

REVISTA PORTUGUESA DE ZOOTECNIA

#01/2025

Edição
Especial

XXIV ZOOTECH – 24º
Congresso Nacional
de Zootecnia



APZ

ISSN: 2976-0704

Índice

3

FICHA TÉCNICA

5

EDITORIAL

15

AVALIAÇÃO DAS PERDAS E DE CARACTERÍSTICAS FERMENTATIVAS DE SILAGEM DE CAPIM MASSAI (*PANICUM MAXIMUM*, JACQ CV. MASSAI) COM ADIÇÃO DE FARELO DE ARROZ (CUIM)

34

DIZ-ME QUE SALMÃO ESCOLHE E DIR-TE-EI QUE SALMÃO CONSOMES. CONTRIBUTO PARA UMA ESCOLHA SAUDÁVEL NA DIETA DO CONSUMIDOR

55

IDENTIFICACIÓN DE DíPTEROS DE INTERÉS SANITARIO EN CENTROS ECUESTRES

74

LONGEVIDADE PRODUTIVA DE VACAS ABERDEEN-ANGUS EM PORTUGAL

4

COMISSÃO CIENTÍFICA

6

ADAPTABILIDADE DE CAPRINOS E OVINOS EM REGIÕES TROPICAIS: REVISÃO INTEGRATIVA

23

PROSPECÇÃO MICROBIOLÓGICA DA PRÓPOLIS DA ABELHA TUBI

46

OTIMIZAÇÃO DA RELAÇÃO SUBSTRATO: INÓCULO FECAL PARA IMPLEMENTAÇÃO DO MÉTODO AUTOMÁTICO DA PRODUÇÃO DE GÁS NA TESTAGEM DE COMPOSTOS ANTI-METANOGENICOS

66

NUEVA SOLUCIÓN PARA REDUCIR LA PERSISTENCIA DE PARÁSITOS DE INTERÉS VETERINARIO EN PRADOS

REVISTA PORTUGUESA DE ZOOTECNIA

FICHA TÉCNICA

DIRECTOR

Joaquim Lima Cerqueira

EDITOR-CHEFE

Joaquim Lima Cerqueira

COMPOSIÇÃO E MONTAGEM

Sara Garcia
Telma G. Pinto

DESIGN GRÁFICO

Sara Garcia

PROPRIEDADE

APEZ - Associação
Portuguesa de
Engenharia Zootécnica

CONTACTOS

Apartado 60,
5001-909 Vila Real, Portugal

geral@apez.pt

T: +351 912 239 527

COLABORADORES

Flávio Silva

*Engenheiro Zootécnico
pela Universidade de
Évora, Doutorando em
Ciência Animal*

Sara Garcia

*Engenheira Zootécnica
pela Universidade de
Évora, focada em
Nutrição de Ruminantes*



REVISTA PORTUGUESA DE ZOOTECNIA

COMISSÃO CIENTÍFICA

Alfredo Borba
Alfredo Pereira
Ana Geraldo
Ana Sofia Santos
André Almeida
Ângela Martins
António Marcos Ramos
António Moutinho Rodrigues
António Vicente
Carlos Vouzela
Cristiana Maduro Dias
Cristina Conceição
Divanildo Monteiro
Fernando Marques
Hélder Nunes
Henrique Duarte Rosa
Joaquim Lima Cerqueira
Joaquim Moreira da Silva
Jorge Azevedo
Jorge Oliveira
José Carlos Almeida
José Júlio Martins
José Pedro Araújo

Luís Mendes Ferreira
Luís Patarata
Maria Amélia Ramos
Maria João Fradinho
Maria José Gomes
Maria José Saavedra
Maria Lurdes Dapkevicius
Mariana Almeida
Miguel Elias
Miguel Rodrigues
Nuno Carolino

Olga Moreira
Paulo Rema
Paulo Russo
Rita Payan
Rui Charneca
Severiano Silva
Sofia Teixeira
Victor Pinheiro



ZOOTECH 2024 PORTUGAL
XXIV CONGRESSO DE ZOOTECNIA

A publicação deste número foi possível graças
ao apoio da Comissão Científica do XXIV
ZOOTECH - 24º Congresso Nacional de Zootecnia



EDITORIAL

A Associação Portuguesa de Engenharia Zootécnica foi legalmente constituída em 1996, contudo a formação superior nesta importante área de atividade profissional e económica existe em Portugal há mais de 40 anos, assim como a realização de Encontros, Seminários e Congressos desta especialidade.

Uma das atividades da APEZ consiste na publicação e difusão de conteúdos científicos e técnicos sobre as mais variadas áreas da produção animal, numa perspetiva multidisciplinar. Com este objetivo, publica-se mais um número da RPZ, sendo a primeira edição em que assumo a responsabilidade editorial da mesma, com a convicção de que esta revista está orientada para fortalecer as sinergias entre a investigação, a aplicação e o desenvolvimento tecnológico no âmbito da ciência animal, sendo em Portugal, uma das principais entidades representantes desta área do conhecimento e de atuação profissional.

A RPZ aceita para publicação artigos científicos originais, resultantes da investigação e desenvolvimento tecnológico no âmbito da fisiologia, reprodução, nutrição, melhoramento genético, gestão das explorações, tecnologia alimentar, higiene e sanidade e do bem-estar animal, em todas as espécies animais.

Os artigos publicados são objeto de revisão por pares, recaindo sobre especialistas de reconhecido mérito académico, nas mais diversas áreas de especialidade da zootecnia, cabendo a aceitação final ao Conselho Editorial.

Os artigos desta edição resultam de trabalhos submetidos ao XXIV Congresso Nacional de Zootecnia, realizado no Espaço AGROS, na Póvoa de Varzim, nos dias 7 a 9 de novembro de 2024. Este evento contou com a presença de 246 congressistas, tendo intervindo 16 oradores convidados em 8 sessões temáticas da especialidade, incluindo várias mesas redondas com fóruns de discussão alargada, tendo o último dia recaído exclusivamente sobre a realização de visitas técnicas de elevado interesse técnico-profissional com saudável troca de experiências entre os participantes.

O tema principal deste congresso versou sobre o impacto da inteligência artificial na produção animal, vislumbrando como determinadas ferramentas podem ser aplicadas de forma eticamente responsável, garantindo a viabilidade económica e ambiental da produção animal no futuro.

Pela inovação, divulgação e sustentabilidade da Zootecnia.

JOAQUIM LIMA CERQUEIRA



Pela inovação,
divulgação e
sustentabilidade
e da Zootecnia.

Adaptabilidade de Caprinos e Ovinos em Regiões Tropicais: Revisão Integrativa

**Bonifácio Benício de Souza (1),
Fabiola Franklin de Medeiros (2),
Maycon Rodrigues da Silva (3)**

(1) Universidade Federal de Campina Grande-PB, Brasil. Avenida Universitária, s/n - Santa Cecília, Patos - PB, 58708-110 - E-mail: bonifacio.ufcg@gmail.com

(2) Faculdade Reboças de Campina Grande, R. Antônio Guedes de Andrade, 190 - Catolé, Campina Grande - PB, 58407-368, Brasil.

(3) Universidade Federal de Campina Grande-PB, Brasil. Avenida Universitária, s/n - Santa Cecília, Patos - PB, 58708-110

RESUMO

Realizou-se uma revisão integrativa, com o objetivo de analisar o grau de adaptabilidade de ovinos e caprinos no semiárido brasileiro. Foram utilizados dados de 537 animais, sendo 280 (duzentos e oitenta) ovinos e 257 (duzentos e cinquenta e sete) caprinos, provenientes de 20 (vinte) pesquisas científicas. Todas as pesquisas foram desenvolvidas no semiárido; que utilizaram como índice de temperatura de globo negro e umidade (ITGU) como índice de conforto térmico; e as respostas fisiológicas, temperatura retal (TR) e a frequência respiratória (FR) como respostas ao estresse por calor, com resultados obtidos nos turnos da manhã e da tarde, respectivamente. Os grupos genéticos estudados nessas pesquisas foram: ovinos (Santa Inês, Morada Nova, Somalis, Soinga, Dorper, White Dorper, Damara, Dorper x Santa Inês, ½Dorper+ ½SRD, ½Damara + ½SRD, ½Dorper+ ½Somalis, ½Santa Inês + ½Morada Nova, ½Morada Nova + ½Dorper e SRD) e caprinos (Moxotó, Azul, Graúna, Anglo-Nubiana, Pardo-Sertaneja, Boer, Savana, Parda Alpina, British Alpine e os mestiços: ½Boer + ½SRD, ½Anglo-Nubiana + ½SRD, ½Savana + ½SRD, ½Kalarari + ½SRD, ½Moxotó + ½SRD, ½Saanen + ½Boer e Sem raça definida - SRD). Para avaliação da adaptabilidade utilizou-se o coeficiente de tolerância ao calor (CTC) que foi obtido com a aplicação da fórmula: $CTC = TR/39,1 + FR/25$, onde TR = temperatura retal em °C, FR = frequência respiratória, observada em movimentos por minuto, $39,1 = TR \text{ média}$ e $25 = FR \text{ para caprinos}$ (KOLB, 1987). Os valores médios do ITGU registrados nos períodos da manhã e da tarde foram 76 e 82, respectivamente. A análise de variância demonstrou que houve efeito significativo ($P<0,05$) de espécie e de turno sobre o CTC. Os caprinos apresentaram menor média em relação aos ovinos ($P<0,05$) cujas médias foram 2,67 e 3,63, respectivamente. Verificou-se efeito significativo de turno também sobre o CTC, com maior média observada no turno da tarde ($P<0,05$) com valores de 3,56 e no turno da manhã 2,74, respectivamente. Concluiu-se que os caprinos e os ovinos dos grupos genéticos estudados nessas pesquisas são resistentes às condições climáticas do semiárido, contudo, os ovinos são menos resistentes ao calor que os caprinos, de forma que o manejo desses animais com relação ao conforto térmico não pode ser o mesmo. Esses resultados demonstram a necessidade de maior atenção com relação ao manejo no turno da tarde, tanto para ovinos como para caprinos, visando minimizar os efeitos do estresse por calor nesse período do dia.

PALAVRAS-CHAVE

Bioclimatologia, Bem-estar animal, tolerância ao calor.

ABSTRACT

An integrative review was carried out with the aim of analyzing the degree of adaptability of sheep and goats in the Brazilian semiarid region. Data from 537 animals were used, 280 (two hundred and eighty) sheep and 257 (two hundred and fifty-seven) goats, from 20 (twenty) scientific studies. All studies were developed in the semiarid region; they used the black globe temperature and humidity index (ITGU) as an index of thermal comfort; and the physiological responses, rectal temperature (RT) and respiratory rate (RR) as responses to heat stress, with results obtained in the morning and afternoon shifts, respectively. The genetic groups studied in these researches were: sheep (Santa Inês, Morada Nova, Somalis, Soinga, Dorper, White Dorper, Damara, Dorper x Santa Inês, $\frac{1}{2}$ Dorper + $\frac{1}{2}$ SRD, $\frac{1}{2}$ Damara + $\frac{1}{2}$ SRD, $\frac{1}{2}$ Dorper + $\frac{1}{2}$ Somalis, $\frac{1}{2}$ Santa Inês + $\frac{1}{2}$ Morada Nova, $\frac{1}{2}$ Morada Nova + $\frac{1}{2}$ Dorper and SRD) and goats (Moxotó, Azul, Graúna, Anglo-Nubiana, Pardo-Sertaneja, Boer, Savana, Parda Alpina, British Alpine and the crossbreeds: $\frac{1}{2}$ Boer + $\frac{1}{2}$ SRD, $\frac{1}{2}$ Anglo-Nubiana + $\frac{1}{2}$ SRD, $\frac{1}{2}$ Savana + $\frac{1}{2}$ SRD, $\frac{1}{2}$ Kalarari + $\frac{1}{2}$ SRD, $\frac{1}{2}$ Moxotó + $\frac{1}{2}$ SRD, $\frac{1}{2}$ Saanen + $\frac{1}{2}$ Boer and No defined breed - SRD). To assess adaptability, the heat tolerance coefficient (CTC) was used, which was obtained by applying the formula: $CTC = TR/39.1 + FR/25$, where TR = rectal temperature in °C, FR = respiratory rate, observed in movements per minute, 39.1 = mean TR and 25 = FR for goats (KOLB, 1987). The mean ITGU values recorded in the morning and afternoon periods were 76 and 82, respectively. Analysis of variance showed that there was a significant effect ($P<0.05$) of species and shift on the CTC. Goats had a lower mean in relation to sheep ($P<0.05$), whose means were 2.67 and 3.63, respectively. There was also a significant effect of shift on the CTC, with the highest mean observed in the afternoon shift ($P<0.05$) with values of 3.56 and in the morning shift 2.74, respectively. It was concluded that goats and sheep from the genetic groups studied in these studies are resistant to the climatic conditions of the semiarid region. However, sheep are less resistant to heat than goats, so the management of these animals in relation to thermal comfort cannot be the same. These results demonstrate the need for greater attention regarding management in the afternoon shift, for both sheep and goats, aiming to minimize the effects of heat stress during this period of the day.

PALAVRAS-CHAVE

Bioclimatology, Animal welfare, Heat tolerance.

INTRODUÇÃO

A atividade agropecuária na região Nordeste do Brasil é fortemente influenciada por fatores climáticos. Embora a criação de pequenos ruminantes no semiárido apresente grande potencial, as condições de altas temperaturas do ar e a radiação solar elevada comprometem a termorregulação dos animais, prejudicando o desempenho desses animais. A interação entre temperatura, radiação solar, umidade relativa, velocidade do vento e outros fatores climáticos, exige a utilização de índices que integrem esses elementos, como o Índice de Temperatura de Globo Úmido (ITGU), que tem sido aplicado para avaliar o conforto térmico de ovinos e caprinos (Batista et al. 2023; Medeiros, 2020). Os estudos sobre tolerância ao calor frequentemente consideram a Frequência Respiratória e a Temperatura Retal como as principais respostas fisiológicas envolvidas no processo de termorregulação (Silva et al., 2023; Medeiros et al., 2020; Nobre et al., 2018; Rocha et al., 2018; Batista et al. 2023; Silva et al. 2023; Medeiros et al. 2020; Nobre et al. 2018; Rocha et al. 2018; Silva et al. 2014; Souza et al. 2013) de caprinos e ovinos.

Além disso, o Coeficiente de Tolerância ao Calor de Benezra (CTC) tem sido utilizado para avaliar a adaptabilidade de caprinos e ovinos (Batista et al. 2014; Martins Júnior et al. 2007) pois incorpora essas respostas fisiológicas no cálculo do índice. Nesta avaliação quanto mais próximo de dois for o valor do CTC, maior a adaptabilidade ao calor do animal (Batista et al. 2014). O objetivo desse estudo foi realizar uma revisão integrativa para analisar o grau de adaptabilidade de ovinos e caprinos no semiárido brasileiro, com base no Coeficiente de Tolerância ao Calor (CTC) e no Índice de Conforto Térmico (ITGU).

MATERIAIS E MÉTODOS

Para a elaboração deste estudo, foi realizada uma revisão integrativa sobre as respostas fisiológicas de ovinos e caprinos ao estresse térmico no semiárido brasileiro. Foram analisados dados de 537 animais, sendo 280 ovinos e 257 caprinos, extraídos de 20 artigos científicos, dos quais 10 tratavam de cada espécie (Tabela 1). Os artigos selecionados atenderam aos seguintes critérios: (i) foram originados de pesquisas científicas realizadas no semiárido brasileiro, (ii) utilizaram o Índice de Temperatura de Globo Úmido (ITGU) como indicador de conforto térmico, (iii) avaliaram as respostas fisiológicas, como temperatura retal (TR) e frequência respiratória (FR) como indicadores de estresse térmico, e (iv) foram conduzidos nos períodos da manhã e tarde, respectivamente.

Tabela 1 – Relação de artigos utilizados como fonte para elaboração do banco de dados dessa pesquisa.

Turno	Pesquisas (total de animais)*	ITGU	TR (°C)	FR (mov/min)	CTC *	Autores
Dados de caprinos						
Manhã	1 (20)	79,42	38,9	30,3	2,21	Silva et al. (2005)
Manhã	2 (30)	71,25	39,46	42,3	2,70	Souza et al. (2008)
Manhã	3 (16)	77,5	39,16	32,65	2,31	Santos et al (2005)
Manhã	4 (40)	77,97	39,14	31,85	2,28	Silva et al. (2006)
Manhã	5 (24)	75,12	38,49	37,18	2,47	Souza et al. (2013)
Manhã	6 (36)	77,4	38,6	35,6	2,41	Leite et al. (2012)
Manhã	7 (24)	79,44	38,91	46,47	2,86	Silva et al. (2011)
Manhã	8 (36)	74,94	38,72	32,87	2,31	Silva et al. (2014)
Manhã	9 (6)	76,71	38,58	39,65	2,57	Batista et al. (2023)
Manhã	10 (22)	73,83	39,21	39,23	2,57	Souza et al. (2014)
Tarde	1 (20)	85,16	39,3	49,5	2,99	Silva et al. (2005)
Tarde	2 (30)	79,15	39,68	60,6	3,44	Souza et al. (2006)
Tarde	3 (16)	85,5	39,75	42,46	2,72	Santos et al (2005)
Tarde	4 (40)	82,25	39,5	39,47	2,59	Silva et al. (2006)
Tarde	5 (24)	87,99	39,38	39,38	2,58	Souza et al. (2013)
Tarde	6 (36)	82,9	39,2	50,8	3,03	Leite et al. (2012)
Tarde	7 (24)	81,55	39,05	48,22	2,93	Silva et al. (2011)
Tarde	8 (36)	79,96	39,25	43,05	2,73	Silva et al. (2014)
Tarde	9 (6)	80,49	39,93	49,69	3,01	Batista et al. (2023)
Tarde	10 (22)	79,37	39,37	42,68	2,71	Souza et al. (2014)

Turno	Pesquisas (total de animais)*	ITGU	TR (°C)	FR (mov/min)	CTC *	Autores
Dados de ovinos						
Manhã	1 (48)	75,5	39,5	64,38	3,59	César et al. (2004)
Manhã	2 (30)	70	39,31	59,13	3,37	Santos et al. (2006)
Manhã	3 (37)	85,1	38,5	31,8	2,26	Andrade et al. (2007)
Manhã	4 (20)	77	38,83	53	3,27	Silva et al. (2023)
Manhã	5 (40)	77,28	38,84	34,16	2,36	Bezerra et al. (2011)
Manhã	6 (30)	79,3	38,96	55,2	3,20	Dantas et al. (2019)
Manhã	7 (24)	77,67	38,75	56,17	3,24	Medeiros (2020)
Manhã	8 (36)	71,8	38,32	50,91	3,02	Nobre et al. (2018)
Manhã	9 (11)	77,8	38,6	48,1	2,91	Lima et al. (2023)
Manhã	10 (14)	69,04	38,36	49,6	2,97	Rocha et al. (2018)
Tarde	1 (48)	82,4	40	96,47	4,88	César et al. (2004)
Tarde	2 (30)	79	39,51	87,43	4,51	Santos et al. (2006)
Tarde	3 (27)	88,2	40	49,6	3,01	Andrade et al. (2007)
Tarde	4 (20)	81	39,36	67	4,04	Silva et al. (2023)
Tarde	5 (40)	81,89	39,75	103,5	5,16	Bezerra et al. (2011)
Tarde	6 (30)	82,7	39,61	88,3	4,55	Dantas et al. (2019)
Tarde	7 (24)	84,12	39,25	117,45	5,70	Medeiros (2020)
Tarde	8 (36)	78,7	39,33	76	4,05	Nobre et al. (2018)
Tarde	9 (11)	82,9	39,1	56,5	3,26	Lima et al. (2023)
Tarde	20 (14)	80,49	38,86	60,6	3,42	Rocha et al. (2018)

*CTC (Coeficiente de tolerância ao calor) foi calculado com as médias da TR e FR, registradas nessas pesquisas.

Para avaliação da adaptabilidade utilizou-se o coeficiente de tolerância ao calor (CTC) que foi obtido com a aplicação da fórmula: $CTC = TR/39,1 + FR/25$, em que TR = temperatura retal em °C, FR = frequência respiratória, observada em movimentos por minuto, $39,1 = TR \text{ média}$ e $25 = FR \text{ para caprinos}$ (KOLB, 1987). Os grupos genéticos estudados nessas pesquisas foram: ovinos (Santa Inês, Morada Nova, Somalis, Soinga, Dorper, White Dorper, Damara, Dorper x Santa Inês, $\frac{1}{2}$ Dorper+ $\frac{1}{2}$ SRD, $\frac{1}{2}$ Damara + $\frac{1}{2}$ SRD, $\frac{1}{2}$ Dorper+ $\frac{1}{2}$ Somalis, $\frac{1}{2}$ Santa Inês + $\frac{1}{2}$ Morada Nova, $\frac{1}{2}$ Morada Nova + $\frac{1}{2}$ Dorper e SRD) e caprinos (Moxotó, Azul, Graúna, Anglo-Nubiana, Pardo-Sertaneja, Boer, Savana, Parda Alpina, British Alpine e os mestiços:

$\frac{1}{2}$ Boer + $\frac{1}{2}$ SRD, $\frac{1}{2}$ Anglo-Nubiana + $\frac{1}{2}$ SRD, $\frac{1}{2}$ Savana + $\frac{1}{2}$ SRD, $\frac{1}{2}$ Kalarari + $\frac{1}{2}$ SRD, $\frac{1}{2}$ Moxotó + $\frac{1}{2}$ SRD, $\frac{1}{2}$ Saenen + $\frac{1}{2}$ Boer e Sem raça definida - SRD).).

As médias do CTC, sob o efeito do ITGU nos turnos da manhã e da tarde, calculadas nessas pesquisas, foram analisadas utilizando um delineamento inteiramente casualizado (DIC) no esquema fatorial 2x2 (duas espécies: ovinos e caprinos; e dois turnos: manhã e tarde), com 10 repetições, repetido no tempo. As repetições consideradas foram as médias das 20 pesquisas estudadas, obtidas dos 537 animais nos turnos da manhã e da tarde. As análises foram realizadas através do programa Sistemas de Análises Estatísticas e Genéticas (SAEG, 1993) e as médias foram comparadas pelo teste F a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios do Índice de Temperatura e Umidade (ITGU) registrados durante a manhã e à tarde foram, respectivamente, 76 e 82 (Tabela 2). No semiárido, o estresse térmico ocorre, geralmente, no período da tarde, como indicado pelos valores do ITGU, que foram de 76,13 pela manhã e 82,03 à tarde. Esses dados refletem a média observada em 20 pesquisas, sendo 10 com ovinos e 10 com caprinos. Vale ressaltar que as médias da Temperatura Retal (TR) raramente ultrapassam os limites considerados normais para as espécies estudadas (Cunningham, 2004). No entanto, em condições de ITGU de 88 durante a tarde, Andrade et al. (2007) observaram uma temperatura retal de 40 °C em ovinos da raça Santa Inês, em pesquisa realizada no semiárido, valor que ultrapassa o considerado normal para a espécie.

Tabela 2 - Médias do ITGU (índice de temperatura do globo negro e umidade) registradas nas pesquisas com ovinos e caprinos nos turnos da manhã e da tarde.

Condição ambiental nas pesquisas para:	ITGU		Média
	Manhã	Tarde	
Caprinos	76,36Aa	82,42Ab	79,39A
Ovinos	75,89Aa	82,18Ab	79,04A
Média	76,13b	82,03a	
CV (%)	4,25		

Médias seguidas de letras maiúsculas na coluna e minúsculas na linha diferem estatisticamente (P<0,05) pelo teste F.

Silva et al. (2006), ao avaliarem a adaptabilidade de caprinos exóticos e nativos no semiárido brasileiro, verificaram que, em condições de temperatura do ar com ITGU na sombra de 82,25, os caprinos das raças Boer, Savanna, Anglo-Nubiana e Moxotó mantiveram a homeotermia com o mínimo de esforço do aparelho termorregulador. Por outro lado, Lucena et al. (2013) afirmam que o índice de temperatura e umidade (ITU) superior a 81,3 pode ser considerado estressante para caprinos das raças Canindé e Moxotó, que são nativas da região.

Na presente análise, observou-se que o ITGU médio à tarde foi de 82, um valor considerado de baixo estresse térmico para caprinos (Souza et al., 2024a). Contudo, um ITGU igual a 84 pode resultar em estresse térmico elevado para caprinos de diversos grupos genéticos. Em relação aos ovinos, Souza et al. (2024b) concluíram que ambientes com ITGU igual a 82 podem ser classificados como desconfortáveis, causando estresse de nível médio a alto, enquanto valores superiores a 83 podem induzir estresse elevado, afetando diversas raças de ovinos criadas no Nordeste do Brasil.

A análise de variância revelou um efeito significativo (P<0,05) tanto da espécie quanto do turno sobre o Coeficiente de Tolerância ao Calor (CTC) (Tabela 3). Os caprinos apresentaram médias significativamente menores em comparação aos ovinos, com valores de 2,67 e 3,63, respectivamente (P<0,05). Também foi observado um efeito significativo do turno sobre o CTC, sendo que a média mais alta foi registrada no turno da tarde (3,56), em comparação ao turno da manhã (2,74) (P<0,05). Esses resultados indicam um alto grau de adaptabilidade de ambas as espécies estudadas, com valores de CTC próximos de 2, considerado ótimo para adaptação ao calor. No entanto, os ovinos apresentaram um valor mais elevado do que os caprinos, com diferença estatisticamente significativa, sugerindo que os caprinos exibem maior tolerância ao calor do que os ovinos analisados.

Tabela 3 – Médias do Coeficiente de tolerância ao calor (CTC) de ovinos e caprinos em função da espécie e do horário do dia no semiárido do Brasil

Espécie	CTC
Caprinos	2,67B
Ovinos	3,64A
Turno	
Manhã	2,74B
Tarde	3,50A
CV (%)	16,22

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na coluna, diferem estatisticamente ($P < 0,05$) dentro de cada parâmetro.

