOTOWICZ, R.M. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. **Trends in Biotechnology**, v. 7, p. 39-43, 1989.
- LERAYER, A. **Guia do milho – tecnologia do campo a mesa**. Conselho de Informações sobre Biotecnologia. 2006. 15 p.
- NOVAKOWISKI, J. H. *et al.* Efeito residual da adubação nitrogenada e inoculação de *Azospirillum brasilense* na cultura do milho. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, p. 1687-1698, 2011.
- OHLAND, R. A. A. *et al.* Culturas de cobertura do solo e adubação nitrogenada no milho em plantio direto. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 3, p. 538-544, 2005.

OKUMURA R. S.; MARIANO, D. C.; ZACCHEO, P. V. C. Uso de fertilizante nitrogenado na cultura do milho: uma revisão. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, Guarapuava, v. 4, n. 2, p. 26-244, 2011.

REPKE, R. A., *et al.* Eficiência da *Azospirillum brasilense* combinada com doses de nitrogênio no desenvolvimento de plantas de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 12, n. 3, p. 214-226, 2013.

USO DE NOVAS CEPAS DE *BACILLUS* SP. NO CONTROLE DA *SPODOPTERA FRUGIPERDA* EM DIETA ARTIFICIAL

Marcilio Henrique Brandão

Graduando do curso de Agronomia (UNIPAM).

E-mail: marciliobrandao@unipam.edu.br

Maria Clara Dornelas

Graduanda do curso de Agronomia (UNIPAM).

E-mail: mariaclaradornelacardoso@gmail.com

Mariana Castro Viana

Mestranda em Produção Vegetal pela Universidade Federal de Viçosa (UFV/Rio Paranaíba).

E-mail: marianavc@unipam.edu.br

Walter Vieira da Cunha

Professor orientador (UNIPAM).

E-mail: walter@unipam.edu.br

RESUMO: A lagarta do cartucho é uma das principais pragas que atacam as lavouras brasileiras e possui um difícil controle, porque os produtos utilizados se tornaram ineficientes. Então, o objetivo do trabalho foi selecionar novos isolados de *Bacillus* sp. para o controle *S. frugiperda*. O experimento foi conduzido no laboratório de Genética e Biotecnologia do Centro Universitário de Patos de Minas/MG. Foram utilizadas lagartas neonatas provenientes de criação massal. As cepas *Bacillus* sp. utilizadas são pertencentes ao laboratório. As cepas não foram identificadas quanto à espécie. O delineamento escolhido foi inteiramente ao acaso, com setes tratamentos e 3 repetições, sendo dez largadas por repetição. O tratamento um era o controle, o dois, produto biológico a base de Bt., o três, quatro, cinco e seis eram cepas do laboratório e o tratamento sete foi utilizado um produto químico a base de clofenapir. Foram aplicados 20µl de cada produto em cada lagarta. Observou-se que apenas o tratamento sete obteve diferença estatística dos demais, conseguindo atingir uma mortalidade de 100%.

PALAVRAS-CHAVE: Cepas. Inseticida. Biológico.

ABSTRACT: Fall armyworm is one of the main pests that attack Brazilian crops, and it has a difficult control due to the inefficiency of products used. The objective of the work was to select new isolates of *Bacillus* sp. for *S. frugiperda* control. The experiment was conducted in the Genetics and Biotechnology Laboratory of the University Center of Patos de Minas. Mass rearing neonate worms were used. *Bacillus* sp. strains used belong to the laboratory. The strains were not identified at species level. The design was entirely randomized, with seven treatments and three replicates, with ten starts per replicate. Treatment one was control, two was a biological product based on Bt.,

treatments three, four, five and six are laboratory strains, a chemical based on clofenapir was used in the seventh treatment. 20µl of each product were applied to each worm. It was observed that just treatment seven obtained statistical difference from the others, achieving a mortality rate of 100%.

KEYWORDS: Strains. Insecticide. Biological.

INTRODUÇÃO

A lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), é considerada uma das principais pragas que atacam as lavouras do Brasil. Por ser uma praga polífaga, ela ataca mais de 50 culturas comerciais, como algodão, arroz, milho, milho, sorgo e soja (OMOTO *et al.*, 2013). O prejuízo causado pela lagarta pode chegar até 50%, (SILVA; FORESTI, 2016).

Essa praga ataca todo o ciclo da cultura, desde a emergência até o pendoamento e, no caso da cultura do milho, acontece uma perda significativa. As lagartas recém-eclodidas atacam as folhas, raspando-as superficialmente, deixando-as desprotegidas, o que facilita o ataque de outras pragas ou patógenos. Após o ataque da folha, a lagarta se aloja no cartucho da planta, destruindo, causando danos extremos, que aumentam no período de seca (CRUZ; VIANA; WAQUIL, 2002).

Além da queda na produção, causando outros prejuízos para o produtor, a lagarta é responsável pelo aumento do custo de produção, devido ao aumento do número de aplicações de inseticidas para o manejo da praga, inseticidas que, muitas vezes, são químicos. Na cultura do milho, o custo operacional pode ser de aproximadamente 15%, segundo Siloto (2002). Segundo Sarmiento *et al.* (2002), a utilização de inseticidas químicos deve ser de uma forma racional, devido aos riscos à saúde humana e ao meio ambiente. Problemas importantes causados por inseticidas são a eliminação dos inimigos naturais da lagarta do cartucho e a seleção de biótipos resistentes aos mecanismos de ação (OMOTO *et al.*, 2013).

A lagarta do cartucho é uma praga de difícil controle, devido a seu ciclo de vida precoce e a sua alta capacidade de reprodução. Uma fêmea faz uma postura de aproximadamente 300 ovos em uma folha. A fácil dispersão e uma condição ambiental favorável em todas as regiões do Brasil favorecem sua sobrevivência. O manejo inadequado da cultura é um problema que favorece a praga, devido ao cultivo sucessivo de um mesmo material, possibilitando a sobrevivência da população da lagarta. Um problema é o de seleção de indivíduos resistentes, seja ele pelos inseticidas, pelo material vegetação, por produtos biológicos ou por inimigos naturais. Outro fator que favorece a sobrevivência da *S. frugiperda* é sua alta gama de hospedeiro, podendo ser culturas comerciais e plantas daninhas, chamados hospedeiros alternativos (OMOTO *et al.*, 2013). Segundo Omoto *et al.* (2013), existem números variados desses hospedeiros alternativos, como acelga (*Beta vulgaris* Linn), alcachofra (*Cynara scolymus* L.), e culturas como citrus (*Citrus* spp), alho (*Allium cepa* L.) e cafeeiro (*Coffea arabica* L.).

Um método muito utilizado e eficiente de manejo da praga é o uso de plantas resistentes ao inseto, que possui vantagens ambientais e econômicas (SILOTO, 2002).

Outras vantagens do uso de plantas geneticamente modificadas são a redução da perda causada pela praga, segundo Beltz, Hammond e Fuchs (2000), uma queda no uso de inseticidas evitando gastos (ROMEIS; MEISSLE; BIGLER, 2006) e, segundo Gould (1998), é um método bastante seletivo, que afeta só praga, não afetando inimigos naturais. O uso de plantas transgênicas já não apresenta um controle efetivo, devido à alta pressão de seleção e ao desrespeito ao plantio das áreas de refúgio (OMOTO *et al.*, 2013). São colocadas dezenas de materiais melhorados geneticamente por instituições e empresas produtoras de sementes (SILOTO, 2002). Mas, para que isso ocorra, é preciso anos de pesquisa para que esse material chegue ao mercado, pois um programa de melhoramento genético de planta exige um planejamento minucioso e várias etapas para ser concluído.

Uma alternativa que vem sendo muito utilizada é o controle biológico, conforme Valicente (2003). Controle biológico consiste em utilização de inimigos naturais, como predadores, parasitas e parasitoides (SALLES, 1995). A lagarta do cartucho é susceptível ao ataque de inimigos naturais, motivo pelo qual eles devem ser preservados (SARMENTO *et al.*, 2002).

Entre esses inimigos naturais destaca-se a bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) Berliner, 1911 (Eubacteriales: Bacillaceae). Conforme Valicente (2010), é uma bactéria Gram positiva que ocorre em diferentes ambientes naturais, como solo, água, poeira, insetos e material vegetal. Essa bactéria sintetiza uma substância proteica em forma de cristal, durante sua fase estacionária vegetativa, dentro do compartimento da célula-mãe. Esse é um mecanismo de resposta sobre uma situação desfavorável, que é uma forma de produzir resistência, que consiste na produção do esporo. A esporulação é dada devido à falta de nutriente (ERRINGTON, 1993).

É muito utilizado o Bt por ser uma forma de controle seguro aos humanos e meio ambiente (CAMPANINI *et al.*, 2012). É um patógeno para insetos, sendo seguro para mamíferos, pois esse cristal reage em ambiente básico, característica do sistema dos insetos. Os mamíferos possuem o estômago ácido, não tendo nenhuma reação com a toxina. Outro fator importante é que cada gene da bactéria produz um cristal específico, que são chamados Cry. São cinco os principais Cry que controlam pragas (VALICENTE, 2010).

Há vários estudos que comprovam que a tecnologia Bt é eficiente no controle de *S. frugiperda* (BECHELENI; SALES; CAMPOLINO, 2017; GALZER; AZEVEDO FILHO, 2016; OMOTO *et al.*, 2013; VALICENTE, 2003; DEQUECH *et al.*, 2007; POLANCZYK, 2004; LOGUERCIO; CARNEIRO; CARNEIRO, 2002; VALICENTE *et al.*, 2000; KNOWLES, 1994; HÖFTE; WHITELEY, 1989). Entretanto, o uso excessivo de produtos à base de Bt sem o uso de áreas de refúgio ocasiona seleção de lagartas resistentes, tornando importante a contínua busca por novas cepas de Bt que apresentem toxinas novas e/ou mais letais.

Dessa forma, o objetivo do trabalho foi selecionar, em laboratório, novos isolados de *Bacillus* sp. que apresentem potencial para uso no manejo de *S. frugiperda*.

METODOLOGIA

O experimento foi conduzido no laboratório de Genética e Biotecnologia

(GENEB) do Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM), durante o período setembro a outubro de 2018.

As lagartas de *S. frugiperda* utilizadas no ensaio foram obtidas através de ovos oriundos de criação massal mantida no próprio GENEB, criadas de acordo com a metodologia de Parra *et. al.* (2002). Foram utilizadas apenas lagartas neonatas no experimento.

As cepas de *Bacillus* sp. utilizadas no bioensaio são pertencentes ao acervo do GENEB e não foram identificadas a nível de espécie. As bactérias foram fermentadas em erlemeyers em meio de cultura Luria Bertani (LB) (triptona 10 g.L⁻¹, extrato de levedura 5 g.L⁻¹, cloreto de sódio 5 g.L⁻¹) agitada em mesa horizontal, na velocidade de 106 rotação por minuto (RPM), com temperatura de 27 °C, durante 72 horas.

O bioensaio foi montado em copos plásticos com tampas e foi utilizada dieta artificial para *S. frugiperda* preparada de acordo com Parra *et al.* (2002). Foram utilizados sete tratamentos, sendo quatro cepas de *Bacillus* sp., um tratamento controle, onde utilizou água destilada e dois inseticidas registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), sendo estes utilizados no controle da lagarta na região (Tabela 1). Os tratamentos foram distribuídos em alíquotas de 100 µL na superfície da dieta artificial, com auxílio de pipeta automática. Após a evaporação do excesso de umidade, lagartas de primeiro ínstar foram distribuídas individualmente.

Tabela 1. Tratamentos realizados no bioensaio, Patos de Minas, MG

Tratamentos	Descrição
T1	Controle
T2	<i>B. thuringiensis</i> subs. <i>kurstaki</i> (Thuricide)
T3	Cepa 987
T4	Cepa 988
T5	Cepa 995
T6	Cepa 997
T7	Clorfenapir (Pirate)

Fonte: Dados do trabalho (2018)

O material foi acondicionado em sala de crescimento com temperatura de 27 °C e 12 horas de fotofase. A mortalidade das lagartas foi avaliada durante 20 dias após a montagem do experimento. O delineamento foi inteiramente casualizado, com três repetições de 10 lagartas, totalizando 30 lagartas por tratamento. A porcentagem de mortalidade de larvas foi corrigida pela fórmula de Abbott (1925). Os dados obtidos foram submetidos ao teste de Levene e Shapiro-Wilks, para testar a normalidade e a homogeneidade das variâncias, respectivamente. Posteriormente realizou-se a análise de variância e as médias foram comparadas através do teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total das quatro cepas testadas, nenhuma obteve resultado satisfatório, juntamente com o produto biológico registrado pelo MAPA, que não se diferenciaram do tratamento controle. O tratamento que leva o inseticida químico Clorfenapir (Pirate) obteve um melhor resultado sobre os demais, sendo o único diferente

estatisticamente (Tabela 2).

Tabela 2. Mortalidade de lagartas neonatas de *S. frugiperda* após 20 dias de aplicação dos tratamentos, Patos de Minas, MG

Tratamentos	Nº de lagartas mortas	Mortalidade(%)
Controle	1,00 b	10,0
<i>B. thuringiensis</i> subs. <i>kurstaki</i>	1,67 b	7,4
Cepa 987	0,67 b	0
Cepa 988	0,67 b	0
Cepa 995	1,33 b	3,6
Cepa 997	1,00 b	0
Clorfenapir	10,0 a	100,0

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Fonte: Dados do trabalho (2018)

Em um trabalho de eficácia de inseticidas para o controle de *Spodoptera frugiperda*, Vivan, Rodrigues e Barreira (2017) observaram que o produto a base de Clorfenapir (Pirate) obteve um resultado satisfatório no controle dessa praga. Grigolli (2017) obteve resultados satisfatórios com o mesmo produto ao comparar diferentes inseticidas químicos, onde o Pirate se sobressaiu dos demais com médias superiores.

Pelo desconhecimento sobre a espécie do *Bacillus*, não dá para afirmar que essas cepas são da espécie *Bacillus thuringiensis*. Assim, podem ser de uma espécie que não possui essa característica de produção de toxinas para o controle de *S. frugiperda*. A espécie de *B. thuringiensis* é dividida em várias subespécies, dessas a maioria sendo ativas contra a ordem dos Lepidóptera. As espécies do gênero *Spodoptera* possuem uma baixa suscetibilidade a grande parte das delta-endotoxinas, segundo Valicente (2010). Isso mostra que as cepas podem ser Bt, mas que não possuem ação letal na espécie *Spodoptera frugiperda*.

As cepas não obtiveram controle diferente da testemunha, devido ao fato de serem cepas que não produzem toxinas para a neutralização da lagarta. Um fato que pode ter ocorrido é que as cepas não produziram os cristais letais para lepidópteras. Segundo Valicente (2010), cada cristal produzido a partir da bactéria tem funções inseticidas específicas, para cada ordem de inseto, mostrando que essas cepas de Bt podem ser danosas a outra ordem. Mendes *et al.* (2009) compararam 100 cepas de *B. thuringiensis* de amostra de solos tiradas do Alto Paranaíba, onde apenas cinco obtiveram uma boa eficiência no controle de *Spodoptera frugiperda*.

Uma alternativa para que explique o fato da bactéria não ter controlado o inseto é que não houve produção de cristal protéico, que são tóxicos às lepidópteras. Segundo Valicente (2005), esse cristal é produzido na fase vegetativa estacionária da bactéria, essa proteína é acumulada dentro do compartimento da célula-mãe, quando essa bactéria é submetida a uma condição de estresse, como forma de resistência. Errington (1993) explicou que a esporulação é dada pela falta de nutrientes no meio de cultivo, que possui uma duração de 8 horas, induzindo uma sequência de mudanças fisiológicas e morfológicas. Como no meio produzido no trabalho as condições eram bem favoráveis ao microrganismo, não aconteceu a produção do cristal.

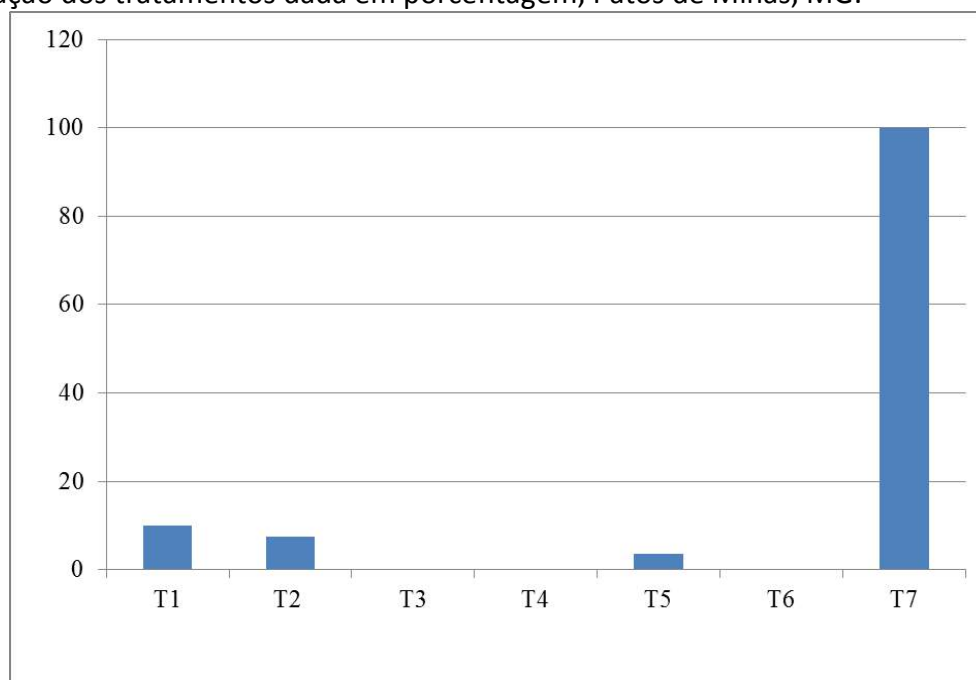
Beltrão e Silva-Filha (2007), trabalhando com *Bacillus thuringiensis* no controle

de díptera, salientaram que uso do cristal proteico (Cry) isolado tem uma eficiência muito baixa ou, às vezes, não funciona. Esse fato mostra que o cristal, se foi produzido, não fez efeito no controle da *S. frugiperda*.

Em um estudo sobre herança da resistência de *Spodoptera frugiperda*, Valicente (2003) mostrou que há vários indivíduos de diferentes linhagens, com diferentes casos de resistência. A resistência se dá devido ao fato que um gene recessivo do indivíduo sobrepõe sobre os demais, característica essa que pode ser expressa de diversas formas, seja ela fisiológica ou morfológica. Como essa resistência está no Ácido desoxirribonucleico (DNA), ela pode ou não ser passada para próxima geração. Segundo Yu (1993) e Tan e McCaffery (1999), essa herança não apresenta um padrão nas lepidópteras, devido à existência de diferentes mecanismos de resistência nas linhagens. As larvas trabalhadas nos ensaios são de mesma origem materna, sendo assim podem ter herdado algum mecanismo de resistência aos produtos tratados.

No tratamento dois obteve o resultado semelhante ao da testemunha (Gráfico 1). Um dos fatores que influenciou baixa eficácia do produto a base de *Bacillus thuringiensis* va. Kurtakis sobre a lagarta do cartucho foi o fato dessa espécie ser de alta resistência a essa subespécie Bt. Isso foi explicado por Navon (1993), que trabalhou com controle de lepidópteras com produtos à base de *Bacillus thuringiensis*.

Gráfico 1 . Mortalidade corrigida de lagartas neonatas de *S. frugiperda* após 20 dias de aplicação dos tratamentos dada em porcentagem, Patos de Minas, MG.



Fonte: Dados do trabalho (2018)

Os produtos que têm um período alto de prateleira perdem sua eficiência. O fato é que deve ter ocorrido contaminação na hora de preparar do produto. Por ser um biológico, ele pode ter perdido sua eficiência, por estar em contato com um indivíduo antagonista.

CONCLUSÃO

As cepas testadas de *Bacillus* não obtiveram resultado diferente da testemunha no controle da *S. frugiperda*. O produto comercial Pirate obteve um resultado satisfatório no controle da praga.

REFERÊNCIAS

- BECHELENI, F. R. C.; SALES, M. L.; CAMPOLINO M. L. **Aplicação biotecnológica da bactéria *Bacillus thuringiensis* no controle biológico da Lagarta do cartucho *Spodoptera frugiperda***. Disponível em: journal.faculdadecienciasdavida.com.br/index.php/RBCV/article/download/295/70/+&cd=6&hl=pt-BR&ct=clnk&gl=br. Acesso em: 16 out. 2018.
- BELTRÃO, H.B.M.; SILVA-FILHA, M.H.N.L. Interaction of *Bacillus thuringiensis* var. israelensis Cry toxins with binding sites from *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae midgut. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 266, n. 2, p. 163-169, 2007.
- BETZ, F. S.; HAMMOND, B. G.; FUCHS, R. L. Safety and advantages of *Bacillus thuringiensis*-protected plants to control insect pests. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, Duluth, v. 32, p. 156-173, 2000.
- CAMPANINI, E. B.; DAVOLOS C. C.; ALVES E. C.; LEMOS MV. Isolation of *Bacillus thuringiensis* strains that contain Dipteran-specific cry genes from Ilha Bela (São Paulo, Brazil) soil samples. **Brazilian Journal of Biology**, Jaboticabal, v. 72, p. 243-247, 2012.
- CRUZ I.; VIANA P. A.; WAQUIL J. M. Cultivo do milho pragas da fase vegetativa e reprodutiva. **Ministério da Agricultura e Pecuária e Abastecimento**. Sete lagoas - MG, v. 1., n. 1, 2002.
- DEQUECH, S. T. B.; FIUZA, L. M.; SILVA, R. F. P.; ZUMBA, R. C. Histopatologia de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (Lep., Noctuidae) infectadas por *Bacillus thuringiensis* aizawai e com ovos de *Campoletis flavicincta* (Hym., Ichneumonidae). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 1, p. 273-276, jan./fev., 2007.
- ERRINGTON, J. V. *Bacillus subtilis* sporulation: regulation of gene expression and control of morphogenesis. **Microbiol. Ver.**, v. 57, p. 1-33, 1993.
- GALZER E. C. W.; AZEVEDO FILHO W. S. Utilização do *Bacillus thuringiensis* no controle biológico de pragas. **Revista Interdisciplinar de Ciência Aplicada**, Caxias do Sul, v. 1, n. 1, 2016.
- GOULD, F. Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: integrating pest genetics and ecology. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 43, n. 1, p. 701-726, 1998.

GRIGOLLI, J. F. J. Manejo e Controle da Lagarta Do-Cartucho *Spodoptera* spp. na Cultura Do Milho. **Tecnologia e Produção: Milho Safrinha**, Maracaju, p. 120-124, 2017.

HÖFTE, H.; WHITELEY, H. R. Insecticidal Crystal Proteins of *Bacillus thuringiensis*. **Microbiological Reviews**, Washington, v. 53, p. 242-255, 1989.

KNOWLES, B. H. Mechanisms of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal dendotoxins. **Advances in Insect Physiology**, v. 24, n. 2, p. 275-308, 1994.

LOGUERCIO, L. L.; CARNEIRO, N. P.; CANEIRO A. A. Milho Bt: alternativa tecnológica no controle de insetos-pragas. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, n. 24, p. 46-52, jan./fev. 2002.

MENDES L. S.; CARVALHO L. A.; NAKAO A. M.; OLIVEIRA T. G. M.; CUNHA W. V. Seleção de cepas de *Bacillus thuringiensis*, na região do Alto Paranaíba, para controle da lagarta do cartucho (*Spodoptera frugiperda*). **Perquirere**, Patos de Minas, v. 6, p. 09-16, out. 2009.

NAVON, A. Control of lepidopteran pests with *Bacillus thuringiensis*. In: ENTWISTLE, P.F. et al. (Eds). **Bacillus thuringiensis, an environmental biopesticide: theory and practice**. Chichester: John Wiley & Sons, 1993. p. 125-146.

OMOTO, C.; BERNARDI, O.; SALMERON, E.; FARIAS, J. R. Manejo da resistência de *Spodoptera frugiperda* a inseticidas e plantas Bt. **ESALQ/USP**, Piracicaba - SP, jun. 2013.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORREA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. Controle biológico: terminologia. In: (Ed.) **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 1-16.

POLANCZYK, R. A. **Estudos de *Bacillus thuringiensis* Berliner visando ao controle de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith)**. Piracicaba, jan. 2004, 144p.

ROMEIS, J; MEISSLE, M.; BIGLER, F. Transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* toxins and biological control. **Nature Biotechnology**, New York, v.24, n.1, p.63-71, 2006.

SALLES, L. A. B. **Bioecologia e controle da mosca-das-frutas Sul-Americana**. Pelotas: EMBRAPA/CPACT, 1995. p. 58.

SARMENTO, R. A.; AGUIAR, R. W. S.; AGUIAR, R. A. S. S.; VIEIRA, S. M. J.; OLIVEIRA, H. G.; HOLTZ, A. M. Revisão da biologia ocorrência e controle de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera- Noctuidae) em milho no Brasil. **Biosci.**, v. 18, n. 2, p. 41-48, dez. 2002.

SILOTO, R. C. **Danos e biologia da *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em genótipos de milho.** Piracicaba, 2002.

SILVA, P. R.; FORESTI, J. **Sustentabilidade do Milho ao ataque da Lagarta do cartucho.** Blog Agronegócio em foco 2016. 2016. Disponível em: <http://www.pioneersementes.com.br/blog/125/suscetibilidade-do-milho-ao-ataque-da-lagarta-do-cartucho>. Acesso em: 15 jan. 2019.

TAN, J. G.; McCAFFERY A. R. Expression and inheritance of nerve insensitivity resistance in larvae of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) from China. **Pestic. Sci.**, v. 55, p. 617-625, 1999.

VALICENTE, F. H. **As aplicações do *Bacillus thuringiensis* no controle da lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda*.** Brazilian Agricultural Research Corporation (EMBRAPA). 2010. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/309913753_AS_APLICA_COES_DO_Bacillus_thuringiensis_NO_CONTROLE_DA_LAGARTA_DO_CARTUCHO_Spodoptera_frugiperda. Acesso em: 17 out. 2018.

VALICENTE, F. H. *Bacillus thuringiensis*: uso de isolados tropicais no controle da lagarta do cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda*. In: **Livro de Resumos**. 8o Siconbiol. Águas de São Pedro, 2003. p. 60

VALICENTE, F. H.; BARRETO, M. R.; VASCONCELOS, M.J.V.; FIGUEIREDO, J.E.F. DE; PAIVA, E. Identificação através de PCR dos genes cryI de cepas de *Bacillus thuringiensis* Berliner eficientes contra a lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Brasil, v. 29, n. 1, p. 47-153, 2000.

VALICENTE, F.H.; ZANASI, R.F. Uso de Meios Alternativos para Produção de Bioinseticida à Base de *Bacillus thuringiensis*. **Circular técnica**, Embrapa, 4p., 2005.