Batista et al. (2014), ao estudarem a tolerância ao calor de ovinos com pelames de cores diferentes (escuro e claro) em ambientes de estresse térmico com ITGU de 82,81 e 89,08, na sombra e no sol, respectivamente, registraram Coeficiente de Tolerância ao Calor (CTC) de 3,78 e 9,64 para os animais de pelame preto, e de 4,15 e 7,34 para os de pelame claro, em ambientes de sombra e sol, respectivamente. Esses resultados demonstram o efeito da cor do pelame, com o pelame preto apresentando maior carga térmica absorvida no ambiente solar, resultando em maior frequência respiratória para dissipar o calor, quando comparado ao pelame claro. Mascarenhas (2018), ao estudar as variáveis fisiológicas de ovinos e caprinos no semiárido brasileiro, em ambientes de sombra e sol, obteve temperaturas e ITGU registrados de 34,63 e 36,61°C; 83,55 e 84,97, respectivamente. Nessas condições, os ovinos e caprinos apresentaram CTC de 5,11 e 5,49, respectivamente. Esses dados demonstram a eficiência desse teste para avaliação da adaptabilidade e tolerância ao calor de ovinos e caprinos.

CONCLUSÃO

Os caprinos e os ovinos pertencentes aos grupos genéticos estudados demonstram resistência às condições climáticas do semiárido. No entanto, observa-se que os ovinos são menos tolerantes ao calor em comparação com os caprinos, o que implica que as estratégias de manejo, especialmente no que diz respeito ao conforto térmico, devem ser diferenciadas entre essas duas espécies. Esses resultados ressaltam a importância de um manejo mais atento durante o turno da tarde, tanto para ovinos quanto para caprinos, com o objetivo de mitigar os efeitos do estresse térmico e melhorar o bem-estar animal nesse período crítico do dia.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao CNPq, pela bolsa de produtividade concedida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE IS. et al. Parâmetros fisiológicos e desempenho de ovinos Santa Inês submetidos a diferentes tipos de sombreamento e a suplementação em pastejo. *Ciência e Agrotecnologia*, v.31, v.2, p.540547, 2007.
- ARRUDA, F. A. V.; PANT, K. P. Tolerância ao calor de caprinos e ovinos sem lã em Sobral. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 19, n. 3, p. 379-385, 1985.
- BATISTA LF, et al. Respostas fisiológicas e reprodutivas de caprinos British Alpine nos períodos seco e chuvoso no semiárido Paraibano. *Revista observatorio de la economia latino-americana*, v.21, n.9, p. 12712-12737. 2023.
- LUCENA, L.F.A. Respostas fisiológicas de caprinos nativos mantidos em temperatura termoneutra e em estresse térmico. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v.17, n.6, p.672–679, 2013.
- BEZERRA WMAX, et al. 2011. Comportamento fisiológico de diferentes grupos genéticos de ovinos criados no2 semiárido paraibano. *Revista Caatinga*, v.24, n.1, p.130-136, 2011.
- BIANCA, W.; KUNZ, P. Physiological reactions of here breeders of goats to cold, heat and hightaltitude. *Livestock Production Science*, Amsterdam, v. 5, n. 1, p. 57-69, 1978.
- BIANCA, W.; KUNZ, P. Physiological reactions of here breeders of goats to cold, heat and hightaltitude. *Livestock Production Science*, Amsterdam, v. 5, n. 1, p. 57-69, 1978.
- BRION, A. *Vademecum del veterinario*. 2. ed. Barcelona: Gea, 1964. 732 p.
- BUFFINGTON DE, et al. Black globe-humidity index (BGHI) as comfort equation for dairy cows. *Transactions of the ASAE*, v. 24, n. 3, p. 711-0714, 1981.
- BUFFINGTON DE, et al. Black globe-humidity index (BGHI) as comfort equation for dairy cows. *Transactions of the ASAE*, v. 24, n. 3, p. 711-0714, 1981.
- CASTRO, A. *A cabra*. Fortaleza: S.A.A., 1979. 365 p.
- CEZAR MF, et al. Avaliação de parâmetros fisiológicos de ovinos Dorper, Santa Inês e seus mestiços perante condições climáticas do trópico semi-árido nordestino. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 28, p. 614-620, 2004.
- CUNNINGHAM JG.; KLEIN, BG. *Tratado de Fisiologia Veterinária* (3ª edição). Ed. Guanabara Koogan, São Paulo, 596p, 2004.
- IBGE. Pesquisa da Pecuária Municipal. Tabela 3939: efetivo dos rebanhos, por tipo de rebanho. [Rio de Janeiro, 2020]. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939>. Acesso em: 16 out. 2020.
- INGRAM DL, MOUNT LE. *Man and Animals in Hot Environments*. Springer-Verlag, New York. 1975.
- INMET (2023), O ano de 2023 é o mais quente da série histórica do Brasil. Disponível em: <https://portal.inmet.gov.br/noticias/ano-de-2023-%C3%A9-o-mais-quente-da-hist%C3%B3ria-do-brasil>. Acesso em: 17 de janeiro de 2023.

IPCC, 2023: Sections. In: Climate Change 2023: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, H. Lee and J. Romero (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, pp. 35-115, doi: 10.59327/IPCC/AR6-9789291691647Clima.

IPCC, 2023: Summary for Policymakers. In: Climate Change 2023: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, H. Lee and J. Romero (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, pp. 1-34, doi: 10.59327/IPCC/AR6-9789291691647.001

LEITE JRS, et al. Influência de fatores bioclimáticos nos índices produtivos e fisiológicos de caprinos nativos confinados. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v.16, n.4, p.443-448, 2012.

LIMA FMS, et al. Respostas fisiológicas e comportamento ingestivo de ovinos exóticos criados no cariri cearense. Revista Coopex, v.14, n.5, p.3918-3932, 2023.

MARTINS JÚNIOR, L.M., et al. Adaptabilidade de caprinos boer e anglo-nubiana às condições climáticas do meio-norte do Brasil. Archivos de zootecnia, v.56, n.214, p.103-113, 2007.

MASCARENHAS, NMH. Variáveis fisiológicas e estruturas de tegumento de ovinos e caprinos criados no semiárido brasileiro. 2018. 58f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2018.

MCMANUS C, et al. The challenge of sheep farming in the tropics: aspects related to heat tolerance. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 40, n. Supl. Esp, p. 107-120, 2011.

MEDEIROS FF. Adaptabilidade, desempenho produtivo e características do tegumento de ovinos Soinga e Santa Inês. 2020. 80f. Tese (Doutorado em Ciência e Saúde Animal) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2020.

NOBRE IS, et al. Ingestive behavior and thermoregulation in sheep fed forage cactus silage undergoing intermittent water supply. Semina: Ciências Agrárias, v.39, n.4, p.1683-1694, 2018.

QUESADA M, et al. Tolerância ao calor de duas raças de ovinos deslanados no Distrito Federal. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 30, (Supl 1), n. 3, p. 1021-1026, 2001.

ROBERTO JVB, et al. Gradientes térmicos e respostas fisiológicas de caprinos no semiárido brasileiro utilizando a termografia infravermelha. Journal of Animal Behaviour and Biometeorology, v.2, p.11-19, 2014.

ROCHA EF, et al. Scrotum bipartite in sheep as a parameter indicative of adaptation to semi-arid climates: A thermographic and reproductive study. Theriogenology, v.121, p. 91- 96, 2018.

SANTOS FCB, et al. Adaptabilidade de caprinos exóticos e naturalizados ao clima semiárido do Nordeste brasileiro. Ciência e Agrotecnologia, v.29, n.1, p.142-149, 2005.

SANTOS JRS, et al. Respostas fisiológicas e gradientes térmicos de ovinos das Santa Inês, Morada Nova e de seus cruzamentos com a raça Dorper as condições do semiárido nordestino. Ciência e Agrotecnologia, v.30, n.5, p.995-1001, 2006.

SILANIKOVE N. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. *Livestock Production Science*, v.67, n.1, p.118, 2000.

SILVA EMN, et al. Avaliação da adaptabilidade de caprinos exóticos e nativos no semi-árido paraibano. *Ciência e Agrotecnologia*, v.30, n.3, p.516-521, 2006.

SILVA, JAPC, et al. Índices de conforto térmico e respostas fisiológicas de ovinos nativos mantidos em condições contraladas. *Revista Coopex*, v.14, n.01. 1655-1674p 2023.

SOUZA BB, et al. Índice de temperatura do globo negro e umidade (ITGU) na avaliação da tolerância de caprinos ao calor - Revisão integrativa, *Observatório de La Economía Latinoamericana*, v.22, n.2, p. 01-13. 2024a.

SOUZA BB, et al. Índice de temperatura do globo negro e umidade (ITGU) na avaliação da tolerância de ovinos ao calor -revisão integrativa, *Observatório de La Economía Latinoamericana*, v.22, n.2, p. 01-13. 2024b.

SOUZA BB, et al. Respostas fisiológicas de caprinos terminados em pastagem nativa no semiárido paraibano. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*, v.1, n.2, p.37-43, 2013.

SOUZA BB, et al. Respostas fisiológicas e índice de tolerância ao calor de caprinos mestiços de boer no semiárido. *Revista Verde*, v.6, n.3, p.146-151, 2011.

SOUZA BB, et al. Temperatura superficial e índice de tolerância ao calor de caprinos de diferentes grupos raciais no semiárido nordestino. *Ciência e Agrotecnologia*, v.32, n.1, p.275-280, 2008.

SOUZA ED, et al. Determinação dos parâmetros fisiológicos e gradientes térmicos de diferentes grupos genéticos de caprinos no semiárido. *Ciência e Agrotecnologia*, v.29, n.1, p.177-184, 2005.

SOUZA, BB, et al. Avaliação da temperatura timpânica para estudos bioclimáticos em ovinos deslanados. *Agropecuária Científica no Semi-Árido*, v.8, n.3, p 62-66, 2012.

SOUZA, BB, et al. Caprinos e ovinos adaptados aos trópicos. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*, v.3, n.2, p.42-50, 2015.

SOUZA, BB, et al. Temperatura superficial e índice de tolerância ao calor de caprinos de diferentes grupos raciais no semi-árido nordestino. *Ciência e Agrotecnologia*, v.32, n.1, p.275-280, 2008.

MARTINS JÚNIOR, L.M., et al. Adaptabilidade de caprinos boer e anglo-nubiana às condições climáticas do meio-norte do Brasil. *Archivos de zootecnia*, v.56, n.214, p.103-113, 2007.

AVALIAÇÃO DAS PERDAS E DE CARACTERÍSTICAS FERMENTATIVAS DE SILAGEM DE CAPIM MASSAI (PANICUM MAXIMUM, JACQ CV. MASSAI) COM ADIÇÃO DE FARELO DE ARROZ (CUIM)

Andressa da Silva Sousa^{1*},
Aldivan Rodrigues Alves²,
Maria Verônica Meira de Andrade³,
Jallyson Neves Pacheco⁴,
Luziana Araújo da Silva⁵,
Luciana Laurentino da Silva⁶,
Felipe Rodrigues Cunha⁷,
Cleiton Monteiro Machado⁸,
Anny Caroline Abreu Rodrigues⁹,
Liliane Pereira Santana¹⁰

1, 4, 5, 6, 7, 8 e 9 Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia - IFMA Campus Caxias, Brasil;

2 Professor Orientador - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia - IFMA, Brasil;

3 Professora - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia - IFMA, Brasil;

10 Universidade Federal da Paraíba- campus Areia, Brasil

*Autor correspondente: sousaandressa123e@gmail.com

RESUMO

Objetivou-se avaliar os efeitos do farelo de arroz sobre as perdas de Matéria Seca (MS), por gases (PG) e efluente (PE), pH e N-Amoniacal (N-NH₃) da silagem de capim massai ensilado em microsilos. O experimento foi realizado em um delineamento inteiramente causalizado (DIC), com quatro tratamentos: 0; 10; 20 e 30% incremento de farelo em relação ao volume total do material ensilado. Os dados foram analisados utilizando delineamento inteiramente casualizado (DIC) e submetidos à análise de variância (ANOVA) para identificação de diferenças significativas entre os tratamentos. Para comparação das médias, utilizou-se o teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Observou-se uma tendência quadrática ($p < 0,05$) nas perdas totais de MS com o aumento do percentual de farelo, sendo mínimas no tratamento com 10% de inclusão (5,06%). As perdas por gases, os dados indicam que o incremento de farelo reduz as perdas até atingir um ponto de inflexão próximo a 20%. A equação de regressão linear revela que, para cada unidade adicional no tratamento, há uma redução média de 1,62 unidades na perda por efluentes, sugerindo que o aumento dos níveis farelo contribuem para a sua redução. A análise de regressão sugere que o pH responde de maneira não linear ao aumento do farelo, com uma tendência inicial de redução do pH (coeficiente de -0,0340) seguida por um leve aumento conforme a quantidade de farelo aumenta com efeito quadrático ($p=0,0008$). O conteúdo de N-amoniacoal foi significativamente influenciado pelos diferentes tratamentos ($p=0,028$), indicando que o aumento na adição de farelo reduz os níveis de nitrogênio amoniacoal, possivelmente indicando uma melhor qualidade fermentativa da silagem. O incremento de farelo mostrou-se eficaz na manutenção das perdas de MS, além disso, destaca-se que as perdas por gases e efluente foram minimizadas ao incluir o farelo de arroz, evidenciando sua capacidade em absorver a umidade na silagem de capim. Desse modo, indica-se a inclusão de até 20% de cuim na matéria natural de capim massai durante o processo de ensilagem.

PALAVRAS-CHAVE

alimentos alternativos; conservação de forragem, estabilidade aeróbica, valor nutritivo

INTRODUÇÃO

Na pecuária do Nordeste do Brasil, a sustentação alimentar dos animais é principalmente baseada em pastagens, sendo a opção mais econômica e viável para os pecuaristas. Contudo, a flutuação sazonal na disponibilidade de pasto representa um dos principais obstáculos para a produção dos ruminantes nessa localidade.

Para abordar essa questão de maneira eficaz, torna-se necessário adotar técnicas direcionadas à preservação da forragem, visando a manutenção da qualidade do alimento com mínimas perdas de valor nutricional durante o período de armazenamento. Nesse contexto, a ensilagem ganha destaque e tem revelado ser uma opção promissora para essa finalidade (Gayer et al., 2019). Entre os capins com potencial para serem ensilados, a cultivar Massai, um híbrido espontâneo entre o *Panicum maximum* e *Panicum infestum*, têm sido utilizadas em sistemas de produção no Brasil (Carvalho et al., 2021). Essa cultivar se destaca por apresentar alta acumulação de forragem, adaptação a reduzidas precipitações anuais, maior relação folha: caule, teores adequados de proteína bruta nas folhas e caules, e boa resistência à infestação por cigarrinhas (Fernandes et al., 2017; Silva et al., 2018). Porém, durante o processo de produção de silagem, há alterações no valor nutritivo devido a fenômenos bioquímicos e microbiológicos. Aditivos podem ser usados para otimizar a fermentação, ajustar a composição e pH, minimizando as perdas de valor nutritivo e melhorando a qualidade do produto final (Santos et al., 2006).

Os aditivos visam melhorar a atividade fermentativa, modificando a matéria seca, carboidratos solúveis e reduzindo o pH, promovendo uma conservação mais eficaz e aprimorando o valor nutritivo da silagem (Anjos, 2019). Nas últimas décadas, para superar as limitações das gramíneas tropicais, tem havido um estímulo ao uso de aditivos que reduzem a umidade, aumentam o valor nutricional e aprimoram a fermentação das silagens. Os aditivos sequestrantes de umidade possuem alto teor de matéria seca e por este motivo são os mais utilizados na ensilagem de gramíneas tropicais (Muck et al., 2018). Esta característica permite elevar o teor de matéria seca do material ensilado e reduzir a produção de efluentes (Andrade et al., 2010; Santos et al., 2010).

Dentre os materiais que podem ser utilizados como aditivo, o farelo de arroz (cuim) é um subproduto que pode ser adicionado ao processo de ensilagem devido à sua capacidade de reter água e melhorar a composição química das silagens, o que ajuda a reduzir as perdas de nutrientes (Borges et al., 2018). No entanto, informações científicas sobre seu uso específico em silagens de capins são limitadas. Pesquisas nesse contexto contribuem para a produção de alimentos alternativos na nutrição de ruminantes. Nesse sentido, o presente estudo teve o objetivo de avaliar os efeitos do farelo de arroz sobre as perdas de Matéria Seca (MS), por gases (PG) e efluente (PE), pH e N-Amoniacal (N-NH₃) da silagem de capim massai.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Instituto Federal do Maranhão (IFMA), Campus Caxias, Brasil. Os tratamentos consistiram em quatro níveis de adição de farelo de arroz (cuim) na silagem do capim massai: controle – sem a presença de cuim; tratamento com 10% de incremento de cuim em relação ao volume total do material ensilado; tratamento com aumento de 20% de cuim em relação ao volume total do material ensilado; e tratamento com acréscimo de 30% de cuim em relação ao volume total do material ensilado, totalizando seis repetições/microsilo e um total de 24 parcelas.

O material ensilado foi colhido da área de pastagem após um rebroto de 40 dias, no dia 10 de março de 2023, e o cuim foi adquirido no comércio local da cidade. O material foi picado em partículas de aproximadamente 2 cm e ensilado em silos de PVC com 15 cm de diâmetro e 50 cm de altura, equipados com válvula de Bunsen para liberação dos gases. Na base dos silos, foram depositados 1,5 kg de areia para a coleta do efluente, separado por uma tela de sombrite. A compactação do material foi executada com soquetes de madeira, adicionando-se cerca de 2 kg de forragem fresca por silo.

Os silos foram abertos após o período de fermentação, e duas amostras de cada unidade experimental foram coletadas para análises laboratoriais. Para a determinação do pH, seguiu-se a metodologia de Bolsen et al. (1992), onde 25 g de silagem foram misturados em 100 mL de água destilada e deixados em repouso por uma hora antes da leitura em potenciômetro. A determinação do nitrogênio amoniacal em relação ao nitrogênio total (N-NH₃/N) seguiu a metodologia descrita por Detmann et al. (2014), com adição de solução de ácido sulfúrico (H₂SO₄) a 0,2 N e repouso por 48 horas antes da filtração e quantificação do nitrogênio total.

Os dados foram analisados utilizando delineamento inteiramente casualizado (DIC) e submetidos à análise de variância (ANOVA) para identificação de diferenças significativas entre os tratamentos. Para comparação das médias, utilizou-se o teste de Tukey ao nível de 5% de significância, avaliando-se as variáveis perdas de matéria seca (MS), perdas por gases (PG), perdas por efluente (PE), pH e N-amoniaco (N-NH_3). Além disso, foram empregadas análises de regressão linear e não linear para descrever o comportamento das variáveis em função dos níveis de farelo de arroz. A regressão linear simples foi utilizada para avaliar a relação entre o incremento de farelo e a produção de efluentes, enquanto a regressão quadrática foi aplicada para modelar o comportamento das perdas totais de matéria seca, perdas por gases e variação do pH ao longo dos tratamentos.

RESULTADOS

Os resultados indicaram que a adição de farelo de arroz influenciou significativamente as perdas de matéria seca ($p < 0,05$), com tendência quadrática nos tratamentos. O coeficiente de determinação (R^2) de 0,975 sugere que 97,5% da variação nas perdas de MS pode ser explicada pelo modelo ajustado. As menores perdas foram observadas no tratamento com 10% de farelo (5,06%), enquanto o maior percentual (30%) apresentou as maiores perdas (26,19%).

As perdas por gases também foram significativamente afetadas pelo incremento de farelo, com menor perda observada no tratamento de 20% de farelo ($p < 0,05$). A regressão quadrática revelou uma redução inicial das perdas com o aumento do farelo até um ponto de inflexão, após o qual houve leve aumento. Para a produção de efluentes, a regressão linear indicou que a cada unidade adicional de farelo houve uma redução média de 1,62 unidades na produção de efluente ($R^2 = 0,369$). A análise de variância confirmou diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$). O teste de Tukey indicou que os tratamentos com 20% e 30% de farelo apresentaram as menores perdas por efluentes.

O pH da silagem foi influenciado pelos tratamentos, com comportamento quadrático, apresentando tendência inicial de redução seguida de um leve aumento nos níveis mais altos de farelo. A faixa de pH variou entre 3,96 e 4,30, dentro dos valores recomendados para silagens de boa qualidade (McDonald, 1991).

Os níveis de nitrogênio amoniacal apresentaram redução linear com o aumento do farelo, indicando melhora na qualidade fermentativa da silagem ($p < 0,05$). A equação de regressão mostrou que para cada aumento no tratamento houve redução de 0,024 unidades no teor de N-NH_3 , confirmando achados de Evangelista et al. (2004).

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos demonstram que o farelo de arroz atua como um eficiente absorvente de umidade, minimizando perdas por efluente e otimizando a fermentação, corroborando com estudos de Fransen e Strubi (1998). A diminuição da umidade reduz a atividade de microrganismos indesejáveis, favorecendo a ação de bactérias ácido-láticas responsáveis pela fermentação eficiente (Muck, 2018). A menor perda de matéria seca observada nos tratamentos com 10% e 20% de farelo pode ser atribuída à capacidade de retenção de umidade do farelo, que cria um ambiente propício para a fermentação ácido-lática, reduzindo a formação de compostos indesejáveis, como a amônia (McDonald et al., 1991).

A redução nas perdas de matéria seca e na produção de efluente confirma a importância dos aditivos sequestrantes de umidade, conforme observado por Aguiar et al. (2001), que verificaram resultados semelhantes ao utilizarem polpa cítrica em silagens tropicais. A estabilização do pH nos tratamentos com farelo reforça o papel desse aditivo na melhoria do perfil fermentativo da silagem, promovendo maior estabilidade aeróbia (Anjos et al., 2020). Estudos conduzidos por Schmidt et al. (2007) também apontam que a manutenção do pH em níveis adequados contribui para a inibição do crescimento de microrganismos deteriorantes, o que resulta em menor degradação da matéria seca e melhor preservação dos nutrientes.

A redução do nitrogênio amoniacal nos tratamentos com maiores níveis de farelo sugere menor degradação proteica, fator essencial para manter a qualidade da silagem e reduzir perdas nutricionais (Schmidt et al., 2007). Além disso, McDonald et al. (1991) destacam que baixos teores de N-NH_3 indicam fermentação eficiente e menor crescimento de microrganismos proteolíticos.

A linearidade da redução de N-NH₃ com o aumento do farelo confirma achados de Evangelista et al. (2004), evidenciando que a adição desse aditivo promove um ambiente mais estável e favorável à fermentação ácido-lática. Dessa forma, o farelo de arroz pode ser considerado uma alternativa viável e eficiente para melhorar a qualidade da silagem e reduzir perdas durante o armazenamento e utilização do alimento.

CONCLUSÃO

O uso de até 20% de farelo de arroz mostrou-se vantajoso, reduzindo perdas e melhorando a fermentação da silagem de capim massai, sendo uma alternativa promissora para produtores que buscam otimizar o processo de ensilagem.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anjos, A. J. dos, Freitas, C. A. S. de, & Sena, H. P. de. (2020). Estabilidade aeróbia em silagens de forrageiras tropicais tratadas com *Lactobacillus buchneri*. Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento, 9(11), e75991110530. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i11.10530>
- Andrade, J. B., & Lavezzo, W. (1998). Aditivos na ensilagem do capim-elefante. I. Composição bromatológica das forragens e das respectivas silagens. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 33, 1859-1872.
- Aguiar, R. N. S., Crestana, R. F., Nussio, L. G., et al. (2001). Efeito do tamanho de partícula na composição da fração nitrogenada de silagem de capim Tanzânia. In Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 38., Piracicaba. Anais... Piracicaba: FEALQ, 314-318.
- Bolsen, K. K., Lin, C., Brent, C. R., Feyerherm, A. M., Urban, J. E., & Aimutis, W. R. (1992). Effects of silage additives on the microbial succession and fermentation process of alfafa and corn silages. Journal of Dairy Science, 75, 3066-3083.
- Borges, B. R. S., Negrão, F. de M., Zanine, A. de M., Machado, A., Caldeira, F. H. B., & Lins, T. O. J. D. A. (2018). Potencial da ensilagem de capim-braquiária com inclusão de farelo de arroz: Revisão. Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia, 12(2), 1-9. <https://doi.org/10.22256/pubvet.v12n2a28.1-9>
- Carvalho, C. A. B. de, Silva, P. H. F. da, & Zanella, P. G. (2021). Chemical composition of Tanganyika grass under tree shading levels in a silvopastoral system. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal, 22, e2122112021. <https://doi.org/10.1590/S1519-99402122112021>
- Detmann, E., Valente, É. E., Batista, E. D., & Huhtanen, P. (2014). An evaluation of the performance and efficiency of nitrogen utilization in cattle fed tropical grass pastures with supplementation. Livestock Science, 162, 141-153.
- Evangelista, A. R., Peron, A. J., & Amaral, P. N. C. (2004). Forrageiras não convencionais para silagem: mitos e realidades. In Simpósio sobre Manejo Estratégico da Pastagem, 2., Viçosa, MG. Anais... Viçosa, MG: UFV, 463-507.
- Fernandes, L. S., Difante, G. dos S., Montagner, D. B., Emerenciano Neto, J. V., Araújo, I. M. M. de, & Campos, N. R. F. (2017). Structure of Massai grass pasture grazed on by sheep supplemented in the dry season. Grassland Science, 63, 177-183. <https://doi.org/10.1111/grs.12165>
- Fransen, S. C., & Strubi, F. J. (1998). Relationships among absorbents on the reduction of grass silage effluent and silage quality. Journal of Dairy Science, 81(10), 2633-2644.

Gayer, T. O., et al. (2019). Different dry matters content used for the conservation of annual ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) in anaerobic environment. *African Journal of Agricultural Research*, 14(6), 369–378.

McDonald, P. (1991). *The biochemistry of silage*. New York: John Wiley & Sons.

Muck, R. E., Nadeau, E. M. G., McAllister, T. A., Contreras-Govea, F. E., Santos, M. C., & Kung Jr, L. (2018). Silage review: Recent advances and future uses of silage additives. *Journal of Dairy Science*, 101, 3980-4000. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13839>

Santos, E. M., Dórea, J. R. R., Dantas, P. A. S., Silva, T. C., & Pereira, O. G. (2010). Evaluation of elephant grass silage with the addition of cassava scrapings. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39, 2611-2616.