VIVAN, L. M., RODRIGUES, L. A., BARREIRA, M. Eficácia de inseticidas para o controle de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, noctuidae) no milho safrinha. **XIV Seminário Nacional de Milho Safrinha**, Cuiabá, 2017.

YU, S. J. Inheritance of insecticide resistance and microsomal oxidases in the diamondback moth (Lepidoptera: Yponomeutidae). **J. Econ. Entomol.**, v. 86, issue 3, p. 680-683, jun. 1993.

UTILIZAÇÃO DE INDUTORES DE RESISTÊNCIA ASSOCIADOS COM FUNGICIDA NA CULTURA DE SOJA

Victor Barros Pacheco

Mestrando profissionalizante em Produção Vegetal, Instituto Federal do Triângulo Mineiro (IFTM/Uberaba).

E-mail: victor.pb116@gmail.com

Evandro Binotto Fagan

Professor orientador (UNIPAM).

E-mail: evbinotto@unipam.edu.br

RESUMO: O trabalho objetivou avaliar o efeito de fungicida associado a indutores de resistência em parâmetros fisiológicos na soja. Adotou-se o delineamento experimental em blocos casualizados, em sistema fatorial (2x4), sendo o primeiro fator (i) duas cultivares e o (ii) segundo fator constituído por aplicações de fungicida associado a indutores de resistência no estágio $V_{4/5}$. Constatou-se que a aplicação de mancozeb + fosfito proporcionou incremento de 5,25 sacas ha^{-1} em relação ao controle.

PALAVRAS-CHAVE: *Glycine max* L. Merrill. Doenças. Mancozeb.

ABSTRACT: The objective of this work was to evaluate the effect of fungicide associated with resistance inducers on physiological parameters in soybean. The experimental design was randomized blocks in factorial system (2x4), where the first factor (i) two cultivars and second factor (ii) constituted by fungicide applications associated with resistance inducers at stage $V_{4/5}$. The application of mancozeb + phosphite resulted in an increase of 5.25 bags ha^{-1} in relation to control.

KEYWORDS: *Glycine max* L. Merrill. Diseases. Mancozeb.

INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é a espécie mais cultivada em todo o mundo, sendo que aproximadamente 80% da produção está concentrada em três países: Estados Unidos, Brasil e Argentina (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA, 2015). Na safra 17/18, a produção brasileira chegou a 119,3 milhões de toneladas do grão em uma área de 35,1 milhões de hectares, atingindo produtividade média no Brasil em torno de 3.394 $kg ha^{-1}$ (CONAB, 2018). Entretanto, essa produtividade pode atingir os 6.000 $kg ha^{-1}$ (COOPER, 2003), tornando o aumento dessa característica um dos desafios na agricultura atualmente.

Sendo assim, visto a importância da soja como uma peça fundamental na economia do país, tecnologias que visem incrementar a produtividade dessa cultura são de suma importância. Contudo, a expansão dessa cultura vem sendo acompanhada pelo aumento do ataque de pragas e doenças, principais fatores que

limitam a obtenção de alta produtividade. Aproximadamente 40 doenças causadas por fungos, bactérias, nematoides e vírus já foram identificadas no Brasil. São estimadas perdas anuais de produção de cerca de 15% a 20% em decorrência desses ataques, podendo chegar, em alguns casos, a perdas de quase 100% (ARANTES; SOUZA, 1993).

Dessa maneira, uma das alternativas que busca atenuar esse limitante é a utilização de fungicidas, com o objetivo de proteger a planta contra a infecção de fungos ou controlar as doenças após o seu aparecimento. Nesse sentido, a utilização de mancozeb tem sido uma das estratégias adotadas pelos produtores de soja e de outras culturas como feijão, milho e algodão, conceituando uma tecnologia que começa a ser utilizada para proteção de plantas (BALARDIN *et al.*, 2017). Esse fungicida é pertencente ao grupo dos ditiocarbamatos, com modo de ação multissítios e ação protetora sobre os patógenos. Isso significa que o mancozeb aplicado fica depositado sobre o tecido, inibindo a germinação do esporo e a infecção dos patógenos (GULLINO *et al.*, 2010).

Aliado a isso, outra técnica que vem sendo adotada no campo é a utilização de substâncias que atuam como indutores de resistência, contribuindo, assim, para o manejo das doenças na cultura de soja. Dentre essas substâncias, podem-se destacar quatro delas: (i) ácido salicílico, conhecido como importante sinalizador na resposta das plantas à imunidade, conhecida como resistência sistêmica adquirida (SAR). Esse mecanismo permite que as plantas desenvolvam estratégias de resistência para futuras infecções de patógenos, o que reduz a severidade das doenças (AN; MOU, 2011); (ii) fenilalanina, que está ligada com a produção de compostos fenólicos de defesa como, por exemplo, taninos, lignina e flavonoides, Além disso, participa da síntese do ácido salicílico (TAIZ; ZEIGER, 2013); (iii) fosfitos, que podem atuar diretamente sobre o patógeno, agir como um “ativador” de rotas de defesa estimulando a produção de fitoalexinas, flavonoides e ácidos cinâmicos (GUEST; GRANT, 1991) e (iv) óxido nítrico, que está envolvido no acúmulo de fitoalexinas e na ativação de respostas de defesa contra o ataque de patógenos (FERREIRA, 2011).

Acredita-se que associações entre mancozeb e indutores de resistência podem promover redução na incidência de doenças na cultura de soja, além de aumentar a eficiência de controle proporcionada pelos fungicidas sítio-específicos. Ademais, especula-se que esta associação pode reduzir o nível de estresses das plantas e promover incremento na produtividade, devido aos efeitos adicionais relatados anteriormente para o mancozeb, ácido salicílico, fenilalanina, óxido nítrico e fosfito.

Visto a importância da soja como um item fundamental na economia do país, assim como as depleções em produtividade causadas por ataques de pragas e doenças, alternativas que visam minimizar os danos na produção se tornam imprescindíveis. Diante disso, o estudo da interação de indutores de resistência associados à fungicida atesta essa busca por melhores resultados. Desse modo, este trabalho resultará no desenvolvimento de novas tecnologias que potencializam o controle de doenças em plantas, possibilitando, assim, altos patamares produtivos. Portanto, o presente trabalho tem por objetivo avaliar os efeitos da aplicação de indutores de resistência em associação com fungicida em parâmetros fisiológicos da cultura de soja.

METODOLOGIA

O trabalho foi conduzido na Fazenda Experimental na Cooperativa Agropecuária do Alto Paranaíba (COOPADAP), localizada no município de Rio Paranaíba – MG. O local, segundo a classificação de Köppen, apresenta um clima tropical de altitude (Cwa), com precipitação média anual em torno de 1540 mm, sendo a temperatura média anual igual a 20°C (PEEL; FINLAYSON; MCMAHON, 2007). As avaliações fisiológicas, fenométricas e produtivas foram realizadas no Laboratório do Núcleo de Pesquisa em Fisiologia e Estresse de Plantas (NUFEP) do Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM), em Patos de Minas-MG.

Foi utilizada a cultura de soja (*Glycine max* L. Merrill), cultivares TEC 7849 IPRO (grupo de maturação – GM-7.8) e Brasmax Desafio RR (GM-7.4). De acordo com a análise de solo, não foi necessária aplicação de calcário para correção do solo. A adubação utilizada foi de manutenção, em que se aplicou 390 kg ha⁻¹ da formulação 08:30:10 + 3,26% de Ca + 4,25% de S + 0,2% de B + 0,2% de Zn. A semeadura foi realizada mecanicamente no dia 23 de outubro de 2017, com espaçamento de 0,60 m entrelinhas para manter uma densidade populacional de 240.000 para a cultivar TEC 7849 IPRO e 350.000 plantas ha⁻¹ para Desafio RR, respectivamente. O experimento foi conduzido em área irrigada através de pivô central.

Foi adotado o delineamento experimental em blocos casualizados, em sistema fatorial (2x4), onde o primeiro fator (i) duas cultivares e o (ii) segundo fator constituído por aplicações de fungicida associado a indutores de resistência no estádio V_{4/5} (Tabela 1), totalizando oito tratamentos com cinco repetições (40 unidades experimentais). Cada parcela experimental apresentou cinco linhas com espaçamento de 0,6 m entre linhas com oito metros de comprimento, totalizando uma área (24 m²).

As pulverizações dos tratamentos foliares foram realizadas através de um pulverizador costal motorizado. A barra que foi utilizada contém 4 bicos do tipo leque, perfazendo 2,25 m de comprimento e com a pressão constante de 2 bar.

Tabela 1. Descrição dos tratamentos (T) que foram utilizados no ensaio: “Utilização de indutores de resistência associados à fungicida na cultura de soja”. Cultivares TEC 7849 IPRO e Brasmax Desafio RR . Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM). Patos de Minas-MG.

Tratamentos	Descrições		
	Cultivar	Fungicida (V _{4/5})	Indutor de resistência (V _{4/5})
T ₁ (controle)		Mancozeb ¹	Sem aplicação
T ₂	TEC 7849	Mancozeb ¹	Ácido salicílico ³
T ₃	IPRO	Mancozeb ¹	Fosfito ⁴
T ₄		Mancozeb ¹	*Óxido nítrico ² + Fenilalanina ³ + Ácido salicílico ³
T ₁ (controle)		Mancozeb ¹	Sem aplicação
T ₂	Brasmax	Mancozeb ¹	Ácido salicílico ³
T ₃	Desafio	Mancozeb ¹	Fosfito ⁴
T ₄	RR	Mancozeb ¹	*Óxido nítrico ² + Fenilalanina ³ + Ácido salicílico ³

* O óxido nítrico foi aplicado na forma de nitroprussiato de sódio. ¹ Dose de 1,5 kg ha⁻¹; ² Dose de 300 ppm ha⁻¹; ³ Dose de 100 ppm ha⁻¹; ⁴ Dose de 1 L ha⁻¹

Avaliações

Atividade de enzimas antioxidantes

A determinação das enzimas antioxidantes foi realizada aos 52 dias após a aplicação dos tratamentos (Tabela 2), quando as plantas se encontravam no estágio R_{1/2}.

Obtenção do extrato vegetal

Para essas análises, as amostras de folhas foram coletadas entre oito e dez da manhã. Essas amostras foram colocadas em sacos plásticos e embrulhadas em papel alumínio. Em seguida, foram congeladas em nitrogênio líquido, a fim de paralisar todas as reações.

As folhas foram maceradas utilizando-se nitrogênio líquido, e depois foram adicionados 10 mL de tampão de fosfato de potássio 0,1 mol L⁻¹ pH 6,8 para a extração do material vegetal. As amostras foram, então, transferidas para eppendorf's e centrifugadas a 10.000 rpm (6.000 g) por 30 min a 4°C. Ao final, as amostras foram armazenadas a -20 °C para posterior determinação da atividade das enzimas catalase, peroxidase e superóxido dismutase, além do conteúdo de proteínas totais solúveis (KAR; MISHRA, 1976).

Conteúdo da proteína total solúvel na folha

Para determinação do teor de proteína total solúvel na folha, foi utilizada a metodologia descrita por Bradford (1976).

Superóxido dismutase (SOD)

A superóxido dismutase (SOD) foi determinada segundo a metodologia de Beauchamp e Fridovich (1971, *apud* BOR; OZDEMIR; TURKAN, 2003).

Peroxidase (POD)

A atividade da peroxidase (POD) foi determinada de acordo com Teisseire e Guy (2000).

Enzima fenilalanina amônia-liase (PAL)

A atividade da enzima fenilalanina amônia-liase (PAL) foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Umesha (2006).

Peroxidação de lipídios (PL)

A peroxidação de lipídios foi determinada de acordo com a técnica de Heath e

Packer (1968, *apud* RAMA DEVI; PRASAD, 1998).

Conteúdo de peróxido de hidrogênio (H₂O₂)

O conteúdo de peróxido de hidrogênio foi determinado por meio da reação com iodeto de potássio (KI), segundo Alexieva *et al.* (2001).

Produtividade

A produtividade foi quantificada por meio da colheita manual das plantas, considerando as três fileiras centrais. Foi descartado 0,5 m em cada extremidade. Foi determinado o teor de água dos grãos e efetuado o cálculo da produtividade (produção por unidade de área) com o teor de água corrigido para 13% (0,13 g⁻¹). Para pesagem dos grãos, foi utilizada uma balança digital com precisão de 0,01 grama.

Análise estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Atividade da superóxido dismutase

Analisando a atividade da enzima SOD (Tabela 2), verificou-se que não houve interação entre os fatores e não houve diferença significativa entre os cultivares, analisadas individualmente. Contudo, considerando somente os tratamentos, observa-se um destaque para a aplicação de mancozeb + ácido salicílico (T₂), sendo essa superior estatisticamente em relação aos demais tratamentos, com acréscimo de 70,9% comparado ao T₁ (mancozeb).

A SOD é uma enzima constituinte do metabolismo oxidativo de plantas, sendo responsável pela conversão de radicais livres de O₂⁻ em H₂O₂+O₂ (GILL; TUTEJA, 2010). Dessa maneira, essa enzima elimina o radical superóxido (O₂⁻), resultando em um equilíbrio metabólico contra danos celulares provenientes das EROs (ELSTNER; OSSWALD, 1994). Sendo assim, os resultados referidos acima corroboram com uma das principais funções do ácido salicílico, que é a sinalização na resposta das plantas à imunidade (AN; MOU, 2011), sendo que a aplicação de mancozeb + ácido salicílico, tratamento T₂, provocou o maior incremento no teor da SOD em ambos os cultivares.

Tabela 2. Atividade da superóxido dismutase (SOD, $\mu\text{mol min}^{-1} \mu\text{g proteína}^{-1}$) no ensaio: “Utilização de indutores de resistência associados à fungicida na cultura de soja”. Cultivares TEC 7849 IPRO e Brasmax Desafio RR . Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM). Patos de Minas-MG.

Cultivar	Tratamentos				Média
	Mancozeb	Mancozeb + Ácido salicílico	Mancozeb + Fosfito	Mancozeb + Óxido Nítrico + Fenilalanina + Ácido salicílico	
TEC 7849 IPRO	16,63	24,99	23,13	19,84	21,15NS
Brasmax Desafio RR	14,25	27,76	21,52	24,48	22,00
Média	15,44c	26,38a	22,32b	22,15b	
CV (%)	15,22				
DMS cultivar: 2,12		DMS tratamento: 4,01			

*Letras minúsculas diferem entre si em relação aos tratamentos e as maiúsculas entre cultivares pelo teste Tukey a 5% de significância. NS: não significativo

Teor de peróxido de hidrogênio

Para o teor de peróxido de hidrogênio (Tabela 3), também não ocorreu interação entre tratamentos x cultivar, como também não houve diferença estatística examinando o fator tratamento isolado. Quanto aos cultivares, observou-se que o TEC 7849 IPRO obteve maiores teores de peróxido de hidrogênio, sendo estaticamente superior ao Brasmax Desafio RR (137,1% de acréscimo).

O peróxido de hidrogênio é uma espécie reativa de oxigênio (EROs), tendo grande participação no estresse oxidativo, responsável por gerar o radical hidroxila, causando danos nas plantas, reduzindo atividade enzimática, dificultando o transporte ativo entre as membranas celulares e, por fim, causando a morte celular. Segundo Cheeseman (2007), o peróxido de hidrogênio pode ser gerado de maneira espontânea, não dependendo somente da enzima SOD. Nesse caso, a elevada atividade da enzima peroxidase (POD) é necessária para proporcionar às plantas um baixo nível de estresse (CHEESEMAN, 2007)

Tabela 3. Teor de peróxido de hidrogênio (H_2O_2 , $\mu\text{mol g}^{-1} \text{MF}$) no ensaio: “Utilização de indutores de resistência associados à fungicida na cultura de soja”. Cultivares TEC 7849 IPRO e Brasmax Desafio RR . Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM). Patos de Minas-MG.

Cultivar	Tratamentos				Média
	Mancozeb	Mancozeb + Ácido salicílico	Mancozeb + Fosfito	Mancozeb + Oxido Nítrico + Fenilalanina + Ácido salicílico	
TEC7849 IPRO	14,75	14,91	15,12	14,24	14,75A
Brasmax Desafio RR	7,36	6,10	5,04	6,41	6,22B
Média	11,05NS	10,50	10,08	10,32	
CV (%)	11,03				
DMS cultivar: 0,74		DMS tratamento: 1,41			

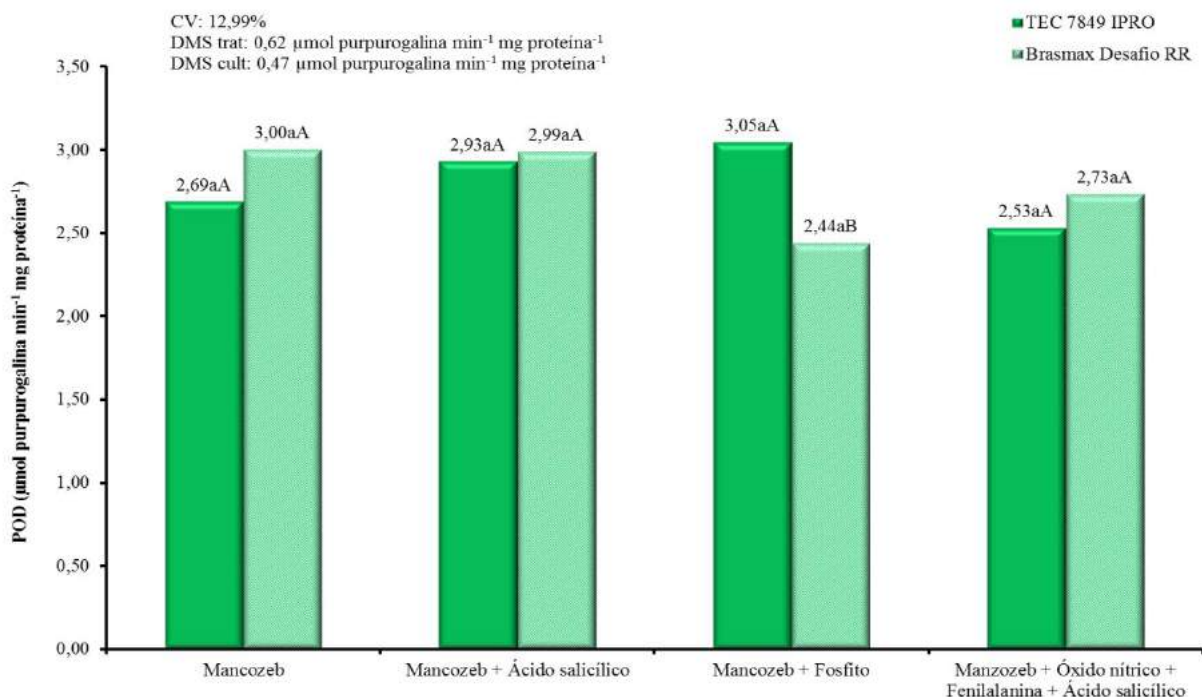
*Letras minúsculas diferem entre si em relação aos tratamentos e as maiúsculas entre cultivares pelo teste Tukey a 5% de significância. NS: não significativo

Atividade da peroxidase (POD)

Analisando a atividade da enzima POD (Figura 1), verificou-se que houve interação entre os fatores. Considerando os tratamentos isolados, percebe-se que não ocorreu diferença estatística entre eles. Quanto ao cultivar Brasmax Desafio RR, nota-se que a maior atividade da enzima POD está no controle (mancozeb). Examinando agora apenas os cultivares, constata-se que ocorreu diferença significativa apenas no tratamento T₃ (Mancozeb + Fosfito), onde o cultivar TEC 7849 IPRO se sobressaiu com ganho de 25%.

Segundo Barreiros, David e David (2006) e Alfenas (1998), a POD é uma enzima de oxidorredução, aceptora específica de hidrogênio, principal responsável pela eliminação do peróxido de hidrogênio através da transformação de H₂O₂ em H₂O + O₂. Em resposta a estresses, a peroxidase tem sua atividade aumentada, pois a proteção das células contra reações oxidativas é sua principal função. Esse fato é comprovado através do tratamento de sementes de melão com fungicidas, que proporcionaram aumento das enzimas antioxidantes, controlando a quantidade de EROs produzida (MACEDO, 2012).

Figura 1. Atividade da peroxidase (POD, μmol purpurogalina min^{-1} mg proteína $^{-1}$) no ensaio: “Utilização de indutores de resistência associados à fungicida na cultura de soja”. Cultivares TEC 7849 IPRO e Brasmax Desafio RR. Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM). Patos de Minas-MG.



*Letras minúsculas diferem entre si em relação aos tratamentos e as maiúsculas entre cultivares pelo teste Tukey a 5% de significância.

Peroxidação lipídica (PL)

Em relação à peroxidação lipídica (Tabela 4), verificou-se que não houve interação entre os fatores. Entretanto, para tratamentos e cultivar analisados

individualmente, foi possível constatar diferenças significativas. Quando se observam os tratamentos, nota-se que o maior nível de peroxidação lipídica ocorreu no controle (mancozeb). Já para os cultivares, é possível perceber que o Brasmax Desafio RR apresentou nível de peroxidação lipídica 22,3% superior a cultivar TEC 7849 IPRO.

Sob condições de estresse aliados a uma baixa atividade de enzimas antioxidantes, temos um acúmulo de EROs, uma vez que os radicais livres gerados não são degradados, gerando danos em ácidos nucleicos, proteínas e membranas celulares, ocasionando a peroxidação lipídica (GILL; TUTEJA, 2010). Portanto, com base na interpretação dos resultados citada acima, o controle (onde não ocorreu a aplicação de indutores de resistência) obteve o maior índice de degradação da membrana, o que realça o efeito dos indutores de resistência na redução do nível de estresse das plantas.

Diversos relatos na literatura indicam que algumas substâncias atuam como sinalizadoras durante o estresse, dentre elas o óxido nítrico atua como moléculas chave de sinalização nas plantas (DURNER; WENDEHENNE; KLESSIG, 1998). O ácido salicílico já tem sido relatado inibindo a atividade de enzimas antioxidantes, durante a indução à resistência a doenças que este promove, com o objetivo de aumentar a concentração de ERRO, as quais funcionam como moléculas sinalizadoras nesta e em outras ações. O fosfito está envolvido na ativação do sistema de defesa natural das plantas, atuando na enzima fenilalanina amônio-liase (PAL) que participa da rota de síntese de flavonoides e ácidos cinâmicos. A fenilalanina, através da ação da enzima fenilalanina amônia-liase (PAL), produz ácido salicílico, que, por sua vez, age como sinalizador de defesa (BUCHANAN; GRUÍSSEM; JONES, 2000). Isso possivelmente explica as reduções de peroxidação lipídica observadas nos tratamentos T₂ (Mancozeb), T₃ (Mancozeb + Ácido salicílico) e T₄ (Mancozeb + Óxido Nítrico + Fenilalanina + Ácido salicílico), quando comparados ao controle.

Tabela 4. Peroxidação lipídica (nmol TBARS g MF⁻¹) no ensaio: “Utilização de indutores de resistência associados à fungicida na cultura de soja”. Cultivares TEC 7849 IPRO e Brasmax Desafio RR. Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM). Patos de Minas-MG.

Cultivar	Tratamentos				Média
	Mancozeb	Mancozeb + Ácido salicílico	Mancozeb + Fosfito	Mancozeb + Óxido Nítrico + Fenilalanina + Ácido salicílico	
TEC 7849 IPRO	16,73	12,36	12,41	12,71	13,55B
Brasmax Desafio RR	18,74	15,97	16,30	15,29	16,57A
Média	17,73a	14,35b	14,16b	14,00b	
CV (%)	8,28				
	DMS cultivar: 0,80		DMS tratamento: 1,52		

*Letras minúsculas diferem entre si em relação aos tratamentos e as maiúsculas entre cultivares pelo teste Tukey a 5% de significância.

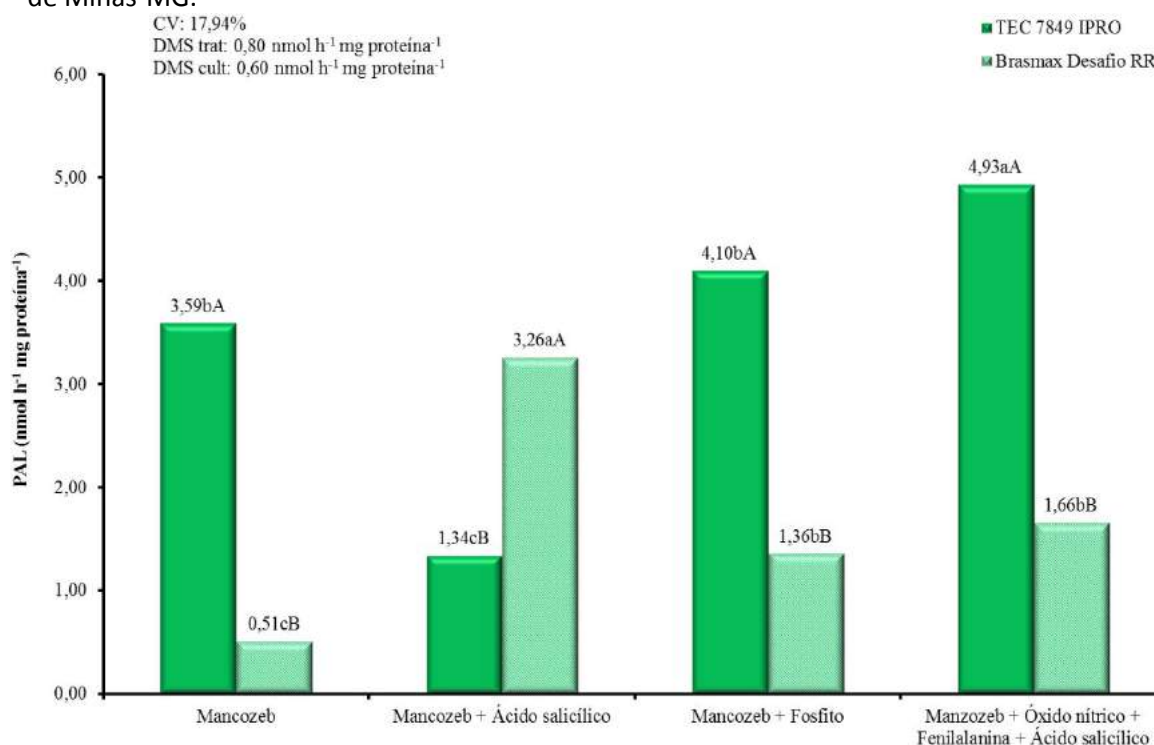
Atividade da fenilalanina amônia-liase (PAL)

Examinando a atividade da enzima PAL, é possível perceber que ocorreu interação do tratamento x cultivar (Figura 2). Dessa maneira, analisando apenas os

cultivares, verifica-se que a TEC 7849 IPRO foi estatisticamente superior a Brasmax Desafio RR em todos os tratamentos, com exceção do T₂ (Mancozeb + Ácido salicílico). Quanto aos tratamentos, percebe-se que a aplicação de mancozeb + óxido nítrico + fenilalanina + ácido salicílico (tratamento T₂) no cultivar TEC 7849 IPRO se destacou com diferença significativa dos demais e com um ganho de 37,3%, comparado a aplicação de mancozeb (T₁). Já para o cultivar Brasmax Desafio RR, observa-se que o T₂ (Mancozeb + Ácido salicílico) se diferenciou estatisticamente dos demais, apresentando um incremento de 539,2% em relação ao controle. As explicações para esses resultados, provavelmente, estão relacionadas com o mecanismo de funcionamento das substâncias que integram o tratamento T₄, onde se aplicou mancozeb + óxido nítrico + fenilalanina + ácido salicílico, verificando o maior nível da enzima PAL.

A classe mais abundante de compostos fenólicos em plantas é proveniente do aminoácido fenilalanina que está relacionado com a síntese de compostos fenólicos de defesa (DENISOV, 2005). A síntese desses compostos provém da fenilalanina, por meio da eliminação de uma molécula de amônia para formar o ácido cinâmico. Essa reação é produto da ação catalizadora da enzima fenilalanina amônia-liase (PAL) sobre a fenilalanina (TAIZ; ZEIGER, 2013), que também produz o ácido salicílico. Além disso, o óxido nítrico induz o acúmulo de ácido salicílico, podendo assim, participar do início da indução de resistência sistêmica adquirida (ARASIMOWICZ; FLORYSZAK-WIECZOREK, 2007).

FIGURA 2. Atividade da fenilalanina amônia-liase (PAL) ($\text{nmol h}^{-1} \text{mg proteína}^{-1}$) no ensaio: “Utilização de indutores de resistência associados à fungicida na cultura de soja”. Cultivares TEC 7849 IPRO e Brasmax Desafio RR. Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM). Patos de Minas-MG.



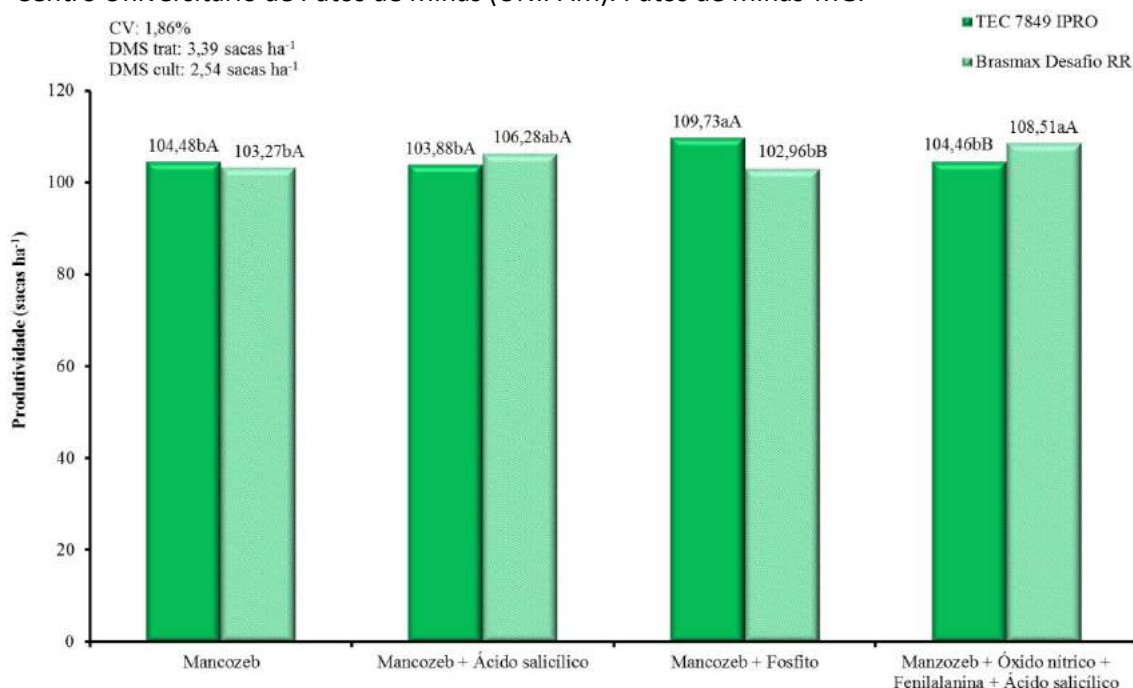
*Letras minúsculas diferem entre si em relação aos tratamentos e as maiúsculas entre cultivares pelo teste Tukey a 5% de significância.

Produtividade

Para a produtividade (Figura 3), percebe-se que houve interação entre os fatores tratamento x cultivar. Analisando apenas os tratamentos para o cultivar TEC 7849 IPRO, constata-se que a aplicação de mancozeb + fosfito (T₃) resultou no maior incremento de 5,25 sacas ha⁻¹ em relação ao controle. Esses resultados podem estar relacionados com a participação do fosfito na ativação de rotas de defesa, atuando na enzima fenilalanina amônio-liase (PAL) que participa da rota de síntese de flavonoides e ácidos cinâmicos (MARSCHNER, 2008). Quanto ao cultivar Brasmax Desafio RR, nota-se que a utilização de mancozeb + óxido nítrico + fenilalanina + ácido salicílico (T₄) proporcionou incremento de 5,07 sacas ha⁻¹ em relação ao Controle. Apesar disso, esse tratamento (T₄) foi estatisticamente igual ao T₂ (Mancozeb + Ácido salicílico). Essa tendência de incremento, possivelmente, pode estar ligada às funções do ácido salicílico, em que têm sido relatados efeitos desse mediando resposta a estresses abióticos como estresse hídrico, estresse por frio, tolerância a metais pesados, altas temperaturas e estresse osmótico (RIVAS-SAN VICENTE; PLASENCIA, 2011).

Referente aos cultivares, nota-se que o TEC 7849 IPRO foi superior estatisticamente em relação ao Brasmax Desafio RR apenas no tratamento T₃ (mancozeb + fosfito). Já o Brasmax Desafio RR demonstrou diferença significativa quando comparado ao TEC 7849 IPRO somente no tratamento T₄ (Mancozeb + Óxido Nítrico + Fenilalanina + Ácido salicílico). Notam-se respostas diferentes de cada cultivar em relação aos tratamentos, tanto em produtividade quanto no metabolismo oxidativo, o que possivelmente está ligado à expressividade genética individual dos cultivares.

FIGURA 3. Produtividade (sacas ha⁻¹) no ensaio: “Utilização de indutores de resistência associados à fungicida na cultura de soja”. Cultivares TEC 7849 IPRO e Brasmax Desafio RR. Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM). Patos de Minas-MG.



*Letras minúsculas diferem entre si em relação aos tratamentos e as maiúsculas entre cultivares pelo teste Tukey a 5% de significância.

CONCLUSÃO

Em função dos resultados obtidos e do que foi discutido, pode-se concluir que o uso de mancozeb + fosfito no cultivar TEC 7849 IPRO apresentou o maior incremento de produtividade, e, também, elevados níveis de atividade da enzima POD e PAL. A utilização de mancozeb + óxido nítrico + fenilalanina + ácido salicílico dentro do cultivar Brasmax Desafio RR obteve o maior ganho em produtividade e baixos níveis de PL. Não foi possível perceber resultados expressivos na interação dos cultivares TEC 7849 IRO e Brasmax Desafio RR.

REFERÊNCIAS

ALEXIEVA, V; SERGIEV, I; MAPELLI, S; KARANOV, E. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell & Environment**, v. 24, p. 1337-1344, 2001.

ALFENAS, A.C. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1998. 574p.

AN, C.; MOU, Z. Salicylic acid and its function in plant immunity. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 53, p. 412-428, 2011.

ARANTES, N.E.; SOUZA, P. I. de M. de. **Cultura de soja nos cerrados**. Piracicaba: POTAFOS, 1993. p. 333-397.

ARASIMOWICZ, M.; FLORYSZAK-WIECZOREK, J. Nitric oxide as a bioactive signalling molecule in plant stress responses. **Plant Science**, v. 172, p. 876-87, 2007.

BALARDIN, R.S.; MADALOSSO, M.G.; STEFANELLO, M.T.; MARQUES, L.N.; DEBORTOLI, M.P. **Mancozebe: muito além de um fungicida**. Porto Alegre: Bookman Editora LTDA, 2017.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre gerações de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BOR, M.F.; ÖZDEMIR, F.; TÜRKAN, I. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L. **Plant Science**, v. 164, p. 77-84, 2003.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.

BUCHANAN, B.B.; GRUÍSSEM, W.; JONES, R.L. *Biochemistry and molecular biology of*

plants. **American Society of Plant Physiologists**, 2000, 1367p.

CHEESEMAN, J.M. Hydrogen peroxide and plant stress: a challenging relationship. **Plant Stress**, v. 1, n. 1, p. 4-15, 2007.

COMPANIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**, v. 6, n. 1, 129p, out. 2018.

COOPER, R. L. A delayed flowering barrier to higher soybean yields. **Field Crops Research**, v. 20, n. 82, p. 27-35, 2003.

DENISOV, E.T. **Oxidation and antioxidants in organic chemistry and biology**. Boca Raton: CRC Taylor & Francis Group, 2005. 981p.

DURNER, J., WENDEHENNE, D., KLESSIG, D.F. Defense gene induction in tobacco by nitric oxide, cyclic GMP, and cyclic ADP-ribose. **Proceedings of the National Academy of Sciences. USA**, v. 95, p. 10328-33, 1998.

ELSTNER, E.; OSSWALD, W. Mechanisms of oxygen activation during plant stress. Proceedings of the Royal Society of Edinburgh. Section B. **Biological Sciences**, v. 102, p. 131-154, 1994.

FERREIRA, E. P. B. *et al.* Produtividade do feijoeiro comum influenciada por plantas de cobertura e sistemas de manejo do solo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 7, p. 695-701, 2011.

GILL, S.S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, Dorchester, v. 48, p. 909-930, 2010.

GUEST, D.; GRANT, B. R. The complex action of phosphonates as antifungal agents. **Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society**, v. 66, n. 2, p. 159-187, 1991.

GULLINO, M.L.; TINIVELLA, F.; GARIBALDI, A.; KEMMITT, G.M.; BACCI, L.; SHEPPARD, B. Mancozeb: Past, Present, and Future. **Plant Disease**, v. 94, p. 1076-1087, 2010.

KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant Physiology**, Rockville, v. 57, p. 315-319, 1976.

MACEDO, A.C. **Efeitos fisiológicos de fungicidas no desenvolvimento de plantas de melão rendilhado, cultivadas em ambiente protegido**. 2012. 65f. Dissertação (Mestrado em Horticultura) - Faculdade de Ciências Agronomicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2012.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. Second Edition. San Diego: Academic Press, 2008. 889p.

PEEL ET AL., M. C. AND FINLAYSON, B. L. AND MCMAHON, T. A. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. Australia, **Hydrology and Earth System Sciences**, v. 11, p. 1633-1644, 2007.

RAMA DEVI, S.; PRASAD, M.N.V. Copper toxicity in *Ceratophyllum demersum* L. (Coontail), a free floating macrophyte: response antioxidant enzymes and antioxidantS. **Plant Science**, Amsterdam, v. 138, p. 157-165, 1998.

RIVAS-SAN VICENTE, M.; PLASENCIA, J. Salicylic acid beyond defense: its role growth and development. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 62, n. 10. p. 1-18, 2011.

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

TEISSEIRE, H.; GUY, V. Copper-induced changes in antioxidant enzymes activities in fronds of duckweed (*Lemna minor*). **Plant Science**, Amsterdam, v. 153, p. 65-72, 2000.

UMESHA, S. Phenylalanine ammonia lyase activity in tomato seedlings and its relationship to bacterial disease resistance. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 34, p. 68-71, 2006.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Disponível em: <http://www.fas.usda.gov/psdonline/psdQuery.aspx>. Acesso em: 25 jan. 2015.

INFLUÊNCIA DO PRÉ E PÓS DIPPING NA QUALIDADE DE LEITE DE BÚFALAS MURRAH

Nayara de Paula Oliveira

Zootecnista pelo UNIPAM.

E-mail: nayarap_oliveira@hotmail.com

Luiz Fernando Rocha Botelho

Professor orientador (UNIPAM).

E-mail: luizfrb@unipam.edu.br

Walber de Oliveira Rabelo

Mestre em Zootecnia pela Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba/MG.

E-mail: walberzoo@hotmail.com

Juliana Borges Pereira

Professora coorientadora (UNIPAM).

E-mail: julianapb@unipam.edu.br

RESUMO: Objetivou-se com este trabalho analisar a influência do *pré e pós dipping* na qualidade de leite de búfalas Murrah. O tratamento realizado no *pré e pós dipping* foi com o sanitizante a base de Ácido láctico, sendo utilizados 7 animais da raça Murrah, no mês de agosto de 2018. Foram realizadas análises físico-químicas de gordura, proteína, densidade acidez em titulação Dornic (Dº) e análises microbiológicas de Contagem de Bactéria Total (CBT), Contagem de Células Somáticas (CCS), a quantificação de Coliformes Totais e Termotolerantes e verificação de presença ou ausência de *Escherichia coli*. Também foi utilizada a análise de mastite via termografia, para a detecção de mastite nos animais. Todas as análises seguiram a metodologia descrita na Instrução Normativa nº 62 (IN/62), de 26 de agosto de 2003, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. As médias dos resultados das análises físico químicas estão todas dentro do padrão estabelecido pela IN/62. Para as análises de CCS e CBT, os valores do tratamento controle apresentaram elevados, porém dentro do permitido pela legislação vigente. Com a utilização do *pré e pós dipping* ocorreu uma redução de 70,86 % na CBT e 57,22% na CCS, mostrando a eficácia do tratamento na redução dos microrganismos. Para as médias dos resultados de coliformes Totais e Termotolerantes não existe regulamentação para os valores permitidos para leite *in natura*. Na verificação de *Escherichia coli*, em todas as amostras foram ausentes. A utilização da termografia para detecção de mastite não teve diferença significativa, pois os animais apresentavam boa saúde do úbere, não sofrendo interferência o tratamento de *pré e pós dipping* sobre a mastite. Diante dos resultados obtidos, pode-se verificar a importância da utilização do *pré e pós dipping* sobre a qualidade microbiológica do leite, garantindo assim a sua qualidade.

PALAVRAS-CHAVE: CBT. CCS. IN 62. Microbiologia. Termografia.

ABSTRACT: The objective of this study was to analyze the influence of *pre* and *post dipping* on milk quality of Murrah buffaloes. The *pre* and *post dipping* treatment was performed using a sanitizer based on lactic acid, in a group of 7 Murrah animals in August, 2018. Analyses of physical and chemical fat, protein, acidity density and Dornic titration (D⁹) were performed as well as microbiological analyzes of Total Bacterial Count (TBC), Somatic Cell Count (SCC), quantification of Total and Thermotolerant Coliforms and the verification of the presence or absence of *Escherichia coli*. Also, it was used the analysis of mastitis via thermography in order to detect mastitis in animals. All analyzes followed the methodology described in the Ministry of Agriculture, Livestock and Food Supply Normative Instruction No. 62, of August 26, 2003. The result averages of the physical chemical analyzes are all within the standard established by the NI/62. For the SCC and TBC analyzes, the values of the control treatment were high, but within the scope allowed by national legislation. With the use of *pre* and *post dipping*, there was a reduction of 70.86% in TBC and 57.22% in SCC, showing the treatment effectiveness in the reduction of microorganisms. For the averages of the results of Total and Thermotolerant coliforms there is no regulation for the allowed values for *in natura* milk. In all samples verified, *Escherichia coli* were absent. For mastitis detection the use of thermography had no significant difference since the animals presented good udder health, and the *pre* and *post dipping* treatment on mastitis did not suffer interference. Based on the results obtained, it is possible to verify the importance of the use of *pre* and *post dipping* on microbiological milk quality, which guarantees its quality.

KEYWORDS: TBC. SCC. IN 62. Microbiology. Thermography.

INTRODUÇÃO

A produção de búfalos no Brasil, a partir dos anos 80\90, apresentou crescente interesse na exploração leiteira, com formação expressiva de produção de leite de búfalos, particularmente no sudeste do país e junto aos maiores centros consumidores (BERNARDES, 2006). Assim, a partir da década de 1980, a produção de leite búfala e derivados concentrou-se, principalmente, em São Paulo. Também são encontradas pequenas bacias leiteiras em Minas Gerais e no Paraná. Antes desse período, a produção do segmento se concentrava somente no Norte (POLO, 2008).

No Brasil, apresenta grande importância para os produtores de pequenas e médias propriedades rurais, sendo considerada uma fonte de alimentos, garantindo a produtividade e a permanência sustentável do homem na zona rural (AMARAL; CARVALHO; SILVA, 2005; NASCIMENTO; CARVALHO, 1993). Esses animais possuem grande potencial para produção de leite, com maior valor nutricional e rendimento industrial quando comparados com o leite de vacas; além de apresentarem maior rusticidade, o que permite a criação em regiões alagadas, as quais são inadequadas para bovinos (AMARAL; CARVALHO; SILVA, 2005).

O leite de búfala apresenta constituintes que o diferenciam de qualquer outro tipo de leite. Além disso, a ausência do β -caroteno na composição química do leite de búfala é o que confere uma de suas características mais marcantes, como coloração

branca. É importante ressaltar que a ausência dessa substância não é considerada um problema nutricional, pois esse alimento é considerado um precursor de vitamina A. O leite de búfala é mais concentrado do que o leite bovino, apresentando, assim, menor teor de água e maior teor de sólidos totais. Outra característica marcante é que possui um sabor bem adocicado, apesar de não possuir mais lactose que o leite bovino e ainda apresenta alto teor de cálcio, o que faz com que seja bastante recomendado para pacientes em tratamento contra osteoporose. (DUBEY; SUMAN; SANYAL, 1997; MACEDO *et al.*, 2001).

Para a comercialização do leite de búfala e de seus derivados, estes devem apresentar boas condições higiênico-sanitárias em todas as etapas de produção, visando evitar a presença de microrganismos patogênicos e/ou deteriorantes nos produtos. Outro ponto importante é que as características sensoriais e físico-químicas sejam avaliadas para garantir produtos com alto valor nutricional, qualidade e alta aceitabilidade pelo mercado consumidor (CUNHA NETO *et al.*, 2005). Ainda não existe uma legislação brasileira específica para qualidade do leite de búfala e seus derivados, então se utiliza a Instrução Normativa 62/2003 – MAPA (BRASIL, 2003), que foi criada para avaliação da qualidade de leite de vaca.

Os princípios de um procedimento de ordenha adequado no momento da ordenha, para garantir a qualidade do leite, incluem higiene do úbere pré-ordenha, estimulação da descida do leite, remoção eficiente do leite e desinfecção do teto pós ordenha (RODOSTITIS *et al.*, 2007). O pré-dipping consiste na desinfecção dos tetos antes da ordenha e visa reduzir o número de bactérias neste local que possam contaminar o leite. O pós-dipping é fundamental para remover a película de leite que permanece no teto após a retirada do conjunto de ordenha e auxilia na prevenção de infecções neste canal (ZSCHÖCK *et al.*, 2011).

Novas tecnologias de precisão têm sido desenvolvidas com o objetivo de melhorar o manejo dos rebanhos leiteiros e mensurar os indicadores produtivos, comportamentais e fisiológicos em benefício da saúde, produtividade e bem-estar animal (STEENEVELD; VERNOOIJ; HOGVEEN, 2015). Outro fator que pode alterar a composição do leite são as células somáticas, representadas pelos leucócitos (glóbulos brancos do sangue) e células epiteliais provenientes da esfoliação dos ácidos galactóforos do úbere, cisterna mamária e cisterna do teto, que são eliminadas no leite durante o curso normal da lactação (GALIERO; MORENA, 2000).

Visando sempre a importância de produzir um leite de qualidade e de forma segura para o consumidor e sem afetar a saúde do animal, é importante a utilização de técnicas como *pré* e *pós dipping*, a fim de melhorar a qualidade higiênico-sanitária do leite e melhorar a saúde do úbere do animal, evitando casos de mastite. Portanto, objetivou-se com este estudo investigar a influência do *pré* e *pós dipping* sobre a qualidade do leite de búfalas Murrah, avaliando também a interferência da termografia na detecção precoce da mastite..

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi submetido e aprovado através do protocolo de número 109\18 pela Comissão de Ética para Uso de Animais – CEUA do Centro Universitário de Patos

de Minas – Unipam.

O experimento foi realizado em uma fazenda localizada no Município de Rio Paranaíba – Minas Gerais, onde houve a coleta das amostras que foram direcionadas ao Laboratório de Fitopatologia e Microbiologia do bloco H do Centro Universitário de Patos de Minas e para Clínica do Leite em Piracicaba – SP, no período de julho a agosto de 2018.

Os animais foram mantidos em piquetes com *Braquiária decumbens* recebendo suplementação mineral. Os piquetes eram arborizados com disponibilidade de duas represas e bebedouros para garantir bem-estar dos animais.

Foram avaliadas amostras de leite oriundas de sete búfalas da raça Murrah, em estágio de lactação de 80 a 110 dias, com peso médio corporal de 700 a 750 quilos. A ordenha é realizada uma vez ao dia, às 6h30min, com bezerro ao pé.

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado constituído de dois tratamentos (tratamento 1: controle sem *pré* e *pós dipping* e tratamento 2: utilização de *pré* e *pós dipping* à base de ácido lático) e 7 repetições, sendo que os animais foram considerados as repetições. Para evitar a influência do animal no estudo, cada animal recebeu os dois tratamentos, sendo que todos os animais nos tetos do lado esquerdos pegando um teto do anterior e um teto do posterior esquerdo caracterizaram o tratamento 1 e os tetos direito pegando um teto anterior e um posterior do lado direito caracterizam o tratamento 2 em todos os animais.

As amostras foram coletadas diretamente nos frascos estéreis de 250 ml, logo após a ordenha individual às 6h30min em temperatura ambiente e, posteriormente, acondicionadas em caixas isotérmicas. As amostras foram encaminhadas aos laboratórios para análises físico-químicas e microbiológicas, onde foram analisadas em triplicata. No dia das coletas de leite foram coletadas imagens da porção anterior do úbere dos animais com a câmera termográfica pontual - 25 a 380°C - FLIR | TG165 para observar se ocorre relação entre a termografia com o índice de contaminação microbiana.

As análises de contagem bacteriana ocorreram no Laboratório de Fitopatologia e Microbiologia, no primeiro piso do bloco H do Centro Universitário de Patos de Minas.

Para a quantificação dos coliformes totais e termotolerantes foram diluídos 10 ml do leite em tubos de ensaio contendo tubos de duran e o caldo lauril duplo (LAUD), em seguida foram levados para incubação a 36°C por 24 horas. Também foi diluído 1 ml e 0,1 ml do leite cru em tubos de ensaio contendo tubos de duran e o caldo lauril simples (LAUS) e incubados no período de 24 horas a 36°C. Após o período de incubação, as soluções contendo 10 ml, 1 ml e 0,1 ml dos tubos de LAUD e LAUS foram transferidas através de uma alçada calibrada de 0,001 ml para os tubos de ensaio pequenos contendo o caldo verde brilhante (VB) e foram incubados a 36°C por 24 horas, sendo realizada a quantificação de coliformes totais. Essas mesmas soluções também foram transferidas para tubos de ensaios com caldo EC, onde foram incubados em banho maria em uma temperatura de 45°C por 24 horas, para quantificação de coliformes termotolerantes.

Para a verificação da presença ou ausência de *E.coli*. foi utilizada solução já diluída e incubada no meio caldo verde brilhante (VB). As amostras foram transferidas por meio de uma alçada calibrada de 0,001 ml e realizando estrias para o meio ágar

eosina azul de metileno (EMB). Após esse procedimento as placas foram incubadas na estufa bacteriológica por 24 horas a 36°C. No caso que houve suspeita de colônias enegrecidas verde brilhante, foi realizada a coloração Gram e, posteriormente, a confirmação através da visualização em microscópio óptico.

As análises físico-químicas: gordura, densidade, proteína, determinação da acidez por titulação (acidez Dornic), análise de contagem bacteriana total (CBT) e contagem de células somáticas (CCS) ocorreram na Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz- Clínica do Leite em Piracicaba – SP. As análises foram realizadas de acordo com a metodologia preconizada pelo Instituto Adolfo Lutz (2008) para normas analíticas, métodos químicos e físicos para análise de alimentos.

Os dados referentes às análises físico-químicas, CCS, CBT e da pesquisa de presença de microrganismos foram analisados de forma descritiva e comparativa com a Instrução Normativa 62/2003 – MAPA (BRASIL, 2003), pois não existe legislação brasileira específica para leite de búfala e seus derivados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados encontrados nas análises físico-químicas das amostras de leite de búfala estão expressos na Tabela 1, onde podem ser observados os valores referentes à composição do leite da fazenda.

Tabela 1: Caracterização físico-química do leite de Búfalas Murrah da Fazenda Arcos - Rio Paranaíba -MG

	Gordura %	Densidade g/ml	Proteína%	Dornic Dº
Encontrado	6,97	1,0325	3,64	16,14º
IN 62/2003*	5,4 a 8	1,025 a 1,047	3,6 a 5,26	14 a 23º

IN 62/2003 = Instrução Normativa 62/2003 – MAPA (BRASIL, 2003).

O valor médio encontrado para o teor de gordura (6,97%) está de acordo com a legislação vigente para leite, o que se assemelha com valores encontrados por outros autores estudando a mesma espécie, de 6,60% (FURTADO, 1980) e de 6,50% (TOLEDO et al., 1998). Já Nander Filho *et al.* (1984) encontraram um valor igual a 7,83 %, superior a este estudo, porém, dentro do esperado. Várias são as causas responsáveis pela grande variação do teor de gordura nos valores percentuais, uma vez que componentes como nutrição, genética, estágio de lactação e número de lactação, entre outros fatores, podem influenciar gradativamente essa porcentagem.

O valor encontrado para densidade (1,0325 g/ml), ao avaliar o mix de amostra de leite, também se manteve dentro do esperado. De acordo com Walstra e Jenness (1987), a densidade sofre alterações em função das variações dos componentes do leite, principalmente gordura, pois teores mais elevados desses componentes proporcionam densidades menores. O fato do teor de gordura apresentar dentro dos valores preconizados pela legislação vigente explica a padronização da densidade.

O teor médio de proteína expresso na Tabela 1 foi 3,64%, sendo este valor próximo aos obtidos por Toledo *et al.* (1998), que encontraram 3,77%. Os teores de proteína podem ser influenciados por fatores como ambiente e alimentação. Em estudo realizado na China por Yang *et al.* (2006) com leite de búfalas da raça Murrah, o

valor encontrado variou entre 4,97% e 5,15%, superior ao atual estudo.