Santos, E. M., & Zanine, A. M. (2006). Silagem de gramíneas tropicais. *Colloquium Agrariae*, 2(1), 32-45.

Schmidt, P., et al. (2007). Aditivos químicos e biológicos na ensilagem de cana-de-açúcar. 1. Composição química das silagens, ingestão, digestibilidade e comportamento ingestivo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 36, 1666-1675. <https://doi.org/10.1590/S1516-3598.2007.000700027>

Silva, A. B. da, Carvalho, C. A. B. de, Morenz, D. A., Silva, P. H. F. da, Santos, A. J. dos, & Santos, F. C. dos. (2018). Agricultural answers and chemical composition of Massai grass under different nitrogen doses and urea sources. *Semina: Ciências Agrárias*, 39, 1225-1238. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2018v39n3p1225>

Silva, V. F. da, Souza, F. J. A. de, Silva, J. R. da, Silva Filho, A. S., Miranda, E. S., Oliveira, J. C. A. de, Mesquita, A. A., & Negrão, F. de M. (2024). Uso de aditivos nas silagens de capins tropicais: revisão de literatura. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*, 7(2), e68716. <https://doi.org/10.34188/bjaerv7n2-002>

TABELAS E FIGURAS

Tabela 1. Valores médios das perdas de matéria seca (RMS), perdas por gases (PG), perdas por efluente (PE), pH e Nitrogênio Amoniacal (NA) das silagens decapim massai com diferentes níveis de farelo de arroz

Tratamentos (%)	Variáveis				
	PMS	PG	PE	pH	NA
0	9,42bc	23,40a	1,76ab	4,30a	0,20a
10	5,05c	2,92b	3,38a	3,96b	0,18a
20	14,37b	2,91b	1,25b	3,98b	0,15a
30	26,19a	2,87b	1,12b	3,98b	0,15a
CV%	35,95	56,69	55,88	40,03	53,35

Figura 1. Análise de regressão quadrática para Perda de Matéria Seca

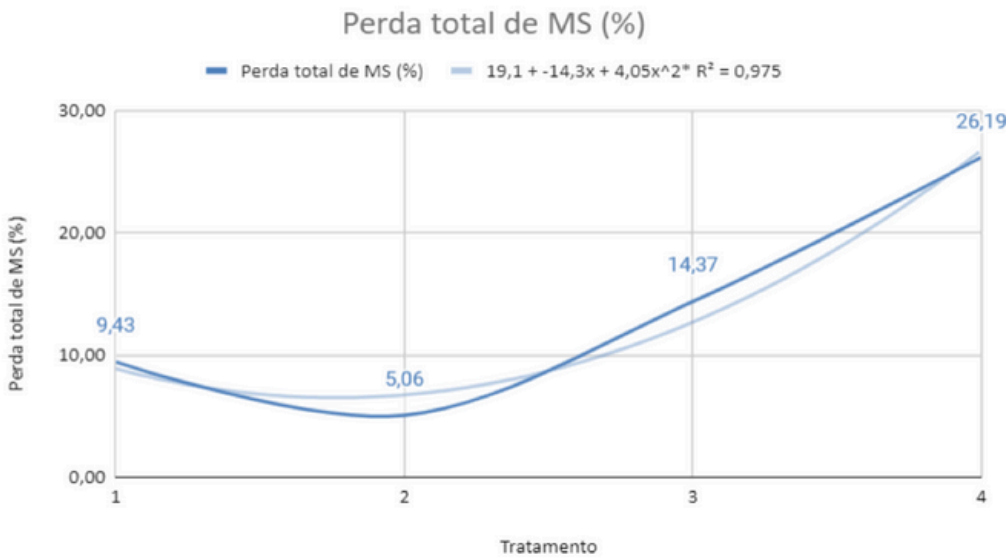


Figura 2. Regressão quadrática para Perda por gases relativamente aos tratamentos

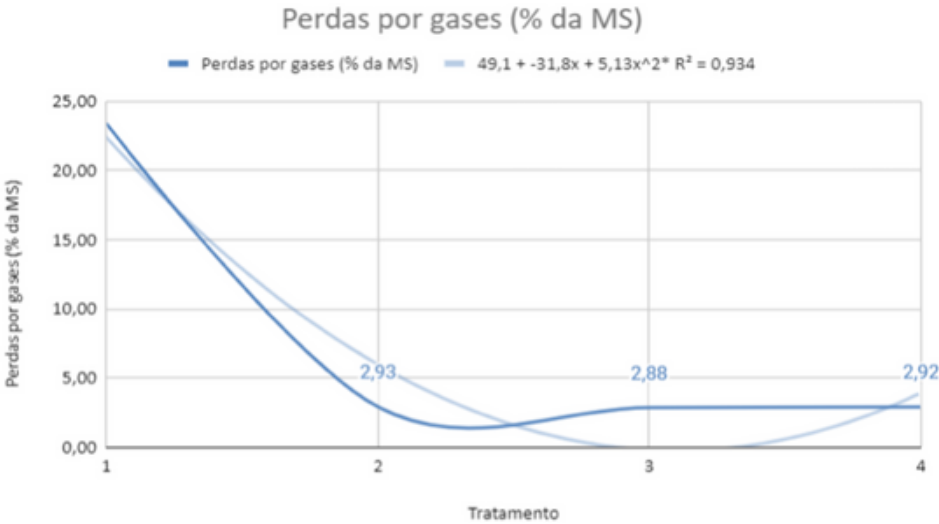


Figura 3. Relação entre Produção de Efluentes e os tratamentos

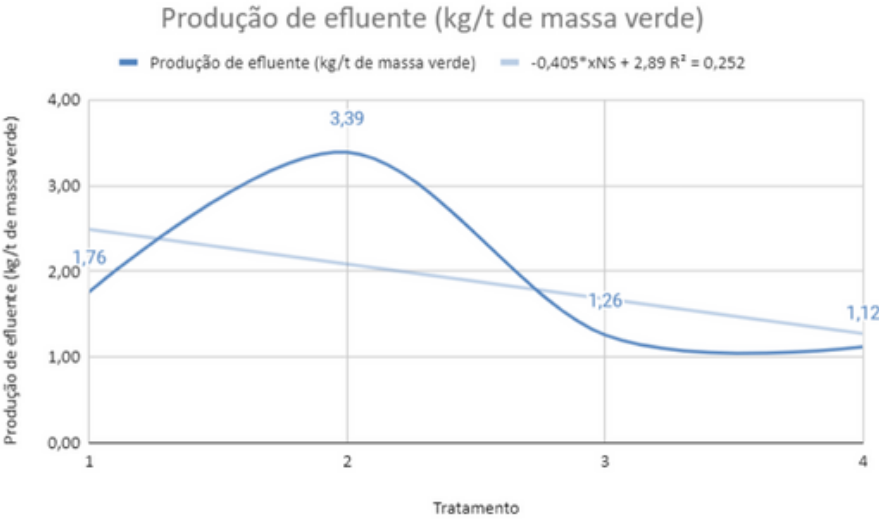


Figura 4. Regressão quadrática para pH

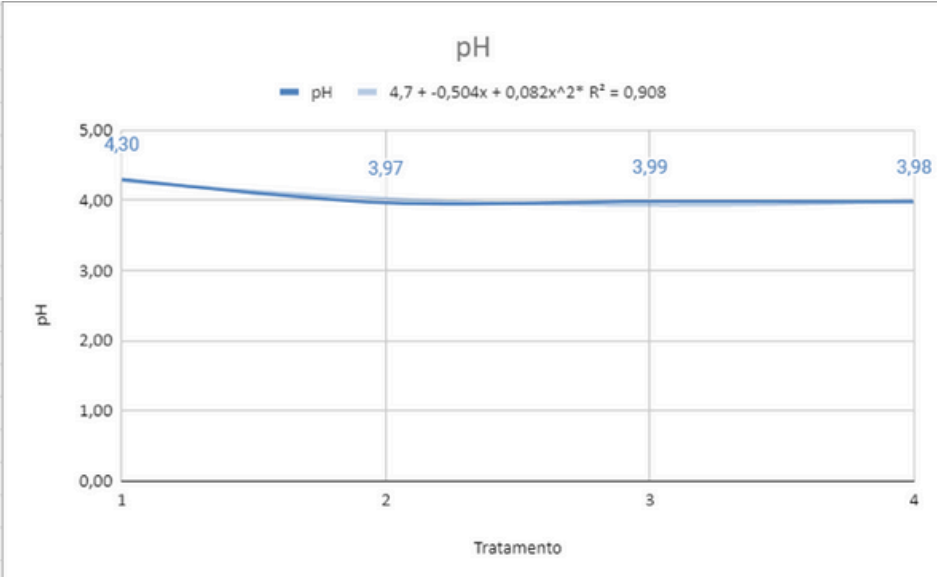
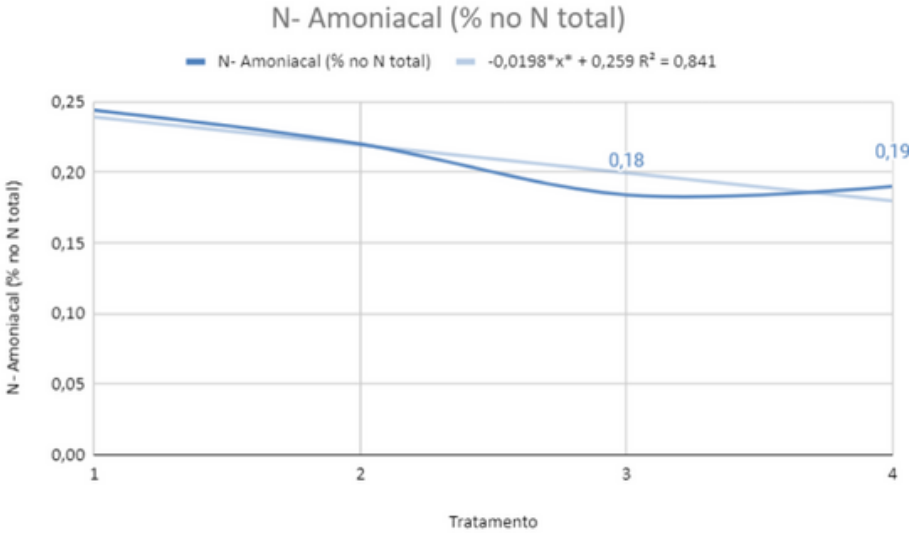


Figura 5. Regressão linear para N-Amoniacal (N-NH3)



PROSPECÇÃO MICROBIOLÓGICA DA PRÓPOLIS DA ABELHA TUBI

**Matheus Victor dos Anjos Santana¹,
Jallyson Neves Pacheco^{1*},
Maria Verônica Meira de Andrade²,
Aldivan Rodrigues Alves³,
Joyce Bitencourt Athayde Lopes³,
Rodrigo Maciel Calvet³,
Andressa da Silva Sousa¹**

¹ Discente do Curso de Bacharelado em Zootecnia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia - IFMA Campus Caxias, Brasil;

² Professora Orientadora - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia - IFMA Campus Caxias, Brasil;

³ Docentes - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia - IFMA Campus Caxias, Brasil.

*Autor correspondente: jallysonsp@gmail.com

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo analisar os parâmetros microbiológicos da própolis produzida pela espécie nativa do Brasil *Scaptotrigona aff. postica*, conhecida popularmente por abelha Tubi. O trabalho foi desenvolvido em um meliponário da espécie *Scaptotrigona aff. postica* (Latreille, 1807) instalado no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão (IFMA), Campus Caxias- Maranhão, Brasil. O experimento foi desenhado em esquema fatorial (4x5), sendo quatro colmeias preparadas para produção de própolis e cinco meses de coleta, sendo as coletas efetuadas a cada sete dias. A partir das amostras individuais, foram geradas amostras compostas por cada tempo de coleta. Para realização das coletas, foram tomados todos os cuidados necessários: utilização de luvas, sacos atóxicos estéreis devidamente identificados e formão. As análises laboratoriais foram conduzidas no laboratório da empresa PharmaNéctar. As variáveis analisadas foram bactérias totais, bolores e leveduras, coliformes totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Para a quantificação de bactérias totais, utilizou-se a metodologia de Concentração Inibitória mínima (CIM). Para bolores e leveduras foi realizada a técnica de inoculação em placa de Petri por profundidade contendo o Agar Padrão para Contagem (PCA) e o Agar Batata Dextrose (BDA) acidificado com ácido Tartárico a 10%, respectivamente e os resultados foram expressos em Unidades Formadoras de Colônias por mililitro (UFC/mL). Já para *E. coli* e *S. aureus* e coliformes totais foi realizado a técnica de Filtração por Membrana. Por fim, para *Staphylococcus aureus*, submeteu-se a diluições decimais para obter concentrações adequadas para contagem. O estudo revelou que o período de coleta não influenciou significativamente a presença e o tipo de microrganismos presentes. Foram observadas médias de $1,5 \times 10^4$ UFC/mL para bactérias totais, $3,5 \times 10^3$ UFC/mL para coliformes totais, e $6,0 \times 10^2$ UFC/mL para bolores e leveduras. A presença de *E. coli* e *S. aureus* não foi detectada. Embora os valores indiquem uma elevada contagem microbiana, a ausência de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* sugere que a própolis da abelha tubi não apresenta risco à saúde, sendo segura para uso em aplicações apícolas e terapêuticas.

PALAVRAS-CHAVE

abelha nativa, bactérias, quantificação

INTRODUÇÃO

Dentre as espécies de abelhas nativas do Brasil, destaca-se a abelha Tubi em relação às demais abelhas pela alta quantidade de própolis e seus derivados. Embora sua produção de mel seja limitada, representando uma quantidade mínima do total de compostos, o mel desempenha um papel crucial na nutrição da colônia, especialmente durante as fases iniciais de desenvolvimento. Comercialmente, a espécie é explorada principalmente para a produção de pólen e própolis, além de desempenhar um papel fundamental na polinização de espécies de plantas nativas (Leão, 2016).

A distribuição da abelha Tubi abrange principalmente o sul do Maranhão, sul do Piauí e norte do Tocantins, além de outros estados como Bahia, Goiás, Mato Grosso do Sul, Ceará, Minas Gerais, Pará, Pernambuco e São Paulo. Pesquisadores têm investigado seu nicho ecológico e os produtos resultantes de seus serviços desempenhado dentro do ecossistema (Silva, 2009).

Esta espécie desempenha um papel importante na polinização de plantas nativas do Brasil, como o açaí e a *Euterpe oleracea* (Arecaceae), facilitando a polinização cruzada (Muto et al., 2020). Além disso, Silva (2009) afirma que produtos à base de própolis da abelha *Scaptotrigona aff. postica*, como pomadas e extratos, são produzidos em locais como Barra do Corda- MA, e têm sido utilizados com finalidades medicinais, recomendados por médicos para ação anti-inflamatória no trato respiratório e tratamento de feridas e queimaduras na pele, com resultados promissores. Esta descoberta abre caminho para investigações mais aprofundadas dos compostos presentes na própolis dessa espécie.

A própolis produzida pela abelha tubi *Scaptotrigona aff. postica*, assim como em outras espécies de abelhas, é uma substância resinosa, pegajosa acrescida de cera e saliva. Coletada de diversas fontes vegetais, como brotos, cascas de árvores e botões florais. As abelhas utilizam a própolis para proteger a colmeia contra doenças, fechar fendas e manter a higiene do ambiente interno da colmeia (Fischer et al., 2021).

A própolis originária principalmente do Nordeste do Brasil, é considerada uma das mais potentes em termos de propriedades terapêuticas. É rica em flavonoides e possui propriedades antimicrobianas, antioxidantes e anti-inflamatórias (Vidal, 2021).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) tem um papel importante na regulamentação e fiscalização da produção e comercialização de produtos apícolas, incluindo a própolis no Brasil. O Ministério define critérios de qualidade, incluindo teor mínimo de compostos específicos, ausência de contaminantes microbiológicos e químicos, e boas práticas de fabricação (Embrapa, 2020).

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo, analisar os parâmetros microbiológicos da própolis produzida pela espécie nativa *Scaptotrigona aff. postica*.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido em um meliponário da espécie *Scaptotrigona aff. postica* (Latreille, 1807) instalado no Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Maranhão (IFMA), Campus Caxias, Maranhão, Brasil. Este município encontra-se localizado na região do Cacaís, pertencendo a Zona fisiográfica do Itapecuru, situado na mesorregião do leste maranhense, apresentando as seguintes coordenadas geográficas, latitude 04° 53' 30" sul e longitude 43° 24' 53" a oeste, com altitude aproximada de 66 metros (IBGE, 2023).

O clima na região é classificado como sub-úmido seco, com temperatura média anual de 27°C e uma precipitação pluviométrica que varia entre 1600 e 2000 milímetros (INMET, 2023).

A vegetação predominante é o cerrado, apresentando variações que vão desde o cerrado ralo até o cerradão, com áreas pontuais ocupadas por babaçuais e buritizais (Conceição; Ruggieri, 2010).

Para a coleta das amostras de própolis, foram selecionadas colmeias da abelha *Scaptotrigona aff. postica* (Latreille, 1807). As colmeias foram numeradas de 01, 02, 03 e 04, apresentando uma quantidade significativa de crias e estoque de mel, sendo consideradas colmeias fortes. Estavam abrigadas em meliponário coletivo, coberto por telhas de cerâmica, e cercado por uma variedade de espécies vegetais nativas. Além disso, o ambiente era sombreado, proporcionando condições ideais para a produção de própolis.

As caixas utilizadas foram do tipo modular 20 x 20 cm, com abertura por elevação de frestas de 1,5 cm aproximadamente. Esta abertura induzia a busca por resinas e posteriormente a produção da própolis pelas abelhas. As coletas foram realizadas a cada sete dias, tendo inicialmente uma coleta de estabilização. A primeira coleta de material aconteceu 7 dias após a primeira coleta (estabilização). Os horários de coleta foram durante o dia, não havendo horários fixos.

O experimento foi desenhado em esquema fatorial (4x5), sendo quatro colmeias preparadas para produção de própolis e cinco meses de coleta, sendo as coletas efetuadas a cada sete dias, a partir das amostras individuais, foram produzidas amostras compostas por cada tempo de coleta.

Para realização das coletas foram tomados todos os cuidados necessários: utilização de luvas, sacos atóxicos estéreis devidamente identificados e formão. Após as coletas, estas amostras foram conduzidas ao laboratório de Bromatologia do IFMA, Campus Caxias, onde foram pesados e anotados os respectivos pesos e acondicionadas em freezer para posterior envio ao laboratório da PharmaNéctar.

As análises microbiológicas de própolis foram realizadas no laboratório da empresa PharmaNéctar, localizada em Belo Horizonte, MG. As variáveis analisadas foram bactérias totais, bolores e leveduras, coliformes totais, E.coli e S.aureus.

Após a coleta, a própolis foi mantida sob refrigeração entre 2 e 8°C para preservar suas propriedades e evitar o crescimento microbiano até o momento do envio ao laboratório. O transporte das amostras foi realizado em caixas isotérmicas com placas de gelo recicláveis, de modo a manter a temperatura adequada durante todo o trajeto. Com embalagem robusta evitando vazamentos e contaminações externas.

Junto com as amostras, foi enviado a documentação correspondente, que incluiu formulários de submissão de amostra, protocolos de coleta e informações sobre o tipo de análise a ser realizada.

Para a análise de bactérias totais na própolis utilizou-se a metodologia de Concentração Inibitória mínima (CIM). Nessa análise foram utilizados extratos com diferentes concentrações de própolis, em metodologias como macrodiluição em caldo, meios de culturas suplementados, Spot-on-the-lawn e disco difusão em ágar (Campos et al., 2021).

Para obter a quantificação de bactérias totais, houve preparação e homogeneização em diluente estéril, água peptonada. Garantindo uma distribuição uniforme das bactérias. Para obter contagens que possam ser facilmente quantificadas, a amostra homogeneizada foi diluída em uma série de diluições decimais. As diluições foram inoculadas em placas de Petri contendo um meio de cultura Ágar Dicloran Glicerol 18 DG-18, que é adequado para o crescimento de uma ampla gama de bactérias.

Foi utilizado o método de espalhamento, onde uma pequena alíquota da amostra diluída espalhada na superfície do meio de cultura com uma alça de Drigalski. As placas foram incubadas em condições adequadas para o crescimento bacteriano. Temperatura de 35°C a 37°C por 24 a 48 horas. Posteriormente fez-se a contagem de colônias.

Para bolores e leveduras, quantificação é feita pelo método de contagem padrão em placas, determinando-se o número de unidades formadoras de colônias (UFC). O método mais recomendado é o plaqueamento em superfície, para aumentar a exposição ao oxigênio e evitar o “stress” causado pelo meio de cultura quente (Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água, 2017).

Assim, as amostras de bolores e leveduras foram homogeneizadas, em um diluente estéril água peptonada, para obter uma distribuição uniforme dos micro-organismos. A amostra homogeneizada foi submetida a uma série de diluições decimais para reduzir a concentração de micro-organismos e facilitar a contagem. Alíquotas das diluições das amostras foram inoculadas em placas de Petri contendo meio de cultura Ágar Dicloran Glicerol 18 DG-18. para o crescimento de bolores e leveduras, as alíquotas foram espalhadas na superfície do meio de cultura.

As placas inoculadas foram incubadas em temperatura controlada, a 25°C, por um período de 5 a 7 dias. Esse intervalo permitiu o crescimento de bolores e leveduras.

Para detecção de E. coli e coliformes totais foi realizado a técnica de Filtração por Membrana. A amostra diluída foi passada através de uma membrana filtrante estéril com porosidade de 0,45 µm, que retém as bactérias presentes na amostra. A membrana filtrante foi transferida para um meio de cultura VRB. As placas foram incubadas a 35°C-37°C por 24 horas para coliformes totais e a 44,5°C para E. coli por mais 24 horas.

Já para *Staphylococcus aureus*, submeteu-se a diluições decimais para obter concentrações adequadas para contagem. A diluição foi feita usando diluente estéril. Na inoculação o Meio de Cultura utilizado foi o Ágar Baird-Parker (BP) para a detecção de *S. aureus*. Este meio contém gema de ovo e telurito de potássio, que promovem o crescimento de *S. aureus*, inibindo outras bactérias (Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água, 2017).

O Espalhamento na Superfície usando uma alíquota de 0,1 mL das diluições apropriadas é espalhada na superfície do Ágar Baird-Parker usando uma alça de Drigalski estéril. As placas são incubadas a 35°C-37°C por 24 a 48 horas.

Os dados foram submetidos a análise estatística do programa SAS, utilizando os procedimentos PROC GLM para análise de variância e PROC MIXED para modelos mistos. As diferenças entre médias foram comparadas pelo teste de Tukey a um nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Bactérias Totais

A Figura 01, que para o número de bactérias totais das amostras de própolis analisada. As amostras variam de $1,1 \times 10^4$ a $1,8 \times 10^4$ com média de $1,5 \times 10^4$ UFC/mL os presentes na própolis, assim, estes valores são considerados como os microrganismos próprios da colmeia ou da própolis.

Apesar da legislação brasileira não determinar em própolis, um padrão de bactérias aeróbias, quando houver a presença delas, há um elevado risco para a saúde da população, devido a possibilidade de haverem microrganismos patogênicos presentes, como *Klebsiella*, *Proteus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *E. coli*, *Enterobacter*, etc (Rocha, 2023).

Para Grosso et al. (2002), se não houver a manipulação sem as medidas higiênicas necessárias, se torna um produto de fácil contaminação. Assim, as enterobactérias que são um grupo de bactérias que pertencem à família Enterobacteriaceae, podem em muitos casos ser indicativas de contaminação fecal e, portanto, podem representar um risco para a saúde humana se encontradas em alimentos, especialmente se em níveis elevados.

Segundo o estudo de Rubio (2012), a integridade microbiológica da própolis pode estar relacionada a microbiota própria, e apresenta microrganismos inerentes que são introduzidos através das abelhas. A presença indica condições inadequadas durante a coleta, processamento ou armazenamento, comprometendo a qualidade do produto.

É importante acrescentar que as bactérias presentes na própolis podem ser benéficas ou prejudiciais, isso porque algumas podem auxiliar para sua preservação, atuando como antimicrobianos e evitando a degradação do produto (Rocha, 2023). A presença de bactérias totais em amostras de própolis de abelhanativa para Silva(2018) é um parâmetro importante para avaliar a qualidade e segurança do composto.

A presença de determinadas bactérias pode impactar as propriedades terapêuticas da própolis. A flora bacteriana presente pode interagir com compostos bioativos potencializando suas propriedades.

Já as bactérias presentes na própolis pode estar relacionado ao microbiota da colmeia, que desempenha função importante para a colônia. Dentre os microrganismos, as bactérias estão diretamente relacionadas ao desenvolvimento das abelhas nativas e características dos seus produtos.

Podem estar presentes nesse microbiota, bactérias do grupo *Lactobacillus* spp que são responsáveis pela fermentação do néctar e produção do ácido láctico, que faz com que o ambiente se torne impróprio para patógenos e o *Aspergillus* spp que tem a função de elevar o sistema imune das abelhas.

O grupo de bactérias totais faz parte da flora própria da colônia, mas em grandes quantidades, estão envolvidos em atividades de deterioração do produto. Considerando a análise da própolis, por ser um produto oriundo da colmeia, também está sujeita a apresentar esses microrganismos, não necessariamente sendo indicativo de contaminação.

Coliformes Totais

Ao observar a Figura 02, apresenta-se as contagens de coliformes totais nas amostras de própolis da abelha Tubi, com variações entre $2,2 \times 10^3$ e $4,7 \times 10^3$ UFC/mL e um valor médio de $3,5 \times 10^3$ UFC/mL. Essa própolis geralmente apresenta um perfil microbiológico diferente, refletindo as condições de coleta, processamento, e o ambiente microbiológico específico das colmeias dessa espécie.

Os coliformes totais são bacilos Gram-negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, capazes de se desenvolver na presença de sais biliares ou agentes tensoativos que fermentam a lactose com produção de ácido, gás e aldeído a $35,0 \pm 0,5^\circ \text{C}$ em 24-48 horas (Brasil, 2019).