Valor satisfatório também foi encontrado para a acidez por titulação, ou também denominada acidez Dornic (16,14^o). (BRASIL, 2002) caracteriza o leite normal com a acidez de 14 a 18^oD. Teixeira, Bastianetto e Oliveira (2005), avaliando resultados de vários autores, relataram que a acidez encontrada em diversos trabalhos variou entre 14 e 20^oD, sendo assim, em alguns casos, acima dos padrões regulamentados para o leite. Em 1994, foi publicado no Diário Oficial da União o valor para acidez titulável para leite de búfalas, correspondendo entre 14 a 23^oD. Portanto, o valor apresentado de 16,14^oD está dentro dos padrões aceitos.

Os resultados encontrados para as análises de Contagem de Células Somáticas (CCS) e Contagem de Bactéria Total (CBT) do leite de búfalas estão apresentados pela Tabela 2, onde podem ser observados os valores referentes à qualidade higiênico-sanitária do leite.

Tabela 2: Contagem bacteriana total (CBT) e Contagem de células somáticas (CCS) do leite de Búfalas Murrah

Tratamento	CBT UFC/ml	CCS /ml
Controle	101.570	978.430
Ácido láctico	8.570	176.710
Permitido (IN 62/2003)	300.000	500.000
Redução	70,86%	57,22%

IN 62/2003 = Instrução Normativa 62/2003 – MAPA (BRASIL, 2003); UFC – Unidades Formadoras de Colônias.

Os valores expressos pela Contagem de Bactéria Total, no tratamento controle, indica uma contaminação do leite, no entanto, quando se utiliza o *pré e pós dipping*, a redução dos microrganismos presentes no leite foi muito satisfatória, perfazendo a redução de mais de 70% da contaminação. Saran Netto *et al.* (2009) destacam a higiene dos tetos como fator mais importante no momento da ordenha. Battaglini (2013) recomenda a utilização da prática de *pré-dipping*, podendo diminuir até 99,5 % da microbiota. Sendo assim, os índices mencionados na tabela 2 determinam a eficácia do método do *pré e pós dipping* na diminuição de microrganismos do leite.

Já quanto à Contagem de Células Somáticas, com o tratamento controle, o valor apresenta bastante elevado, porém, mesmo trazendo valores acima do preconizado pela legislação, o valor não é considerado como índice indicativo de mastite (COSTA FILHO *et al.*, 2015). O leite bubalino apresenta como característica uma baixa contagem de células somáticas (CCS) quando comparado com rebanhos bovinos de alto padrão de qualidade (JORGE *et al.*, 2005). Em búfalas, Galiero e Morena (2000) consideram a CCS no leite normal até 100.000 cels/ml. Já no presente estudo, ao utilizar o ácido láctico como desinfetante, ocorreu uma redução de 57,22%, estando abaixo do limite máximo permitido, enfatizando a importância do procedimento de higienização e eficácia do produto.

Como pode ser observado na Tabela 3, ocorreu em ambos os tratamentos a presença de coliformes totais e termotolerantes. Já para a verificação de *Escherichia coli*, todas as amostras apresentaram ausente este microrganismo.

De acordo com a Resolução de Diretoria Colegiada - RDC 12, de 02 de janeiro

de 2001, para a qualidade microbiológica de alimentos, no leite *in natura*, não tem especificações para a quantidade permitida de Coliformes Totais e Termotolerantes. Tal fato se repete com a Instrução Normativa IN\62, que também não possui padronização para os valores de coliformes totais e Termotolerante, para leite *in natura*.

Tabela 3 - Média dos resultados das análises microbiológicas das amostras de leite de búfalas *in natura*

Tratamentos	Coliformes Termotolerantes (NMP/ml)	Coliformes Totais (NMP/ml)	<i>Escherichia coli</i>
Controle	1,01	0,24	ausente
Ácido Lático	0,12	0,05	ausente
Redução	88,12%	79,17%	ausente

NMP – Números mais prováveis; UFC – Unidade Formadora de Colônias.

Porém, a presença desses microrganismos é preocupante, uma vez que os coliformes são indicadores de contaminação do ambiente e das fezes (BRITO; BRITO; PORTUGAL, 2002), evidenciando a importante contribuição da higiene do momento da ordenha para a contagem bacteriana total do leite. Os Coliformes Termotolerantes, quando presentes no alimento, fornecem informação sobre a ocorrência de contaminação de origem fecal e a provável presença de microrganismos patogênicos, como a *Escherichia coli*.

Vale ressaltar que, ao se avaliar o tratamento de assepsia, obteve-se uma redução de 88,12% e 79,17% para coliformes termotolerantes e coliformes totais, respectivamente. Tal fato comprova a eficiência e importância da utilização de *pré* e *pós dipping*.

Ao se avaliarem as imagens de termografia, pôde-se perceber que não houve diferença de temperatura entre os tetos que receberam tratamento controle e os tetos que receberam tratamento com utilização do ácido lático. Tal situação provavelmente se dá pelo fato da ausência da caracterização da mastite, portanto, sem ação inflamatória.

CONCLUSÃO

Diante dos resultados encontrados nesta pesquisa, é possível concluir que a utilização do tratamento *pré e pós dipping* é satisfatória para a qualidade higiênico-sanitária do leite, diminuindo consideravelmente a contaminação por microrganismo, obtendo, assim, uma matéria-prima de excelente qualidade.

REFERÊNCIAS

AMARAL, F.R.; CARVALHO, L.B.; SILVA, N. *et al.* Qualidade do leite de búfalas: composição. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 29, p. 106-110, 2005.

BATTAGLINI, A.P.P. *et al.* Difusão de boas práticas e caracterização de propriedades leiteiras. **Arquivos de Zootecnia**, Londrina, v. 62, n. 237, p. 151-154, 2013.

BERNARDES, O. Os Búfalos no Brasil. In: II SIMPÓSIO DE BÚFALO DE LAS AMÉRICAS E, II SIMPÓSIO EUROPA-AMÉRICA, 2006, Medellín, **Proceedings.**, Medellín/Colômbia, v. 3, p. 18-23, CD ROM, 2006.

BRASIL, Ministério de agricultura, Pecuária e Abastecimento Secretaria de Defesa Agropecuária. **Instruções Normativas nº 51 de 18 de Setembro de 2002.** Diário Oficial da União, 20 set. 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Instrução Normativa 62, de 26 de agosto de 2003.** Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. 2003.

BRITO, M.A.V.P.; BRITO J.R.F.; PORTUGAL J.A.B. Identificação de contaminantes bacterianos no leite cru de tanques de refrigeração. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 57, p. 47-52, 2002.

COSTA FILHO, M.H.B. *et al.* Sazonalidade e variação na qualidade do leite de búfalas no rio Grande do Norte. **Acta Veterinária Brasileira**, Mossoró, v. 3, n. 8, p. 201-208, 2015.

CUNHA NETO, O.C.; OLIVEIRA C.A.F; HOTTA, R.M.; SOBRAL, P.J.A. Avaliação do iogurte natural produzido com leite de búfala contendo diferentes níveis de gordura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 3, n. 25, p. 448-453, jul./set., 2005.

DUBEY, P. C.; SUMAN, C. L.; SANYAL, M. K. *et al.* (sic) Factors affecting composition of milk of buffaloes. **Indian Journal of Animal Sciences**, v. 67, n. 9, p. 802-804, 1997.

FURTADO, M.M. Composição centesimal do leite de búfala na zona da mata mineira. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes (ILCT)**, v. 35, n. 211, p. 43-47, 1980.

GALIERO G, MORENA C. The meaning of the somatic cell count in buffalo milk. **BUBALUS BUBALIS**, n. 4, p. 26-27, 2000.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz.** v. 1: métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 4. ed. São Paulo: IMESP, 2008.

JORGE, A.M., *et al.* Correlações entre o Califórnia Mastites Test e a Contagem de células somáticas do leite de búfalas Murrah. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 6, p. 2039-2045, 2005.

MACEDO, M. P., WECHSLER, F. S., RAMOS, A. A., AMARAL, J. B., SOUZA, J. C., RESENDE, F. D., OLIVEIRA, J. V. Composição físico-química e produção do leite de búfalas da raça Mediterrâneo no Oeste do Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, n. 3, supl. 1, maio 2001.

NADER FILHO, A., SCHOKEN-ITURRINO, R.P., ROSSI JUNIOR *et al.* Influência do teor de proteínas totais na acidez e pH do leite de búfala. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes (ILCT)**, v. 3, n. 231, 1984.

NASCIMENTO, C.N.B., CARVALHO, L.O.D.M. **Criação de búfalos**: alimentação, manejo, melhoramento e instalações. EMBRAPA-CPATU. Brasília: EMBRAPA-SPI, 403p., 1993.

POLO, E. Produção de leite de búfalas cresce para atender indústrias. **Diário Comércio e Indústria**, São Paulo, 22 jul. 2008. Disponível em:
<http://www.zoonews.com.br/noticiax.phpidnoticias=145602>. Acesso em: 15 ago. 2018.

RODOSTISTS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCUFF, K. W. **Clínica Veterinária** – um tratado de doenças de bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos. São Paulo: Guanabara Koogan, 2007.

SARAN NETTO, A. S. *et al.* Estudo comparativo da qualidade do leite em ordenha manual e mecânica. **Revista do Instituto de Ciências da Saúde**, p. 345-349, 2009.

STEENEVELD, W.; VERNOOIJ, J. C. M.; HOGVEEN, H. Effect of sensor systems for cow management on milk production, somatic cell count, and reproduction. **Journal Dairy Science**, v. 98, p. 3896-3905, 2015.

TEIXEIRA, L.V.; BASTIANETTO, E.; OLIVEIRA, D.A.A. Leite de búfala na indústria de produtos lácteos. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, Belo Horizonte, MG, v. 29, n. 2, p. 96-100, abr./jun. 2005.

TOLEDO, L.T., TONHATI, H., OLIVEIRA, J.F.S. *et al.* Produção e composição físicoquímica do leite de búfalas na região do Vale do Ribeira, Estado de São Paulo. *In*: **REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA**, 35. Botucatu: SBZ, 1998, p. 282-284, 1998.

WALSTRA, P.; JENNESS, R. **Química y física lactológica**. Zaragoza: Acribia, 1987. 423p.

YANG, Y. X., DONG, X. F., LI, L. L., REN, F. Z., HAN, B. Z. Analysys of the microbiological and chemical composition of buffalo milk in Yannan province of China. *In*: ASIAN BUFFALO CONGRESS ON SOCIAL ECONOMIC CONTRIBUTION OF BUFFALO TO RURAL AREAS, 5. 2006, Nanning. **Proceedings**. Nanning: ASIAN BUFFALO ASSOCIATION, v. 1, p. 311-316, 2006.

ZSCHÖCK, M.; EL-SAYED, A.; EISSA, M.; LÄMMLER, C., CASTAÑEDAVAZQUEZ, H. Resistencia a penicilina G y oxacilina, de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de mastitis bovina subclínica. **Veterinária México**, Coyoacán, v. 42, n. 3, p. 207-217, 2011.

VIABILIDADE ECONÔMICA DA PRODUÇÃO DE BEZERROS POR INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO (IATF) COM REPASSE E MONTA NATURAL

Rogério Amorim dos Reis

Mestrando em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa (UFV).

E-mail: rogerioar@unipam.edu.br

Larissa de Melo Coelho

Mestranda em Zootecnia pela Universidade Estadual Paulista (Unesp/Jaboticabal).

E-mail: larissamc@unipam.edu.br

Tainara Luana da Silva Soares

Zootecnista pelo UNIPAM.

E-mail: tainaraluana3m@hotmail.com

Adriane Aparecida Galvão Ferreira

Graduanda do curso de Zootecnia (UNIPAM).

E-mail: adrianeferreira3485@gmail.com

Gilson Passos de Moraes

Professor orientador (UNIPAM).

E-mail: gilsonpm@unipam.edu.br

RESUMO: O investimento em tecnologias que propiciem aumentos produtivos na cadeia bovina é de extrema importância para o crescimento da pecuária sustentável. Sendo assim, objetivou-se verificar o retorno financeiro obtido pela produção de bezerros por meio da inseminação artificial em tempo fixo (IATF) aliada ao repasse em comparação à monta natural, por meio da coleta de dados provenientes da fazenda Cruzeiro. A IATF obteve melhores índices produtivos comparada à monta natural, proporcionando maior retorno financeiro à atividade, sendo responsável por incrementos de 227,6% e 27,8% para as estações de monta de 2015/16 e 2016/17, respectivamente.

PALAVRAS-CHAVE: Carne. Custos. Pecuária.

ABSTRACT: Technological investments that allow production increase are important to guarantee sustainable growth of cattle breeding. The objective was to verify the financial return obtained by the production of calves by means of fixed-time artificial insemination (FTAI) combined with the transfer compared to natural service, through data collection in Cruzeiro farm. FTAI productive rates were greater than NS, providing greater financial return to the activity, accounting for 227.6% and 27.8% increments for the 2015/16 and 2016/17 breeding seasons, respectively.

KEYWORDS: Meat. Costs. Livestock.

INTRODUÇÃO

O investimento em tecnologias que propiciem aumento na eficiência reprodutiva de vacas de corte é um fator de extrema importância para o crescimento da pecuária sustentável. Pode-se definir eficiência reprodutiva como a habilidade de emprenhar uma vaca o mais rápido possível com o mínimo de coberturas necessárias, o que está diretamente ligado à produção de bezerros e aos custos para sua obtenção, sendo um dos fatores que mais contribui para melhorias no desempenho e lucratividade do rebanho (GROHN; RAJALA-SCHULTZ, 2000).

Dentre as tecnologias reprodutivas, o uso da monta natural tem como principal vantagem a eliminação da mão de obra e é a prática reprodutiva comumente utilizada no rebanho brasileiro (FONSECA; FRANCO; BERGMANN, 2000), sendo responsável por mais de 95% dos bezerros nascidos. Sua maior praticidade está relacionada ao fato de que o touro permanece juntamente com as fêmeas, identificando e cobrindo aquelas que estão no estro (cio) sem que ocorra intervenção humana.

Já a inseminação artificial (IA) consiste na deposição mecânica do sêmen no aparelho reprodutivo da fêmea através da utilização de equipamentos desenvolvidos para esse propósito. Essa técnica busca o melhoramento genético dos animais por meio da disseminação da genética de reprodutores de maior valor zootécnico por um preço mais acessível, quando comparado ao uso de touros, possibilitando abranger um maior número de rebanhos, sendo, portanto, a biotecnologia que mais impacta na reprodução e melhoramento genético dos animais. Além da IA, contamos também com a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), na qual é utilizada a combinação de protocolos hormonais associados à IA buscando sincronizar a ovulação das fêmeas, possibilitando a inseminação de uma grande quantidade de vacas em um dia pré-determinado (MATOS, 2009).

Portanto, sabendo-se que a reprodução é fundamental para a cadeia produtiva da carne, torna-se necessário verificar sua eficiência, buscando maximizar o desfrute, garantindo o giro financeiro da propriedade (BARUSELLI; REIS; MARQUES, 2004). Nesse sentido, além dos índices reprodutivos, podemos incluir na avaliação da eficiência reprodutiva a gestão de custos com a reprodução, que, segundo Oliveira *et al.* (2008), tem como função auxiliar no processo de tomada de decisões através do fornecimento de dados confiáveis para a escolha da melhor estratégia a ser adotada.

Em decorrência do impacto financeiro causado pelo avanço tecnológico nos processos produtivos, houve a necessidade de maior controle da gestão dos custos. Diante disso, foram desenvolvidos sistemas de custeio com intuito de fornecerem informações que auxiliem na tomada de decisões, os quais evoluíram juntamente com a adoção de novas formas administrativas e com as mudanças tecnológicas (SOUZA; CLEMENTE, 1998), devendo gerar informações úteis ao processo de planejamento e controle (ABBAS, 2001).

A partir da aplicação dos conceitos básicos da contabilidade clássica, desenvolveu-se o método de custeio por absorção, o qual consiste na apropriação de todos os custos de produção bem como os demais gastos relativos ao esforço empregado na produção dos produtos (MARTINS, 2003), implicando na separação de

custos e despesas, e a consequente apropriação destes, por meio de rateio, aos produtos (KAPLAN; COOPER, 1998).

Os custos variáveis têm sua variação ligada diretamente ao volume total produzido, permanecendo fixo em relação à unidade, ou seja, quando a produção aumentar, os custos variáveis por unidade permanecerão os mesmos, no entanto, o custo total variável irá aumentar (OLIVEIRA *et al.*, 2008; MARTINS, 2006). Além do custo variável, devemos considerar também o custo de oportunidade, o qual é proveniente da Teoria Econômica e, conforme descrito por Pereira e Oliveira (2006), representa a renda líquida gerada por esse fator em seu melhor uso alternativo.

Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi verificar o retorno econômico obtido pela produção de bezerros (as) através da análise de custos para utilização da IATF com repasse de touros em comparação à monta natural.

MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido por meio de um estudo de caso da Fazenda Cruzeiro, situada no município de Uberlândia – MG, da qual foram utilizados dados relacionados ao custo de oportunidade, bem como os custos operacionais para execução da IATF, aliada ao repasse com touros, e dados relacionados apenas ao uso da monta natural. Esses manejos reprodutivos são trabalhados durante a estação de monta, a qual tem duração de 90 dias, iniciando em 01 de dezembro e sendo encerrada em 01 de março do ano subsequente.

Os animais são mantidos em pastagem de *Brachiaria decumbens*, sob lotação contínua, durante todo o ano, recebendo suplementação mineral *ad libitum*, com 90 g de fósforo por kg do produto durante a estação de monta e 60 g de fósforo por kg do produto, fora da estação de monta.

O rebanho analisado era constituído, em média, por 295 matrizes da raça nelore por ano, aptas a reprodução, com peso corporal médio de 420 kg e idade entre três e oito anos e dez touros também da raça nelore com peso corporal médio de 740 kg e idade de dois a sete anos, os quais foram submetidos ao exame andrológico 60 dias antes da estação de monta. Do total de matrizes presentes no rebanho em 2016, 150 foram submetidas à monta natural juntamente com oito touros e 120 matrizes, submetidas à IATF. No ano seguinte, para monta natural foram utilizadas 180 matrizes juntamente com oito touros e 140 foram submetidas à IATF. Posteriormente à IATF, as fêmeas trabalhadas nesse manejo, nas duas estações de monta, foram repassadas, sendo utilizados dois touros no repasse. Os touros eram inseridos juntamente às fêmeas 20 dias após a inseminação, permanecendo até o final de estação de monta.

O protocolo hormonal adotado pela propriedade para sincronização da ovulação das fêmeas trabalhadas em IATF consistia em quatro manejos, sendo realizado o implante do dispositivo intravaginal de liberação de progesterona e a aplicação de 2,0 ml de benzoato de estradiol no primeiro manejo (dia 0 - D0). No dia sete (D7), foi feita a aplicação de 2,5 ml de prostaglandina nos animais e, no terceiro manejo, realizado no dia nove (D9) do protocolo hormonal, além da retirada do implante intravaginal de liberação de progesterona, foram administrados 2,5 ml de

prostaglandina em todas as fêmeas trabalhadas mais 0,5 ml de cipionato de estradiol para as vacas, e a metade dessa dose para as novilhas. Passadas 48 horas da retirada do implante de progesterona, fez-se a IATF em todos os animais, sendo este o último manejo do protocolo, realizado no dia 11 (D11).

A fazenda adotava como taxa de reposição anual 15% para as matrizes, tanto em regime de monta natural quanto em IATF, e 20% para os touros. As fêmeas eram mantidas no rebanho durante cinco anos, sendo incorporadas com três anos e descartadas aos oito anos, tendo em média 4,5 partos na vida produtiva.

O valor de venda dos bezerros produzidos foi calculado sobre o peso médio destes, sendo que os bezerros produzidos por monta natural foram desmamados com pesos médios de 230 kg e 237 kg para machos e 205 kg e 211 kg para fêmeas nas estações de monta 2015/16 e 2016/17, respectivamente, ao passo que os bezerros de IATF mais repasse, com peso médio de 260 kg e 262 kg para machos e 235 kg e 240 kg para fêmeas.

Os dados relacionados ao custo de manutenção do sistema de produção coletados foram tabelados e os dados comuns às duas técnicas reprodutivas estão contidos na tabela 1.

Tabela 1 - Custos relacionados à manutenção e comercialização dos animais submetidos à monta natural (MN) e à IATF, e custo da mão de obra anual, nas estações de monta 2015/16 e 2016/17

Descrição	VALOR (R\$)	
	2015/16	2016/17
MANUTENÇÃO - MN/IATF		
Pastagem/fêmea parida ¹	R\$30,00	R\$35,00
Pastagem/touro ¹	R\$40,00	R\$42,00
Mineralização ¹	R\$0,70	R\$0,85
Vacinas/vermífugos/ectoparasiticidas ²	R\$8,50	R\$9,70
Mão-de-obra ¹	R\$1.800,00	R\$1.950,00
Diagnóstico de gestação/ultrasonografia ³	R\$10,00	R\$12,00
COMERCIALIZAÇÃO DE ANIMAIS		
Fêmeas reposição	R\$1.890,00	R\$1.820,00
Fêmeas descarte	R\$1.300,00	R\$1.400,00
Touros reposição	R\$6.500,00	R\$7.500,00
Touros descarte	R\$3.125,00	R\$3.000,00
Bezerros desmamados – MN ⁴	R\$1.150,00	R\$1.200,00
Bezerras desmamadas – MN ⁴	R\$950,00	R\$1.050,00
Bezerros desmamadas – IATF ⁴	R\$1.300,00	R\$1.350,00
Bezerras desmamados – IATF ⁴	R\$1.120,00	R\$1.150,00
CUSTO DE MÃO DE OBRA ANUAL		
Décimo terceiro	R\$1.800,00	R\$1.950,00
Férias	R\$2.400,00	R\$2.600,00
Salário anual ⁵	R\$21.600,00	R\$23.400,00
TOTAL	R\$25.800,00	R\$27.950,00

¹ Valores mensais; ² Valor semestral; ³ Valor por matriz; ⁴ Valores de comercialização em abril do ano de desmama; ⁵ Obtido através do cálculo de multiplicação do salário mensal por 12. FONTE: dados da propriedade.

O cálculo do custo de mão de obra foi realizado através da multiplicação do salário mensal do funcionário, acrescido de férias e décimo terceiro, obtendo-se o valor total gasto com mão de obra anualmente. Esse cálculo foi realizado para que pudesse chegar ao valor, em reais, de mão de obra por animal produzido anualmente, visto que o fato de ocorrerem partos com frequência na estação de parição levaria a complicações para o cálculo de custo de mão de obra mensal.

Os valores gastos anualmente com a produção dos touros e matrizes mantidos em regime de monta natural (tabela 2) bem como das matrizes mantidas em IATF (tabela 4) foram realizados através das seguintes fórmulas, onde 12 e 2 representam meses e semestres, respectivamente:

- pastagem: (nº de animais*R\$ animal/mês)*12;
- mineralização: (nº de animais*R\$ animal/mês)*12;
- vacinas/vermífugos/ectoparasiticidas: (nº de animais*R\$ animal/semestre)*2;
- mão de obra: [(nº de animais*R\$/animal/ano) + (nº de animais*R\$ ultrassonografia/animal) + (nº de matrizes em monta natural ou IATF*R\$ diagnóstico de gestação)];
- animais de reposição: (nº de animais*taxa de descarte)*R\$ animal de reposição;
- animais de descarte: (nº de animais*taxa de descarte)*R\$ animal de descarte.

Tabela 2 - Valores anuais relacionados à produção dos animais submetidos à monta natural, nas estações de monta 2015/16 e 2016/17

Descrição	VALOR (R\$)	
	2015/16	2016/17
MANUTENÇÃO DE TOUROS		
Pastagem	R\$3.840,00	R\$4.032,00
Mineralização	R\$67,20	R\$81,60
Vacinas/vermífugos/ectoparasiticidas ¹	R\$136,00	R\$155,20
Mão-de-obra	R\$399,23	R\$333,73
Animais de reposição	R\$10.400,00	R\$12.000,00
Animais de descarte	R\$5.000,00	R\$4.800,00
Total²	R\$9.842,43	R\$11.802,53
MANUTENÇÃO DE MATRIZES		
Pastagem	R\$54.000,00	R\$75.600,00
Mineralização	R\$1.260,00	R\$1.836,00
Vacinas/vermífugos/ectoparasiticidas ¹	R\$2.550,00	R\$3.492,00
Mão-de-obra	R\$10.485,49	R\$11.828,96
Animais de reposição	R\$42.525,00	R\$49.140,00
Animais de descarte	R\$29.250,00	R\$37.800,00
Total²	R\$81.570,49	R\$104.096,96
MANUTENÇÃO DOS BEZERROS (AS) – 08 MESES		
Mineralização	R\$509,60	R\$850,85
Vacinas/vermífugos/ectoparasiticidas ¹	R\$884,00	R\$1.387,10
Mão-de-obra	R\$5.189,94	R\$5.965,45
Total	R\$6.583,94	R\$8.203,40
TOTAL DE CUSTOS	R\$97.996,46	R\$124.102,88

¹ Para vacinas/vermífugos/ectoparasiticidas, considerar uma aplicação por semestre para cada animal; ² Total obtido pela soma de todos os custos relacionados à manutenção do sistema de produção menos o valor adquirido com o descarte de animais (Total = soma dos custos – descarte de animais). FONTE: dados da propriedade.

Para cálculo da manutenção dos bezerros (as) produzidos (as) nesses sistemas, foram utilizadas as mesmas fórmulas, no entanto, foram adequadas quanto ao período pelo qual estes eram mantidos na fazenda e estão descritas a seguir:

- mineralização: $(n^{\circ} \text{ de animais} * R\$ \text{ animal/mês}) * 7$;
- vacinas/vermífugos/ectoparasiticidas: $(n^{\circ} \text{ de animais} * R\$ \text{ animal/semestre})$;
- mão de obra: $(n^{\circ} \text{ de animais} * R\$/\text{animal/ano})$.

Para a mineralização, sabendo que no primeiro mês de vida o principal alimento consumido pelo bezerro é o leite, adotaram-se sete meses para fins de cálculo e para os custos com vacinas/vermifugações/ectoparasiticidas utilizou-se apenas o valor deste por animal multiplicado pela quantidade de animais, visto que estes são comercializados aos oito meses e esse manejo é realizado apenas duas vezes ao ano.

Os custos relacionados à técnica da IATF foram divididos em dois grupos: custos operacionais fixos (COF) e custos operacionais variáveis (COV). No primeiro grupo foram incluídos os equipamentos que não são de uso descartáveis, utilizados em mais de uma estação de monta e depreciados em cinco anos, e, no segundo, todos os utensílios que são descartados após o uso em uma estação de monta, bem como a mão de obra.

No grupo COF foram analisados os valores do descongelador de sêmen, do aplicador universal de sêmen, do cortador de palhetas e botijão de sêmen, ao passo que no COV foram analisados os valores gastos com doses de sêmen, aquisição de materiais descartáveis (luva de palpação retal, bainha de IA, papel toalha), protocolo hormonal (implante intravaginal de progesterona, benzoato de estradiol, prostaglandina F2 α , cipionato de estradiol), custo da I.A. (mão de obra) e recarga de nitrogênio (tabela 3).

Tabela 3 - Custos operacionais fixos e custos operacionais variáveis relacionados à execução da IATF

COF		COV		
Descrição	Valor (R\$)	Descrição	Valor (R\$)	
			2015/16	2016/17
Botijão de sêmen	R\$2.500,00	Dose de sêmen	R\$18,00	R\$22,00
Cortador de palheta	R\$32,00	Protocolo Hormonal	R\$35,00	R\$37,00
Pinças anatômicas	R\$22,00	Material descartável	R\$4,00	R\$5,00
Descongelador de sêmen	R\$950,00	Custo I.A.	R\$25,00	R\$30,00
Termômetro	R\$45,00	Recarga de Nitrogênio	R\$70,00	R\$80,00
Aplicador de sêmen	R\$150,00			
Botijão descartado	R\$1.200,00			
TOTAL¹	R\$979,80			

¹ Valor correspondente ao período de uma estação de monta, considerando o período necessário para depreciação dos equipamentos. FONTE: dados da propriedade.

Os itens integrantes do grupo COF são equipamentos que são depreciados em cinco anos, assim sendo, são utilizados por mais de um ciclo de produção. Devido a isso, foi acrescido no valor total do custo de produção da IATF apenas 20% do valor

total do COF, valor que se refere à utilização desses equipamentos durante uma estação de monta.

Os custos operacionais da IATF foram calculados através das seguintes formulas:

- dose de sêmen: (nº de doses*R\$ dose);
- protocolo hormonal: (nº de fêmeas submetidas ao protocolo*R\$ protocolo/matriz);
- material descartável: (nº de fêmeas submetidas à IATF*R\$ material descartável/matriz);
- custo I.A.: (nº de fêmeas submetidas à IATF*R\$ I.A./matriz).

Tabela 4 - Valores anuais relacionados à produção dos animais submetidos à IATF nas estações de monta de 2015/16 e 2016/17

Descrição	VALOR (R\$)	
	2015/16	2016/17
CUSTOS OPERACIONAIS		
COF	R\$499,80	R\$499,80
Dose de sêmen	R\$3.060,00	R\$4.840,00
Protocolo Hormonal	R\$4.200,00	R\$5.180,00
Material descartável	R\$448,00	R\$690,00
Custo I.A.	R\$2.800,00	R\$4.140,00
Recarga de Nitrogênio	R\$70,00	R\$80,00
Custos com touros para repasse	R\$2.460,61	R\$2.950,63
Total	R\$13.538,41	R\$18.380,43
MANUTENÇÃO DE MATRIZES		
Pastagem	R\$43.200,00	R\$58.800,00
Mineralização	R\$1.008,00	R\$1.428,00
Vacinas/vermífugos/ectoparasiticidas ¹	R\$2.040,00	R\$2.716,00
Mão de obra	R\$8.308,39	R\$9.176,30
Animais de reposição	R\$34.020,00	R\$38.220,00
Animais de descarte	R\$23.400,00	R\$29.400,00
Total²	R\$65.176,39	R\$80.940,30
MANUTENÇÃO DOS BEZERROS (AS) – 08 MESES		
Mineralização	R\$504,70	R\$719,95
Vacinas/vermífugos/ectoparasiticidas ¹	R\$875,50	R\$1.173,70
Mão de obra	R\$5.140,04	R\$5.047,69
Total	R\$6.520,24	R\$6.941,34
TOTAL DE CUSTOS	R\$85.235,04	R\$106.262,07

¹ Para vacinas/vermífugos/ectoparasiticidas, considerar uma aplicação por semestre para cada animal; ² Total obtido pela soma de todos os custos relacionados à manutenção do sistema de produção menos o valor adquirido com o descarte de animais (Total = soma dos custos – descarte de animais). FONTE: dados da propriedade.

Além dos custos relacionados à produção nos dois sistemas, foram analisadas também as seguintes variáveis para cada técnica:

- **Monta Natural:** taxa de gestação, prenhez, aborto, natalidade, desmama (oito meses) e o preço unitário/produto macho e fêmea a desmama.

- **IATF:** taxa de gestação, prenhez, aborto, natalidade, desmama (oito meses), número de doses de sêmen/prenhez e o preço unitário/produto macho e fêmea a desmama.

Os dados coletados foram tabulados e posteriormente submetidos à análise de cálculo dos custos de produção pela metodologia de custeio por absorção através da utilização de planilhas eletrônicas, utilizando-se o programa Excel do pacote Microsoft Office, sendo realizados cálculos individuais para cada técnica em ambas as estações de monta.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para obtenção dos valores exatos de custos de produção dos bezerros, foi necessário avaliar os índices de desempenho zootécnico (tabela 5) obtidos no final de cada ciclo de produção das duas técnicas reprodutivas, visto que esses índices demonstram a eficiência da produção.

Conforme demonstrado na tabela 5, a taxa de natalidade obtida foi de 68,0 e 92,9% e 81,1 e 87,0% para monta natural e IATF com repasse, nas estações de monta 2015/16 e 2016/17, respectivamente. Tais resultados estão de acordo com aqueles encontrados por Kichel *et al.* (2011), afirmando que, em sistemas mais tecnificados de produção no Brasil, é comum uma taxa de natalidade de 80%.

A baixa natalidade registrada quando comparados rebanhos submetidos à monta natural com rebanhos em IATF com repasse pode ser justificada, em parte, pela baixa qualidade das pastagens observadas em muitas propriedades, o que acaba fazendo com que as fêmeas manifestem o cio no final da estação de monta, ou mesmo após sua finalização. Consequentemente, o custo para produzir um bezerro será influenciado, uma vez que este está ligado diretamente com a taxa de prenhez no final da estação de monta, sendo inversamente proporcionais, ou seja, quanto menor a taxa de prenhez, maior o custo para produzir um bezerro.

Andrade (1999) e Valle *et al.* (2000) destacam ainda que quando as fêmeas parem no início da estação de parição, estas possuem maior tempo de recuperação, proporcionando uma condição privilegiada de concepção no início da estação de monta subsequente. Dessa forma, as fêmeas que concebem do meio para o final da estação de monta anterior terão menos tempo de recuperação do último parto, fazendo com que tenham grandes chances de não engravidarem na estação subsequente.

Para matrizes em regime de monta natural, foram encontradas taxas de prenhez de 72,0 e 82,2% para as estações de monta de 2015/16 e 2016/17, respectivamente. Tais resultados são semelhantes aos encontrados por Penteado *et al.* (2005) e Silva *et al.* (2005) em trabalhos realizados com fêmeas submetidas à cobertura natural em estação de monta com duração de 90 dias, sendo encontrados valores entre 63,0 a 87,0%.

Tabela 5 - Índices de desempenho zootécnico de fêmeas submetidas à monta natural e IATF com repasse, nas estações de monta 2015/16 e 2016/17

Descrição	2015/16		2016/17	
	Nº de animais		Nº de animais	
	Monta natural	IATF + repasse	Monta natural	IATF + repasse
Matrizes	150	112	180	138
Prenhez	108	106	148	122
Aborto	6	2	2	2
Parto	102	104	146	120
Descarte ¹	22,5	18	27	21
Nº de doses de sêmen	-	170	-	220
Bezerro desmamado	59	62	74	73
Bezerra desmamada	45	41	69	48

Descrição	TAXAS (%)			
	%		%	
Gestação	94,4	98,1	98,6	98,4
Prenhez	72,0	94,6	82,2	88,4
Natalidade	68,0	92,9	81,1	87,0
Desfrute ²	69,3	85,8	79,4	86,4

¹ Descarte realizado anualmente. ² Divisão do número de bezerros produzidos em cada tecnologia pelo número de matrizes, multiplicado por 100. FONTE: dados de pesquisa, 2018.

Para a IATF com repasse, foi possível notar um incremento na natalidade da ordem de 20% quando comparada à monta natural (tabela 5) para a estação de monta 2015/16, sendo este valor superior ao encontrado por Sá Filho *et al.* (2013) comparando lotes de animais que usaram IATF e outros que usaram monta natural, os quais observaram diferenças na taxa de prenhez de 7 a 10% superior na IATF, ao final da estação de monta. Na estação seguinte, o incremento na taxa de prenhez foi de 6,2%. Resultados semelhantes a esses foram encontrados por Penteadó *et al.* (2005) trabalhando com fêmeas nelore lactantes, onde fêmeas submetidas à IATF com repasse obtiveram taxa de prenhez de 92,7% contra 83,2% para fêmeas em monta natural.

Pursley, Mee Mo e Wiltbank (1995) explicam que a utilização dos protocolos hormonais na IATF é um dos principais fatores responsáveis por elevar a taxa de prenhez e consequentemente a taxa de gestação, pois através desta técnica o rebanho tem a ovulação sincronizada e induzida, sendo possível atingir uma taxa de serviço de 100% através da predeterminação do momento de executar a IA. Além disso, a utilização dos hormônios faz com que uma grande quantidade de fêmeas em anestro retornem à ciclicidade, resultando na redução do intervalo entre partos (BARUSELLI; GIMENES, SALES, 2007).

Sabe-se que a utilização da IATF reduz a estação reprodutiva e possibilita a concentração dos partos em um período favorável ao desenvolvimento dos bezerros (GONÇALVES *et al.*, 2002) e, conforme descrito por Marinho (2012), pode-se produzir bezerros mais pesados e em maior quantidade, com consequente redução do tempo para abate.

Tais fatores justificam a valorização dos bezerros produzidos por IATF com

repassa nas duas estações de monta, em que, em 2016, houve um acréscimo no valor do bezerro de 15,50% e, em 2017, um acréscimo de 12,7%. Isso ocorre em consequência do maior peso ao desmame dos bezerros produzidos no sistema utilizando IATF, sendo desmamados com médias de peso 13 e 10% superiores para machos e 14 e 13,5% superiores para fêmeas, em 2016 e 2017, respectivamente. Esse maior peso ocorre em consequência de dois fatores, sendo um deles a antecipação dos partos, aumentando o tempo de desenvolvimento dos bezerros até o desmame e o incremento de material genético através da utilização de sêmen de touros provados na IATF (BÓ *et al.*, 2005).

Sendo assim, a IATF pode ser apontada como uma biotecnologia que veio para revolucionar os sistemas de produção, possibilitando maior retorno financeiro, concentração de manejos e otimização da mão de obra, além de reduzir o intervalo entre partos, acelerando o melhoramento genético. Tais avanços têm feito com que a produção de bovinos no Brasil seja cada vez mais eficiente. Podemos identificar essa maior eficiência analisando a taxa de desfrute do rebanho (tabela 5), onde se nota uma taxa de desfrute de 16,5 pontos percentuais superiores para a IATF com repasse em relação à monta natural, na estação de monta 2015/16 e uma taxa de desfrute sete pontos percentuais a mais, para a estação 2016/17. No entanto, conforme descrito por Costa e Costa e Silva (2007), o caminho a ser percorrido para chegar aos índices dos rebanhos mais competitivos é longo e ainda há muito o que melhorar, principalmente em pequenas propriedades.

Podemos citar ainda como benefício da utilização da IATF em relação à monta natural a não utilização de touros, o que, conforme Cutaia, Veneranda e Bó (2003), pode ser definido como custo de oportunidade, uma vez que a redução da utilização de reprodutores, em termos financeiros, poderia representar a aquisição de matrizes.

A execução da IATF com repasse apresenta um acréscimo no custo reprodutivo (custo bezerros/touro/IATF), observando-se que na estação de monta 2016/17 houve um aumento de 84% em relação à monta natural e, na estação anterior, esse aumento foi de 38,9% (tabela 6).

Tabela 6 – Análise do retorno financeiro obtido através do uso da monta natural (MN) ou IATF, nas estações de monta 2015/16 e 2016/17, em relação ao custo de produção dos bezerros

Descrição	2015/16		2016/17	
	M N	IATF + repasse	MN	IATF + repasse
	Valor (R\$)		Valor (R\$)	
Custo bezerros/touro/IATF	R\$94,64	R\$131,44	R\$82,54	R\$151,90
Custo bezerros/matrizes	R\$784,33	R\$623,78	R\$727,95	R\$668,93
Custo manutenção/bezerros	R\$63,30	R\$63,30	R\$57,37	R\$57,37
Custo total/bezerro (a)	R\$942,27	R\$827,52	R\$867,85	R\$878,20
Venda de Bezerros	R\$67.850,00	R\$80.600,00	R\$88.800,00	R\$98.550,00
Venda de Bezerras	R\$42.750,00	R\$45.920,00	R\$72.450,00	R\$55.200,00
Receita bruta (venda de bezerros)	R\$110.600,00	R\$126.520,00	R\$161.250,00	R\$153.750,00
Valor médio/bezerro (a)	R\$1.063,46	R\$1.228,35	R\$1.127,62	R\$1.270,66
Resíduo/bezerro	R\$207,73	R\$472,48	R\$332,15	R\$471,80
Resíduo/bezerra	R\$7,73	R\$292,48	R\$182,15	R\$271,80
Resíduo médio	R\$121,19	R\$400,82	R\$259,77	R\$392,46
Resíduo/venda de bezerros (as)	R\$12.603,54	R\$41.284,96	R\$37.147,12	R\$47.487,93

Fonte: dados de pesquisa, 2018.

Em contrapartida, quanto mais eficiente o manejo durante a estação de monta, maior tende a ser a taxa de prenhez, como demonstra a tabela 5, culminando na redução no custo por produto em função da maior quantidade de bezerros. Tal fato pode ser verificado ainda quando é feita a análise do custo de bezerro/matriz (tabela 6), sendo possível notar uma redução significativa nesse valor quando é empregada a IATF em relação à monta natural (R\$784,33 vs. R\$623,78 e R\$727,95 vs. R\$668,93, respectivamente, em 2015/16 e 2016/17). Torres-Júnior *et al.* (2009) defendem que a reprodução assistida tem sido empregada nos rebanhos de corte com o intuito de elevar a eficácia reprodutiva, obtendo ganhos técnicos e econômicos, estando os resultados encontrados neste trabalho de acordo com os autores citados acima.

Comparando apenas a IATF com repasse nas duas estações de monta, observa-se uma redução no valor residual de 7,1% para as fêmeas, enquanto para os machos o valor quase não sofreu alterações, sendo reduzido apenas em 0,1%. Essa queda ocorre em função do maior aumento no custo total destes animais em relação ao valor de comercialização. Porém, mesmo havendo essa redução e permanecendo o valor quase inalterado para os machos, a técnica em si obteve um aumento de 15,0% no valor residual da venda de bezerros de uma estação para outra.

Os incrementos obtidos pelo emprego da IATF com repasse podem ser notados também quando essa técnica é comparada com a monta natural, sendo identificado um aumento no valor residual da venda de bezerros de 227,6% e 27,8% para as estações de monta de 2015/16 e 2016/17, respectivamente.

CONCLUSÃO

Na realidade em que a fazenda estudada trabalha, o uso da IATF aliado ao repasse com touros foi totalmente viável, sendo responsável por elevar o rendimento na produção do rebanho e também o retorno financeiro da atividade. No entanto, existe a necessidade de novos estudos para verificar se essa eficiência pode se adequar também a sistemas que trabalham com outras raças ou de maneira menos intensiva de produção.

REFERÊNCIAS

ABBAS, K.. **Gestão de custos em organizações hospitalares**. Florianópolis, SC. (Dissertação de mestrado). Universidade Federal de Santa Catarina - EPS/UFSC, 2001, 155 p.

ANDRADE, V. J. Manejo reprodutivo de fêmeas de bovinos de corte. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 1., 1999. Viçosa. **Anais...** Viçosa. Universidade Federal de Viçosa, 1999. p. 85-135.

BARUSELLI, P. S., GIMENES, L. U., SALES, J. N. S. Fisiologia reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas. **Rev. Bras. de Reprod. Anim.**, v. 31, p. 205-211, 2007.

BARUSELLI, P. S.; REIS, E. L.; MARQUES, M. O. Técnicas de manejo para otimizar a eficiência reprodutiva em fêmeas *Bos indicus*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: SBZ, p. 447-458, 2004.

BÓ, G.A.; CUTAIA, L.; CHESTA, P.; BALLA, E.; PICINATO, D.; PERES, L.; MARANÃ, D.; AVILLÉS, M.; MENCHACA, A.; VENERANDA, G.; BARU-SELLI, P.S. 2005. Implementacion de programas de inseminación artificial en rodeos de cria de argentina. **Proc VI Simposio Internacional de Reproducción Animal**, Córdoba, Argentina, p. 97-128.

COSTA, M. J. R. P.; COSTA E SILVA, E. V. Aspectos básicos do comportamento social de bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 31, n. 2, p. 172-176, 2007.

CUTAIA, L.; VENERANDA, G.; BÓ, G. A. Analisis de costo beneficio: programas de inseminación artificial a tiempo fijo y servicio natural. **Revista Taurus**, Buenos Aires, n. 19. p. 29, 2003.

FONSECA, V. O.; FRANCO, C. S.; BERGMANN, J. A. G. Potencial reprodutivo e econômico de touros Nelore acasalados coletivamente na proporção de um touro para 80 vacas. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 52, p. 77-82, 2000.

GONÇALVES, Paulo Bayard Dias *et al.* **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. São Paulo: Roca, 2002.

GROHN, Y.T.; RAJALA-SCHULTZ, P.J. Epidemiology of reproductive performance in dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 60-61, p. 605-614, jul. 2000.

KAPLAN, R.; COOPER, R.. **Custo e desempenho**. São Paulo: Futura, 1998, 376 p.

KICHEL, A.N.; COSTA, A.A.A.; VERZIGNASSI, J.R.; QUEIROZ, H.P. 2011. **Diagnóstico para o planejamento da propriedade**. Embrapa/CNPGC, Campo Grande, MS. nº 182.

MARINHO, Fabiano. **Custo e retorno econômico na produção de bezerros de IATF**. 2012. Disponível em: <http://www.soboi.com.br/mostra2012.asp?noticias=3609&Classe%20=Agroneg%F3cios%3C>. Acesso em: 15 out. 2018.

MARTINS, E. **Contabilidade de custos**. 9. ed. São Paulo: Atlas, 2003. 370 p.

MARTINS, E. **Contabilidade de custos**. São Paulo: Atlas, 2006.

MATOS, Luís Fonseca. **Inseminação Artificial em Bovinos - Convencional e em Tempo Fixo**. Viçosa-MG: CPT, 2009. 262p.

OLIVEIRA, A. A., *et al.* **Contabilidade de custos** – temas atuais. Curitiba: Juará, 2008.

PENTEADO, L. *et al.* Eficiência reprodutiva em vacas nelore (*bos indicus*) lactantes submetidas a diferentes manejos durante a estação de monta. *In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL*, 16. 2005, Goiânia. **Anais...** Belo Horizonte, Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 2005. p. 271.

PEREIRA, C. A.; OLIVEIRA, A. B. S. Avaliação de Resultados e Desempenhos. *In: CATELLI, A. (Coord.) Controladoria: uma abordagem da gestão econômica – Gecon.* 2. ed. 5. reimp. São Paulo: Atlas, 2006. Cap. 14.

PURSLEY JR, MEE MO, WILTBANK MC. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2 and GnRH. **Theriogenology**, v. 44, p. 915-923, 1995.

SÁ FILHO, M.F.; PENTEADO, L.; REIS, E.L.; REIS T.A.; GALVÃO, K.N.; BARUSELLI, P.S. Timed artificial insemination early in the breeding season improves the reproductive performance of suckled beef cows. **Theriogenology**, v. 79, p. 625-632, 2013.

SILVA, A.T.N. *et al.* Efeito de diferentes estratégias de manejo na distribuição da prenhez em vacas paridas. *In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL*, 16. 2005, Goiânia. **Anais...** Belo Horizonte, Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 2005. p. 158.

SOUZA, A.; CLEMENTE, A.. Contextos, paradigmas e sistemas de custeio. *In: Congresso Brasileiro de Gestão Estratégica de Custos*, 5, Fortaleza. **Anais...** São Leopoldo/RS, 1998.

TORRES-JÚNIOR, J. R. S.; MELO, W. O.; ELIAS, A. K. S.; RODRIGUES, L. S.; PENTEADO, L.; BARUSELLI, P. S. Considerações técnicas e econômicas sobre reprodução assistida em gado de corte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 33, n. 1, p. 53-58, 2009.

VALLE, E.R. *et al.* **Técnicas de manejo reprodutivo em bovinos de corte.** Campo Grande: EMBRAPA Gado de Corte, 2000. 61p. (Embrapa Gado de Corte. Documentos, 93).

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE ANTI-HELMINTICOS INJETÁVEIS EM BOVINOS ADULTOS

Gabriel Ribeiro de Souza

Médico Veterinário pelo Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM).

E-mail: gabriel-ptc@hotmail.com

Deusa Helena Gonçalves

Professora orientadora (UNIPAM).

E-mail: deusa@unipam.edu.br

RESUMO: As infecções parasitárias em bovinos normalmente são mistas e compreendem diversas famílias e gêneros. No caso, os mais representativos encontrados neste estudo foram os nematoides *Haemonchus* spp., *Ostertagia* spp. e outros endoparasitas como protozoário do gênero *Eimeria* spp. Nesse contexto, o presente estudo avaliou a eficácia dos vermífugos injetáveis, Doramectina 1%, Abamectina 1%, Ivermectina 1% em bovinos adultos infectados por nematoides, em propriedade no município de Patrocínio-MG. Antes da aplicação dos vermífugos foram realizadas análises para a contagem de ovos por grama de fezes (OPG) dos endoparasitas. Os exames foram repetidos após sete e quinze dias depois da administração dos antiparasitários. Todos os grupos de animais avaliados apresentaram redução na contagem de ovos por grama de fezes (RCOF) no D7 e D15. Concluiu-se que os fármacos utilizados demonstraram ser ineficientes no controle de endoparasitos de bovinos. Porém, quando os parasitos foram considerados isoladamente, os anti-helmínticos foram eficazes para *Ostertagia* spp. e expressa a resistência anti-helmíntica para o gênero *Haemonchus* spp.. A resistência anti-helmíntica apresentada para o gênero *Haemonchus* spp. revela danos ao rebanho, os quais devem ser solucionados com combinação entre outras drogas ou outras formas de controle da verminose.

PALAVRAS-CHAVE: *Haemonchus* spp. *Ostertagia* spp. Resistência anti-helmíntica.

ABSTRACT: Parasitic infections in cattle are usually mixed and comprise several families and genders. The most representative case found in this study were the nematodes *Haemonchus* spp., *Ostertagia* spp. and other endoparasites as protozoan of the genus *Eimeria* spp. In this context, the present study evaluated the efficacy of injectable deworms, Doramectin 1%, Abamectin 1%, Ivermectin 1% in adult bovine nematode infected cattle, in Patrocínio - MG. Prior to the application of deworming, analyzes were performed for egg count per gram of feces (EPG) of endoparasites. The examinations were repeated seven and fifteen days after the administration of antiparasitics. All groups of animals evaluated showed a reduction in egg count per gram of faeces (RECF) in D7 and D15. It was concluded that the drugs used were ineffective in the control of bovine endoparasites. However, when the parasites were considered isolatedly, anthelmintics were effective for *Ostertagia* spp. and presented antihelminthic resistance for the genus *Haemonchus* spp. The anthelmintic resistance

presented for the genus *Haemonchus spp.* reveals damage to the herd, which must be solved with the combination of other drugs or other forms of worm control.

KEYWORDS: *Haemonchus spp.* *Ostertagia spp.* Anthelmintic resistance.

INTRODUÇÃO

O Brasil ocupa o segundo lugar mundial na criação de bovinos. Em relação a exportações de carne, o país é o maior exportador mundial, mostrando que a bovinocultura promove um dos principais destaques econômicos dentro da pecuária (MAPA, 2016). O Estado de Minas Gerais ocupa o segundo lugar nacional, com aproximadamente 24 milhões de cabeças de gado, acarretando um crescimento rentável a cada ano na criação bovina (IMA, 2016).

De acordo com Pereira *et al.* (2016), as infecções causadas por parasitos são um dos principais fatores que interferem no desenvolvimento da pecuária bovina. Elas podem causar alta morbidade nos animais, resultando em baixo índice de crescimento, retardo do desenvolvimento dos animais, morte e queda no rendimento econômico, por gastos excessivos com manejo principalmente na época da seca ou quando ocorre o aumento da concentração de animais em certas áreas, facilitando a infecção. Além disso, compromete a qualidade dos produtos oferecidos para consumo da população, devido à queda de produtividade e transmissão de patógenos, sendo seu controle um fator imprescindível na produção.

Todavia, seu diagnóstico é muito difícil por se apresentar mais sobre a forma subclínica, a não ser em estágios já bem adiantados da doença em que os animais passam vários meses perdendo peso e atrasando muito o seu desenvolvimento com quebra de 20% a 30% na produção. Ainda, de acordo com Souza (2008), o uso de anti-helmínticos, na grande maioria das vezes, é realizado pelos proprietários segundo influência das propagandas e dos preços. Com isso, o rodízio de princípios ativos acaba sendo aleatório e, às vezes, realizado com intervalos de tempo muito curtos, em épocas ou categorias de animais inadequadas, e até mesmo contra espécie de helminto pouco sensível ao medicamento.

Um ponto fundamental da sanidade animal é o estabelecimento de medidas preventivas eficazes no controle de verminose bovina. As tentativas de controle, na maioria das vezes, são realizadas de forma incorreta, com uso excessivo e desordenado das bases terapêuticas, também oneram o custo de produção e ainda não alcançam os objetivos de controle (SINDAN, 2008). O tratamento do rebanho com anti-helmínticos efetivos soluciona momentaneamente o problema. O uso supressivo dificulta o desenvolvimento de imunidade sólida às futuras infestações, e, o mais grave, acelera o processo de resistência desses parasitos (CEZAR; CATTO; BIANCHIN, 2008).

As infecções parasitárias em ruminantes normalmente são mistas e compreendem diversas famílias e gêneros, sendo que os mais representativos, no caso dos bovinos, pertencem a família Trichostrongylidae, com destaque para os gêneros *Haemonchus spp.*, *Ostertagia spp.*, *Trichostrongylus spp.*, *Cooperia spp.* da família Strongylidae (VIVEIROS, 2009).

Os relatos de resistência parasitária são mais frequentes em ovinos e caprinos do que em bovinos (SOUZA *et al.*, 2008), o que, de acordo com Lopes, Felipelli e Teixeira (2014), se justifica, entre outros fatores, pela maior prevalência do gênero *Haemonchus* spp. em pequenos ruminantes, enquanto o gênero *Cooperia* spp. tende a ser o mais frequente nos bovinos no Brasil. Souza *et al.* (2008) citam ainda que a maior patogenicidade e o maior potencial biótico de *Haemonchus* spp. acabam levando a uma maior frequência de tratamentos anti-helmínticos e maior pressão de seleção de cepas resistentes.