A presença de coliformes totais na própolis de abelhas nativas, como observado no presente estudo, pode indicar que esses microrganismos são uma parte inerente da microbiota da colmeia. No entanto, como apontado por Silva Junior et al. (2001), a presença desses microrganismos pode ser indicativa de práticas higiênicas inadequadas, principalmente durante a coleta e processamento da própolis.

Por outro lado, é importante destacar que, enquanto a legislação brasileira e normas técnicas, como a Instrução Normativa n. 11 de 2000, não estabelecem padrões específicos para a contagem de coliformes em própolis, a ausência de padrões definidos para a própolis ressalta a necessidade de mais pesquisas para melhor compreender as implicações da microbiota na qualidade e segurança dos produtos apícolas (Muratori e Souza, 2002).

Dessa forma, os resultados obtidos indicam que, embora os coliformes totais possam estar presentes em própolis, a sua quantificação e potencial impacto na qualidade do produto que diferem entre as espécies de abelhas, refletindo a complexidade ecológica e microbiológica de cada tipo de colmeia.

Os coliformes totais estão presentes na microbiota intestinal das abelhas, estabelecendo-se em nichos específicos do trato digestivo, podendo influenciar na saúde da mesma. Essa microbiota também interage entre si, envolvendo-se em uma alimentação cruzada de forma dinâmica, proporcionando a estabilidade da comunidade microbiana, atuando na prevenção de invasores e na proliferação de agentes causadores de doenças (Motta, 2023).

As abelhas sem ferrão têm uma interação complexa com microrganismos em suas colmeias, que desempenham papéis cruciais na saúde e no funcionamento das colônias. Esses microrganismos participam na fermentação de alimentos, contribuindo para a digestão de recursos vegetais. A microbiota das abelhas sem ferrão é distinta e adapta-se às condições específicas do ambiente e das práticas de manejo, influenciando diretamente a qualidade dos produtos apícolas, como a própolis (Souza, 2021).

No entanto, Muratori e Souza (2002) explicam que coliformes a 35°C é indicativos de higiene associada à manipulação, e os coliformes a 45°C avaliam as condições higiênico-sanitárias, podendo ser causadores de enfermidades.

Resultado semelhante foi o do estudo de Schlabit, Silva, Sousa (2010), os autores observaram que segundo a legislação do estado de Santa Catarina, os requisitos mínimos de qualidade microbiológica para o própolis não deve ultrapassar o valor de 102 UFC/mL para coliformes a 45°C (NMP/mL). Coliformes a 35°C e a 45°C não foram detectados em suas amostras, estando em conformidade com a legislação. Tal resultado demonstra a importância na avaliação da qualidade da própolis.

No presente trabalho não foram encontradas bactérias patogênicas, indicando boas práticas de coleta e processamento.

Bolores e leveduras

Para análises de bolores e leveduras segundo a Figura 03, não foi verificada diferença estatística entre as amostras de própolis analisadas ($p > 0,05$). Foram de $7,0 \times 10^2$ a $5,0 \times 10^2$, a média para bolores e leveduras foi de $6,0 \times 10^2$ UFC/mL. Segundo a legislação do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Portaria n. 795/2023, não se deve conter bolores e leveduras. Contudo os teores de fungos e leveduras limites à sua comercialização de acordo com a legislação brasileira, então faz-se necessário regulações específicas para a própolis de abelhas nativas do Brasil.

É importante seguir as normas da Portaria SDA n. 795, de 10 de maio de 2023, que define as normas higiênicas sanitárias e tecnológicas para os estabelecimentos que elaborem produtos de abelhas e seus derivados. Tal portaria mencionada relata que a própolis e seus derivados não devem conter Bolores e leveduras. Além disso, a portaria tem como finalidade atualizar a regulamentação do setor de mel e derivados. Tal portaria mencionada relata que a própolis e seus derivados não devem conter Bolores e leveduras. Além disso, a portaria tem como finalidade atualizar a regulamentação do setor de mel e derivados. Assim, para comercializar e registrar o mel no MAPA, o produto deve passar por inspeção e receber selo de aprovação do Serviço de Inspeção Federal (SIF) no rótulo (MAPA, 2023).

No caso dos produtos de abelhas sem ferrão, como o própolis, algumas espécies apresentaram colônias de *Streptomyces* sp. e essas espécies são responsáveis pelo controle de outros micro-organismos patogênicos de abelhas (Menegat-Ti et al., 2020).

Os bolores e leveduras compõem a maior parte dos microrganismos componentes da própolis. Entretanto, alguns estudos demonstraram que as leveduras costumam ser pouco abundantes na microbiota das operárias de alguns membros de *Meliponini* provenientes da região do Jalapão. Menegat-Ti et al. (2020), relatam que os bolores e leveduras representam grande parte dos microrganismos presentes na maioria das amostras de própolis estudadas, sendo bem diferente do que o relatado para outros produtos da meliponicultura.

A presença de bolores e leveduras nas amostras pode estar relacionada com a ação simbiótica de abelha nativa e fungos. A *Scaptotrigona depilis* cultiva o fungo do gênero *Zygosaccharomyces* para o desenvolvimento de futuras abelhas, sendo essencial para o seu crescimento (Paludo et al., 2018).

A presença de fungos no ecossistema da colônia auxilia na produção de compostos antimicrobianos que atuam contra agentes invasores, mantendo a saúde da colmeia. Menezes (2018) explica que as leveduras produzem ácidos orgânicos, vitaminas e outros compostos bioativos que podem melhorar a saúde das abelhas e aumentar a resistência das colônias a patógenos. Certas leveduras podem atuar como biocontroladores naturais, suprimindo o crescimento de fungos patogênicos.

O desempenho da colônia depende da produção de substâncias para a preservação das matérias coletadas pelas abelhas. Paula et al. (2021) relatam que *Zygosaccharomyces* faz parte da microbiota natural da colmeia, contribuindo para a manutenção de um ambiente microbiologicamente equilibrado. A presença dessas leveduras pode auxiliar na conservação dos alimentos armazenados pelas abelhas, prevenindo a deterioração e garantindo uma fonte de alimento segura e nutritiva durante períodos de escassez.

Para que haja interação entre os microrganismos Poyraz et al. (2023) corrobora afirmando que as leveduras se comunicam quimicamente através de metabólitos secundários. Esses compostos podem estimular ou inibir o crescimento de outros microrganismos, influenciando a composição da comunidade microbiana.

Staphylococcus aureus e Escherichia coli

Não foi detectado *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* nas amostras analisadas. A ausência desses agentes é essencial devido aos impactos na saúde e qualidade da própolis. A presença de *S. aureus* e *E. coli* pode não só comprometer a qualidade do produto como também oferecer riscos significativos de infecções para os consumidores.

Massaro et al. (2013) falam em seu trabalho que a ausência de *S. aureus* está relacionada à sensibilidade à atividade antimicrobiana da própolis, pois bactérias Gram-positivas são mais sensíveis à ação da própolis, pelo fato de possuírem uma parede celular menos complexa e mais permeável.

Escherichia coli apresenta uma parede celular mais complexa, porém não é ílesa à ação antimicrobiana da própolis. Umthong et al. (2009) descreveram em seu trabalho que as bactérias Gram-negativas possuem uma parede celular mais complexa, podendo apresentar certa resistência à ação antimicrobiana da própolis. Sua resistência está ligada ao nível de concentração de própolis sobre si, quanto maior a concentração, menor é sua resistência.

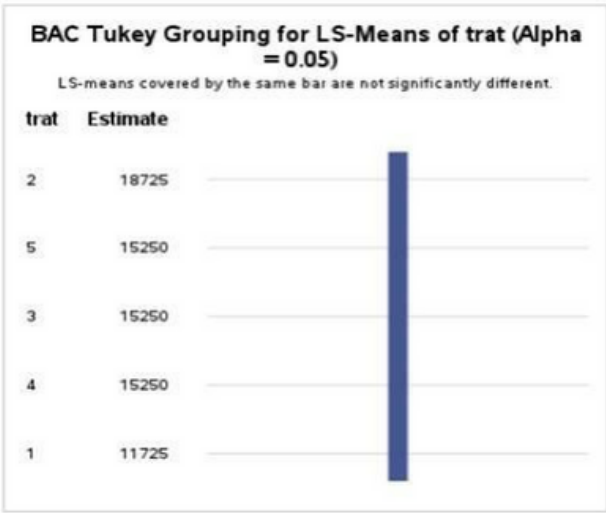
Portanto, a própolis livre desses patógenos se torna um indicador positivo quanto sua integridade, mostrando a sustentabilidade dentro das colônias. A pureza desse composto mostra que seu uso é muito importante na utilização na medicina e também na indústria alimentar (Alhassan, 2023).

CONCLUSÃO

O estudo sobre a própolis da abelha Tubi revelou que o período de coleta não influenciou significativamente a presença e o tipo de microrganismos presentes. Foram observadas médias de $1,5 \times 10^4$ UFC/mL para bactérias totais, $3,5 \times 10^3$ UFC/mL para coliformes totais, e $6,0 \times 10^2$ UFC/mL para bolores e leveduras. Embora esses valores indiquem a presença microbiana, a ausência de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* sugere que a própolis da abelha Tubi não apresenta risco à saúde, sendo segura para uso em aplicações apícolas terapêuticas.

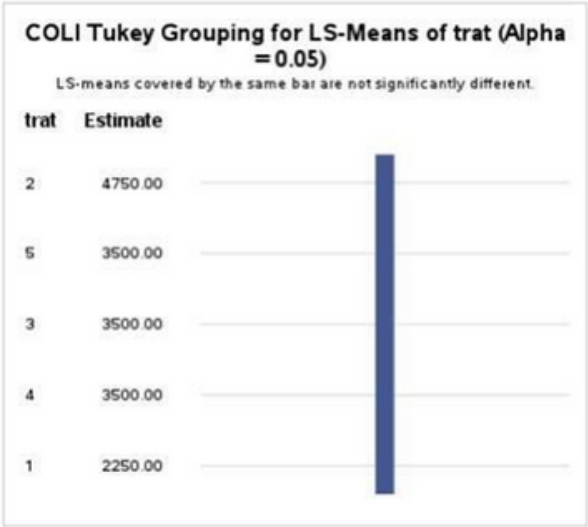
TABELAS E FIGURAS

Figura 01. Contagem de bactérias totais na própolis da abelha Tubi.



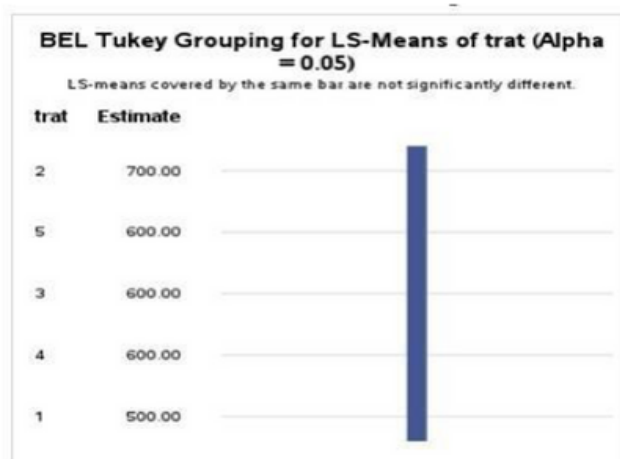
Fonte: Autor, 2024.

Figura 02. Coliformes totais presente na própolis da abelha Tubi.



Fonte: Autor, 2024.

Figura 03. Bolores e Leveduras da própolis da abelha Tubi.



Fonte: Autor, 2024.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALHASSAN SA-EED, ERIC S DONKOR, REUBEN E ARHIN, PATIENCE B TETTEH-QUARCOO, SIMON K ATTAH, DANIEL E K KABOTSO, FLEISCHER CN KOTÉY, NICHOLAS T K D. Dayie, in vitro antimicrobial activity of crude propolis extracts and fractions, FEMS Microbes, Volume 4, 2023, xtd010, <https://doi.org/10.1093/femsmc/xtad010>

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 161, de 01 de julho de 2022. Fórmulas para nutrição enteral em pó e fórmulas para erros inatos do metabolismo em pó. Diário Oficial da União. 2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 11 de 20 de outubro de 2000. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 23 de outubro de 2000.

CAMPOS, J. V.; ASSIS, O. B. G.; FILHO, R. B. Processamento e análise de extratos de própolis verde como potencial sanitizante de uso hortifrutícola. Brazilian Journal of Animal and Environmental Research, Curitiba, v. 4, n. 3, p. 2991-3002 jul/set. 2021.

DE PAULA, GABRIELA TONINATO; MENEZES, CRISTIANO; PUPO, MONICA TALLARICO; ROSA, CARLOS AUGUSTO. Abelhas sem ferrão e interações microbianas. Opinião Atual em Ciência de Insetos, v. 44, p. 43- 47, abr. 2021. Disponível em: <<https://www.elsevier.com>>. Acesso em: 30 set. 2024.

DOS SANTOS, CHARLES FERNANDO. Diversidade de abelhas sem ferrão e seu uso como recurso natural no Brasil: permissões e restrições legais consorciadas a políticas públicas. Revista Brasileira de Meio Ambiente, v. 9, n. 2, 2021.

FAZIO, MARIA LUIZA SILVA; CAMPANA, GIOVANNI HENRIQUE GRIGO; GEROMEL, MARITO ROBERES. Bolores/leveduras e Staphylococcus aureus em pães franceses comercializados na região de Catanduva-SP. Revista InterCiência- IMES Catanduva, v. 1, n. 4, p. 17-17, 2020.

FERREIRA, JANAINA CÁSSIA BRITO. Comportamento higiênico na abelha sem ferrão Scaptotrigona aff. roperet (Apidae: Meliponini). 2023.

FISCHER, GALTER. Imunomodulação pela própolis. Arquivos do Instituto Biológico, v. 75, p. 247-253, 2021.

FONSECA, K. Z., PRAZERES, A. G. M., LIMA, C. L. B., SANTOS, I. P., PAMPONET, J. S. S. Perguntas mais frequentes sobre flavonoides. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, Bahia, 2016. Acesso em: abril de 2024.

GROSSO, GABRIEL DE LIMA. Características microbiológicas de las mieles tropicales de Apis roperiti. Galeria Apícola virtual. Apiservices, v. 1, p. 1-7, 2002.

KOSAK, AQUISNELI. Desenvolvimento e análise de máscara peel off contendo própolis. 2022.

LAJOLO, F. M.; MENEZES, E. W.; GIUNTINI, E. B.; COELHO, K. S. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA). Tabelas Complementares – Flavonoides. Universidade de São Paulo (USP). Food Research Center (FoRC). Versão 7.0. São Paulo, 2019. Acesso em: agosto de 2024.

LEÃO, KAMILA LIMA. Colony development and management of the stingless bee *Scaptotrigona aff. roperiti* (Apidae: Meliponini) using roperitie hive models. Sociobiology. Feira de Santa – UEFS, v. 63, n. 4, p. 1038 – 1045, 2016. Acesso em: 06 abril de 2024.

LOIOLA, NILSON DOS SANTOS. Avaliação da atividade antimicrobiana da própolis da abelha nativa Tubi, *Scaptotrigona aff. roperiti* (LATREILLE, 1807) frente às bactérias *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* e *Escherichia coli*. 2020.

MASSARO, FC, BROOKS, PR, WALLACE, HM, NSENGIYUMVA, V., NAROKAI, L., & RUSSELL, FD (2013). Efeito da própolis australiana de abelhas sem ferrão (*Tetragonula carbonaria*) em artérias isoladas humanas e suínas pré- contraídas. PloS One, 8 (11), 1–10.

MOTTA, F. S. Inovações para qualificação da apicultura no município Itaqui/RS. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal do Pampa, Interdisciplinar em Ciência e Tecnologia, 2023.

MURATORI, M. C. S.; SOUZA, D. C. Características microbiológicas de 132 amostras de mel de abelhas do Piauí. In: congresso brasileiro de apicultura. 2002. P. 77.

MUTO, N. A.; LEITE, R. O. De S.; PEREIRA, D. S.; ROGEZ, H. L. G.; VENTURIERI, G. NERIS, M.S.; LACERDA, L. M.; RABEL, H. P. S.; LIMA, L. M. Ocorrência de bolores e leveduras em méis comercializados informalmente no estado do Maranhão. Nutrire, v. 38, p. 439-439, 2013.

PALUDO, CR, MENEZES, C., SILVA-JUNIOR, E.A et al. Larvas de abelhas sem ferrão requerem esteroide fúngico para empupação. Sci Rep 8, 1122 (2018). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19583-9>.

POYRAZ, F.; YALMANCI, D.; İSPIRLI, H.; DERTLI, E. Caracterização de Pão de Abelha Produzido com Culturas Iniciais Definidas Imitando o Processo de Fermentação Natural. Fermentation, 2023, 9, 174. Portal Embrapa disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/220624/1/Doc268-Controle- Qualidade-Propolis-AINFO-1.pdf> acesso em: 09 de abril de 2024.

PRADO, BRUNO ALCANTARA. Avaliação da atividade antimicrobiana e caracterização físico-química de extratos de própolis brasileiras. 2019.

REGUEIRA NETO, MARCOS DA SILVEIRA. Análise comparativa dos perfis fitoquímico e microbiológico da própolis vermelha brasileira e da resina de *Dalbergia ecastaphyllum*. 2018.

ROCHA L. Otimização do processo de extração de própolis através da verificação da atividade antimicrobiana. *Rev. Bras. Farmacogn*, v.13, p.71-74, 2003. Acesso: 23 abril 2024.

SANCHES, MÁRCIA A. Ação da própolis de *Scaptotrigona aff. roper* (Latreille, 1807) (hymenoptera, apidae, meliponini) em diferentes linhagens de células tumorais. 2014, 87 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural da Universidade de Viçosa, Minas Gerais, 2014.

SANDRIN, RACELI. Microbiologia de Alimentos na Indústria de Alimentos. Disponível em: <https://repositorio.pgsscogna.com.br/handle/123456789/60062>. Acesso em 10 de agosto de 2024.

SANTOS, A. D. Avaliação da atividade biológica de frações obtidas da própolis vermelha em cultivo celular. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia) Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul. 2016. Acesso em: 01 abril de 2024.

SCHLABITZ, C.; DA SILVA, S. A. F.; DE SOUZA, C. F. V. Avaliação de parâmetros reopertieseos e microbiológicos em mel. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, v. 4, n. 1, 2010.

SCHREINER, J. F. Avaliação da atividade antioxidante e antibacteriana de própolis oriunda de abelhas sem ferrão (meliponíneos) de Pato Branco-PR. 2022. 60 f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Química) Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2022.

SILVA JUNIOR, V. Et al. Monitoramento da qualidade microbiológica de queijos tipo “Minas frescal” fabricados artesanalmente. *Indústria de Laticínios*, v. 10, n. 24, p. 71-75, 2001.

SILVA, N. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água. 5ª edição. São Paulo. Editora Bluncher, 2017.

SILVA, R. A. SOS abelhas nativas do Brasil. SEABDERAL – Departamento de Economia Rural. Paraná, Ano II, n. 19, p. 1 – 9, 2009.

SIMONE-FINSTROM, M., & SPIVAK, M. (2010). Propolis and bee health: the natural history and significance of resin use by honey bees. *Apidologie*, 41(3), 295-311.

SOBREIRA, ANA LAURA. Atividade antifúngica do extrato etanólico de própolis vermelha contra isolados patogênicos de *Candida* spp. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, v. 15, n. 4, p. 429-433, 2020.

SOUZA, E. P. Exposição de *Apis roper* (Hymenoptera: Apidae) aos grãos de pólen de plantas de soja (*Glycine max* L.) originadas de sementes tratadas. *Scientific Article. Arq. Inst. Biol.* 87. 2020.

VIDAL, MARIA DE FATIMA. Potencial da produção de própolis no Nordeste. 2021.

YUSOP, SA, SUKAI, AH, SABRI, WM, & ASARUDDIN, MR (2019). Atividades antioxidantes, antimicrobianas e citotóxicas da própolis de Beladin, extrato de *Trigona itama* de abelhas sem ferrão de Sarawak. *Materials Today: Proceedings*, 19, 1752–1760. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2019.11.213>.

ZHANG, Y., SEERA, N. P., LEE, R., FENG, L., HEBER, D. (2008). Isolation and identification of strawberry phenolics with roportiese and human roper cell antiproliferative roporties. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56: 670- 675. Acesso: abril 2024.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 – Contagem de bactérias totais na própolisda abelha Tubi.

Figura 02 - Coliformes totais presente na própolis da abelha Tubi.

Figura 03 - Bolores e Leveduras da própolis da abelha Tubi

DIZ-ME QUE SALMÃO ESCOLHES E DIR-TE-EI QUE SALMÃO CONSOMES. CONTRIBUTO PARA UMA ESCOLHA SAUDÁVEL NA DIETA DO CONSUMIDOR

**Beatriz Laureano (a),
Ana Isabel Faustino-Rocha (b, c, d)
Maria João Lança (b, e, f)**

a Departamento de Química e Bioquímica, Escola de Ciências e Tecnologia da Universidade de Évora, Rua Romão Ramalho, 59, 7000-671, Évora, Portugal

b Departamento de Zootecnia, Escola de Ciências e Tecnologia da Universidade de Évora, Pólo da Mitra, Apartado 94, 7002-554, Évora, Portugal

c Comprehensive Health Research Center, Universidade de Évora, Largo dos Colegiais, 7004-516, Évora, Portugal

d Centro de Investigação e de Tecnologias Agro-Ambientais e Biológicas, Inov4Agro, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Quinta dos Prados, 5000-801, Vila Real, Portugal

e Instituto Mediterrâneo para a Agricultura, Ambiente e Desenvolvimento (MED), Universidade de Évora, Pólo da Mitra, Apartado 94, 7002-554, Évora, Portugal

f Instituto para as Alterações Globais e Sustentabilidade (CHANGE), Universidade de Évora, Pólo da Mitra, Apartado 94, 7002-554, Évora, Portugal

Autor correspondente: Maria João Lança, mjlanca@uevora.pt

RESUMO

O elevado consumo de salmão-do-atlântico e de algumas espécies de salmão selvagem conduziu ao estudo cujo objetivo foi a comparação da composição proximal e do perfil lipídico entre amostras de salmão-do-atlântico e salmão selvagem nomeadamente salmão rosado e salmão keta, comercializadas por várias marcas em Portugal. Para tal utilizou-se ecografia modo B para uma análise inicial da infiltração lipídica nos filetes, à qual se seguiu a análise da composição proximal para aferição de matéria seca, humidade, cinzas, proteína bruta e lípidos totais. Foi igualmente analisado o perfil em ácidos gordos do extrato lipídico do músculo e determinados os índices lipídicos de saúde. Os resultados revelaram um teor de proteína bruta similar entre os filetes de salmão-do-atlântico e de ambas as espécies de salmão selvagem, mas um teor lipídico quase três vezes maior nos filetes de salmão-do-atlântico. Com base nos resultados obtidos, os filetes de salmão-do-atlântico da marca Iglo foram os que registaram os valores mais baixos para os índices PUFA/SFA, $\omega 3/\omega 6$ e h/H. Em contrapartida, para as duas espécies de salmão selvagem comercializadas, o salmão selvagem rosado apresentou os melhores índices de PUFA/SFA, $\omega 3/\omega 6$ e h/H e o salmão selvagem keta, revelou maiores índices de aterogenicidade e trombogenicidade.

PALAVRAS-CHAVE

Aquicultura, composição nutricional, dieta saudável, salmão-do-atlântico, salmão selvagem

INTRODUÇÃO

Portugal é o terceiro maior país consumidor de salmão-do-atlântico (*Salmo salar*, L.) a nível global, como tal, o salmão sensu lato é cada vez mais alvo de estudo, quer por ter importância socioeconómica quer pelo seu consumo ser frequentemente associado a uma dieta saudável. Atualmente, os consumidores procuram conhecer, não só o perfil nutricional do pescado que escolhem, como também o impacto ambiental resultante da sua produção e a sustentabilidade dos recursos naturais, no caso das espécies de salmão selvagem. Existem estudos que revelam que o perfil lipídico das espécies de pescado selvagem, tão importante para a qualidade nutricional e palatabilidade, é distinto do perfil das espécies produzidas em aquicultura, questão que se levanta relativamente às espécies de salmão mais consumidas em Portugal: o salmão-do-atlântico produzido em aquicultura e o salmão-do-pacífico (*Oncorhynchus gorbuscha*) e o salmão keta (*Oncorhynchus keta*), provenientes de stock selvagem.

Considerando o nível crescente de consumo de salmão sensu lato, este trabalho teve como objetivos: (i) determinar a composição proximal e (ii) avaliar a qualidade nutricional de salmão de aquicultura (*Salmo salar*, L.) e de duas espécies de salmão selvagem, tais como o salmão rosado (*Oncorhynchus gorbuscha*) e o salmão keta (*Oncorhynchus keta*), de forma a inferir a escolha mais saudável para os consumidores em termos de perfil lipídico.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de salmão de aquicultura e de salmão selvagem

Foram adquiridas três embalagens por marca de salmão de aquicultura (salmão-do-atlântico), comercializado pela Iglo, Pescanova e Royal Green, e três embalagens de duas espécies de salmão selvagem (salmão rosado e salmão keta) comercializado pelas marcas Iglo e Auchan em superfícies comerciais distintas para se terem lotes diferentes.

Aferição da infiltração de gordura no músculo por ecografia modo B

Em cada filete de salmão produzido em aquicultura e de salmão selvagem, foi realizada ecografia com recurso ao modo B, para quantificar o infiltrado de gordura. Foi usada uma sonda linear, de frequência de 10MHz, do aparelho LogiqP6 Pro, da General Electric Healthcare (Milwaukee, WI, EUA). O brilho e a posição dos focos foram mantidos constantes para as várias amostras de salmão. Para cada filete registaram-se três imagens - uma imagem da região central do filete e duas imagens das extremidades do filete. As imagens foram gravadas e exportadas do ecógrafo para posterior análise no programa Image J versão 2.14.0 (Fiji, EUA). Em cada imagem foi definida uma região de interesse (ROI), de igual dimensão para todas as imagens, e utilizada a função histograma para quantificar a intensidade dos pixéis (ecogenicidade).