Nesse contexto, o presente estudo avaliou a eficácia dos anti-helmínticos injetáveis, Doramectina 1%, Abamectina 1%, Ivermectina 1% em bovinos adultos infectados por nematoides *Haemonchus* spp. e *Ostertagia* spp., em propriedade no município de Patrocínio-MG.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado em uma fazenda na região de Córrego da Mata, localizada a 30 km do município de Patrocínio-MG. Para tanto, foram utilizados 30 animais da raça holandesa, adultos, fêmeas. Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do Centro Universitário de Patos de Minas, sob número de protocolo: CEUA 126/2017.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado e os animais foram distribuídos aleatoriamente em três grupos, sendo Grupo 1 (G1): 10 animais foram tratados com solução injetável a base de doramectina 1%; Grupo 2 (G2): 10 animais foram tratados com solução injetável a base de abamectina 1%; e Grupo 3 (G3): 10 animais foram tratados com solução injetável a base de ivermectina 1%. Antes da aplicação dos vermífugos, foram realizadas análises para a contagem de ovos por grama de fezes (OPG) dos endoparasitas. Os exames foram repetidos após 7 e 15 dias após a aplicação dos antiparasitários, para testar a eficácia em cada grupo.

Os vermífugos foram ministrados conforme recomendações do fabricante em relação à dosagem e via de administração. A dosagem correta dos três endoparasiticidas deste estudo são de 1 ml para cada 50 quilos de peso do animal. Antes de administrar o medicamento, todos os animais foram pesados. Importante salientar que os grupos de animais adultos avaliados nesta pesquisa estavam sem uso de vermífugos por 6 meses.

O estudo foi realizado em três etapas distintas de coleta de amostras de fezes dos animais e administração do vermífugo. Na primeira etapa, considerada o dia zero (D0), foi realizada a coleta de fezes dos bovinos, logo após esse procedimento, foi administrado por via injetável o vermífugo nos bovinos selecionados neste estudo. A segunda etapa ocorreu 7 dias após a aplicação do vermífugo, denominado (D7) quando foi realizada uma nova coleta de amostra para avaliar o número de OPG destes animais. E a terceira etapa ocorreu 15 dias após o (D0), denominado (D15), quando foi realizada a última coleta de fezes dos bovinos para contagem do OPG.

Durante todos os procedimentos, os animais foram contidos em troncos, sem movimentação excessiva para ser evitada a eliminação das fezes, em seguida foi feito o esvaziamento da porção terminal do intestino grosso. As fezes foram coletadas

diretamente em ampola retal do animal, para evitar a contaminação do material por parasitos de vida livre que poderiam comprometer os resultados.

As amostras foram imediatamente acondicionadas em recipientes estéreis e colocadas em caixas de isopor sob refrigeração de 4 a 10^o C, identificadas e encaminhadas ao Laboratório de Microscopia e Parasitologia Animal do Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM no dia subsequente à coleta. As análises foram realizadas através da técnica de McMaster, pelo método de Gordon & Whitlock (1939) para a contagem de ovos por grama de fezes (OPG).

A análise dos resultados foi realizada por meio de estatística descritiva, em que foram descritos os resultados do exame parasitológico das amostras de fezes dos animais estudados, considerando nematoides gastrintestinais. Para a avaliação da resistência, foi utilizado o teste de redução na contagem de ovos por grama de fezes (RCOF), realizado através da diferença no número de parasitos encontrados nas amostras antes e depois da vermifugação. Além disso, a eficácia da utilização de cada produto foi testada através de método proposto por Wood *et al.* (1995), sendo considerada resistência anti-helmíntica quando a redução de OPG observada no pós-tratamento for inferior 90%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando o resultado das análises deste estudo, foram encontrados três gêneros de endoparasitos: *Haemonchus* spp., *Eimeria* spp., e *Ostertagia* spp., sendo observada maior prevalência no primeiro gênero.

Avaliando os resultados referentes à carga parasitária inicial dos grupos de animais contemplados neste estudo, constata-se a redução da carga parasitária para cada grupo de animais vermifugado, independente do grupo genético, conforme demonstrado na Tabela 1. Todos os grupos avaliados apresentaram redução na contagem de OPG nos testes de eficácia de tratamento após sete dias (D7) e quinze dias (D15). Além disso, observou-se que animais dos grupos G1 e G3 apresentavam carga parasitária elevada antes da administração dos anti-helmínticos.

Tabela 1. Percentual dos grupos de bovinos adultos infectados por endoparasitos em relação à eficácia da doramectina, abamectina e ivermectina, na RCOF inferior a 90%, observada no início, após 7 e 15 dias da administração dos anti-helmintos, Patrocínio-MG, 2018.

Anti-helmínticos	Animais	D0	D7	D15
Doramectina	G1	63%	33%	17%
Abamectina	G2	23%	15%	11%
Ivermectina	G3	46%	32%	23%

Fonte: autor, 2018.

Nos três grupos de animais avaliados houve predominância do gênero *Haemonchus* spp. no tratamento inicial (D0), assim como houve prevalência nos testes de eficácia realizados após sete dias (D7) nos gêneros do G2 e do G3 e prevaleceu apenas após quinze dias (D15) o G3.

Os três grupos de animais deste estudo, tratado com Doramectina para o gênero *Haemonchus* spp, apresentaram efeito mais significativo na minimização da carga parasitaria desse parasito, (Tabela 2). Corroborando com os resultados deste estudo Eddi *et al.* (1997), na Argentina, verificaram que a doramectina injetável apresenta um período de ação maior que a ivermectina injetável, o que resulta em uma menor quantidade de parasitos gastrintestinais em bovinos de corte. Nesse contexto, Souza *et al.* (2002) e Rangel *et al.* (2005) encontraram também a maior prevalência de *Haemonchus* spp. nos grupos tratados com ivermectina, sugerindo baixa eficiência dessa base, assim como foi encontrado no presente estudo.

Tabela 2. . Percentual dos grupos de bovinos adultos infectados por *Haemonchus* spp. em relação a eficácia da doramectina, abamectina e ivermectina, na RCOF inferior a 90%, observada no início, após 7 e 15 dias de administração dos anti-helmintos, Patrocínio- MG, 2018.

Anti-helmínticos	Animais	D0	D7	D15
Doramectina	G1	52,38%	39,39%	35,29%
Abamectina	G2	52,17%	46,66%	45,45%
Ivermectina	G3	73,9%	59,37%	69,56%

Fonte: autor, 2018.

Em relação à presença de *Eimeria* spp. encontrada nos exames de fezes do grupo de animais deste estudo, observou-se um aumento percentual desse endoparasita no G1, de 44,4% no D0 para 64,7% no D15. Foi observado também esse elevado percentual no G2, de 26,08% no D0 para 54,54% no D15. O G3 apresentou de 17,39% no D0 para 30,43% no D15. Em rebanhos e lotes de animais confinados, o uso de medicamentos específicos deve ser indicado para todos os animais propensos e mantidos no local infectado. Uma quantidade razoável de drogas tem sido indicada para o tratamento da coccidiose dos ruminantes por diversos autores, sendo que estão entre as drogas mais manipuladas as sulfas, amprólio, decoquinato, antibióticos ionofóricos (monensina, salinomina, lasalocida) e toltrazuril (GREINER; BRAUN; SAUNDERS, 1984; PARAI, 1985; LIMA; LEITE; SATURNINO, 1985; PARKER *et al.*, 1986; McKENNA, 1988; HOBLET; CHARLES; HOWARD, 1989; MUNDT *et al.*, 2003; SINGH; AGRAWAL, 2003), diferente das drogas utilizadas no presente estudo. Dessa forma, a *Eimeria* spp., por ser um coccídeo da classe dos protozoários, não será considerada no teste de eficácia dos anti-helmínticos, visto que não são os antiparasitários adequados para o controle deste parasito.

Já a *Ostertagia* spp. foi encontrada nos três grupos de animais no D0, porém sua presença se manteve apenas no G2 no D7, demonstrando sensibilidade à Abamectina (Tabela 3). No D15, o parasito não foi mais encontrado em nenhum dos grupos. De acordo com Cezar *et al.* (2010), os relatos de resistência às lactonas macrocíclicas em rebanhos bovinos são mais raros no caso deste parasito, e os mecanismos envolvidos neste processo são pouco conhecidos.

Tabela 3. Percentual dos grupos de bovinos adultos infectados por *Ostertagia* spp em relação à eficácia da doramectina, abamectina e ivermectina, na RCOF inferior a 90%, observada no início, após 7 e 15 dias de administração dos anti-helmintos, Patrocínio-MG, 2018

Anti-helmínticos	Animais	D0	D7	D15
Doramectina	G1	3,17%	0%	0%
Abamectina	G2	21,73%	13,33%	0%
Ivermectina	G3	8,69%	0%	0%

Fonte: autor, 2018.

O teste de redução de OPG é um dos mais utilizados em todo o mundo para avaliar a eficácia dos anti-helmínticos ou apontar possíveis focos de resistência, por ser um método simples e de baixo custo. Entretanto, ele apresenta algumas limitações, pois não é capaz de detectar baixos níveis de resistência (MARTIN; ANDERSON; JARRETT, 1989). Além disso, a maioria dos proprietários não tem informações precisas sobre a frequência de tratamentos e dos anti-helmínticos utilizados, contudo, respeitam as doses recomendadas pelos fabricantes. A base química utilizada está geralmente na dependência de preço, propaganda e recomendação de vendedores (SOUZA *et al.*, 2008).

Os três medicamentos utilizados neste estudo mostraram-se ineficazes no combate aos endoparasitas, visto que sua eficácia foi menor que 90% nos três grupos. No G1 houve diminuição de 84,62% do OPG, enquanto os grupos G2 e G3 diminuíram 58,83 e 57,89%, respectivamente. Isto se deve à resistência parasitária adquirida pelos animais. Souza *et al.* (2008) observaram que a maior parte das fazendas de gado de corte em Santa Catarina apresentaram resistência parasitária a ivermectina. Outros autores também corroboram com os resultados obtidos neste estudo, como Costa, Oliveira e Arantes (2004), em São Paulo, que demonstraram a presença de resistência à ivermectina e Rangel *et al.* (2005), em Minas Gerais, observaram resistência à ivermectina e a doramectina.

Delgado *et al.* (2009) observaram que em Minas Gerais a Ivermectina é o princípio ativo mais utilizado no controle de parasitos gastrintestinais. Segundo esses autores, a medicação simultânea de todas as categorias animais, juntamente com o uso excessivo e sem critérios técnicos dos anti-helmínticos, principalmente a base de Ivermectina, pode ser o responsável pela acelerada seleção de helmintos resistentes a esses antiparasitários.

Bruhn *et al.* (2013) citam que, quando muito utilizadas, as drogas anti-helmínticas podem induzir a seleção de cepas de helmintos gastrintestinais resistentes a esses produtos. Ainda de acordo com os autores, a abamectina e as ivermectinas apresentaram as piores taxas de eficácia na redução das contagens de OPG (inferiores a 50%).

Quando considerados os parasitos isoladamente, os anti-helmínticos foram eficazes para *Ostertagia* spp., corroborando com os resultados de outras pesquisas. Graef *et al.* (2012), estudando bovinos naturalmente infectados por *Ostertagia ostertagi*, observaram, após a necropsia, uma eficácia de 89% para a ivermectina. Já Mello, Depner e Molento (2006) demonstraram em seu estudo que, quando se

utilizavam Ivermectina 2,25% e abamectina 1,25% associadas, o gênero *Ostertagia* spp. se mostrou sensível.

Com o surgimento da resistência parasitária múltipla em rebanhos de pequenos ruminantes, alguns estudos foram realizados de forma a validar a utilização de combinação de drogas (MILLER; CRAIG, 1996; ANDERSON; MARTIN; JARRET, 1988; ENTROCASSO; ALVAREZ; MANAZZA, 2008). Ao instituírem-se tratamentos com combinações de drogas, é possível manter as dosagens recomendadas para cada fármaco e combinar bases pertencentes a grupos químicos distintos, com diferentes mecanismos de ação. Essas diferenças dificultam a adaptação dos genótipos parasitários aos tratamentos (BARNES; DOBSON; BARGER, 1995; GEERTS; GRYSEELS, 2000; HU; PLATZER; BELLIER, 2010) e também podem ser instauradas em rebanhos bovinos.

CONCLUSÃO

Concluiu-se que os fármacos utilizados demonstraram ser ineficientes no controle de endoparasitos de bovinos. Porém, quando os parasitos foram considerados isoladamente, os anti-helmínticos foram eficazes para *Ostertagia* spp. Isso demonstra a resistência anti-helmíntica existente no rebanho da fazenda estudada para o gênero *Haemonchus* spp..

A resistência anti-helmíntica apresentada para o gênero *Haemonchus* spp. revela danos ao rebanho, os quais devem ser solucionados com combinação entre outras drogas ou outras formas de controle da verminose.

REFERÊNCIAS

ANDERSON, N.; MARTIN, P. J.; JARRET R. G. Mixtures of anthelmintics: A strategy against resistance. **Australian Veterinary Journal**, v. 65, p. 62-64, 1988.

BARNES, E. H.; DOBSON, R. J.; BARGER I. A. Worm control and anthelmintic resistance: Adventures with a model. **Parasitology Today**, v. 11, p. 56-63, 1995.

BRUHN, F. R. P. *et al.* Eficácia técnica e econômica de diferentes anti-helmínticos na recria de fêmeas da raça holandesa. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v. 21, n. 3, p. 173-180, 2013.

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. *et al.* Ação anti-helmíntica de diferentes formulações de lactonas macrocíclicas em cepas resistentes de nematódeos de bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 7, p. 523-528, 2010.

COSTA, A. J. et al. Avaliação comparativa da ação antihelmíntica e do desenvolvimento ponderal de bezerros tratados com diferentes avermectinas de longa ação. **Hora Veterinária**, v. 24, p. 31-34, 2004.

DELGADO, F. E. F. L. *et al.* Verminoses dos bovinos: percepção de pecuaristas em Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, p. 29-33, 2009.

EDDI, C. *et al.* Comparative persistent efficacy of doramectin, ivermectin and fenbendazole against natural nematode infections in cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 72, p. 33-41, 1997.

ENTROCASSO, C. *et al.* Clinical efficacy assessment of the albendazole-ivermectin combination in lambs parasitized with resistant nematodes. **Veterinary Parasitology**, v. 155, p. 249-256, 2008.

GEERTS, S.; GRYSEELS, B. Drug resistance in human helminths: current situation and lessons from livestock. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 13, p. 207-222, 2000.

GRAEF, J.; et al. Assessing resistance against macrocyclic lactones in gastro-intestinal nematodes in cattle using the faecal egg count reduction and the controlled efficacy test. **Veterinary Parasitology**, v. 189, p. 378-382, 2012.

GREINER, E. C.; BRAUN, R. K.; SAUNDERS, J. Cost benefit analysis of feeding amprolium crumbles to prevent clinical coccidiosis in dairy calves. **Agri-practice**, v. 5, n. 7, p. 6-9, 1984.

HOBLET, K. L.; CHARLES, T. P.; HOWARD, R.R. Evaluation of lasalocid and decoquinate against coccidiosis resulting from natural exposure in weaned dairy calves. **American Journal of Veterinary Research**, v. 50, n. 7, p. 1060-1063, 1989.

HU, Y. et al. Discovery of a highly synergistic anthelmintic combination that shows mutual hypersusceptibility. **Proceedings...** of the National Academy of Sciences of the United States of America, v. 107, n. 13, p. 5955-60, 2010. Disponível em: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0912327107>. Acesso em: 10 set. 2018.

IMA. Instituto Mineiro de Agropecuária-IMA 2016. **Exposição Estadual Agropecuária apresenta o melhor da pecuária de Minas**. Disponível em: <http://www.ima.mg.gov.br/acontece-no-ima/1719-exposicao-estadual-agropecuaria-apresenta-o-melhor-da-pecuaria-de-minas>. Acesso em: 04 out. 2018.

LIMA, J. D.; LEITE, R. C.; SATURNINO, H. M. Control of bovine coccidiosis with monensin under Brazilian husbandry conditions. In. CONFERENCE OF THE WORLD ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF VETERINARY PARASITOLOGY, 1985. Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro, 1985, p. 35.

LOPES, W. D. Z. *et al.* Resistência de *Haemonchus placei*, *Cooperia punctata* e *Oesophagostomum radiatum* à ivermectina pour-on a 500mcgkg-1 em rebanhos bovinos no Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 5, p. 847-853, maio 2014.

MARTIN, P. J.; ANDERSON, N.; JARRETT, R. G. Detecting benzimidazole resistance with faecal egg count reduction test and in vitro assays. **Australian Veterinary Journal**, v. 45, p. 244-246, 1989.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento-MAPA. 2016. **Bovinos e bubalinos**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/bovinos-e-bubalinos>. Acesso em: 30 set. 2018.

McKENNA, P. B. Eficácia del toltrazuril em cabras com infeccionespor coccídios contraídas naturalmente. **Noticias Médicas Veterinárias**, v. 59, p. 157-161, 1988.

MELLO, M. H. A. *et al.* Resistência lateral às macrolactonas em nematodas de bovinos. **Archives of Veterinary Science**, v. 11, n. 1, p. 8-12, 2006.

MILLER, D. K.; CRAIG, T. M. Use of anthelmintic combinations against multiple resistant *Haemonchus contortus* in Angora goats. **Small Ruminant Research**, v. 19, p. 281-283, 1996.

MUNDT, H.C.; DAUGSCHIES, A.; VEBE, F.; RINKE, M. Efficacyof toltrazuril against artificial infection with *Eimeria bovis* incalves. **Parasitology Research**, v. 9 (suppl 3), p. 166-167, 2003.

PARAI, T. P. Therapeutic management of coccidiosis in Phashmina kids and goats. **Indian Veterinary Journal**, v. 62, n. 1, p. 72-76, 1985.

PARKER, R. J. *et al.* Post-weaning coccidiosis in beef cattle in the dry tropics; experimental control with continous monensin supplementation via intra-ruminal devices concurrent epidemiological observations. **Tropical Animal Healthand Production**, v. 18, p. 198-208, 1986.

PEREIRA, J, R. *et al.* Avaliação da eficiência de vermífugos comerciais e micro-organismos probióticos sobre a verminose de bovinos. **Pesquisa & Tecnologia**, v. 13, n. 1, jan./jun. 2016.

RANGEL, V. B. *et al.* Resistência de *Cooperia* spp e *Haemonchus* spp as ivermectinas em bovinos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, p. 186-190, 2005.

SINDAN. Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Saúde Animal - SINDAN. **Mercado Veterinário**. São Paulo, 2008. Disponível em: <http://www.sindan.org.br/sd/sindan/index.html>. Acesso em: 02 jun. 2018.

SINGH, R.; AGRAWAL, R. D. Efficacy of amprolsol against coccidian infection in buffalo calves. **Journal of Veterinary Parasitology**, n. 17, n. 1, p. 77-78, 2003.

SOUZA, A. P. *et al.* Resistência de helmintos gastrintestinais de bovinos a anti-helmínticos no estado de Santa Catarina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 12., 2002, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro, 2002.

SOUZA, A. P. *et al.* Resistência de helmintos gastrintestinais de bovinos a anti-helmínticos no Planalto Catarinense. **Ciência Rural**, v. 38, p. 1363-1367, 2008.

SOUZA, A. P. **Controle das Helminthoses Gastrintestinais de Bovinos na Região Sul do Brasil**. 15p. 2008. Disponível em:
<http://helminto.inta.gob.ar/Congreso%20Brasil%202008/CONTROLE%20DAS%20HELMINTOSES%20GASTRINTESTINAIS%20DE%20BOVINOS%20NA%20REGI%3%83O%20SUL%20DO%20BRASIL.pdf>. Acesso em: 04 out. 2018.

VIVEIROS, C. T. **Parasitoses gastrintestinais em bovinos na ilha de S. Miguel, Açores –** Inquéritos de exploração, resultados laboratoriais e métodos de controlo. 2009. 104 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Técnica de Lisboa - Faculdade de Medicina Veterinária. 2009.

WOOD, I. B. *et al.* World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) Second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine). **Veterinary Parasitology**, v. 58, p. 181-213, 1995.

MANEJO PRÉ-ABATE E QUALIDADE DE CARÇAÇAS BOVINAS EM FRIGORÍFICO¹

Guilherme Moreira Silva

Médico Veterinário; Pós-graduando em Gestão da Produção de Bovinos de Leite e Corte (UNIPAM).

E-mail: guilhermesilva@unipmam.edu.br

Alice Pratas Glycerio de Freitas

Professora orientadora (UNIPAM).

E-mail: alicepratas@unipam.edu.br

RESUMO: O presente trabalho teve como objetivo classificar e avaliar a influência do manejo de pré-abate nas carcaças bovinas por meio da visualização de lesões durante o abate em um frigorífico localizado na região do Alto Paranaíba/MG. Para a realização deste estudo, as lesões de 600 carcaças foram avaliadas e classificadas em relação a sua localização e característica, encontrando uma incidência de 51,3% (308) de lesões. Concluiu-se que a maior ocorrência das lesões aconteceu antes da chegada dos animais no frigorífico.

PALAVRAS-CHAVE: Lesões. Hematoma. Abscesso.

ABSTRACT: The present work aimed to classify and evaluate the influence of pre-slaughter management on cattle carcasses through the visualization of lesions during slaughter in a slaughterhouse located in the Alto Paranaíba / MG region. For this study, 600 carcass lesions were evaluated and classified according to their location and characteristics, finding an incidence of 51.3% (308) of lesions. It was concluded that the highest occurrence of injuries occurred before the animals arrived in the slaughter.

KEYWORDS: Lesions. Bruise. Abscess.

INTRODUÇÃO

A cadeia produtiva de carne bovina no Brasil tem um importante papel e grande destaque na economia nacional, consolidando o país como líder no mercado mundial neste quesito. Possuidor de um dos grandes rebanhos comerciais do mundo, o país apresenta mais de 218 milhões de cabeças de gado, sendo classificado como segundo maior produtor mundial de carne, com mais de 9 milhões de toneladas equivalente a carcaças, e como maior exportador, totalizando quase 2 milhões de toneladas equivalente a carcaças (ABIEC, 2017).

Com o país alcançando esta grande representatividade no comércio internacional de carne bovina, vem atingindo mercados importantes e estratégicos, os

¹ Trabalho pertencente ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (2018/2019) do Centro Universitário de Patos de Minas – UNIPAM.

quais exigem alimentos seguros e de qualidade reconhecida. Para se adequar a tais requisitos, faz-se necessária a utilização de alguns programas de qualidade do produto, como o APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle) e o BPA (Boas Práticas Agropecuárias) (CLÁUDIO, 2012).

Lesões encontradas nas carcaças, durante o abate, proeminentes de manejos mal executados, transportes sem o mínimo de cuidados, entre outras adversidades, são alguns dos problemas que reduzem a qualidade da carne brasileira. Esses problemas e o que eles vêm causando têm sido objeto de muitos estudos em vários países, de acordo com Nicholson (2008) e Garcia *et al* (2008).

Além das perdas decorrentes, o estresse vivenciado por esses animais durante o manejo pré-abate, ou por todo o caminho até o abate, influencia na qualidade da carne, alterando características da mesma (CLÁUDIO, 2012).

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo classificar e avaliar a influência do manejo de pré-abate nas carcaças bovinas através da visualização de lesões durante o abate em um frigorífico localizado na região do Alto Paranaíba/MG.

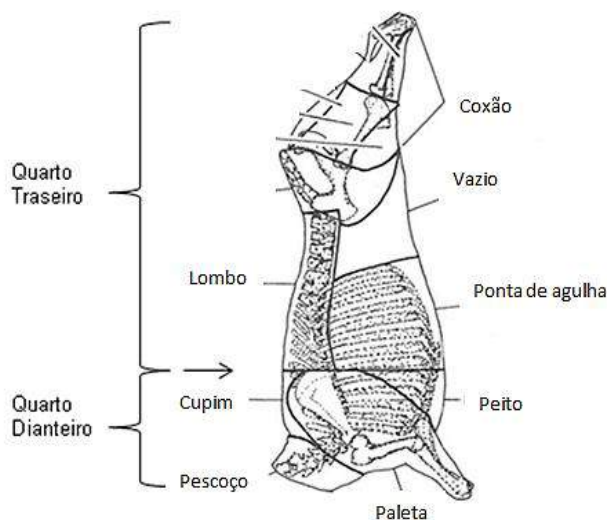
MATERIAL E MÉTODOS

O projeto para a condução desta pesquisa foi aprovado sob o protocolo nº 12/18 pelo Comitê de Ética de Uso de Animais-CEUA.

O trabalho foi realizado em um frigorífico com atividade principal de abate de bovinos, fiscalizado pelo Serviço de Inspeção Municipal do Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA), localizado na região do Alto Paranaíba/MG.

Neste estudo, 600 lesões em carcaças foram avaliadas e classificadas na sala de abate após os processos de sangria, esfolagem, evisceração e antes de serem armazenadas na câmara fria, a fim de relacioná-las com o manejo pré-abate. A Figura 1 foi utilizada como um guia para o mapeamento das lesões no momento da avaliação das carcaças.

Figura 1: Mapa mostrando as divisões da carcaça bovina contendo as sub-regiões avaliadas



Fonte: BEEFPOINT, (2010).

Além do mapa de lesões, utilizou-se, também, o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), de acordo com o decreto 9.013 de 29 de março de 2017, para verificação da providência a ser tomada através dos tipos de lesões encontradas nas carcaças durante a pesquisa.

As carcaças avaliadas foram separadas em dois grupos, sendo o Grupo 1 (carcaças com lesões) e Grupo 2 (carcaças sem lesões). As lesões encontradas nas carcaças do Grupo 1 foram classificadas em relação a sua localização, sendo os subgrupos: (A) o quarto dianteiro, dividido em quatro sub-regiões (cupim, paleta, pescoço e peito) e (B) quarto traseiro, dividido também em quatro sub-regiões (coxão, lombo, vazio e ponta de agulha) da carcaça. Essas lesões foram posteriormente classificadas em traumáticas (com presença de hematomas) e abscedativas (com presença de abscessos).

Após encerramento das avaliações e classificações das lesões nas carcaças bovinas, foi realizada a análise estatística descritiva, através da identificação da frequência absoluta e relativa dos dados obtidos, utilizando-se o software Microsoft Excel® 2010.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 600 carcaças avaliadas, 292 (48,7%) não apresentaram nenhum tipo de lesão e 308 (51,3%) apresentaram lesões, como mostra a Tabela 1.