Avaliação da composição proximal

De cada embalagem e marca foram retiradas amostras de cada filete com aproximadamente 15g em peso fresco.

O teor de humidade foi determinado tendo por base o método descrito na Norma Portuguesa 2282 (IPQ, 1991), no qual foi feita a dispersão da amostra, secagem à temperatura de $105 \pm 2^\circ\text{C}$ e arrefecimento até peso constante, sendo cada amostra analisada em duplicado. A percentagem de humidade das amostras foi determinada mediante a equação, onde: m_a - representa a massa da amostra (g); m_c - representa a massa do cadinho (g); m_{ca} - representa a massa do cadinho e da amostra após a secagem (g):

$$100 - \frac{m_{ca} - m_c}{m_a} \times 100$$

O teor de cinza total foi determinado de acordo com o método descrito na Norma Portuguesa 2032 (IPQ, 1988), no qual a amostra seca (após a determinação do teor de humidade) foi carbonizada e incinerada a uma temperatura de $500 \pm 25^\circ\text{C}$, após o qual foi pesado o resíduo e sendo cada amostra analisada em duplicado. O teor de cinza foi calculado tendo por base a seguinte equação, na qual m_{cr} – representa a massa do cadinho com o resíduo (g); m_c – representa a massa do cadinho (g) e m_{ca} – representa a massa do cadinho e da amostra após a secagem (g):

$$\frac{m_{cr} - m_c}{m_{ca} - m_c} \times 100$$

O teor de proteína bruta foi calculado pelo método de Dumas (AOAC, 990.03), no qual são feitas duas suposições: (1) que todo o azoto (N) do alimento está presente sob a forma de proteína; e (2) que toda a proteína dos alimentos contém 160 g N/kg (McDonald et al., 2002). Para a determinação da percentagem de azoto total presente nas amostras dos filetes, procedeu-se à homogeneização das mesmas, após o que se pesou 0,1000 g de amostra, em duplicado, que foram guardadas em folha de estanho. A determinação da proteína foi efetuada no Analisador Automático LECO FP-528 (LECO Corporation, St. Joseph, MI, EUA), mediante combustão a alta temperatura (900°C), onde a amostra foi incinerada no forno em atmosfera enriquecida em oxigénio. O teor de azoto (na forma gasosa) presente em cada amostra foi quantificado pela sua condutividade térmica. Posteriormente, o teor de proteína bruta foi calculado a partir do valor de azoto total multiplicado pelo fator de conversão 6,25, conforme a equação seguinte:

$$\text{Teor de proteína (g/100 g MS)} = \frac{\%NT \times 6,25}{100}$$

Determinação dos lípidos totais e do perfil de ácidos gordos

Das amostras de filetes de cada marca, retiraram-se 2 alíquotas de 4 g e procedeu-se à liofilização durante 48 horas (a uma temperatura de -45°C e a uma pressão de aproximadamente 10-1 mbar), até à obtenção de massa constante. Procedeu-se à pesagem e de seguida as amostras liofilizadas foram homogeneizadas para extração dos lípidos totais. A determinação dos lípidos totais presentes no músculo foi feita de acordo com o método de Folch et al. (1957), e adaptada para extração acelerada por solvente (Jorge, 2018, 2021). Pesou-se cerca de 200 mg ($\pm 0,002$) de amostra liofilizada, que foram misturados com terra de diatomáceas e colocados nas células de ASE. A mistura de solvente de extração foi clorofórmio:metanol (60%:40%) com hidroxitolueno butilado (BHT) (100 mg/L) (v/v), a temperatura foi de 100°C , pressão de 13.8 MPa, o número de ciclos estáticos foi 2 com duração de 5 min cada. Após recolha do extrato lipídico e respetiva evaporação, foi determinada a massa do resíduo seco correspondente ao teor de lípidos totais mediante a equação:

$$\text{Lípidos Totais (\%)} = \frac{\text{Massa do Resíduo Seco}}{\text{Massa da Amostra}} \times 100$$

Para a transesterificação dos lípidos totais, os extratos lipídicos foram submetidos aos processos de saponificação e metilação de acordo com o método descrito por Morrison e Smith (1964). Em seguida, os ésteres metílicos dos ácidos gordos foram analisados num sistema de cromatografia gasosa da série HP 6890 com detetor de ionização de chama (FID) e um injetor automático de amostragem, Agilent 7683 Series injetor. A separação cromatográfica foi efetuada numa coluna capilar SP_{TM}-2380 (60 m $\times$ 0,25 mm i.d., 0,2 μm df) (Supelco_{TM}, Sigma-Aldrich, USA). O programa de temperatura do forno começou a 140°C , manteve-se durante 5 min, aumentou a 4°C min^{-1} até 240°C e permaneceu a 240°C durante 10 min. Utilizou-se hidrogénio como gás de arrastamento com um caudal de 2 10^{-8} m³ s⁻¹ e a temperatura do injetor e do detetor foi regulada para 250 e 260°C , respetivamente. Foi injetado 1 μL de cada amostra com uma razão de divisão de 20:1. A identificação foi efetuada por comparação dos tempos de retenção de cada pico com os tempos de retenção de uma Supelco_{TM} 37 Component FAME Mix (Supelco, Bellefonte, PA) injetada nas mesmas condições. Para cada amostra, a composição relativa em ácidos gordos foi expressa em termos de percentagem do total dos ácidos gordos identificados.

Índices Lipídicos

Foram calculados os índices lipídicos para a saúde, nomeadamente a razão entre ácidos gordos polinsaturados: ácidos gordos saturados (PUFA/SFA); a razão entre ácidos gordos $\omega 3$: ácidos gordos $\omega 6$ ($\omega 3/\omega 6$, Simopoulos, 2002b); o índice de trombogenicidade (IT) e de aterogenicidade (AT) (Ulbricht and Southgate, 1991) e o índice hipocolesterolemia: hipercolesterolemia (h/H) proposto por (h/H, Santos-Silva et al., 2002) e modificado por Florin et al., (2018), tal como descritos de seguida:

$$\begin{aligned} & \frac{\sum \text{PUFA}}{\sum \text{SFA}} \\ &= \frac{(C18:3\omega 3 + C20:3\omega 3 + C20:5\omega 3 + C22:6\omega 3)}{(C12:0 + C13:0 + C14:0 + C15:0 + C16:0 + C17:0 + C18:0 + C20:0 + C21:0 + C22:0 + C23:0 + C24:0)} \\ \\ & \frac{\sum \omega 3}{\sum \omega 6} = \frac{(C18:3\omega 3 + C20:3\omega 6 + C20:3\omega 3 + C20:4\omega 6 + C20:5\omega 3 + C22:2\omega 6 + C22:6\omega 3)}{(C18:2\omega 6 + C18:3\omega 6 + C20:2\omega 6 + C20:3\omega 6 + C20:4\omega 6 + C22:2\omega 6)} \\ \\ & h/H = \frac{[18:1\omega 9 + 18:2\omega 6 + 20:4\omega 6 + 18:3\omega 3 + 20:5\omega 3 + 22:5\omega 3 + 22:6\omega 3]}{[14:0 + 16:0]} \\ \\ & TI = \frac{[14:0 + 16:0 + 18:0]}{[(0,5 \times \sum \text{MUFA}) + (0,5 \times \sum \text{PUFA}\omega 6) + (3 \times \sum \text{PUFA}\omega 3) + (\frac{\sum \text{PUFA}\omega 3}{\sum \text{PUFA}\omega 6})]} \\ \\ & IA = \frac{[12:0 + (4 \times 14:0) + 16:0]}{[\sum \text{MUFA} + \sum \text{PUFA}]} \end{aligned}$$

Análise estatística

Sempre que necessário, os dados foram transformados de modo a garantir os pressupostos de normalidade, independência e homocedasticidade. Foram utilizadas análises de variância multivariada permutacional baseadas na distância (PERMANOVA) para comparar a composição proximal e o perfil lipídico. O primeiro conjunto de dados incluiu 15 observações x 5 variáveis (matéria seca, humidade, cinzas, proteína bruta e lípidos totais) e o desenho incluiu dois fatores fixos: espécie de salmão e marca, aninhada na espécie. O segundo conjunto de dados incluiu 15 observações x 40 variáveis (perfil em ácidos gordos e índices lipídicos) e o desenho incluiu os mesmos dois fatores. O último conjunto de dados comparou quer a composição proximal quer o perfil lipídico entre lote de aquicultura (salmão-do-atlântico) e lote selvagem (salmão keta e salmão rosado) incluindo 1 fator fixo que foi a origem.

Foi utilizado um teste de permutação para avaliar a significância quer da composição proximal quer do perfil lipídico entre as espécies. Uma vez que o fator espécie foi considerado significativo, foi posteriormente analisado através do teste de comparação de pares. As variáveis que tiveram maior influência nas dissimilaridades entre as espécies foram então calculadas utilizando o procedimento SIMPER (percentagens semelhantes) (Warwick et al., 1990; Clarke, 1993) mediante SPSS for Windows (version 29.0 IBM) e programa Primer7.

Em relação aos dados provenientes da infiltração lipídica, a análise estatística dos dados foi realizada no programa GraphPad Prism versão 10.1.1. (GraphPad Software, California), com recurso ao teste T-independente e à análise de variância (ANOVA), seguida do teste post-hoc de comparações múltiplas Bonferroni. A correlação de Pearson foi usada para avaliar a correlação entre a quantidade de lípidos totais e a ecogenicidade avaliada por ecografia. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. As diferenças são consideradas estatisticamente significativas para valores de $p < 0,05$.

Resultados e Discussão

Avaliação ecográfica

A avaliação dos filetes de salmão de aquicultura e de salmão selvagem, por ecografia modo B, revelou uma maior ecogenicidade nas amostras de salmão de aquicultura ($p < 0,05$), o que sugere um maior infiltrado de lípidos no salmão de aquicultura (Figura 1). Observou-se uma correlação positiva e significativa entre a ecogenicidade detetada por ecografia e o infiltrado de lípidos totais ($r = 0,5643$; $p = 0,0310$), o que valida a utilização da ecografia como um método não invasivo e fiável para a quantificação do infiltrado de lípidos em amostras de salmão (Figura 2).

Composição proximal

Para a composição proximal, os resultados da PERMANOVA mostraram que o fator espécie apresentou diferenças significativas ($p = 0,001$), mas para a mesma espécie, as marcas não revelaram diferença significativa ($p = 0,112$). O teste PAIRWISE revelou diferença significativa entre a composição proximal dos filetes de salmão-do-atlântico e a dos filetes de salmão selvagem keta ($p = 0,005$), e entre o salmão-do-atlântico e o salmão selvagem rosado ($p = 0,005$). Não foram reveladas diferenças significativas para a composição proximal entre as duas espécies de salmão selvagem ($p = 0,491$). Os valores médios obtidos, quando expressos em percentagem de M.S. são os que se encontram na Figura 3.

Tendo em conta que foram detetadas diferenças significativas na composição proximal para o par salmão-do-atlântico: salmão selvagem keta, e para o par salmão-do-atlântico: salmão selvagem rosado, foi utilizado o teste SIMPER para determinar quais as variáveis específicas que contribuem para as diferenças globais. A distância média ao quadrado entre o salmão-do-atlântico e o salmão selvagem keta foi de entre 0,05, tal como entre o salmão-do-atlântico e o salmão rosado. A análise SIMPER indicou que foram os lípidos totais seguidos pela humidade e a matéria seca que tiveram maior contribuição para a dissimilaridade entre o salmão-do-atlântico e qualquer das espécies de salmão selvagem (entre salmão-do-atlântico e salmão rosado: 58,71%, 18,60% e 18,60%, e entre salmão-do-atlântico e salmão keta: 48,55%, 24,18% e 24,18% respetivamente). Verifica-se assim, que o teor de lípidos totais (expresso por 100g de M.S.) é quase o triplo nos filetes de salmão-do-atlântico quando comparado com os filetes das espécies de salmão selvagem.

Os resultados da PERMANOVA para comparação da composição proximal entre lote de aquicultura e lote selvagem, revelou que o fator fixo (i.e., origem) foi significativo ($p = 0,001$). Mais uma vez os parâmetros que contribuíram para a dissimilaridade foram os lípidos totais (53,74%), seguidos pela humidade e a matéria seca (21,33%) (Figura 3).

Os resultados obtidos revelaram um perfil no qual o teor de Proteína Bruta (por 100 g de M.S.) se revelou similar entre os lotes e oscilando entre 21,68% e o valor máximo de 24,11% no caso do salmão rosado. Estes valores estão de acordo com a percentagem que a maioria do pescado apresenta no músculo, nomeadamente entre 17-22 % (Belitz et al., 2004). Relativamente ao teor de lípidos totais, verifica-se que os filetes de salmão-do-atlântico apresentam quase o triplo do conteúdo observado nas amostras de salmão selvagem. Este resultado não surpreende na medida em que o teor de lípidos depositado no músculo é influenciado por diversos fatores, tais como a alimentação, a espécie em causa, o género, a época do seu ciclo de vida, entre outros. No presente caso, temos espécies distintas, em sistemas diferentes (salmão-do-atlântico criado em regime intensivo), salmão rosado e salmão keta capturados de stocks selvagens. Tais factos são por si só suficientes para poderem contribuir para esta discrepância nos teores de lípidos totais obtidos.

Em função destes resultados, foi analisado o perfil lipídico das amostras em termos de ácidos gordos (Tabela 1) e calculados os principais índices lipídicos. Para tal, os resultados da PERMANOVA mostraram que o fator espécie apresentou diferenças significativas ($p = 0,001$) mas para a mesma espécie, as marcas não revelaram diferença significativa ($p = 0,481$). Considerando este aspeto, interessa mencionar que quando se observam os valores para as 3 marcas que comercializam salmão-do-atlântico, o que mais se evidenciou foi o facto da Iglo apresentar filetes com uma maior expressão de ácidos gordos saturados (SFA: 34,92%) e monoinsaturados (MUFA: 51,12%), face às outras duas marcas. Já a Royal Green caracterizou-se por filetes com os maiores teores de ácidos gordos polinsaturados PUFA (27,35%).

A marca Pescanova revelou um elevado teor de ácidos gordos monoinsaturados (MUFA: 59,81%) que foi acompanhado de um maior teor de ácidos gordos da família $\omega 9$. Já a marca Iglo revelou filetes com os teores significativamente mais baixos de ácidos gordos insaturados das famílias $\omega 3$ e $\omega 6$, embora estes resultados não tenham revelado diferenças significativas. Todavia, interessa referir que em termos de comparação de marcas dentro da mesma espécie, a não obtenção de diferenças significativas, pode resultar de facto de estas não existirem, mas as autoras também não descartam o facto de se ter um número de amostras reduzido que, quando é dividido nos testes par-a-par, poderá não ter representatividade suficiente para indicar significância.

O teste PAIR-WISE revelou diferença significativa para o perfil lipídico e índices entre os filetes de salmão-do-atlântico e a dos filetes de salmão selvagem keta ($p=0,006$) e entre o salmão-do-atlântico e o salmão selvagem rosado ($p=0,003$). Não foram reveladas diferenças significativas entre as duas espécies de salmão selvagem ($p=0,108$).

Foi realizado o teste SIMPER para determinar quais as variáveis específicas que contribuíram para as diferenças globais. A distância média ao quadrado entre o salmão-do atlântico e o salmão selvagem keta foi de entre 0,22 e entre o salmão-do-atlântico e o salmão rosado foi de 0,29. A análise SIMPER indicou que entre o salmão-do-atlântico e o salmão selvagem keta foram, em termos de índices lipídicos, os ácidos gordos ω -6 seguidos pelos SFA que mais contribuíram para as dissimilaridades (12,76% e 7,49%, respetivamente) tendo os PUFA e HUFA valores de contribuição muito baixos (3,79% e 1,42%, respetivamente). Em termos de ácidos gordos que mais se destacaram para as dissimilaridades, tem-se o C24:1 ω 9 (12,69%), C18:2 ω 6 (12,01%), C18:1 ω 9 (8,76%), C16:1 ω 7 (6,83%) e o C20:1 ω 9 (6,16%). Os restantes revelaram valores inferiores a 6% de dissimilaridade.

Já entre o salmão-do-atlântico e o salmão selvagem rosado os parâmetros que mais contribuíram para a dissimilaridade foram os ácidos gordos ω -3 seguidos pelos HUFA (11,81% e 11,51%, respetivamente). Seguiu-se os SFA, os PUFA e os ácidos gordos ω -6 com valores de dissimilaridade de 6,92%, 6,22% e 5,71%, respetivamente. Ao nível de ácidos gordos, os que mais contribuíram para as dissimilaridades foram o C20:3 ω 3 (10,63%), o C18:1 ω 9 (6,75%), o C24:1 ω 9 (6,34%) e o C22:1 ω 9 (5,72%).

A componente lipídica presente num alimento é constituída por ácidos gordos, os quais podem desempenhar papéis benéficos ou negativos na prevenção de certas patologias. Como o perfil lipídico de um alimento apresenta-se constituído por misturas de ácidos gordos saturados, gordos monoinsaturados e polinsaturados, foram criados índices que traduzem o valor nutricional e/ou medicinal do perfil lipídico, estando os resultados dos filetes analisados expostos na Figura 4.

Quando se trabalha em matrizes alimentares é frequente a utilização do índice resultante da razão entre o somatório dos ácidos gordos polinsaturados e somatório dos ácidos gordos saturados de forma a avaliar a qualidade nutricional do perfil lipídico, sendo o ratio mínimo recomendado para uma dieta equilibrada 0,45 (Department of Health, 1994). Perante os nossos resultados, apenas a amostra referente ao salmão-do-atlântico comercializada pela marca Iglo apresentou um valor inferior ao recomendado sendo seguida pela amostra de salmão keta da marca Auchan. Embora este ratio seja muito usado, deve salientar-se que o cálculo apenas considera a estrutura química dos ácidos gordos, considerando que todos os ácidos saturados induzem o aumento de colesterol e menosprezando os efeitos dos ácidos gordos monoinsaturados, com destaque para o ácido oleico (Santos-Silva et al., 2002), o que remete para uma certa cautela na sua interpretação sem outros índices para apoio.

Deste modo, e de acordo com (Santos-Silva et al., 2002), têm sido frequentemente utilizados índices baseados nos efeitos funcionais dos ácidos gordos, como por exemplo o ratio hipocolesterolemico/hipercolesterolemico, no qual feita a razão entre o valor nutricional dos ácidos gordos com propriedades hipocolesterolémicas e o valor nutricional dos ácidos gordos com propriedades hipercolesterolémicos, assumindo-se que quanto mais elevado seja o valor do índice, menor risco de desenvolvimento de colesterolémia. Considerando então os resultados obtidos, ambos estes índices destacam as mesmas amostras como aquelas cujos valores são os mais desaconselhados.

O cálculo da razão entre o somatório dos ácidos gordos da família ω -3 e da família ω -6 é muito utilizado para avaliar o valor nutricional dos lípidos presentes nos alimentos (Simopoulos, 2006) na perspetiva de que as dietas das sociedades ocidentais modernas apresentam um consumo deficiente de ácidos gordos da família ω -3 e um consumo excessivo da família ω -6. No presente trabalho a razão ω -3/ ω -6 presente na parte edível foi ligeiramente superior ao valor mínimo recomendado de 0,25 nas amostras de salmão-do-atlântico da Iglo e da Pescanova.

O valor mais elevado de 1,06 foi obtido para as amostras de salmão selvagem rosado da marca Iglo, o que não surpreende visto serem amostras capturadas de stock selvagem, onde a disponibilidade de ω -3 está patente nas cadeias tróficas marinhas.

Finalmente quando se calculam índices de trombogenicidade e de aterogenicidade considera-se que quanto menor for o valor de ambos os índices, de maior qualidade será a fração lipídica do alimento (Ulbricht & Southgate, 1991). No índice de trombogenicidade consideram-se os efeitos individuais de cada ácido relacionando os teores dos ácidos saturados C14:0, C16:0 e C18:0 (os ácidos gordos pró-trombóticos) com os teores de ácidos monoinsaturados e polinsaturados com propriedades anti trombóticas (Senso et al., 2007). O índice de aterogenicidade, considera os ácidos gordos com papel ao nível da formação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e/ou lipoproteínas de alta densidade (HDL) (Senso et al., 2007). Os valores mais baixos foram obtidos na amostra de salmão selvagem rosado, contudo a mesma tendência não se observou no salmão selvagem keta. Por fim, novamente, o perfil de ácidos gordos da amostra de salmão-do-atlântico da Iglo revelou os valores mais elevados para estes dois índices, sendo a amostra com valores mais altos de trombogenicidade e aterogenicidade.

Perante a análise dos resultados, podemos afirmar que o produto que chegou ao consumidor relativo a estes lotes apresenta diferenças na sua qualidade nutricional lipídica sendo os filetes da marca Iglo referentes ao salmão-do-atlântico aqueles que resultam numa escolha de qualidade inferior face aos restantes.

Conclusão

A ecografia modo B constitui um método não invasivo e fiável para a quantificação do infiltrado de lípidos em amostras de salmão. Relativamente à composição proximal, o teor de proteína bruta foi similar entre o salmão-do-atlântico e as amostras de salmão selvagem, sendo o teor de lípidos totais muito superior no salmão de aquicultura, com destaque para a marca Iglo. Entre o salmão-do-atlântico e o salmão selvagem keta foram os ácidos gordos ω -6, seguidos pelos SFA, que mais contribuíram para as dissimilaridades. Entre o salmão-do-atlântico e o salmão selvagem rosado, os parâmetros que mais contribuíram para a dissimilaridade foram os ácidos gordos ω -3 seguidos pelos HUFA.

Com base nos resultados obtidos, os filetes de salmão-do-atlântico da marca Iglo foram os que registaram os valores mais baixos para os índices PUFA/SFA, ω 3/ ω 6 e h/H. Isto significa que os filetes têm baixo valor em termos de diminuição da colesterolemia e da LDL-C e disponibilizam o menor teor de ácidos gordos da família ω 3 e valores elevados para os índices de aterogenicidade e trombogenicidade. Em contrapartida, para as duas espécies de salmão selvagem comercializadas, o salmão selvagem rosado apresentou os melhores índices de PUFA/SFA, ω 3/ ω 6 e h/H e o salmão selvagem keta, revelou maiores índices de aterogenicidade e trombogenicidade.

Financiamento

Este trabalho foi apoiado/financiado por Fundos Nacionais através da FCT - Fundação para a Ciência e a Tecnologia, no âmbito do projeto PA 16/MFT/2024 (MARE) - Projeto “Implementação e monitorização do plano de captura e translocação de exemplares piscícolas” (CC 930923), e do projeto UIDB/04033/2020 (<https://doi.org/10.54499/UIDB/04033/2020>).

Referências

AOAC (1990) - Protein (Crude) in Animal Feed: Combustion Method. (990.03) 15th Edition. Official methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists.

Belitz, H. D., Grosch, W. and P. Schieberle (2004) - Food Chemistry. Berlin, Springer-Verlag, 1070 p.

Clarke, K.R. (1993) - Non-parametric multivariate analysis of changes in community structure. Australian Journal of Ecology, 18: 117-143.

Florin L., I. M. Pop, D. Simeanu, S. Vicas, C. Simeanu and D. Mierlita (2018) - Research regarding fatty acid profile and health lipid indices in the lambs meat of employing feed supplemented with different vegetable oils. *Revista de Chimie*, 69 (Issue 1): 222-227.

Folch, J., Lees, M. and G.H. Sloane-Stanley (1957) - A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *Journal of Biological and Chemistry*, 22: 497-509.

IPQ (1988) - Norma Portuguesa 2032 – Pescado: Determinação do teor de cinza. Lisboa, Instituto Português da Qualidade.

IPQ (1991) - Norma Portuguesa 2282 – Pescado: Determinação do teor de humidade. Lisboa, Instituto Português da Qualidade.

Jorge, A., Machado, M.G., Alexandre, C., Gomes da Silva, M., P. Almeida and M.J. Lança (2021) – Proximate Composition, Nutritional Quality, And Lipid Health Indices Of Largemouth Bass (*Micropterus salmoides*, Lacépède, 1802) From Several Mediterranean Reservoirs. *Journal of Aquatic Food Product and Technology*, 31:1, 19-34.

Jorge, A. (2018) - Determinação do perfil de ácidos gordos do músculo de achigã (*Micropterus salmoides*). Dissertação de Mestrado em Química Bio orgânica, Universidade Nova de Lisboa.

McDonald, P., Edwards, R.A., Greenhalgh, J. F. D., Morgan, C.A., Sinclair, L.A. and R.G. Wilkinson (2002) - *Animal Nutrition*, 7th Edition, Pearson.

Morrison, W. R. and L.M. Smith (1964) - Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol. *Journal of Lipid Research*, 5 (1-3), 600–608.

Santos-Silva, J., Bessa, R. J. B. and F. Santos-Silva (2002) - Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs II. Fatty acid composition of meat. *Livestock Production Science*, 77, 187–194.

Senso, L., Suárez, M. D., Ruiz-Cara, T. and M. Garcia-Gallego (2007) - On the possible effects of harvesting season and chilled storage on the fatty acid profile of the fillet of farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Food Chemistry*, 101, 298-307.

Simopoulos, A. P. (2006) - Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 60, 502–507.

Ulbricht, T. L. and D. Southgate (1991) - Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet*, 338 (8773), 985–992.

Warwick, R.M., Platt, H.M., Clarke, K.R., Agard, J. and J. Gobin (1990) - Analysis of macrobenthic and microbenthic community structure in relationship to pollution and disturbance in Hamilton Harbour, Bermuda. *Journal of Experimental Biology and Ecology*, 138: 119-142.

Lista de Figuras

Figura 1. Avaliação da ecogenicidade numa imagem ecográfica de uma amostra de salmão-do-atlântico (SA) (A) e de uma amostra de salmão selvagem keta (SSK) (B) usando a função histograma do ImageJ. Ecogenicidade das amostras de salmão de aquicultura (SA) e das amostras de salmão selvagem (SS) (C). Os valores são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. ** $p < 0,05$

Figura 2. Correlação entre a quantidade de lípidos totais e a ecogenicidade, avaliada por ecografia modo B.