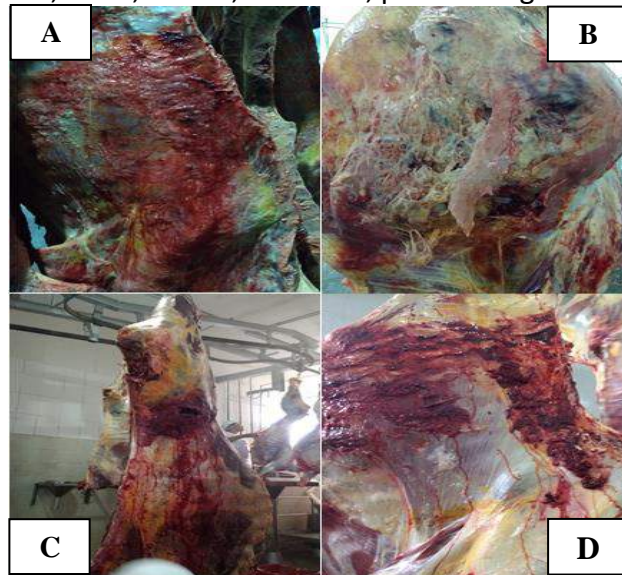
Tabela 1: Classificação das lesões divididas entre o quarto dianteiro e traseiro de carcaças avaliadas em frigorífico alocado em um município do Alto Paranaíba/MG, Junho de 2018

Carcaças avaliadas	Quantidade observada	%
Carcaças com presença de lesões	308	51,3%
Carcaças sem presença de lesões	292	48,7%
Total	600	100%

Nascimento *et. al* (2009), no Estado do Pará e Peñuela, e Toro e Valencia (2011), na Colômbia, observaram a presença de contusões em 66% e 84,3% dos animais avaliados, respectivamente, números superiores aos encontrados na presente pesquisa, demonstrando que a indústria possui falhas em gestão de bem-estar.

De acordo com Pereira e Lopes (2006), um mau manejo antes do abate pode vir a causar contusões nas carcaças, que são acúmulos de sangue originados pela ruptura de vasos sanguíneos, conforme demonstrado na Figura 2.

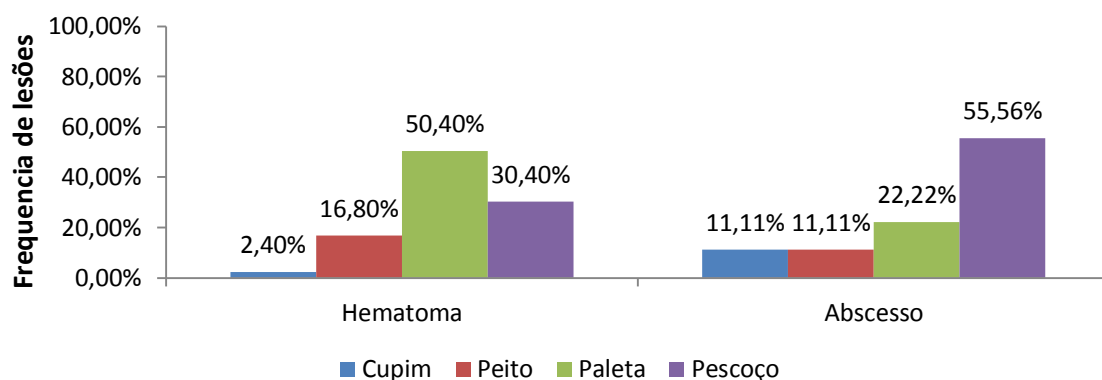
Figura 2: Carcaças com lesões generalizadas nas regiões dos quartos dianteiro e traseiro de carcaças avaliadas em frigorífico alocado em um município do Alto Paranaíba/MG, sendo A: ponta de agulha, lombo e paleta; B: coxão, ponta de agulha; C: coxão, vazio, lombo; D: lombo, ponta de agulha.



Neste estudo, o percentual encontrado de carcaças com lesões foi menor em relação a outros trabalhos, como o realizado por Braggion e Silva (2004) no Pantanal Sul-Matogrossense, onde 100% das carcaças de fêmeas bovinas tiveram algum tipo de lesão, assim como estudo realizado por Andrade *et al.* (2009), em que observaram lesões em 88,5% das carcaças e de Peres *et al.* (2010), onde foram encontradas lesões em 97,3% das 110 carcaças avaliadas.

Nas avaliações das lesões, as frequências observadas nas subdivisões do quarto dianteiro estão descritas no Gráfico 1, onde é possível observar que a maior parte de hematomas e abscessos foram encontrados nas regiões da paleta e do pescoço, respectivamente.

Gráfico 1: Frequência dos hematomas e abscessos presentes em diferentes sub-regiões da região dianteira das carcaças avaliadas em frigorífico alocado em um município do Alto Paranaíba/MG, Junho de 2018

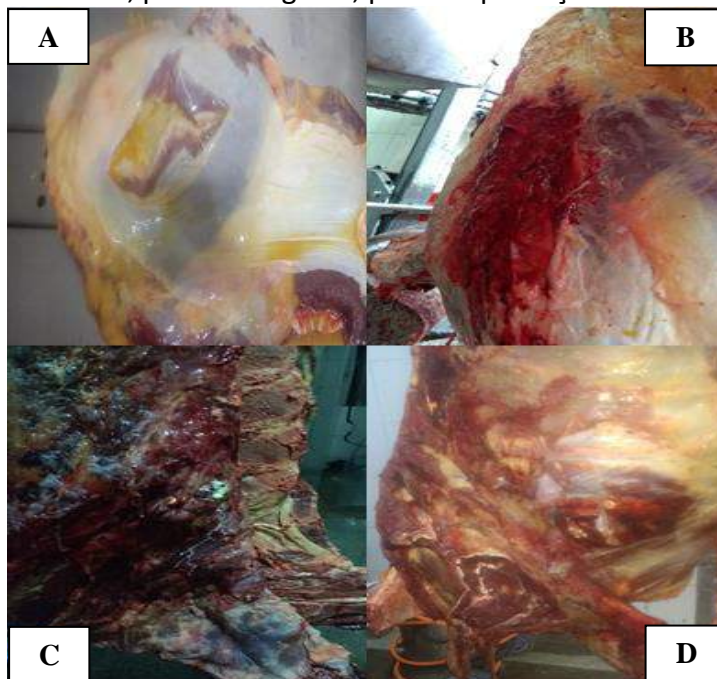


No presente estudo, foi observado que 27,7% das lesões foram na região do dianteiro, valor elevado quando comparado com trabalhos de Almeida (2005) e Andrade *et al.* (2008), nos quais verificaram 11,40% e 15,6% de lesões no dianteiro, respectivamente.

De acordo com Souza e Ferreira (2007), contusões nas carcaças podem ser decorrentes de brigas, quedas, saliências pontiagudas e/ou cortantes nas carrocerias dos caminhões, portões e portas mal dimensionadas e/ou manobras ou problemas de treinamento.

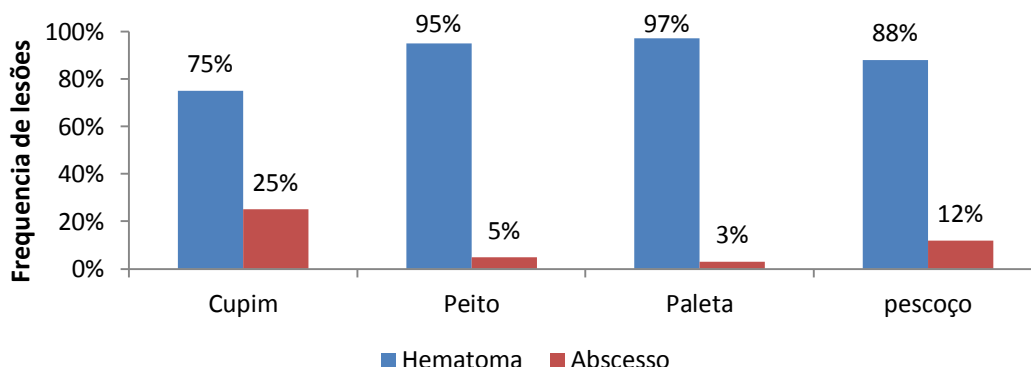
Na Figura 3, é possível observar contusões que foram encontradas na região do membro torácico, afetando a paleta, peito, pescoço. Em alguns casos, essas lesões acabam afetando mais de uma região em uma mesma carcaça, como é notável nos exemplos abaixo.

Figura 3: Lesões observadas na região do dianteiro de carcaças avaliadas em frigorífico alocado em um município do Alto Paranaíba/MG, sendo A: paleta; B: peito; C e D: lombo, ponta de agulha, paleta e pescoço.



Diante da avaliação realizada no quarto dianteiro, o Gráfico 2 mostra a diferença que houve ao se observarem hematomas e abscessos em cada sub-região dianteira, onde ocorreram mais lesões traumáticas, que, juntas, representaram 88,75% do total, contra 11,25% de lesões abscedativas.

Gráfico 2: Comparação de hematomas e abscessos em cada sub-região do quarto dianteiro de carcaças avaliadas em frigorífico alocado em um município do Alto Paranaíba/MG, Junho de 2018.

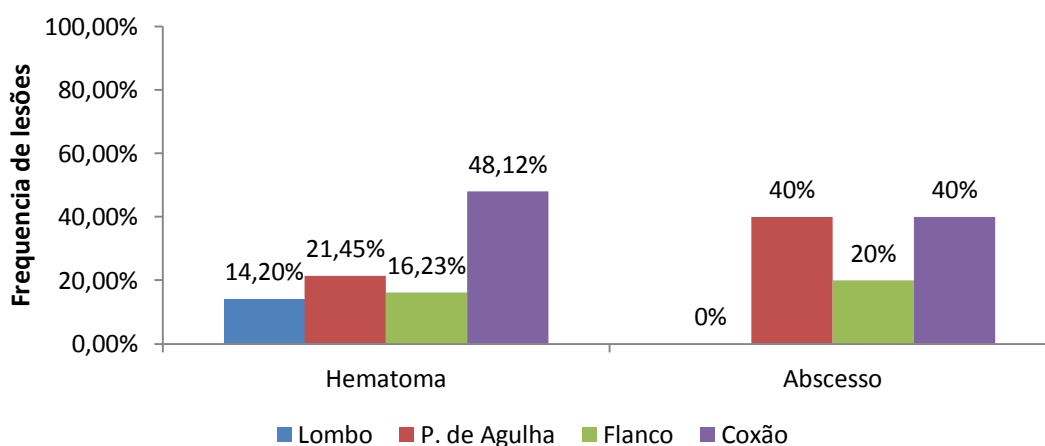


Detalhando os quatro cortes, obtiveram-se os seguintes resultados: 4 lesões encontradas na região do cupim, sendo 3 hematomas e 1 abscesso, 22 lesões encontradas na região do peito, sendo 21 hematomas e 1 abscesso, 65 lesões na região da paleta, sendo 63 hematomas e 2 abscessos, e 43 lesões na região do pescoço, sendo 38 hematomas e 5 abscessos.

Moro, Junquera e Umehara (2001) encontraram a maior prevalência de abscessos na região do dianteiro (97,84%), o que provavelmente pode estar relacionado a erros de manejo na vacinação, concordando com o presente trabalho, em que foram encontradas 9 lesões abscedativas (64%) em um total de 14 na região do dianteiro.

Além das avaliações no quarto dianteiro, as frequências das lesões observadas nas subdivisões do quarto traseiro também foram avaliadas no Gráfico 3, sendo possível observar que o local mais acometido foi a região do coxão, registrando elevado número de hematomas e abscessos.

Gráfico 3: Frequência dos hematomas e abscessos presentes em diferentes sub-regiões da região traseira das carcaças avaliadas em frigorífico alocado em um município do Alto Paranaíba/MG, Junho de 2018.

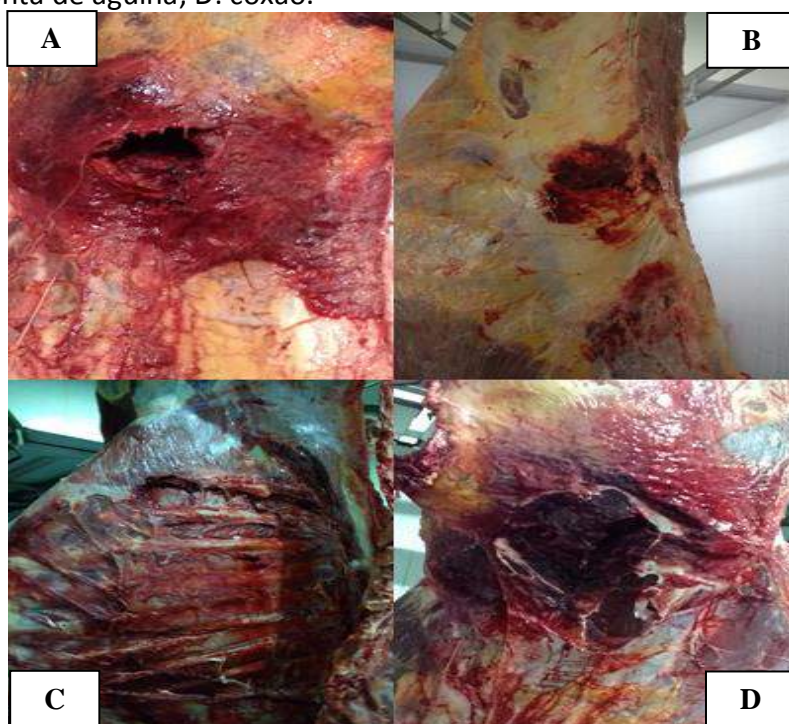


Melo (2015) também detectou uma maior ocorrência de lesões no quarto traseiro (80,9%), índice pouco superior ao observado nesta pesquisa (72,3%). A ocorrência de lesões nesses locais pode estar relacionada a erros de manejo no embarque, visto que, em algumas fazendas, são utilizados objetos como bastão com pregos (ferrões) para manejar os animais.

Em estudos realizados por Peres *et al.* (2010) e por Willian *et al.* (2012), o quarto traseiro foi a região mais atingida, assim como o observado neste trabalho, destacando-se que esta região contém as carnes mais apreciadas, resultando em perdas econômicas significativas. Willian *et al.* (2012) encontraram lesões principalmente no corte de contrafilé na região do coxão, conforme verificado nas avaliações realizadas nesta pesquisa.

Na Figura 4, é possível observar algumas lesões encontradas no quarto traseiro, afetando as regiões do coxão, lombo, vazio e grandes lesões na região das costelas do animal (ponta de agulha) como é notável nos exemplos abaixo.

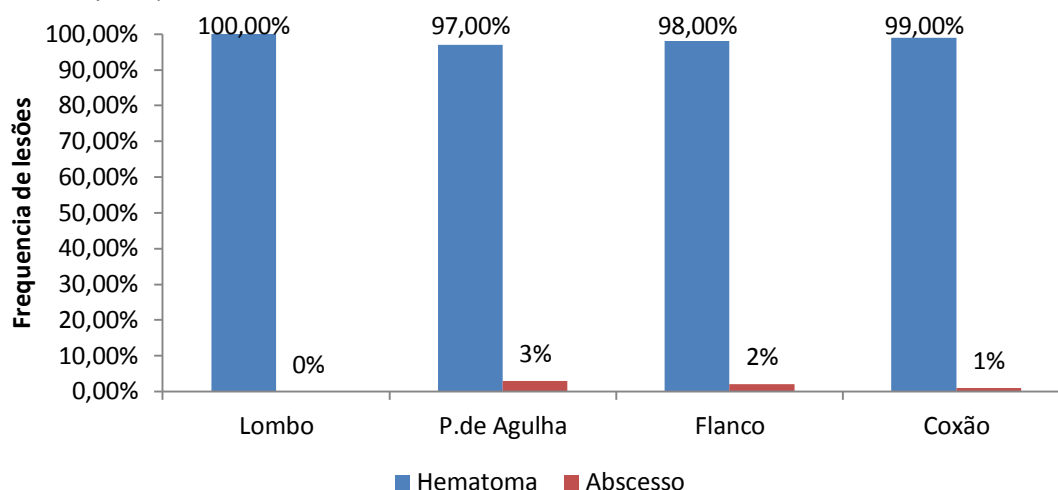
Figura 4: Lesões observadas na região do traseiro em carcaças avaliadas em um frigorífico alocado em um município do Alto Paranaíba, MG, sendo A: coxão e vazio B: lombo; C: ponta de agulha; D: coxão.



No presente estudo, a maioria das contusões no quarto traseiro foram superficiais, característica frequente quando há utilização de guizos e paus na condução dos animais, assim como observou Dario (2008), em trabalho realizado com 3112 carcaças, detectando hematomas em 2054 (66%), com maior prevalência na região do traseiro (80,9%).

O Gráfico 4 mostra o resultado sobre a diferença entre hematomas e abscessos, demonstrando um maior número de lesões traumáticas em relação a lesões abscedativas, com os hematomas representando 98,5% e os abscessos apenas 1,5%.

Gráfico 4 - Comparação de hematomas e abscessos em cada sub-região do quarto traseiro de carcaças avaliadas em frigorífico alocado em um município do Alto Paranaíba/MG, Junho de 2018



Os resultados obtidos dos quatro cortes foram: 49 lesões encontradas na região do peito, sendo todos hematomas, 76 lesões encontradas na região da ponta da agulha, sendo 74 hematomas e 2 abscessos, 57 lesões na região do vazio, sendo 56 hematomas e 1 abscesso, e 168 lesões na região do coxão, sendo 166 hematomas e 2 abscessos.

Diversos fatores podem contribuir para o número de lesões encontradas nas carcaças, entretanto Nascimento *et al.* (2008) encontraram, no Pará, maior número de lesões na região traseira, associando a ocorrência das lesões com o desnível entre a rampa de recepção e o caminhão, o que pode ter contribuído para estas lesões tanto nos quartos dianteiros pelo impulso do animal para sair do caminhão e cair na rampa, como também nos quartos traseiros pelo desequilíbrio causado durante o salto.

Rezende-Lago, D'amato e De Marchi (2011) avaliaram 1300 animais. De maneira geral, os hematomas foram encontrados na parte traseira dos animais e os abscessos na porção dianteira, concordando em partes com o presente estudo, em que foi possível encontrar maior número de lesões traumáticas na região traseira 73,4% e abscessos na região dianteira 64,3%. No trabalho deles, a região traseira mais afetada por traumas foi a costela do traseiro (37,99%) e a mais afetada por abscessos foi o cupim (80,12%).

Em valores absolutos, o prejuízo causado pelo descarte das lesões no dianteiro vem, em grande parte, pela presença de abscessos e um grande peso de tecido removido da carcaça, e, no traseiro, em sua maioria, é observada ocorrência de lesões traumáticas, além de concentrar grande parte dos cortes nobres do bovino. Dessa maneira, as perdas em valores são grandes nos dois casos, depreciando assim o produto final (MELO, 2015).

O transporte rodoviário e o manejo inadequado dos animais nas fazendas mostram-se como importantes causas de perdas econômicas devido às lesões e consequentes descartes nas carcaças (ANDRADE *et al.*, 2004). Para Almeida *et al.*

(2008), houve predominância de lesões recentes indicando que o período onde ocorreram os eventos que originaram as lesões aconteceu em um prazo curto em relação ao abate do animal, incluindo todo o manejo pré-abate realizado no animal.

Além das estradas, outros fatores como o manejo no momento do embarque e desembarque, superlotação de animais, brigas, manejo no frigorífico, dentre outros, também podem contribuir para a ocorrência de contusões nas carcaças (CARDOSO, 2010), assim como relataram Grandin (2000) e Chile (2001), os quais descreveram que a incidência de danos às carcaças pode ser um bom indicativo para avaliar as condições de bem-estar no manejo pré-abate.

Braggion e Silva (2004) destacam que as principais causas de lesões em carcaças são abscessos vacinais provenientes da inadequada aplicação de medicamentos e hematomas relacionados ao transporte. Chile (2001) complementa dizendo que as lesões são grandes responsáveis por prejuízos em diversos setores, sendo também um indicador de falhas no bem-estar animal, implicando, assim, em perdas econômicas tanto para o matadouro quanto para o pecuarista.

Para reduzir perdas econômicas, evitar comercialização de produtos cárneos impróprios ou de baixa qualidade e assim alcançar uma maior produtividade, é necessário que se respeitem os princípios do bem-estar animal em todo o processo de pré-abate, desde a fazenda, passando pelas etapas de embarque, viagem e desembarque, e a espera no matadouro frigorífico até o momento do abate, sendo feita uma fiscalização e inspeção rotineira, em que todos os procedimentos sejam acompanhados. Deve também ser feita uma adaptação das instalações de acordo com as exigências impostas pela legislação, visto que um número elevado de lesão está relacionado ao manejo incorreto, ao não atendimento das regras de bem estar animal e à clandestinidade, que favorece a disseminação de carnes de origem duvidosa (SANTOS, 2017).

CONCLUSÃO

Acompanhando o manejo e os processos realizados no local e, posteriormente, avaliando as carcaças, concluiu-se que a maior parte das lesões encontradas, principalmente as generalizadas, ocorreu antes da chegada dos animais no frigorífico, pois o manejo e a estrutura que foram observados parecem não terem exercido influências significativas que justificassem o alto número de lesões.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, L. A. M. **Manejo no pré-abate de bovinos: aspectos comportamentais e perdas econômicas por contusões.** 2005. 53f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

ALMEIDA, L. A. M. *et al.* Manejo pré-abate de bovinos: Monitoração de bem estar animal em frigoríficos exportadores – Perdas econômicas por contusões. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 22, n. 164, set. 2008.

ANDRADE, E. N. *et al.* **Transporte rodoviário de bovinos de corte no Pantanal Sul-mato-grossense: ocorrência de lesões em carcaças.** Corumbá, EMBRAPA Pantanal, 2004, 2p. (EMBRAPA Pantanal. Comunicado Técnico, 36).

ANDRADE, E. N. *et al.* **Abate de bovinos no pantanal Sul Matogrossente e lesões em carcaças.** 2008. Disponível em: <http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R0845-1.pdf>. Acesso em: 08 abr. 2018.

ANDRADE, E. N. *et al.* Manejo pré-abate de bovinos de corte no Pantanal, Brasil. **Archivos de Zootecnia**, v. 58, n. 222, p. 301-304, 2009.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNES, [ABIEC] 2017. **Perfil da pecuária brasileira.** Disponível em: <http://abiec.com.br/Sumario.aspx>. Acesso em: 15 fev. 2018.

BEEFPOINT. **Entendendo as diferenças dos cortes de carne bovina nos EUA e Brasil,** 2010. Disponível em: <https://www.beefpoint.com.br/entendendo-as-diferencas-dos-cortes-de-carne-bovina-nos-eua-e-brasil-59837/>. Acesso em: 20 ago. 2018.

BRAGGION; M.; SILVA; R. A. M. S. **Quantificações de lesões em carcaças de bovinos abatidos em frigoríficos no Pantanal Sul-Mato-Grossense.** Corumbá: Embrapa. CPAP, Comunicado Técnico, 45, 2004, p. 1-4.

CARDOSO, M. R. P. **Ocorrência de contusões em carcaças bovinas abatidas em um Matadouro Frigorífico de Uberlândia.** 2010. 26 f. Monografia- Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2010.

CHILE. Universidad de Concepción. **Curso de capacitacion de certificadores de carnes** .Ley 19.162. Chillan, Não paginado, 2001.

CLAÚDIO, L.D.G., **Fatores associados à injúria muscular em bovinos abatidos e suas relações com enzimas séricas e qualidade da carcaça** 2012. 81 f. Dissertação (Mestre em Medicina Veterinária), Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho”, Faculdade De Ciências Agrárias E Veterinárias, Campus De Jaboticabal, 2012.

DARIO, R. H. Z. Avaliação do Bem-Estar Anima de Bovinos Abatidos em Frigorífico de Bauru-SP. **IV Simpósio de Ciências da Unesp - Dracena e V Encontro de Zootecnia – Dracena**, Dracena, set. 2008.

GARCIA, L. G. *et al.* National Beef Quality Audit-2005: Survey of targeted cattle and carcass characteristics related to quality, quantity, and value of fed steers and heifers. **Journal of Animal Science**, Philadelphia, v. 86, n. 12, p. 3533-35, 2008.

GRANDIN, T. **Buenas practicas de trabajo para el manejo e insencibilización de animales.** Fort Collins, 2000.

MELO, W. O. et al. Impacto econômico da ocorrência de lesões em carcaças de bovinos abatidos no sudeste do Pará. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 9, n. 3, p. 243-250, 2015.

MORO, E.; JUNQUERA, J. O. B.; UMEHARA, O. Levantamento a incidência de reações vacinais e/ou medicamentosas em carcaças de bovinos na desossa em frigoríficos no Brasil. **A Hora Veterinária**, v. 21, n. 123, p. 55-57, 2001.

NASCIMENTO, G. R. *et al.* **Avaliação do Bem-Estar Animal em Bovinos Abatidos em Frigorífico do Pará.** 2008. Universidade Federal do Tocantins. Disponível em: <http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R0335-3.pdf>. Acesso em: 05 ago. 2019.

NASCIMENTO, G.R. *et al.* Avaliação do bem estar animal em bovinos abatidos no Pará. **Revista Veterinária em Foco**, v. 6, n. 2, p. 121-127, 2009.

NICHOLSON, J. D. W. **National Market Cow And Bull Beef Quality Audit-2007: A Survey Of Producer-Related Defects.** 2008. 150 f. Dissertação (Master of Science in Animal Science) - Office of Graduate Studies, Texas A&M University, College Station, 2008.

PEÑUELA, M. H. R.; TORO, C. G.; VALENCIA, J. A. S. Evaluación del manejo presacrificio y su relación con la presencia de contusiones em canales bovinas. **Biosalud**, v. 10, n. 2, p. 28-36, 2011.

PEREIRA, A. S. C.; LOPES, M. R. F.; **Manejo pré-abate e qualidade da carne.** 2006. Disponível em: <http://www.carneangus.org.br/html>. Acesso em: 05 ago. 2018.

PERES, L. M. *et al.* Frequência de lesões em carcaças bovinas. In: ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 19, 2010, L. **Anais...** Guarapuava: UNICENTRO, 2010, p. 1-4.

REZENDE-LAGO, N. C. M.; D'AMATO, C. C.; DE MARCHI, P. G. F.; Perdas econômicas por abscessos e hematomas em carcas bovinas. **Revista Eletrônica da Univar**, n. 6, p. 154-157, 2011.

RIISPOA. **Diário Oficial da União**, Nº 62, quinta-feira, 30 de março de 2017. Disponível em: <http://abiec.siteoficial.ws/images/upload/riispoa.pdf>. Acesso em: 20 ago. 2018.

SANTOS, P. G. **Principais causas de condenação de carcaças e órgãos que acometem bovinos no estado da Bahia.** Universidade Federal do Recôncavo da Bahia Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Cruz Das Almas, 2017.