Figura 3. Composição proximal das amostras de salmão de aquicultura (SA) e das amostras de salmão selvagem (SS): matéria seca (MS), humidade, cinzas, proteína bruta e lípidos totais. SA1 - salmão-do-atlântico Iglo; SA2 - salmão-do-atlântico Pescanova; SA3 - salmão-do-atlântico Royal Green; SS1 - salmão selvagem rosado; SSK - salmão selvagem keta. Os valores são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. * $p < 0,05$

Figura 4. Índices lipídicos de saúde para as amostras de salmão de aquicultura (SA) e de salmão selvagem (SS). Índice de trombogenicidade (IT), índice de aterogenicidade (IA), e índices de PUFA/SFA, $\omega 3/\omega 6$ e h/H. SA1 - salmão-do-atlântico Iglo; SA2 - salmão-do-atlântico Pescanova; SA3 - salmão-do-atlântico Royal Green; SS1 - salmão selvagem rosado; SSK - salmão selvagem keta.

Lista de Tabelas

Tabela 1. Perfil em ácidos gordos dos filetes das diferentes marcas (média $\pm$ SD, valores expressos em percentagem do total dos ácidos gordos identificados).

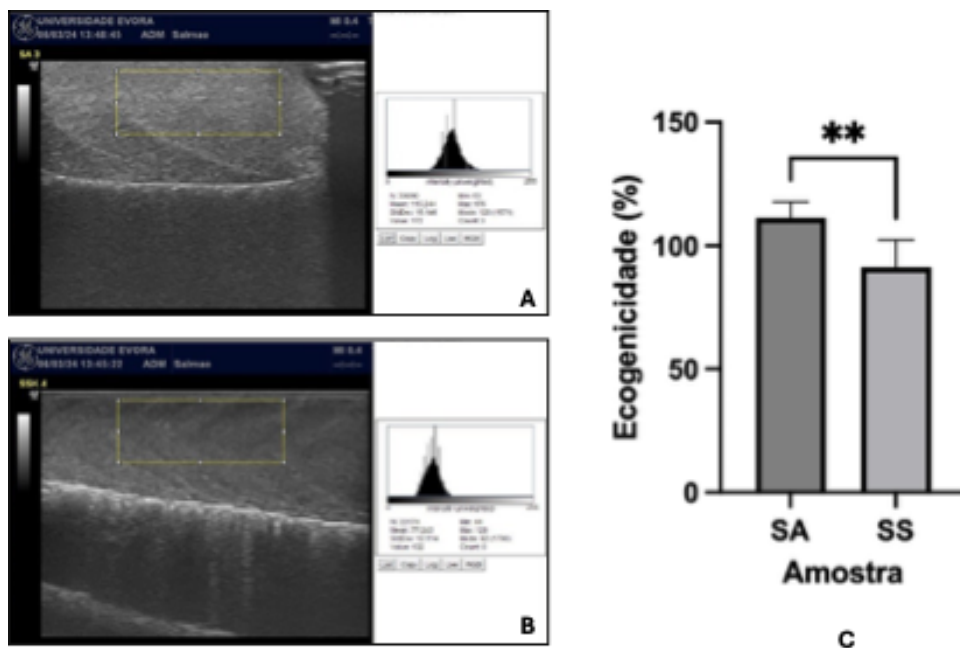


Figura 1. Avaliação da ecogenicidade numa imagem ecográfica de uma amostra de salmão-do-atlântico (SA) (A) e de uma amostra de salmão selvagem keta (SSK) (B) usando a função histograma do ImageJ. Ecogenicidade das amostras de salmão de aquicultura (SA) e das amostras de salmão selvagem (SS) (C). Os valores são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. ** $p < 0,05$

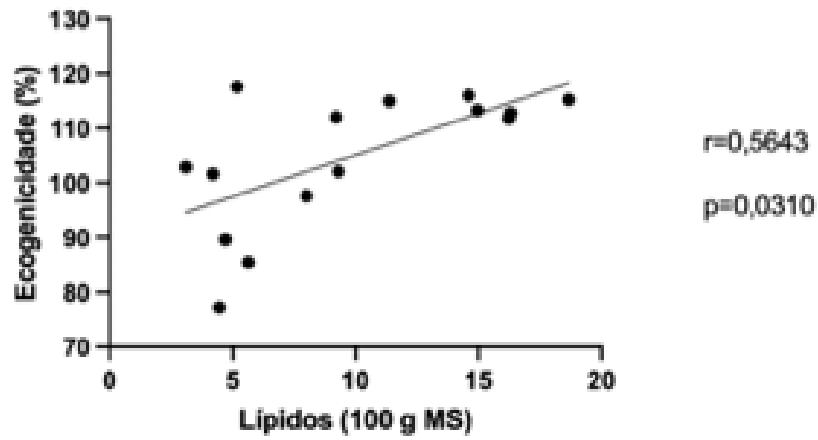
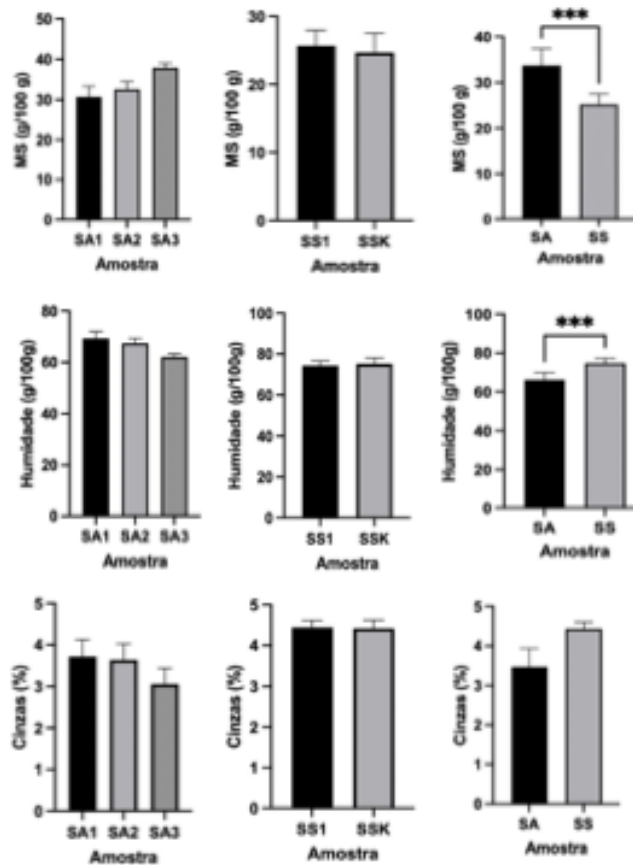


Figura 2. Correlação entre a quantidade de lípidos totais e a ecogenidade, avaliada por ecografia modo B.



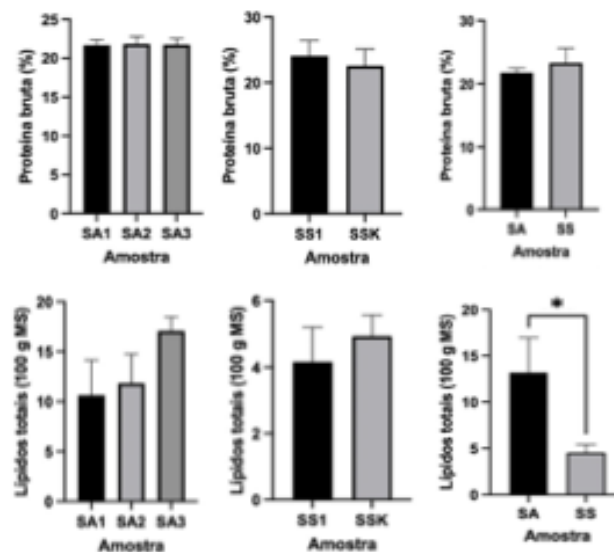


Figura 3. Composição proximal das amostras de salmão de aquicultura (SA) e das amostras de salmão selvagem (SS): matéria seca (MS), humidade, cinzas, proteína bruta e lípidos totais. SA1 - salmão-do-atlântico Iglo; SA2 - salmão-do-atlântico Pescanova; SA3 - salmão-do-atlântico Royal Green; SS1 - salmão selvagem rosado; SSK - salmão selvagem keta. Os valores são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. * $p < 0,05$

Tabela 1. Perfil em ácidos gordos dos filetes das diferentes marcas (média $\pm$ SD, valores expressos em percentagem do total dos ácidos gordos identificados).

Ácidos gordos/Amostra	Salmão de aquicultura			Salmão selvagem	
	SA1	SA2	SA3	SS1	SSK
C12:0	0,06 $\pm$ 0,021	0,03 $\pm$ 0,003	0,03 $\pm$ 0,002	0,02 $\pm$ 0,018	0,05 $\pm$ 0,043
C13:0	n.d.	n.d.	0,01 $\pm$ 0,001	0,01 $\pm$ 0,008	0,01 $\pm$ 0,025
C14:0	3,03 $\pm$ 0,682	1,60 $\pm$ 0,058	2,29 $\pm$ 0,058	2,30 $\pm$ 0,162	4,43 $\pm$ 0,765
C15:0	0,55 $\pm$ 0,068	0,16 $\pm$ 0,012	0,17 $\pm$ 0,003	0,19 $\pm$ 0,010	0,60 $\pm$ 0,320
C16:0	24,27 $\pm$ 1,138	9,86 $\pm$ 0,317	9,84 $\pm$ 0,136	8,59 $\pm$ 0,290	17,09 $\pm$ 1,0
C17:0	0,40 $\pm$ 0,033	0,10 $\pm$ 0,031	0,13 $\pm$ 0,004	0,13 $\pm$ 0,006	0,23 $\pm$ 0,062
C18:0	5,68 $\pm$ 0,204	3,54 $\pm$ 1,314	2,70 $\pm$ 0,039	2,54 $\pm$ 0,129	4,96 $\pm$ 0,321
C20:0	0,15 $\pm$ 0,046	n.d.	n.d.	0,16 $\pm$ 0,137	0,18 $\pm$ 0,026
C21:0	n.d.	0,01 $\pm$ 0,009	n.d.	0,01 $\pm$ 0,010	n.d.
C22:0	0,70 $\pm$ 0,035	0,06 $\pm$ 0,104	n.d.	n.d.	0,05 $\pm$ 0,012
C23:0	0,08 $\pm$ 0,141	0,10 $\pm$ 0,018	0,13 $\pm$ 0,023	0,13 $\pm$ 0,015	0,26 $\pm$ 0,159
C24:0	n.d.	0,12 $\pm$ 0,007	0,10 $\pm$ 0,001	0,06 $\pm$ 0,041	0,07 $\pm$ 0,065
Σ SFA	34,92	15,58	15,41	14,14	27,94
C14:1	n.d.	0,02 $\pm$ 0,001	0,02 $\pm$ 0,001	0,03 $\pm$ 0	0,02 $\pm$ 0,030
C16:1 ω 7	3,96 $\pm$ 0,717	0,30 $\pm$ 0,053	0,27 $\pm$ 0,028	0,28 $\pm$ 0,084	4,06 $\pm$ 0,543
C17:1	0,05 $\pm$ 0,043	0,09 $\pm$ 0,016	0,10 $\pm$ 0,087	0,11 $\pm$ 0,011	0,13 $\pm$ 0,007
C18:1 ω 9t	0,15 $\pm$ 0,134	n.d.	n.d.	n.d.	0,19 $\pm$ 0,016

C18:1 ω 9c	17,87 $\pm$ 2,80	40,80 $\pm$ 2,228	35,85 $\pm$ 0,246	38,59 $\pm$ 2,401	23,83 $\pm$ 1,588
C20:1 ω 9	2,68 $\pm$ 0,069	9,34 $\pm$ 0,343	9,84 $\pm$ 0,062	4,27 $\pm$ 0,310	3,30 $\pm$ 1,648
C22:1 ω 9	2,06 $\pm$ 0,184	2,85 $\pm$ 1,346	1,48 $\pm$ 2,558	0,27 $\pm$ 0,473	3,62 $\pm$ 0,219
C24:1 ω 9	24,35 $\pm$ 4,938	6,41 $\pm$ 0,966	7,26 $\pm$ 0,325	8,35 $\pm$ 1,480	19,81 $\pm$ 2,231

Σ MUFA	51,12	59,81	54,82	51,90	54,96
C18:2 ω 6t	n.d	0,03 $\pm$ 0,022	0,04 $\pm$ 0	n.d	n.d
C18:2 ω 6c	1,62 $\pm$ 0,071	14,35 $\pm$ 0,358	14,20 $\pm$ 0,253	10,56 $\pm$ 0,101	3,79 $\pm$ 0,978
C18:3 ω 6	n.d	0,33 $\pm$ 0,212	0,36 $\pm$ 0,012	0,03 $\pm$ 0,028	0,02 $\pm$ 0,015
C18:3 ω 3	1,43 $\pm$ 0,112	4,15 $\pm$ 0,126	5,08 $\pm$ 0,058	8,29 $\pm$ 0,287	2,39 $\pm$ 0,254
C20:2 ω 6	0,70 $\pm$ 0,035	1,06 $\pm$ 0,026	1,09 $\pm$ 0,017	1,30 $\pm$ 0,011	0,85 $\pm$ 0,109
C20:3 ω 6	0,11 $\pm$ 0,028	0,28 $\pm$ 0,146	0,33 $\pm$ 0,010	0,41 $\pm$ 0,012	0,11 $\pm$ 0,024
C20:3 ω 3	1,21 $\pm$ 0,051	0,49 $\pm$ 0,435	3,26 $\pm$ 2,445	7,33 $\pm$ 0,781	2,46 $\pm$ 0,311
C20:4 ω 6	n.d	0,01 $\pm$ 0,011	n.d	0,02 $\pm$ 0,026	n.d
C20:5 ω 3	0,74 $\pm$ 0,220	0,43 $\pm$ 0,011	0,44 $\pm$ 0,010	0,66 $\pm$ 0,037	0,57 $\pm$ 0,040
C22:2 ω 6	8,83 $\pm$ 0,945	2,42 $\pm$ 0,200	2,82 $\pm$ 0,049	3,18 $\pm$ 0,331	6,91 $\pm$ 0,447
C22:6 ω 3	n.d	0,22 $\pm$ 0,127	0,07 $\pm$ 0,003	0,09 $\pm$ 0,10	n.d
Σ PUFA	14,53	23,48	27,35	31,46	17,0
Outros	-----	1,13	2,42	2,5	0,1

SA1 - salmão-do-atlântico Iglo; SA2 - salmão-do-atlântico Pescanova; SA3 - salmão-do-atlântico Royal Green; SS1 - salmão selvagem rosado; SSK - salmão selvagem keta. Nota: n.d. significa não detetado; outros diz respeito a ácidos gordos identificados, mas muito próximo do limite de deteção, pelo que não foram contabilizados.

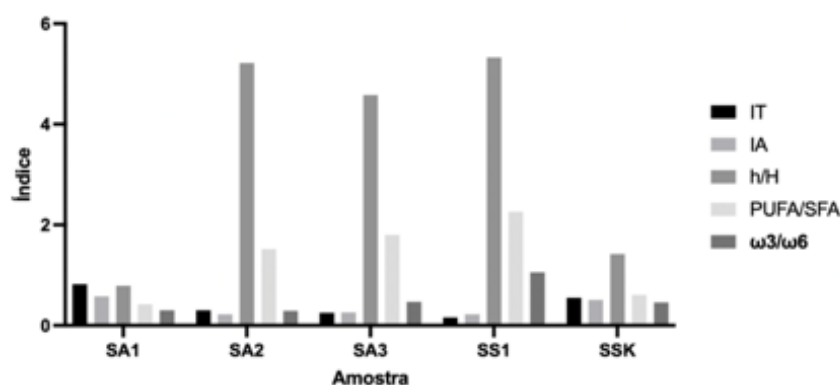


Figura 4. Índices lipídicos de saúde para as amostras de salmão de aquicultura (SA) e de salmão selvagem (SS). Índice de trombogenicidade (IT), índice de aterogenicidade (IA), e índices de PUFA/SFA, ω 3/ ω 6 e h/H. SA1 - salmão-do-atlântico Iglo; SA2 - salmão-do-atlântico Pescanova; SA3 - salmão-do-atlântico Royal Green; SS1 - salmão selvagem rosado; SSK - salmão selvagem keta.

OTIMIZAÇÃO DA RELAÇÃO SUBSTRATO: INÓCULO FECAL PARA IMPLEMENTAÇÃO DO MÉTODO AUTOMÁTICO DA PRODUÇÃO DE GÁS NA TESTAGEM DE COMPOSTOS ANTI-METANOGENÍCOS

Alexandra Oliveira ^{a, b}
Amélia Ramos ^{a, b}

^a Escola Superior Agrária de Coimbra, Bencanta, Instituto Politécnico de Coimbra, 3045-601 Coimbra, Portugal.

^b Centro de Estudos de Recursos Naturais Ambiente e Sociedade (CERNAS), Instituto Politécnico de Coimbra, Bencanta, 3045-601 Coimbra, Portugal.

Autor correspondente: Alexandra Oliveira, xana@esac.pt

RESUMO

A carne e o leite de animais ruminantes constituem uma importante fonte de nutrientes para a alimentação humana estimando-se um aumento do seu consumo nas próximas décadas. Os ruminantes convertem alimentos de reduzido interesse para o Homem em produtos com alto valor nutricional. Contudo, quando digerem os alimentos, 2 a 6% da energia ingerida perde-se, maioritariamente por eructação, sob a forma de metano, devido à atividade microbiana ruminal. O metano é um dos gases com efeito de estufa de origem antropogénica pelo que têm sido desenvolvidas estratégias de mitigação das emissões entéricas. A manipulação da dieta tem sido uma das estratégias usada. A investigação desta temática recorre a metodologias in vivo e in vitro. As técnicas de fermentação in vitro têm sido utilizadas como forma de avaliar o valor nutricional de alimentos e de triagem de compostos com potencial anti-metanogénico mas recorrem a líquido ruminal como fonte de inóculo microbiano, de obtenção algo complexa. Vários trabalhos têm testado outras fontes de inóculo (fezes de bovino, ovino e equino) que, apesar de se apresentarem como alternativas viáveis, têm sido pouco aplicadas.

Neste trabalho pretendeu-se otimizar a relação de inóculo fecal bovino, meio de incubação e substrato, com o objetivo de posteriormente implementar um sistema automático de produção de gás capaz de diferenciar o potencial metanogénico de dietas para ruminantes. Para tal foi utilizado o equipamento Ritter Biogas Batch Fermentation System type BBFS V4.X, consistindo em 18 unidades de fermentação (0,5L), com agitação, ligadas a MilliGascounters, medidores do gás produzido, recolhido em sacos individuais (5L) para posterior análise. O substrato, uma dieta de novilhas leiteiras (à base de feno-silagem de azevém, silagem de milho, alimento concentrado e farinha de milho) em duas doses (0,5 ou 1g para 100mL de mistura de fezes e meio), foi inoculado com 2 concentrações distintas de fezes de bovino (5,6 e 8,3g/100ml) e incubado em triplicado durante 24h. Nas condições testadas, verificou-se uma interação entre os dois fatores em estudo para os resultados da produção total de gás que indicam que optar por doses mais elevadas de substrato é mais adequado. Para além disso, a análise dos parâmetros do modelo de Gompertz, aponta para melhores resultados com doses mais altas de substrato e sugere uma melhoria da cinética fermentativa com a dose maior de inóculo microbiano, permitindo obter uma produção teórica máxima de gás mais elevada.

PALAVRAS-CHAVE

Método automático de produção de gás, metano, inóculo microbiano, fezes de bovino

INTRODUÇÃO

A carne e o leite de animais ruminantes constituem uma importante fonte de nutrientes para a alimentação humana. Estima-se um aumento do seu consumo nas próximas décadas associado ao crescimento da população mundial (Revell, 2015). A produção pecuária constitui a forma mais proveitosa de reciclar resíduos ou co-produtos da indústria agro-alimentar Humana, como recentes estudos científicos vêm atestando (Van Zanten et al., 2019). Os ruminantes, em particular, têm aqui especial relevo pelo seu carácter conversor de alimentos de baixo valor nutricional para o Homem em produtos com alto valor nutricional, e pelos serviços adicionais nos ecossistemas que muitos dos seus sistemas de produção desempenham (Smith et al., 2022; Thompson et al., 2023). Contudo, quando os ruminantes digerem os alimentos, 2 a 6% da energia ingerida perde-se sob a forma de metano. Isto deve-se à atividade dos microrganismos que povoam o rúmen destes animais. O metano perde-se maioritariamente por eructação para a atmosfera, representando uma perda de eficiência energética (Beauchemin et al., 2022) (figura 1).

O metano é um dos gases com efeito de estufa (GEE) de origem antropogénica pelo que ao longo das últimas décadas foram desenvolvidas pela comunidade científica diversas estratégias de mitigação das emissões entéricas que levaram, simultaneamente, a aumentos na eficiência energética e produtiva dos sistemas de produção animal (Beauchemin et al., 2022). A manipulação da dieta é uma das estratégias que pode contribuir para reduzir as emissões. A investigação desta temática recorre a metodologias *in vivo* e *in vitro*. As técnicas de fermentação *in vitro* têm sido utilizadas como forma de avaliar o valor nutricional de alimentos e de triagem de compostos com potencial anti-metanogénico (Yáñez-Ruiz et al., 2016) mas recorrem a líquido ruminal como fonte de inóculo microbiano, de obtenção algo complexa. Vários trabalhos têm testado outras fontes de inóculo (fezes de bovino, ovino e equino) (Gonçalves & Borba, 1996; Mauricio et al., 2001; Yáñez-Ruiz et al., 2016) que, apesar de se apresentarem como alternativas viáveis, têm sido pouco aplicadas.

Neste trabalho pretendeu-se otimizar a relação de inóculo fecal bovino, meio e substrato, com o objetivo de implementar um sistema automático de produção de gás capaz de diferenciar o potencial metanogénico de dietas para ruminantes em trabalhos posteriores.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho decorreu no Laboratório ValoREN, na Escola Superior Agrária de Coimbra – Instituto Politécnico de Coimbra (ESAC-IPC) durante os meses de outubro a dezembro de 2024. Para tal foi utilizado o equipamento Ritter Biogas Batch Fermentation System type BBFS V4.X, consistindo em 18 unidades de fermentação (0,5L), com agitação, ligadas a MilliGascounters, medidores do gás produzido, recolhido em sacos individuais (5L) para posterior análise (figura 2a).

O substrato usado consistiu numa dieta de novilhas leiteiras, à base de feno-silagem de azevém, silagem de milho, alimento concentrado comercial e farinha de milho (figura 2b; tabela 1), inoculada em duas doses (0,5 ou 1g para 100mL de meio inoculado), com 2 concentrações distintas de fezes de bovino (5,6 e 8,3g/100ml de meio inoculado). As fezes foram recolhidas em três novilhas da raça Holstein, alimentadas com a dieta de novilhas leiteiras, pertencentes à Quinta da Cioga, S. João do Campo, Coimbra.

A amostra de dieta foi seca (65°C em estufa com ventilação de ar até peso constante) e moída em moído de martelos Retsch (crivo de 1mm). A caracterização analítica (tabela 1) consistiu nos parâmetros de matéria seca (MS), cinza bruta (CB), proteína bruta (PB), fibra insolúvel em detergente neutro (NDF) e fibra insolúvel em detergente ácido (ADF), analisados em triplicado por metodologia de referência (AOAC, 1997; Van Soest, 1967).

O meio de incubação foi preparado segundo Davies et al. (2000) e seguindo as recomendações de Yáñez-Ruiz et al. (2016). Resumidamente, no dia da incubação foi preparado a quantidade necessária do meio de incubação respeitando as seguintes proporções:

- 2g de triptona,
- 500mL de H₂O,
- 200mL de solução tampão (35g NaHCO₃ e 4g NH₄HCO₃, em balão volumétrico de 1L),
- 200mL de solução macromineral (9,45g Na₂HPO₄, 6,2g KH₂PO₄, 0,6g MgSO₄.7H₂O, em balão volumétrico de 1L),
- 0,1mL de solução micromineral (13,2g CaCl₂.2H₂O, 10g MnCl₂.4H₂O, 1g CoCl₂.6H₂O, 8g FeCl₃.6H₂O, em balão volumétrico de 100mL) e
- 1mL de solução de resazurina (100mg resazurina, em balão volumétrico de 100mL).

Esta mistura foi aquecida em banho-maria a 39°C e borbulhada com CO₂ até adquirir uma coloração púrpura, após o que foram adicionados 40mL de solução redutora (0,625g L-cisteína HCl, 4mL NaOH 1N e 0,625g Na₂S.9H₂O, em balão volumétrico de 50mL; Davies et al., 2000). O meio assim preparado foi borbulhado com CO₂ até ficar incolor.

Para a preparação do inóculo microbiano foram utilizadas fezes de três novilhas leiteiras alimentadas com a dieta utilizada como substrato (tabela 1; figura 2b). As fezes foram recolhidas diretamente dos animais e mantidas a 39°C em banho-maria durante o transporte para a ESAC. O inóculo microbiano foi preparado misturando as fezes à proporção de 20 ou 30g por 120mL de solução tampão (Aiple et al., 1992) com a ajuda de um liquidificador durante 30 segundos (figura 2c), filtrado por duas camadas de gaze esterilizada, borbulhado com CO₂ e mantido em banho-maria a 39°C.

Este inóculo microbiano foi adicionado ao meio numa proporção de 1:2, de acordo com o revisto por Yáñez-Ruiz et al. (2016), com volume final de 360mL de meio inoculado por fermentador. Assim, em cada fermentador foi colocado a amostra da dieta de novilhas leiteiras (0, 1,8 ou 3,6g), 240mL de meio e 120mL de inóculo microbiano preparado com fezes de bovinos em duas proporções distintas (20g ou 30g) – tabela 2.

Os fermentadores foram fechados e o espaço livre em cada um foi preenchido com CO₂. Os fermentadores foram distribuídos aleatoriamente pelos 18 lugares existentes na estufa com circulação forçada de ar mantida a 39°C durante as 24 horas de incubação (figura 2a). As incubações foram realizadas em triplicado. Entre a recolha de fezes e o início da incubação decorreram 1h20m.