SOUZA, A. A.; FERREIRA, T. I. **Perdas econômicas devido ao manejo inadequado de**

bovinos de corte. 2007. Disponível em: http://www.beefpoint.com.br/perdas-economicas-devido-ao-manejo-inadequado-de-bovinos-de-corte_noticia_40032_60_230_.aspx. Acesso em: 22 jul. 2010.

WILLIAM, B. *et al.* Bem estar e taxa de hematomas de bovinos transportados em diferentes distâncias e modelos de carroceria no estado do Mato Grosso do Sul – Brasil. **Revista Brasileira de Saúde Pública e Produção Animal** [*online*], v. 13, n. 3, p. 850-859, 2012.

PERFIL SANITÁRIO E MICROBIOLÓGICO DE ESTABELECIMENTOS COMERCIAIS DE CARNE

Ana Paula Pereira Fiuza

Médica Veterinária pelo UNIPAM.
E-mail: anapaulapfiuza@hotmail.com

Luiz Fernando Rocha Botelho

Professor orientador (UNIPAM).
E-mail: luizfrb@unipam.edu.br

Juliana Borges Pereira

Professora (UNIPAM).
E-mail: julianabp@unipam.edu.br

Jéssica Rodrigues Bolina Amorim

Médica Veterinária pelo UNIPAM.
E-mail: jessicabolina@hotmail.com

RESUMO: A inexistência de condições higiênico-sanitárias adequadas é muito comum em estabelecimentos que comercializam produtos alimentícios, sendo importante a implantação de Boas Práticas de Fabricação – BPF. Com este trabalho, objetivou-se avaliar o perfil higiênico-sanitário e a qualidade microbiológica de linguiça suína do tipo frescal comercializada em diferentes estabelecimentos comerciais de carne em um município do Alto Paranaíba- MG. Foram coletadas seis amostras aleatórias de linguiça suína do tipo frescal em três açougues, sendo duas amostras de cada estabelecimento, uma de linguiça vendida refrigerada e uma de linguiça vendida em temperatura ambiente. As primeiras análises observacionais foram realizadas no momento da compra e a avaliação por meio de *check list*, seguindo as preconizadas da RDC 216/2004. A análise microbiológica testou a presença de microrganismos indicadores de incorreta manipulação: coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* pelo método do Número mais Provável (NMP/g), tendo estes valores comparados aos preconizados pela RDC nº12/2001. Nos estabelecimentos A, B e C, foram observadas condições que descumprem a resolução RDC nº 216/2004. Na análise da presença de coliformes totais e coliformes termotolerantes, as amostras de todos os estabelecimentos apresentaram-se positivas, porém apenas as amostras dos estabelecimentos A e B na condição refrigerada apresentaram coliformes termotolerantes acima do preconizado pela RDC nº12/2001. O estabelecimento B foi o único que apresentou contaminação por *E. coli*, nas duas condições de armazenamento. Conclui-se com o presente estudo que os manipuladores dos estabelecimentos avaliados necessitam de treinamentos em Boas Práticas de Fabricação, principalmente acerca de higienização dos equipamentos e higiene pessoal.

PALAVRAS-CHAVE: Contaminantes. Coliforme. *Escherichia coli*. Microbiologia.

ABSTRACT: The lack of adequate hygienic-sanitary conditions is very common in establishments that sell food products, so it is important to implement Good Manufacturing Practices - GMP. The objective of this study was to evaluate the hygienic-sanitary profile and microbiological quality of pork sausage, “Frescal” type sold in different meat establishments in Alto Paranaíba-MG. Six samples of “Frescal” type pork sausage were collected randomly from three butchers, two samples from each establishment, one from refrigerated sold sausage and one from room temperature sausage. The first analysis was done at the moment they were bought through a check list recommended by RCB 216/2004. Microbiological analysis tested the presence of microorganisms that indicates wrong handling: total coliforms, thermotolerant coliforms and *Escherichia coli* by the method of Most Probable Number (MPN/g), comparing these values with the ones established by RCB nº 12/2001. In all A, B and C stores, it was observed conditions which are not in compliance with resolution RCB nº 216/2004. In the analysis of the presence of total coliforms and thermotolerant coliforms, samples from all establishments were positive, but only establishments A and B showed a number of thermotolerant coliforms higher than acceptable in RCB nº12/2001. Establishment B was the only one with *Escherichia coli*. contamination under both storage conditions. It is concluded with the present study that the handlers of the evaluated establishments need training in Good Manufacturing Practices, mainly about equipment hygiene and personal hygiene.

KEYWORDS: Contaminants. Coliform. *Escherichia coli*. Microbiology.

INTRODUÇÃO

Relatos de intoxicação alimentar e morte de indivíduos são registrados por órgãos de saúde pública todos os anos devido a falhas de procedimentos em estabelecimentos do comércio de alimentos (MENNUCCI *et al.*, 2010). Devido a suas características físico-químicas e elevada atividade de água e riqueza em proteínas, os alimentos de origem animal podem ser contaminados facilmente por microrganismos patogênicos ou deterioradores, em qualquer etapa de produção, desde o abate, manipulação, controle de temperatura, higienização dos equipamentos e utensílios, transporte, armazenamento até a distribuição (CARDOSO; ARAÚJO, 2003).

Os manipuladores têm sido apontados como os responsáveis por grande parte dos casos de contaminação dos alimentos devido à má higienização ou ao fato de serem portadores de microrganismo patogênicos (COMMISSION DEL CODEZ ALIMENTARIUS, 2005). Dessa forma, é importante a conscientização e treinamento dos manipuladores sobre higiene alimentar e sobre sua responsabilidade na qualidade sanitária do alimento manipulado (HEIDEMANN; TRAEBERT, 2009).

A segurança alimentar tem se tornado um grande desafio por visar ofertar alimentos livres de agentes contaminantes que possam colocar em risco a saúde do consumidor (SOTO *et al.*, 2006). Grande parte dos manipuladores e consumidores não tem conhecimento dos requisitos necessários para uma correta manipulação dos

alimentos, principalmente no armazenamento (tempo de armazenamento, local e temperatura), bem como dos perigos que podem estar associados à presença de bactérias patogênicas. Porém, tanto a sociedade quanto os órgãos fiscalizadores pedem e exigem a qualidade dos alimentos, embora poucos saibam como atingi-la (OLIVEIRA *et al.*, 2008).

A inexistência de condições higiênico-sanitárias adequadas é muito comum em estabelecimentos que comercializam produtos alimentícios, sendo importante a implantação de Boas Práticas de Fabricação - BPF (BRASIL, 2004).

Para atender à população e diversificar a linha de produtos carnes, a carne pode passar por etapas de processamento, agregando, em muitos casos, características sensoriais e até mesmo podendo aumentar a vida de prateleira. Nesse sentido, estão entre os processados carnes mais consumidos as linguiças, que são embutidos fabricados com carnes ou órgãos comestíveis de animais, adicionando ou não de tecidos adiposos, embutidas em envoltório por tripa natural ou artificial (BARBOSA *et al.*, 2003). Destacam-se as linguiças do tipo frescal por serem bem aceitas e comercializadas, devido ao preço acessível e a seu sabor característico (NASCIMENTO, 2005).

A produção artesanal ou industrial, assim como os tipos de carnes que são utilizadas na fabricação da linguiça, pode contribuir para um alimento de má qualidade, que pode ser pela falta de higiene sanitária no seu preparo ou na indústria e açougues ou pela contaminação (BARROS, 2011).

É fundamental ter sempre cuidado na chegada da carne, no preparo da matéria-prima e na manipulação para que o produto final não sofra nenhuma contaminação. Se não houve os cuidados necessários, esse alimento pode contribuir para o desenvolvimento de Doenças Transmitidas por Alimentos-DTA's (SILVA JÚNIOR; MARTINS, 1991), que são classificadas como enfermidades causadas pela ingestão de alimentos contaminados com microrganismos patogênicos, substâncias químicas ou por objetos lesivos que contenham em sua composição estruturas tóxicas (SILVA JÚNIOR, 2014).

Portanto, objetivou-se com este trabalho avaliar a situação higiênico-sanitária de estabelecimentos comerciais de carne e a presença de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* em linguiças suínas do tipo frescal comercializadas em um município do Alto Paranaíba-MG.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em três estabelecimentos comerciais de carne localizados em um município do Alto Paranaíba-MG, no mês de maio de 2018.

As primeiras análises observacionais foram realizadas no momento da compra, por meio de avaliação das propriedades do embutido, tais como: condições higiênico-sanitárias do local, equipamentos e manipuladores, seguindo alguns critérios de boas práticas de fabricação preconizados pela RDC nº 216/2004 (BRASIL, 2004).

Foi realizada a avaliação dos estabelecimentos por meio da aplicação de *check list*, em que foram avaliados critérios divididos em blocos, numerados de um a quatro, sendo os mesmos descritos como: Bloco 1: Situação e condições de edificação; Bloco 2:

Equipamentos e utensílios; Bloco 3: Matérias-primas/ Produtos expostos a venda; Bloco 4: Manipulação e venda.

Posteriormente, em cada estabelecimento, foram coletados 200 gramas de linguiça suína do tipo frescal em cada açougue, identificadas em A, B e C. O estudo realizado foi na comparação da qualidade da linguiça suína vendida refrigerada e a linguiça suína vendida em temperatura ambiente.

As amostras foram adquiridas em açougues aleatórios. Foram acondicionadas dentro de sacos plásticos estéreis, fechados e identificados. O transporte aconteceu por meio de caixas isotérmicas com gelo, para manter a temperatura de refrigeração e evitar qualquer alteração até a chegada ao laboratório de Microbiologia de Alimentos do Centro Universitário de Patos de Minas – UNIPAM, onde foram analisadas imediatamente.

No laboratório foi realizada a análise microbiológica, utilizando microrganismos indicadores de má manipulação de alimentos, como: Coliformes Totais, Fecais e *Escherichia coli* pelo método do Número Mais Provável (NMP).

Inicialmente foi realizada a assepsia da parte externa da bancada com álcool 70%. Posteriormente, foram retirados 25 gramas da amostra do embutido e colocada em um frasco contendo 225 ml de água peptonada para homogeneizar a amostra. No teste presuntivo de Coliformes Totais, foram utilizadas as três diluições adequadas de cada amostra (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}) e, com uma alçada, foi inoculada amostra da diluição em uma série de três tubos de Caldo de Lauril Sulfato Triptose (LST) estéril por diluição, com tubo de Durhan invertido, e, em seguida, incubados a 35° C por 48 horas. Foram considerados positivos os tubos que apresentaram turvação e formação de gás visível no tubo de Durhan.

Para o teste confirmatório, utilizou-se o Caldo Verde Bile Brilhante (VB), transferindo uma alçada de cada amostra positiva de Lauril Sulfato Triptose para tubos contendo Verde Bile Brilhante (VB) e incubado em estufa a 37° C por 48 horas, observando os resultados positivos através de turvação do meio e formação de gás.

Para análise dos Coliformes Termotolerantes, foi transferida uma alçada de cada amostra positiva de Lauril Sulfato Triptose para tubos contendo caldo *E. coli* (EC), e incubados em banho-maria a 45,5° C por 48 horas, considerando positivos aqueles tubos que apresentaram produção de gás e turvação. Para os tubos que se apresentaram positivos, foi anotado o número de tubos com caldo *E. coli* (EC) que apresentaram formação de gás e turvação e posteriormente determinado o Número Mais Provável (NMP) / g ou ml pela tabela de NMP apropriada às diluições inoculadas.

A análise dos dados microbiológicos foi baseada nos critérios da RDC nº 12/2001 (BRASIL, 2001) e as características higiênico-sanitárias foram analisadas de acordo com a RDC nº 216/2004 (BRASIL, 2004).

Para a análise dos dados, foi utilizada a análise estatística descritiva e comparativa com as legislações vigentes: RDC nº 216/2004 (BRASIL, 2004) para boas práticas de manipulação e RDC nº 12/2001 (BRASIL, 2001) para características microbiológicas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como descrito na tabela 1, os estabelecimentos comerciais apresentaram algumas irregularidades, segundo os resultados das avaliações através do *check list*.

Tabela 1 – *Check lis* da situação higiênico-sanitária dos estabelecimentos comerciais de carne em um município do Alto Paranaíba-MG,2018.

Blocos	Observações	A	B	C
1	Lixeiras com tampa acionadas por pedal	S	N	N
	Paredes bem conservadas	N	N	S
	Piso bem conservado e limpo	S	S	S
	Uso de ventiladores	S	S	N
	Lavatório para mãos na área de manipulação	S	S	S
2	Equipamento de refrigeração em bom estado	S	S	S
	Equipamentos/Utensílios de material adequado	S	S	S
	Equipamentos/Utensílios higienizados	N	N	N
	Presença de biofilme em equipamentos	S	S	S
3	Funcionários uniformizados	N	N	N
	Manipuladores em contato com dinheiro	S	S	N
	Manipuladores usando toucas	N	N	N
	Utilização de luvas de malha de aço	N	N	N
4	Produto vendido na temperatura indicada	N	N	N
	Verificação da limpeza do caminhão do transporte na entrega	N	N	S
	Aferição e anotação da temperatura da carne no ato da entrega	N	N	N
	Armazenamento adequado	N	N	S
	Armazenamento adequado de itens da limpeza	S	S	S
	Embalagem adequada	S	S	S

S- Sim N- Não

Foi possível observar que algumas características do Bloco 1, referente à situação e condições de edificação, apresentavam irregularidades. Os pontos de venda dispunham de lavatórios para as mãos, porém eles eram utilizados para a lavagem não só das mãos, mas também dos equipamentos e utensílios utilizados na manipulação do alimento. Segundo a resolução RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004, todo o estabelecimento que manipula alimentos deve conter lavatórios separados para higienização das mãos, equipamentos e utensílios, com adequado estado de manutenção e os mesmos sempre mantidos em condições higiênicas adequadas.

Resultados semelhantes foram observados por Vidal-Martins *et al.* (2014), que, ao implantarem um programa de boas práticas de manipulação em açougues do município de São José do Rio Preto – SP, puderam notar que muitos açougues estavam estruturalmente inadequados.

Ao avaliar os questionamentos do Bloco 2, referente à situação dos equipamentos e utensílios, também pôde-se observar algumas irregularidades. Em todos os estabelecimentos analisados não era realizada a limpeza do moedor entre a moagem de uma carne a outra. Segundo Silva Júnior & Martins (1991), a falta de higienização adequada dos equipamentos e utensílios, como o moedor de carne, pode comprometer a qualidade microbiológica da carne e derivados, como a linguiça, deixando-os em condições inapropriadas para o consumo humano.

Segundo a RDC nº 4 de 2004, no estabelecimento os equipamentos usados pelos manipuladores devem apresentar superfície lisa, laváveis e estarem em bom estado de conservação (BRASIL, 2004). Porém, em todos os estabelecimentos foi identificado biofilme, que são sujidades e restos de alimentos nas facas, tábuas e bancada, podendo tornar-se importantes fontes de contaminações bacterianas, levando à ocorrência de doenças alimentares e à perda de qualidade do produto ofertado ao consumidor.

A prática de higienização dos equipamentos e utensílios é de grande importância no estabelecimento, pois diminui a presença e multiplicação de microrganismos nos alimentos processados, evitando o aparecimento de possíveis doenças transmitidas por alimentos (DTA's).

Ao avaliar os resultados do Bloco 3, referentes a matérias-primas e produtos expostos a venda, observou-se nos três estabelecimentos que os manipuladores e funcionários não estavam uniformizados.

Observou-se ainda que os funcionários responsáveis pelo atendimento dos estabelecimentos A e B eram também os manipuladores e não higienizavam as mãos antes de manipular os produtos cárneos, como a linguiça, e não utilizaram luvas descartáveis. Logo em seguida, manipulavam dinheiro, possivelmente contaminando o próximo produto. Essas condições descumprem as recomendações preconizadas pela RDC nº 216/2004, pois a área de serviço de alimentação onde realiza o recebimento do pagamento (via dinheiro, cartões e outros meios) deve ser em área reservada. Tal fato foi observado apenas no estabelecimento C. Os funcionários responsáveis por essa atividade não devem manipular alimentos preparados, embalados ou não.

Segundo o Diário Oficial do Estado de São Paulo (2013), é fundamental a utilização de uniformes por estes profissionais, visto que lidam diretamente com alimento altamente susceptível à contaminação. A utilização de uniformes limpos e em bom estado de conservação contribui para minimizar a contaminação do alimento.

Santos (2012), no Distrito Federal, encontrou situação semelhante a este estudo, visto que observou que funcionários do estabelecimento não lavavam as mãos antes da manipulação da carne, e, em alguns açougues, eles não utilizavam touca para prender os cabelos, luvas de malha de aço e funcionários manipulavam dinheiro e carne. Pode-se observar no estudo presença de coliformes no produto cárneo manipulado, sugerindo que estes fatos tiveram relação com a contaminação.

Na avaliação do Bloco 4, referente à manipulação e venda de produtos, foi possível observar que os estabelecimentos armazenavam as carnes em balcão frigorífico, porém não foi autorizado pelos proprietários observar a temperatura de armazenamento. Alguns produtos estavam expostos sobre a mesa em temperatura ambiente, o que coloca em risco a saúde dos consumidores, pois os alimentos mantidos em temperaturas inadequadas podem ser um excelente meio para microrganismos se multiplicarem, causando mal ao organismo de quem o ingerir.

Em todos os estabelecimentos observou-se que a linguiça suína frescal vendida sobre refrigeração era mantida em local adequado, porém não foi possível observar se a temperatura estava de acordo com a permitida pela RDC nº12/2001, também não sendo possível saber se foi fabricada recentemente ou se havia dias que estava armazenada. Quanto à linguiça suína frescal vendida sobre temperatura ambiente, foi

observado que estava exposta à multiplicação de microrganismos patógenos e exposta ao trânsito de pessoas que passavam em frente ao local ou que chegavam no balcão do estabelecimento.

Desde o momento de abate até o momento da venda, a carne fresca deve permanecer em temperatura baixa de refrigeração por se tratar de um alimento perecível e passível à contaminação microbiana. O alimento, se exposto a temperaturas inadequadas, pode estar vulnerável à contaminação ou ao crescimento microbiano, além de sofrer modificações das características sensoriais e do valor nutritivo, promovendo ações nocivas para a saúde humana (AMORIM, 2012).

Em trabalho semelhante, realizado no Município de Ribeirão Preto/SP, Prado *et al.* (2011) observaram que apenas 13% dos açougues inspecionados faziam o uso de armazenamento correto de acordo com a legislação e os outros 87% apresentavam riscos de contaminação.

Os resultados das análises microbiológicas do estabelecimento A, B e C podem ser observados na tabela 2. Das amostras analisadas, apenas os produtos coletados no estabelecimento B apresentaram crescimento de *E.coli*, tanto na amostra refrigerada quanto na em temperatura ambiente. O resultado pode estar relacionado à falta de higiene adequada dos equipamentos e utensílios, ao não uso de uniformes e luvas, bem como à manipulação de dinheiro e carne.

Tabela 2 - Análise da presença de coliformes totais (C.T.), coliformes termotolerantes (C.T.T.) e *Escherichia coli* em linguças suína de três estabelecimentos comerciais de carne em um município do Alto Paranaíba-MG, 2018.

Condições de armazenamento	Estabelecimento comercial	C.T (NMP/g)	C.T.T (NMP/g)	<i>Escherichia coli</i>
AMBIENTE	A	0,43x10 ³	0,23x10 ³	Ausente
	B	0,11x10 ³	0,11x10 ³	Presente
	C	0,43x10 ³	0,43x10 ³	Ausente
REFRIGERADA	A	>=24x10 ³	>=24x10 ³	Ausente
	B	>=24x10 ³	>=24x10 ³	Presente
	C	0,43x10 ³	0,15x10 ³	Ausente
RDC nº 12/2001		-	5x10 ³	-

Ao se avaliar o resultado da análise microbiológica, é possível observar que a linguça suína vendida sobre refrigeração nos estabelecimentos A e B não estava dentro do limite, apresentando valores maiores do que os estabelecidos pela RDC12/2001, que podem ser ocasionados devido ao local de refrigeração não estar devidamente higienizado, e por estarem em envoltórios de tripas naturais mal lavadas ou estocadas durante muito tempo.

Em um estudo realizado em açougues de supermercados de Canoinhas-Sc, Rosina e Monego (2013) observaram que a contaminação por *E.coli* inicia-se durante o processo de abate através do contato da carne e da pele do animal contaminado de fezes, seguida da má higienização na manipulação e nos equipamentos utilizados, o que leva ao aumento deste microrganismo.

Ao observar os resultados referentes aos coliformes termotolerantes, apenas as amostras oriundas do estabelecimento C estavam com valores preconizados pela RDC nº 12 de 2001. Tal fato pode estar associado a melhores condições higiênico-sanitárias

comparadas aos demais estabelecimentos, sendo o único que apresentava caixa para recebimento de dinheiro separado do balcão de manipulação, com funcionário exclusivo para esta função, paredes conservadas e armazenamento adequado.

De modo geral, a ocorrência em alimentos de coliformes (totais) a 35°C indica condições higiênicas precárias e de coliformes (termotolerantes) a 45°C é considerada indicativa de contaminação fecal e da possibilidade da presença de bactérias patogênicas. Em um estudo feito por Chaves, Gonçalves e Franco (2000), realizado com linguças frescas suínas, em 75% das amostras analisadas o resultado foi de más condições de higiene pela presença de coliforme a 45°C e 65% indicaram presença da bactéria *E.coli*.

Embora a ANVISA não estabeleça limite máximo para contagens de *E.coli*, a presença dessa bactéria indica contaminação microbiana de origem fecal, ficando provado que as condições higiênico-sanitárias no estabelecimento foram inadequadas, como falta de higienização correta da bancada de corte, falta de lavagem do moedor e biofilme nas facas, o que pode levar à contaminação da matéria-prima, colocando em risco a saúde dos consumidores.

Para Bandeira (2004), a presença deste micro-organismo na carne modifica suas características organolépticas, desvalorizando o produto e impossibilitando seu consumo. As bactérias *E.coli* são micro-organismos que habitam o organismo humano, sendo benéfica, porém alimentos contaminados podem desenvolver sua forma patogênica, causando doenças diarreicas no consumidor, por isso é fundamental que sejam seguidos os procedimentos de boas práticas de fabricação.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no estudo demonstram a execução de procedimentos inadequados na manipulação dos alimentos, na higienização de equipamentos e utensílios, favorecendo a contaminação do alimento. Reforça-se, dessa forma, a necessidade de treinamento dos manipuladores em Boas Práticas de Fabricação, adequação de instalações e equipamentos, assim como educação sanitária dos proprietários e funcionários, visando à segurança alimentar.

REFERÊNCIAS

AMORIM, G. K. S. **Identificação da microbiota fúngica da carne moída comercializada no mercado central de Campina**. 50 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Centro de Ciências Biológicas e de Saúde, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2012.

BANDEIRA, M. T. P. S. **Qualidade microbiológica da carne moída**. 43f. Monografia (Especialização em Qualidade de Alimentos) - Universidade de Brasília, Brasília, 2004.

BARBOSA, M. B. C. *et al.* Avaliação da qualidade microbiológica de linguças frescas de carne suína no município de Sete Lagoas. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 104/105, p. 20-21, 2003.

BARROS, F. **Avaliações Bromatológicas e Microbiológicas de Linguiças Colonial suína e Light**. 2011. 49 p. Dissertação (Bacharel em Química Industrial) - UNIVATES, Lajeado, 2011. Disponível em:
<https://www.univates.br/bdu/bitstream/10737/508/1/2011FranciscocodeBarros.pdf>. Acesso em: 03 abr. 2018.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC n 216**, de 15 de setembro de 2004.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº. 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 10 jan 2001.

CARDOSO, L.; ARAÚJO, W. M. C. Parâmetros de qualidade em carnes comercializadas no Distrito Federal no período de 1997-2001. **Revista Higiene Alimentar**, v. 17, n. 113, p. 12-19, 2003.

COMMISSION DEL CODEX ALIMENTARIUS. **Código de Práticas de Higiene para La Carne**. CAC/RCP 58/2005. Disponível em:
<http://www.codexalimentarius.net/search/advancedsearch.do>. Acesso em: 03 jan. 2012.

CHAVES, G. M. C.; GONÇALVES P. M. R.; FRANCO R. M. Avaliação bacteriológica de linguiça frescal suína comercializada no município do Rio de Janeiro, RJ. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, n. 13, p. 48-52, jun. 2000.

HEIDEMANN, R.; TRAEBERT, J. Nível de conhecimento dos trabalhadores de indústrias de produtos suínos sobre a manipulação higiênica dos alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 23, n. 1174/175, p. 47-51, 2009.

MENUCCI, T. A. *et al.* Avaliação da contaminação por matérias estranhas em carne de sol comercializadas em “casas do norte”. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 69, n. 1, p. 47-54, 2010.

NASCIMENTO, J. **Embutidos e Defumados de Carne Suína**. Curitiba: Agrodata Produtora de Vídeo Científico e Culturais, 2005.

OLIVEIRA, S. *et al.* Avaliação das condições higiênico-sanitárias de carne bovina comercializada em supermercados de João Pessoa. **Revista Alimentação e Nutrição**, Araraquara, v. 19, n. 1, p. 61-66, 2008.

PRADO, F. F. *et al.* Açougues do Município de Ribeirão Preto/SP: situação higiênico-sanitária por regiões administrativas. **Revista Higiene Alimentar**, v. 25, n. 2, p. 53-57, 2011.

ROSINA, A.; MONEGO, F. Avaliação da carne bovina nas redes de supermercados de canoinhas/SC. **Saúde Meio Ambiente**, v. 2, n. 2, p. 55-64, 2013.

SANTOS, C. R. F. **Análise microbiológica da carne bovina comercializada em açougues do Distrito Federal, antes e após o processo de moagem**. Faculdade de Ciências da Educação e Saúde. 2012.

SÃO PAULO. Centro de Vigilância Sanitária. Portaria CVS 5, de 09 de abril de 2013. Aprova o regulamento técnico sobre boas práticas para estabelecimentos comerciais de alimentos e para serviços de alimentação, e o roteiro de inspeção, anexo. **Diário Oficial do Estado de São Paulo**, nº. 73, Poder Executivo, Seção 1, p. 32-25.

SILVA JÚNIOR, E. A. **Manual de controle higiênico sanitário em serviços de alimentação**. 7. ed. São Paulo: Varela, 2014.

SILVA JÚNIOR, E. A; MARTINS, E. A. Análise microbiológica e cozinhas industriais. **Revista Higiene Alimentar**, v. 5, n. 17, p. 20-24, 1991.

SOTO F.R.M. *et al.* Proposta e análise crítica de um protocolo de inspeção e de condições sanitárias em supermercados do município de Ibiúna- SP. **Revista Brasileira Epidemiologia**, v. 9, n. 2, p. 235-241, 2006.

VIDAL-MARTINS *et al.* Implantação e avaliação do programa de boas práticas de manipulação em açougues do Município de São José do Rio Preto – SP. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 8, n. 2, p. 73-86, abr./jun. 2014.