A produção de gás foi registada a intervalos de 15 minutos ao longo de 24 horas. A cinética da produção de gás ao longo do tempo foi determinada de acordo com a função de Gompertz:

$$y = a \cdot \exp(-b \cdot \exp(-c \cdot t))$$

onde, y representa a produção de gás (em mL/g de MS incubada) acumulada no tempo t, a é a produção potencial de gás (em mL), b a taxa de produção de gás do material potencialmente degradável (em %/h), c fator constante de eficiência microbiana e t é o tempo de incubação (em h).

Os parâmetros do modelo foram estimados por regressão não linear e os parâmetros da cinética da produção de gás, bem como a produção total de gás, analisados por análise de variância utilizando o procedimento GLM do SAS (SAS, 2003).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No gráfico 1 apresenta-se a produção total de gás às 24 horas (em mL/g de MS incubada) em função da dose de substrato incubada e da dose de fezes utilizada na preparação do inóculo microbiano. Os brancos (incubações sem substrato e com duas doses diferentes de inóculo microbiano; tabela 2) produziram, em média, 32,47 (±4,24) mL de gás às 24 horas sem que se tenham observado diferenças significativas (p>0,05) entre as duas doses de fezes de bovino utilizadas.

Da análise dos resultados obtidos é possível verificar uma interação significativa ($p < 0,05$) entre a dose de substrato e a dose de inóculo microbiano (gráfico 1). Assim, o aumento da quantidade de inóculo microbiano resultou num aumento significativo ($p < 0,05$) da produção total de gás quando foi incubado 1,8g de substrato (de B-B' para B-A', 77,66 para 86,76mL, respetivamente). Também, El-Meadaway et al. (1998) observaram um aumento da produção total de gás com o aumento da quantidade de fezes frescas inoculadas. Contudo, não se observou o mesmo efeito significativo ($p > 0,05$) com a dose mais alta de substrato (A, 108,13mL). De acordo com o revisto por Mould et al. (2005) o efeito do aumento da dose de inóculo de origem fecal apresenta resultados inconsistentes.

Apesar de a utilização de fontes alternativas ao inóculo ruminal apresentar algumas vantagens, no que se refere às fezes de ruminantes, frequentemente são referidas produções mais baixas de gás (Cone et al., 2002; Can et al., 2009) normalmente associado à menor atividade metabólica dos microrganismos fecais (Mould et al., 2005; Can et al., 2009), não sendo conhecidas formas de a aumentar (Rymer et al., 2005). Esta característica, aparentemente vantajosa ao tornar o inóculo microbiano fecal menos sujeito a variações, em resultado de inúmeros fatores como acontece com o inóculo ruminal, pode tornar-se numa desvantagem quando a atividade específica de determinado grupo de microrganismos está em falta, como é o caso dos protozoários (Mould et al., 2005).

Uma vez que este trabalho teve como objetivo otimizar a relação de inóculo fecal bovino, meio e substrato, para implementação de um sistema automático de produção de gás capaz de diferenciar o potencial metanogénico de dietas para ruminantes, e tendo em atenção os resultados apresentados, a opção por doses mais elevadas de substrato apresenta-se como a mais adequada.

Na tabela 3 apresentam-se os parâmetros do modelo de Gompertz, tendo em atenção a interação significativa ($p < 0,05$) observada entre a dose de substrato (A ou B) e a dose de inóculo fecal (A' ou B').

A análise da tabela 3 permite verificar que a dose mais alta de substrato inoculada com a dose mais alta de fezes de bovino (A-A') resultou numa produção teórica máxima de gás (parâmetro a) mais elevada comparativamente às restantes combinações, sendo evidente o aumento significativo ($p < 0,05$) da produção teórica máxima à medida que aumenta a dose de substrato e a dose de inóculo microbiano. Por outro lado, no que se refere à taxa de produção de gás do material potencialmente degradável (parâmetro b, em %/h), os melhores resultados foram encontrados com a dose mais baixa de substrato e a dose mais alta de inóculo microbiano (B-A') o que pode ser resultado de uma relação mais adequada entre substrato e inóculo microbiano como sugerido por (Can et al., 2009).

No gráfico 2 apresentam-se as curvas resultantes da aplicação dos parâmetros apresentados na tabela anterior bem como os valores observados com cada um dos tratamentos. A análise dos parâmetros do modelo de Gompertz, aponta também para melhores resultados com doses mais altas de substrato e sugere uma melhoria da cinética fermentativa com a dose maior de inóculo microbiano.

Não possuímos resultados do mesmo substrato inoculado de forma clássica com conteúdo ruminal, pelo que não nos é possível comparar resultados. Contudo, o ajustamento ao modelo de Gompertz e a sensibilidade do modelo aos fatores em estudo, parece estar de acordo com o trabalho de outros autores que sugerem que, apesar de resultar sistematicamente em produções de gás mais baixas, a sua evolução ao longo do tempo é semelhante com ambos os inóculos, permitindo boas correlações e fortes relações lineares entre as produções de gás com inóculo ruminal e fecal (Fon and Nsahai, 2012; Rippstein et al., 2024).

Para uma utilização mais alargada e fiável de fontes alternativas de inóculo microbiano é desejável a definição e utilização de protocolos padrão quer para a obtenção quer para a preparação das fezes (Mould et al., 2005; Rippstein et al., 2024).

CONCLUSÃO

Este trabalho preliminar procurou otimizar a relação inóculo fecal bovino, meio e substrato, com vista à implementação de um sistema automático de produção de gás capaz de diferenciar o potencial metanogénico de dietas para ruminantes em trabalhos posteriores. Nas condições testadas, os resultados indicam que optar por doses mais elevadas de substrato é mais adequado. A análise dos parâmetros do modelo de Gompertz, aponta para melhores resultados com doses mais altas de substrato e sugere uma melhoria da cinética fermentativa com a dose maior de inóculo microbiano.

AGRADECIMENTOS

Ao Eng.º Pedro Pimenta e à Eng.ª Manuela Pimenta da Quinta da Cioga, São João do Campo, Coimbra, pela disponibilidade em fornecer a amostra da dieta das novilhas leiteiras e a recolha de fezes nas novilhas.

FINANCIAMENTO

Trabalho realizado no âmbito do Projeto Carb2Soil: Reforçar a Complementaridade entre agricultura e pecuária para aumentar a fertilidade dos solos e a sua capacidade de sequestro de carbono” - linha de ação 3.1 – mitigação do metano entérico em ruminantes através da alimentação, do IPC - apoio financeiro do IFAP através do Programa PRR, no âmbito do IIA-IPC.

REFERÊNCIAS

Aiple, K P, Steingass, H, and Menke, K H (1992). Suitability of a buffered faecal suspension as the inoculum in the Hohenheim gas test. *Journal of Physiology and Animal Nutrition*, 67: 57–66.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists, 1997). *Official Methods of Analysis*. 16th edition, 3rd revision, vol I and II.

Beauchemin, K A, Ungerfeld, E M, Abdalla, A L, Alvarez, C, Arndt, C, Becquet, P, Benchaar, C, Berndt, A, Mauricio, R M, McAllister, T A, Oyhantcabal, W, Salami, S A, Shalloo, L, Sun, Y, Tricarico, J, Uwizeye, A, De Camillis, C, Bernoux, M, Robinson, T, and Kebreab, E. (2022). Invited review: Current enteric methane mitigation options. *Journal of Dairy Science*, 105 (2): 9297-9326. DOI:10.3168/jds.2022-22091.

Can, A, Hummel, J, Mobashar, M, Boeser, U and Südekum, K-H (2009). Comparison of Sheep Ruminal Fluid with Sheep and Horse Faeces as Inoculum for In Vitro Gas Production Measurements, *Journal of Applied Animal Research*, 35(2): 143-148, DOI:10.1080/09712119.2009.9707004

Cone, J W, van Gelder, A H, and Bachmann, H (2002). Influence of inoculum source on gas production profiles. *Animal Feed Science and Technology*, 99(1): 221-231. doi:https://doi.org/10.1016/S0377-8401(02)00073-1

Davies, Z S, Mason, D, Brooks, A E, Griffith, G W, Merry, R J and Theodorou, M K. (2000). An automated system for measuring gas production from forages inoculated with rumen fluid and its use in determining the effect of enzymes on grass silage. *Animal Feed Science and Technology*, 83 (3–4): 205-221. https://doi.org/10.1016/S0377-8401(99)00138-8.

El-Meadaway A, Mir Z, Mir P S, Zaman M S, and Yanke L J (1998). Relative efficacy of inocula from rumen fluid or faecal solution for determining in vitro digestibility and gas production. *Canadian Journal of Animal Science*, 78: 673-679.

Fon, F N and Nsahlai, I V. (2012). Laboratory cultured faecal inoculum as a substitute for fresh rumen inoculum for in vitro feed evaluation. *African Journal of Agriculture Research*. 7: 6595–6604. doi: 10.5897/AJAR12.1634

Gonçalves, L M, and Borba, A E S (1996). Study of gas production capacity by three sources of inocula. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 127: 511-515

Mauricio, R M, Owen, E, Mould, F L, Givens, I, Theodorou, M K, France, J, Davies, D R, Dhanoa, M S (2001). Comparison of bovine rumen liquor and bovine faeces as inoculum for an in vitro gas production technique for evaluating forages. *Animal Feed Science and Technology*, 89(1): 33-48. doi:[https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(00\)00234-0](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(00)00234-0)

Mould, F L, Kliem, K E, Morgan, R, and Mauricio, R M (2005). In vitro microbial inoculum: A review of its function and properties. *Animal Feed Science and Technology*, 123-124: 31-50. doi: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.04.028>

Revell, B (2015). Meat and Milk Consumption 2050: The Potential for Demand-side Solutions to Greenhouse Gas Emissions Reduction. *EuroChoices*, 14 (3): 4-11. DOI: 10.1111/1746-692X.12103

Rippstein, L, Titze, N, Wild, K J and Rodehutschord, M (2024). A systematic study of sheep faeces to be used as an alternative inoculum source in the Hohenheim gas test, *Archives of Animal Nutrition*, 78 (3): 298-313. DOI:10.1080/1745039X.2024.2417444

Rymer, C, Huntington, J A, Williams, B A, and Givens, D I (2005). In vitro cumulative gas production techniques: History, methodological considerations and challenges. *Animal Feed Science and Technology*, 123-124: 9-30. doi: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.04.055>

SAS (2003). Procedures Guide for Personal Computers, Version 9.1 Edition

Smith PE, Kelly A K, Kenny D A and Waters S M (2022). Enteric methane research and mitigation strategies for pastoral-based beef cattle production systems. *Frontiers in Veterinary Science*, 9: 958340. doi: 10.3389/fvets.2022.958340

Thompson, L, Rowntree, J, Windisch, W, Waters, Sinéad M, Shalloo, L, and Manzano, P (2023). Ecosystem management using livestock: embracing diversity and respecting ecological principles. *Animal Frontiers*, 13(2): 28-34. doi:10.1093/af/vfac094

Van Soest, P J, (1967). Development of a Comprehensive System of Feed Analyses and its Application to Forages. *Journal of Animal Science*, 26(1): 119-128, <https://doi.org/10.2527/jas1967.261119x>

Van Zanten, H H E, Van Ittersum, M K, and De Boer, I J M. (2019). The role of farm animals in a circular food system. *Global Food Security*, 21: 18-22. doi:<https://doi.org/10.1016/j.gfs.2019.06.003>

Yáñez-Ruiz, D R, Bannink, A, Dijkstra, J, Kebreab, E, Morgavi, D P, O’Kiely, P, Reynolds, C K, Schwarm, A, Shingfield, K J, Yu, Z, and Hristov, A N (2016). Design, implementation and interpretation of in vitro batch culture experiments to assess enteric methane mitigation in ruminants - a review. *Animal Feed Science and Technology*, 216: 1-18. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.03.016>.

LISTA DE LEGENDAS DE FIGURAS

- Figura 1 – Esquema simplificado do processo de produção de metano no rúmen.
- Figura 2a – Sistema de produção de gás automático (Ritter BBFS-18 V4.x): fermentadores ligados a milicounters e a sacos coletores do gás produzido.
- Figura 2b – Amostra da dieta de novilhas leiteiras, usada como substrato, após secagem (65°C).
- Figura 2c – Detalhe da preparação do inóculo microbiano - filtração da mistura fecal após sua homogeneização e diluição com solução tampão.

LISTA DE LEGENDAS DE TABELAS

- Tabela 1 – Composição químico-bromatológica da dieta das novilhas leiteiras.
- Tabela 2 – Identificação dos grupos experimentais.
- Tabela 3 – Parâmetros do modelo de Gompertz (médias e desvio padrão) em função da interação dose de substrato * dose de inóculo microbiano.

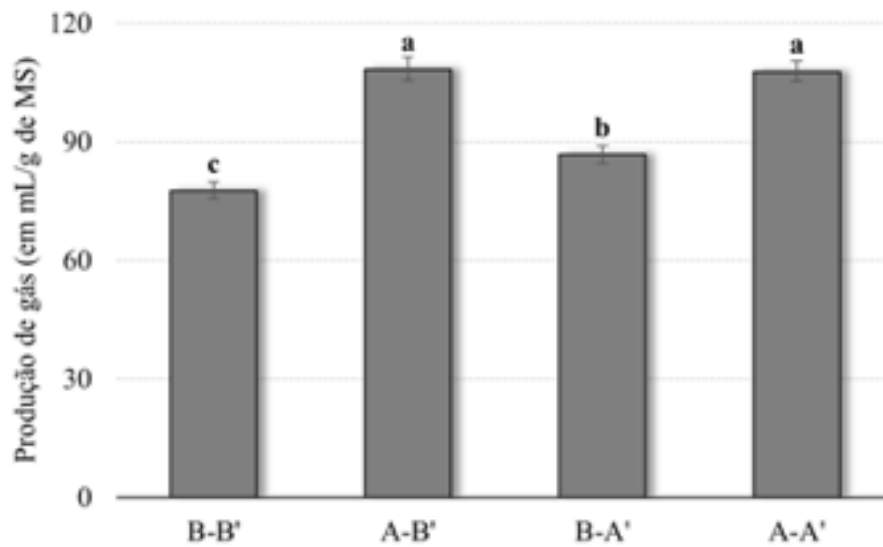
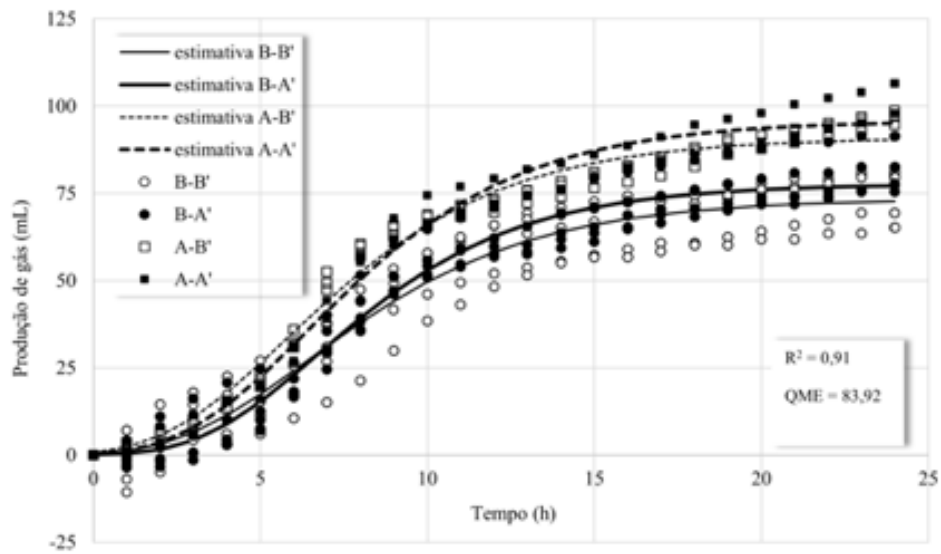
LISTA DE LEGENDAS DE GRÁFICOS

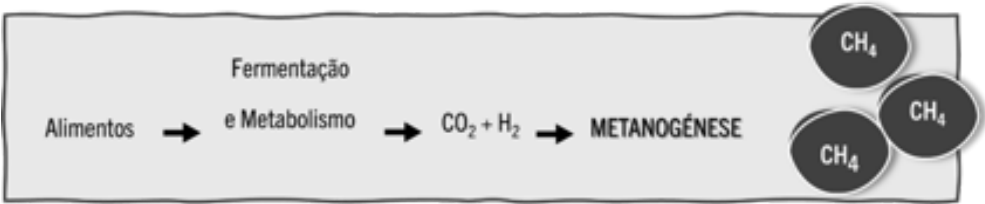
- Gráfico 1 – Médias da produção total de gás (em mL/g de MS incubada) e respectivos erros padrão ($\pm$ EP) em função da interação dose de substrato * dose de inóculo microbiano.
- Gráfico 2 – Evolução da produção de gás (em mL/g de MS incubada) em função da interação dose de substrato inoculado * dose fezes utilizada na preparação do inóculo microbiano.

	5,6g de fezes/100mL meio inoculado	8,3g de fezes/100mL meio inoculado
0g substrato/100mL meio inoculado	0-B'	0-A'
0,5g substrato/100mL meio inoculado	B-B'	B-A'
1g substrato/100mL meio inoculado	A-B'	A-A'

Nota – A e B – nível alto e baixo, respetivamente, de substrato; A' e B' – nível alto e baixo, respetivamente, de fezes.

MS (em %)	CB (em % da MS)	PB (em % da MS)	NDF (em % da MS)	ADF (em % da MS)
52,20	6,29	8,63	54,05	28,86





Parâmetros do modelo de Gompertz				DP		
Tratamento	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>C</i>
B-B'	73,496 ^d	5,287 ^c	0,260 ^d	3,18E ⁻¹²	3,64E ⁻¹³	1,68E ⁻¹⁴
B-A'	77,696 ^c	6,927 ^a	0,290 ^a	3,44E ⁻¹²	4,46E ⁻¹³	2,53E ⁻¹⁴
A-B'	91,022 ^b	4,804 ^d	0,270 ^c	3,39E ⁻¹²	9,63E ⁻¹⁴	9,12E ⁻¹⁵
A-A'	95,962 ^a	5,679 ^b	0,272 ^b	2,24E ⁻¹²	1,37E ⁻¹³	5,22E ⁻¹⁵

Nota 1 - *a*, *b* e *c* – parâmetros da função de Gompertz: $y = a \cdot \exp(-b \cdot \exp(-c \cdot t))$ onde *a* é a produção potencial de gás (em mL), *b* a taxa de produção de gás do material potencialmente degradável (em %/h), *c* fator constante de eficiência microbiana e *t* o tempo de incubação; DP – desvio padrão.

Nota 2 - Índices diferentes na mesma coluna indicam valores estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).

IDENTIFICACIÓN DE DíPTEROS DE INTERÉS SANITARIO EN CENTROS ECUESTRES

José Ángel Hernández Malagón¹,
Inês Abreu Ramos¹,
Miguel Baena Laseca¹,
Júlia dos Santos Fonseca^{1,2},
Rodrigo Muíño Otero³,
María Sol Arias Vázquez¹,
Rita Sánchez-Andrade Fernández¹,
Cristiana Filipa Cazapal Monteiro¹.

¹Grupo de Investigación COPAR (GI-2120; USC) - Departamento de Patología Animal, Facultad de Veterinaria, Universidade de Santiago de Compostela. 27002-Lugo (España).

²Universidade de Viçosa, Minas Gerais (Brasil).

³Grupo de Investigación Metabolismo y Patología Animal (GI-1705) - Departamento de Patología Animal, Facultad de Veterinaria, Universidade de Santiago de Compostela. 27002-Lugo (España).

RESUMEN

Los centros ecuestres albergan animales de alto valor económico, que representan una importante fuente de rendimiento para sus propietarios, como caballos de deporte, con fines reproductivos o entretenimiento. En estos centros, los caballos se enfrentan a ciertos riesgos que pueden mermar su condición sanitaria, destacando la presencia de dípteros que ocasionan molestias y graves procesos alérgicos, además de transmitirles diversas enfermedades. Con objeto de conocer los distintos dípteros presentes en centros hípicas del noroeste (NO) de España, entre julio y noviembre de 2023 se colocaron trampas del tipo “Centers for Diseases Control and Prevention” de luz ultravioleta (CDC-UV) de manera periódica en 15 hípicas de Galicia y Castilla y León, que se dejaban funcionando durante 48 h ininterrumpidas. A continuación, se recogían y se transportaban a la Facultad de Veterinaria de Lugo, donde se procedía a su caracterización mediante una clave taxonómica. De 77 muestreos realizados, 57 resultaron positivos (74%) y 20 negativos (26%). Los especímenes encontrados pertenecían a las familias Culicidae, Ceratopogonidae y Muscidae. De la familia Culicidae se obtuvieron 334 ejemplares de 4 géneros distintos, Anopheles (8%), Culex (52%), Culiseta (39%) y Aedes/Ochlerotatus (1%). También se identificaron Culicoides y moscas del género Stomoxys y Musca, pero se registraron únicamente como presencia o ausencia. En todos los centros ecuestres visitados se detectaron culícidos del género Culex, mientras que el género Anopheles apareció en el 60% de los centros y el género Aedes en el 13%, todos localizados en la provincia de León. La familia Ceratopogonidae se identificó en el 33% de los centros y en ambas comunidades autónomas. Finalmente, se detectó *S. calcitrans* en el 13% de los centros y únicamente en Galicia. Se concluye que los centros ecuestres ofrecen un ambiente idóneo para la cría de ciertos dípteros, dado que existe agua estancada, esencial para la cría de culícidos, y abundante materia orgánica, necesaria para el desarrollo de Culicoides y moscas. Neste trabalho pretendeu-se otimizar a relação de inóculo

PALAVRAS-CHAVE

Dípteros, Culex pipiens, Anopheles, Culicoides, Caballos

INTRODUCCIÓN

La relación de los humanos con los caballos ha cambiado a lo largo de la historia, empezando por posibilitar el transporte y facilitar las labores de guerra hasta nuestros días, que se utilizan para deporte, competiciones, actividades de entretenimiento e incluso en terapias para niños y adultos con disfuncionalidad cognitiva o motora (equinoterapia) (Peters et al., 2022). Los centros ecuestres albergan animales de alto valor económico, que representan una fuente de ingreso para sus propietarios (Liljenstolpe, 2009). Los beneficios de esta relación tan cercana son numerosos, pero los caballos se enfrentan también a diversos riesgos que pueden mermar su condición sanitaria, destacando entre ellos la presencia de dípteros hematófagos que pueden ocasionar graves molestias a los animales con sus picaduras y mordeduras (Karasek et al., 2020) aunque el mayor riesgo de este grupo de insectos es su capacidad para transmitir diversos patógenos, ya que son vectores de diversas enfermedades parasitarias, víricas y bacterianas (Boukraa et al., 2016).

En el noroeste de España se han descrito diversas especies de dípteros como culícidos, moscas y culicoides, que se alimentan de sangre de hospedadores mamíferos, entre los que se encuentran el hombre y el caballo (Polina et al., 2024).

La familia Culicidae, a la que pertenecen los géneros *Culex*, *Anopheles* y *Aedes* tiene una gran plasticidad, capaces de adaptarse a distintos tipos de hábitats y cuyas preferencias ecológicas van a dictar su distribución geográfica, estando presentes en todo el mundo a excepción de regiones permanentemente congeladas. Las hembras de esta familia necesitan ingerir sangre para la maduración de los huevos y la oviposición, que realizan en aguas estancadas ya que todas sus fases larvianas son estrictamente acuáticas (Becker et al., 2020). Pueden alimentarse de diversos hospedadores incluido el hombre, pero teniendo en cuenta la elección de hospedadores a la hora de alimentarse, se describen especies ornitofílicas (prefieren alimentarse de aves), mamofílicas (preferencia por mamíferos) y antropofílicas (preferencia por alimentarse de sangre humana) (Silva, 2021). Algunas especies, sin embargo, cuando no disponen de su hospedador preferente, pueden alimentarse de otros, lo que favorece la transmisión de patógenos entre especies, actuando muchas especies de culícidos como vector puente (Medlock et al., 2014). Esta familia tiene una gran importancia sanitaria pues son vectores de enfermedades que afectan a animales y personas, como la malaria o la dirofilariosis y arbovirus, entre ellos el West Nile Virus (WNV), endémico en España y el virus USUTU, entre otros (Silva, 2021). De las 63 especies de culícidos identificados en España, 13 se han detectado en Galicia (Martínez-Barciela et al., 2021).

Los culicoides (familia Ceratopogonidae) son pequeños insectos hematófagos (1,5-3mm) cuyas hembras también requieren la ingesta de sangre para poder madurar y depositar sus huevos (Kampen y Werner, 2023). Al contrario de la familia Culicidae, su reproducción no requiere de aguas estancadas, pero sí de alta humedad y de abundante materia orgánica (Tagliapietra et al., 2019; Polina et al., 2024). Se trata en su mayoría de individuos de hábitos crepusculares, y suelen detectarse cerca de granjas e instalaciones animales (Carpenter et al., 2013). Estos dípteros tienen un gran interés en salud animal por su papel de vector de distintos virus como el virus de la lengua azul, el virus de la Peste Equina Africana, el virus de la Enfermedad Hemorrágica epizootica y el virus Schmallenberg, así como de parásitos protozoos como *Haemoproteus* sp. o nematodos como *Onchocerca* sp.. En équidos, se ha descrito una dermatitis muy pruriginosa por alergia a los antígenos de su saliva, que suelen ser estacional al coincidir con el periodo de vuelo de los adultos (Barbet, 2014). En Galicia se han descrito 33 especies de Culicoides, de los cuales 15 son potenciales vectores de distintos patógenos de interés veterinario y médico, destacándose *Culicoides obsoletus* y *C. pulicaris* (Lucientes et al., 2008; Polina et al., 2024).

Las moscas hematófagas, pertenecientes a la familia Muscidae, se alimentan de sangre y secreciones de heridas, causando problemas dermatológicos en animales expuestos. De esta familia destacan la “mosca de los cuernos” *Haematobia irritans* y la “mosca de los establos” *Stomoxys calcitrans*, ambas responsables de graves pérdidas económicas en animales de renta y équidos al afectar su bienestar, su salud y su productividad (Reissert-Oppermann et al., 2019) debido a la acción directa de sus picaduras, que pueden inducir alergias y reacciones tóxicas pero también por ser vectores mecánicos de diversos patógenos como *Trypanosoma evansi* y el virus de la anemia infecciosa equina, adquiriendo por ello importancia sanitaria (Mullen y Durden, 2018; González et al., 2022b).

Estos dípteros representan un riesgo para los individuos en centros ecuestres, que se extiende también a los usuarios y trabajadores, ya que muchos de estos patógenos provocan zoonosis. Las medidas de control se basan en evitar sus picaduras mediante utilización de repelentes sobre los hospedadores, así como en evitar su entrada en las instalaciones mediante la colocación de mosquiteras en puertas y ventanas (Onyango et al., 2020). Se han descrito diversas especies de dípteros en distintos tipos de ambientes del noroeste de España, pero ninguno de estos estudios contempla centros ecuestres, donde caballos y humanos están en estrecho contacto. El objetivo de este trabajo fue caracterizar la diversidad de la fauna de dípteros en distintos centros ecuestres de esta región, para valorar el riesgo sanitario que implica su presencia para animales y personas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se seleccionaron 12 centros ecuestres en Galicia, en las provincias de Lugo y Ourense, y 3 en Castilla y León, en las provincias de León y Zamora, elegidas por su localización limítrofe con Galicia. Los 15 centros se eligieron mediante consulta telefónica y la aceptación de los propietarios. En la Figura 1 se muestran las localizaciones de los 15 centros que han participado en el estudio, que se llevó a cabo entre los meses de agosto y noviembre de 2023.

Los muestreos se llevaron a cabo con la colocación de trampas del tipo miniatura CDC-UV, modelo G852 (Entomopraxis®). Se trata de un dispositivo portátil de luz negra (UV) de corriente descendente en miniatura, similar a la trampa de luz en miniatura de “Centers for Diseases Control and Prevention” de luz ultravioleta (CDC-UV), aunque en este caso emplean un tubo de luz negro-azul que proporciona una radiación cercana al rango UV (aprox. 320-420 nm), permitiendo la captura de distintas especies de dípteros adultos.

Para cada muestreo, se colocaron las trampas a 1,5 metros de altura del suelo, cerca de las cuadras de los animales, en el interior de estos centros o bien en la entrada de las instalaciones. Se dejaban funcionando 24 h de manera continua desde el anochecer hasta la mañana siguiente, cuando se recogían.

Una vez apagada la trampa, los depósitos de recolección se trasladaban al laboratorio de COPAR, en la Facultad de Veterinaria de Lugo (USC) y se congelaban a -20°C hasta su procesamiento, que consistió en realizar primero la separación de los géneros hematófagos, y posteriormente su identificación mediante clave taxonómica, utilizando para todo ello una lupa (Leica EZ4D).

MATERIAL Y MÉTODOS

Dípteros capturados

En los 15 centros ecuestres muestreados en las provincias de Lugo y Ourense (Galicia) y León y Zamora (Castilla y León) se realizaron 77 muestreos con trampas CDC-UV, de los cuales 57 resultaron positivos (74%) y 20 negativos (26%).

Los especímenes encontrados pertenecían a las familias Culicidae, Ceratopogonidae y Muscidae. De la familia Culicidae se recogieron 334 ejemplares de 4 géneros distintos: Anopheles (28), Culex (173), Aedes/Ochlerotatus (4) y Culiseta (129) (Tabla 1).

El género predominante fue Culex, representando aproximadamente el 52% de las capturas. Se identificaron 3 especies distintas, la más prevalente resultó Cx. pipiens s.l. (59% del género y 30% del total de capturas), seguida por Cx. theileri (10% del género y 5% del total) y Cx. perexiguus/univittatus (<1% del género). En el 30% restante de este género no se pudo llegar a la especie debido a la pérdida de partes corporales y/o características morfológicas que permiten su identificación.

El siguiente género más abundante fue Culiseta, del cual se identificaron dos especies, Cs. annulata (67%) y Cs. longiareolata (33%).

De los 28 ejemplares del género *Anopheles* se identificaron *An. maculipennis* (50% del género y el 4% del total de capturas), siendo la especie más abundante de este género; *An. claviger/petragnani* (25% del género y 2% del total) y *An. plumbeus*, con apenas dos ejemplares identificados (7% del género y menos del 1% del total). Al igual que ocurrió con algunos ejemplares del género *Culex*, no se pudo identificar la especie de 5 individuos de este género debido al mal estado de los ejemplares cuando se vaciaron los cestillos de recogida.

Finalmente, en la familia Culicidae se encontraron 3 ejemplares adultos de *Aedes vexans* y 1 de *Ochlerotatus leucomelas*, todos ellos en municipios de la provincia de León, aunque muy cercanos al límite con Galicia.

Del género Culicoides se identificaron 2 especies, *C. obsoletus* y *C. punctatus*, ambas descritas tanto en Galicia como en Castilla y León.

Todos los ejemplares de la familia Muscidae fueron identificados como *Stomoxys calcitrans* y únicamente se detectaron 6 ejemplares en dos centros ecuestres de Galicia.

Teniendo en cuenta la localización de las capturas, el 85,7% se realizaron en Galicia (66/77 muestreos) y el 14,3% (11/77) en Castilla y León.

Las especies *Ae. vexans* y *Oc. leucomelas* únicamente se capturaron en la provincia de León.

Resultados por centros

En todos los centros ecuestres que participaron en el estudio se detectaron culícidos del género *Culex*, mientras que el género *Anopheles* apareció en el 60% de los centros y el género *Aedes* únicamente en el 13% de los centros, todos localizados en la provincia de León (Tabla 2).

La familia Ceratopogonidae se identificó en el 33% de los centros y en ambas comunidades autónomas. Finalmente, se detectó *S. calcitrans* en el 13% de los centros y únicamente en Galicia.

DISCUSIÓN

La presencia de dípteros hematófagos en centros ecuestres supone un riesgo para los animales y las personas que los frecuentan. Las picaduras ocasionan por sí solas molestias graves debido a la reacción inflamatoria provocada por la saliva del insecto, que inyecta sustancias analgésicas y anticoagulantes durante la alimentación sobre el hospedador (Kampen y Werner, 2023). Sin embargo, este grupo de insectos hematófagos son transmisores de diversas enfermedades que afectan a équidos, pero también a los seres humanos (González et al., 2022), por lo que su presencia en este tipo de centros debe ser vigilada, al tener lugar una presencia continua de caballos y humanos (Boukraa et al., 2016).

En todos los centros que participaron en este estudio se identificaron ejemplares pertenecientes a la familia Culicidae, como previamente descrito en otros centros ecuestres de Bélgica por Boukraa et al. (2016), lo que parece indicar/confirmar la idoneidad de este tipo de instalaciones para la manutención de su ciclo biológico, en los que cohabitan de manera continuada posibles hospedadores como lo son los caballos y los humanos. Las hembras de esta familia, comúnmente conocidos como mosquitos, necesitan alimentarse de sangre para la maduración de sus huevos, que posteriormente depositaran sobre la superficie de aguas estancadas (Becker et al., 2020), que se pueden encontrar frecuentemente en este tipo de instalaciones hípias. Los cubos y otras herramientas de uso rutinario, así como macetas decorativas pueden servir como zona de cría, lo que permite el establecimiento de distintas especies de mosquitos.

El género predominante ha sido *Culex*, el más prevalente y ampliamente distribuido en Galicia (Silva, 2021), resultando *Culex pipiens* s.l. la especie más frecuente, lo que concuerda con estudios previos en la misma región (Bueno-Marí et al., 2012; Polina et al., 2021; Martínez-Barciela et al., 2023) al igual que en granjas equinas de Bélgica (Boukraa et al., 2016). Esta especie, considerada una especie doméstica o peridoméstica, tiene un amplio rango de hábitats de cría, artificiales, naturales o semi-naturales (Silva, 2021) y suele encontrarse en ambientes urbanos, pero también en ambientes rurales, especialmente aquellos cercanos a ganado ovino sobre todo (Vogels et al., 2016; Bravo-Barriga et al., 2017).

Por otra parte, *Cx. theileri*, que tiene hábitos de alimentación variados siendo una especie zoo-antropofílica (Becker et al., 2020), se asociada a zonas rurales del sur de España (Muñoz et al., 2012; Ferraguti et al., 2016) y *Cx. perexiguus/Cx. univittatus*, considerada una especie ornitofílica y mamofílica, vector secundario de WNV, con importancia sobre todo en zonas naturales (Vázquez et al., 2011; Mixão et al., 2016). Se trata de un género de gran importancia como vector de WNV, endémico en España (González et al., 2022) que puede afectar a équidos y al ser humano. A pesar de que nunca se han declarado casos de WNV en caballos o humanos en Galicia, el constante movimiento de personas y animales para competiciones o concursos hípicas puede facilitar la entrada de este virus en el territorio, completando la tríada requerida para la aparición de casos: la presencia del vector, del virus y de los hospedadores (Onyango et al., 2020). Otros patógenos que pueden transmitirse por *Culex* son los parásitos *Dirofilaria immitis* y *D. repens* que no afectan a caballos, pero sí al perro y al hombre (Genchi y Kramer, 2017). En todos los centros ecuestres había al menos un perro viviendo en las instalaciones, por lo que la presencia de mosquitos del género *Culex* en este tipo de centros es un factor de riesgo para las mencionadas enfermedades.

El género *Culiseta* tuvo una amplia distribución entre los centros ecuestres, confirmando su amplia distribución en Galicia (González et al., 2022). *Cs. longiareolata* puede ser vector de paludismo aviar, pero no tiene implicaciones en Salud Pública, mientras que *Cs. annulata* interviene en la transmisión del virus *Tahyna* a humanos (Schaffner et al., 2001).

En el presente estudio se identificaron 3 especies del género *Anopheles* de interés sanitario, que ya habían sido descritas previamente en Galicia (Polina et al., 2021). *An. maculipennis* s.l., es un complejo mamofílico y admiten un amplio rango de hospedadores entre los que se encuentran el caballo y el hombre (Becker et al., 2020). La especie *An. plumbeus*, descrita por primera vez en zonas boscosas del sureste de Galicia por Martínez-Barciela et al. (2020), es una especie arborícola, lo que concuerda con nuestros resultados pues todos los centros ecuestres se encontraban en zonas rurales rodeadas de árboles o zonas arboladas en las cercanías al igual que *An. claviger/petragnani* que también tiene hábitos mamofílicos con preferencia por zonas rurales. Es importante tener en cuenta que estas 3 especies son de interés en Salud Pública al tener competencia vectorial para transmitir *Plasmodium* (agente etiológico de la malaria humana) (Tagliapietra et al., 2019), que, aunque se haya erradicado de España en 1964 mantiene activa la necesidad de realizar la vigilancia entomológica por la proximidad con el continente africano, endémico para diversas especies de *Plasmodium* (Bueno-Marí et al., 2012; González et al., 2022).

En este estudio se han identificado dos especies pertenecientes al género *Aedes*, *Ae. vexans* y *Ochlerotatus leucomelas*, ambas en Castilla y León. Aunque la primera ya está descrita en Galicia y se sabe de su importancia en salud veterinaria por su papel de vector en la malaria aviar (Silva, 2021), *Oc. leucomelas* nunca se ha descrito en esta comunidad y aunque carece de importancia sanitaria hasta dónde se sabe, la proximidad de Castilla y León puede favorecer la expansión de esta especie a Galicia.

Los Culicoides encuentran su hábitat idóneo en zonas con bastante humedad y abundante materia orgánica, como el estiércol de los animales o las pequeñas charcas con barro que se forman alrededor de las instalaciones (González et al., 2013; Uslu y Dick, 2017; Harrup et al., 2018). Las picaduras de Culicoides se asocian de manera frecuente con una dermatitis en los caballos que, en muchas ocasiones, provoca lesiones de alopecia, costras, erosiones y descamación. Estos procesos producen estrés e incomodidad en los animales por lo que su rendimiento se verá afectado de manera negativa. *Culicoides obsoletus*, identificado en casi el 34% de los centros hípicas es la especie más frecuentemente detectada en Galicia y el resto de Europa, asociándose a explotaciones de vacas, ovejas y cabras, e instalaciones equinas (Cuéllar et al., 2018; Polina et al., 2024). *C. obsoletus* es el principal vector responsable de la transmisión de la Lengua Azul y la Enfermedad Hemorrágica Epizootica en Galicia y otras zonas del norte de España (Foxi et al., 2016) que afecta a rumiantes domésticos y salvajes, y se debe tener en cuenta que muchos de estos centros ecuestres tenían en sus cercanías granjas de vacuno, lo que supone un riesgo sanitario la presencia de estos pequeños dípteros. Los Culicoides son el principal vector de la Peste Equina Africana, una enfermedad contagiosa no infecciosa causada por virus que circula por África, y ya ha ocasionado brotes en Portugal y España debido a la introducción una cebrá infectada (reservorio), provocando una alta mortalidad en caballos (Rodríguez et al., 1992; Portas et al., 1999). La introducción accidental de este virus desde África puede suponer un grave riesgo para la salud equina en la Península Ibérica, al estar presente el vector y los hospedadores.

Stomoxys calcitrans es conocida como mosca de los establos, ya que su ciclo vital se desarrolla al completo en el interior de estos, utilizando las camas contaminadas con heces y orina de los caballos como zona de cría (Bittencourt, 2013). Tienen preferencia por picar en la zona inferior del cuerpo de vacas y caballos, especialmente en las patas, y los animales pueden desarrollar alergias y reacciones tóxicas (González et al., 2022b), lo que además de molestias van a comprometer su bienestar, provocan un decaimiento de su salud con los correspondientes gastos veterinarios asociados (Taylor et al., 2012; Reissert-Oppenmann et al., 2019). A esto hay que sumar que puede ser vector mecánico de distintos virus y parásitos, destacando entre ellos *Habronema*, responsable de las heridas de verano en caballos, burros y mulas (González et al., 2022b). El bajo número de ejemplares recogidos puede deberse a que método de captura no es el indicado para moscas, por lo que sería interesante utilizar trampas BG-Sentinel en estudios posteriores (González et al., 2022) y poder así conocer el alcance de su presencia en centros ecuestres.

CONCLUSIONES

Los centros ecuestres ofrecen un ambiente idóneo para la cría de ciertos dípteros hematófagos, dada la presencia de aguas estancadas, esencial para la cría de culícidos, y abundante materia orgánica, necesaria para el desarrollo de *Culicoides* y moscas. La presencia de estos insectos chupadores de sangre representa un peligro para la salud animal y humana, debido a las molestias que ocasionan sus picaduras y mordeduras, pero además por su capacidad de transmisión de distintos patógenos víricos, parasitarios y bacterianos. La vigilancia entomológica es pues esencial para la prevención e instauración de programas de control que permitan minimizar los riesgos ocasionados por estos dípteros.

FINANCIACIÓN

Parcialmente financiado con el Contrato 2023-CP109 (entre la USC y la Universidad de Murcia).

TABLAS Y FIGURAS

Figura 1: Localización de los centros ecuestres muestreados.

Tabla 1: Ejemplares identificados de la familia *Culicidae*.

Tabla 2: Número de ejemplares de culícidos y culicoides de cada especie identificada en los centros muestreados.

REFERENCIAS

- Barbet, J. L. (2014). Ectoparasites of Horses. En: *Equine Infectious Diseases* 2nd Ed., pp. 495-504e2). <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-0891-8.00059-2>
- Becker, N., Petrić, D., Zgomba, M., Boase, C., Madon, M.B., Dahl, C., Kaiser, A. (2020). *Mosquitoes: Identification, Ecology and Control*. Springer (3rd Edition).
- Bittencourt, A. J. (2013). Outbreak of assessment and environmental control measures for *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) in southeast of Brazil. *Rev. Bras. Med. Vet.*, 34(1):73-82.
- Boukraa, S., de La Grandiere, M.A., Bawin, T., Raharimalala, F.N., Zimmer, J.Y., Haubruge, E., Thiry, E., Francis, F. (2016). Diversity and ecology survey of mosquitoes potential vectors in Belgian equestrian farms: A threat prevention of mosquito-borne equine arboviruses. *Prev Vet Med*, 124:58-68. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2015.12.013>.

Bravo-Barriga, D., Gomes, B., Almeida, A.P.G., Serrano-Aguilera, F.J., Pérez-Martín, J.E., Calero-Bernal, R., Reina, D., Frontera, E., Pinto, J. (2017). The mosquito fauna of the western region of Spain with emphasis on ecological factors and the characterization of *Culex pipiens* forms. *Jou of Vect Ecol* 42 (1): 136-147.

Bueno-Marí, R., Bernués-Bañeres, A., Chordá-Olmos, F. A., Jiménez-Peydró, R. (2012). Entomological surveillance in a recent autochthonous malaria area of Spain. *Vector Borne Dis* 49, pp. 45-47.

Carpenter, S., Groschup, M. H., Garros, C., Felipe-Bauer, M. L., y Purse, B. V. (2013). Culicoides biting midges, arboviruses and public health in Europe. *Antivir Res*, 100(1), 102-113. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.07.020>.

Cuéllar, A.C., Kjar LJ, Kirkeby C, Skovgard H, Nielsen SA, Stockmarr A et al (2018). Spatial and temporal variation in the abundance of Culicoides biting midges (Diptera: Ceratopogonidae) in nine European countries. *Parasit Vectors* 11:112. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2706-y>

Ferraguti, M., Martínez-de la Puente, J., Roiz, D., Ruiz, S., Soriguer, R., Figuerola, J. (2016). Effects of landscape anthropization on mosquito community composition and abundance. *Sci. Rep.* 6: 29002. <https://doi.org/10.1038/srep29002>

Foxi, C., Delrio, G., Falchi, G., Marche, M. G., Satta, G., & Ruiu, L. (2016). Role of different Culicoides vectors (Diptera: Ceratopogonidae) in bluetongue virus transmission and overwintering in Sardinia (Italy). *Parasit Vectors*, 9, 440. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1733-9>

Genchi, C. y Kramer, L. (2017). Subcutaneous dirofilariosis (*Dirofilaria repens*): an infection spreading throughout the old world. *Parasit Vectors*, 10(Suppl 2):517. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2434-8>.

González, M.A., Delacour-Estrella, S., Bengoa, M., Barceló, C., Bueno-Marí, R., Eritja, R., Ruiz-Arrondo, I. (2022a). A survey on native and invasive mosquitoes and other biting dipterans in northern Spain. *Acta Parasitol*, 67:867-877. <https://doi.org/10.1007/s11686-022-00529-1>.

González, M.A., Bravo-Barriga, D., Barrio, E.F., Frontera, E., Ruiz-Arrondo, I. (2022b). Severe Skin Lesions Caused by Persistent Bites of the Stable Fly *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) in a Donkey Sanctuary of Western Spain. *Jour of Eq Vet Sci* 116 104056. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2022.104056>.

González MA, López S, Mullens BA, Baldet T, Goldarazena A. (2013). A survey of Culicoides developmental sites on a farm in northern Spain, with a brief review of immature habitats of European species. *Vet Parasitol* 191:81-93. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.08.025>

Harrup, L., Affairs, R., Purse, B.V., Mellor, PS., Carpenter S. (2013). Larval development and emergence sites of farm-associated Culicoides in the United Kingdom. *Med Vet Entomol* 27:441-449. <https://doi.org/10.1111/mve.12006>

Kampen, H., Werner, D. (2023). Biting Midges (Diptera: Ceratopogonidae) as Vectors of Viruses. *Microorganisms*, 11, 2706. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11112706>

Karasek, I., Butler, C., Baynes, R., Werners, A. (2020). A review on the treatment and control of ectoparasite infestations in equids. *J Vet Pharmacol Ther.* 43:421-8. <https://doi.org/10.1111/JVP.12874>.

Liljenstolpe, C. (2009). Horses in Europe. Report EU Equus 2009. EU Equus 2009 Conference. Sweden. European Horse Network. Disponible en: <https://eeb-a.eu/wp-content/uploads/2022/08/EU-Equus-2009-1.pdf>

Lucientes, J., Calvete, C., Estrada, R., Miranda, M. A., Del Río, R., y Borrás, D. (2008). Los vectores de la Lengua Azul: 205 conocimientos básicos de su bioecología. El Programa Nacional de Vigilancia Entomológica de la Lengua Azul en España. XXXIII Jornadas Científicas y XII Internacionales de La Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC), 40–51. Almería: Viceconsejería. Servicio de Publicaciones y Divulgación.

Martínez-Barciela, Y., Polina González, A., Garrido, J. (2023). Ecology and diversity of mosquito larvae in ponds and lagoons of Northwestern Spain. *Med Vet Entomol.* 2024;38:38–47. <https://doi.org/10.1111/mve.12693>.

Martínez-Barciela, Y., Polina González, A., Gutiérrez Rial, D., Garrido González, J. (2021). First records of five species of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Galicia, including the first evidence of the genus *Coquillettidia* in northwestern Spain. *J Vect Ecol.* 46 (1): 96–102. 2021. <https://doi.org/10.52707/1081-1710-46.1.96>

Martínez-Barciela, Y., Pereira Martínez, J. M., Silva-Torres, M. I., Pousa Ortega, Á., Otero González, J. C., y Garrido González, J. (2020). First records of *Anopheles (Anopheles) plumbeus* Stephens, 1828 and *Culex (Culex) torrentium* Martini, 1925 (Diptera: Culicidae) in Galicia (NW Spain). *J Vect Ecol*, 45(2), 306–311. <https://doi.org/10.1111/jvec.12401>.

Medlock, J. M., Hansford, K. M., Bortel, W. Van, Zeller, H., y Alten, B. (2014). A summary of the evidence for the change in European distribution of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) of public health importance. *J Vector Ecology*, 39(1), 72–77. <https://doi.org/10.1111/j.1948-7134.2014.12072.x>.

Mixão, V., Bravo Barriga, D., Parreira, R., Novo, M. T., Sousa, C. A., Frontera, E., ... Gouveia Almeida, A. P. (2016). Comparative morphological and molecular analysis confirms the presence of the West Nile virus mosquito vector, *Culex univittatus*, in the Iberian Peninsula. *Parasit Vectors*, 9(1), 601. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1877-7>.

Möhlmann, T. W. R., Wennergren, U., Tälle, M., Favia, G., Damiani, C., Bracchetti, L., y Koenraadt, C. J. M. (2017). Community analysis of the abundance and diversity of mosquito species (Diptera: Culicidae) in three European countries at different latitudes. *Parasit Vectors*, 10(1), 510. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2481-1>.

Mullen G.R., Durden L.A. (2018). *Medical and Veterinary Entomology*, 3rd ed. Academic Press, London, United Kingdom. 792 pp. ISBN 978-0-12-814043-7.

Muñoz, J., Ruiz, S., Soriguer, R., Alcaide, M., Viana, D.S., Roiz, D., Vázquez, A., Figuerola, J. (2012). Feeding patterns of potential West Nile virus vectors in south-west Spain. *PLoS One.* 7: e39549. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039549>

Onyango, M.G., Ciota, A.T., Kramer, L.D. (2020). The Vector - Host - Pathogen Interface: The Next Frontier in the Battle Against Mosquito-Borne Viral Diseases? *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 10:564518. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.564518>

Peters, B.C., Wood, W., Hepburn, S., Moody, E.J. (2022). Preliminary efficacy of occupational therapy in an equine environment for youth with autism spectrum disorder. *J. Autism Dev. Disord.* 52:4114–4128. <https://doi.org/10.1007/s10803-021-05278-0>

Polina, A., Martínez-Barciela, Y., Pereira, J.M., Cobo, F., Íñiguez, E., Lucientes, J., Estrada, R., Garrido, J. (2024). Updated checklist of the *Culicoides* Latreille biting midges (Diptera: Ceratopogonidae) of Galicia (NW Spain): Diversity, distribution and medical-veterinary relevance. *Vet Med Sci.* 10:e1555. <https://doi.org/10.1002/vms3.1555>

Portas, M., Boinas, F.S., Sousa, J.O.E., Rawlings, P. (1999). African horse sickness in Portugal: a successful eradication programme. *Epidemiol. Infect.* (1999), 123, 337-346.

Reissert-Oppermann, S., Bauer, B., Steuber, S., Clausen, P.-H. (2019). Insecticide resistance in stable flies (*Stomoxys calcitrans*) on dairy farms in Germany. *Parasitol Res.* 118:2499–2507. <https://doi.org/10.1007/s00436-019-06400-z>.

Rodríguez, M., Hooghuis, H., Castaño, M. (1992). African Horse sickness in Spain. *Vet Microbiol.*, 33(1:4), 129-142. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(92\)90041-Q](https://doi.org/10.1016/0378-1135(92)90041-Q)

Ruiz-Arrondo, I., Garza-Hernández, J.A., Reyes-Villanueva, F., Lucientes-Curdi, J., Rodríguez-Pérez, M.A. (2017). Human-landing rate, gonotrophic cycle length, survivorship, and public health importance of *Simulium erythrocephalum* in Zaragoza, northeastern Spain. *Parasit Vectors*, 10:175. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2115-7>

Sánchez-Murillo, J.M., M.M. Martínez Díaz, and P.M. Alarcón-Elbal. (2014). Culicids (Diptera, Culicidae) associated with ruminant farms in Extremadura, western Spain. *Biologist* 12: 323-336.

Schaffner, F., Angel, G., Geoffroy, B., Hervy, J.-P., Rhaïem, A., Brunhes, J. (2001). The Mosquitoes of Europe. An identification and training programme. IRD Editions & EID Méditerranée, Montpellier.

Silva, M.I.T. (2021). Epidemiología de dípteros que actúan como vectores de zoonosis en Galicia. Diseño de una red de vigilancia de vectores. PhD Thesis (USC), Lugo, Spain.

Taylor, D.B., Moon, R.D., Mark, D.R. (2012). Economic impact of stable flies (Diptera: Muscidae) on dairy and beef cattle production. *J Med Entomol* 49:198–209.

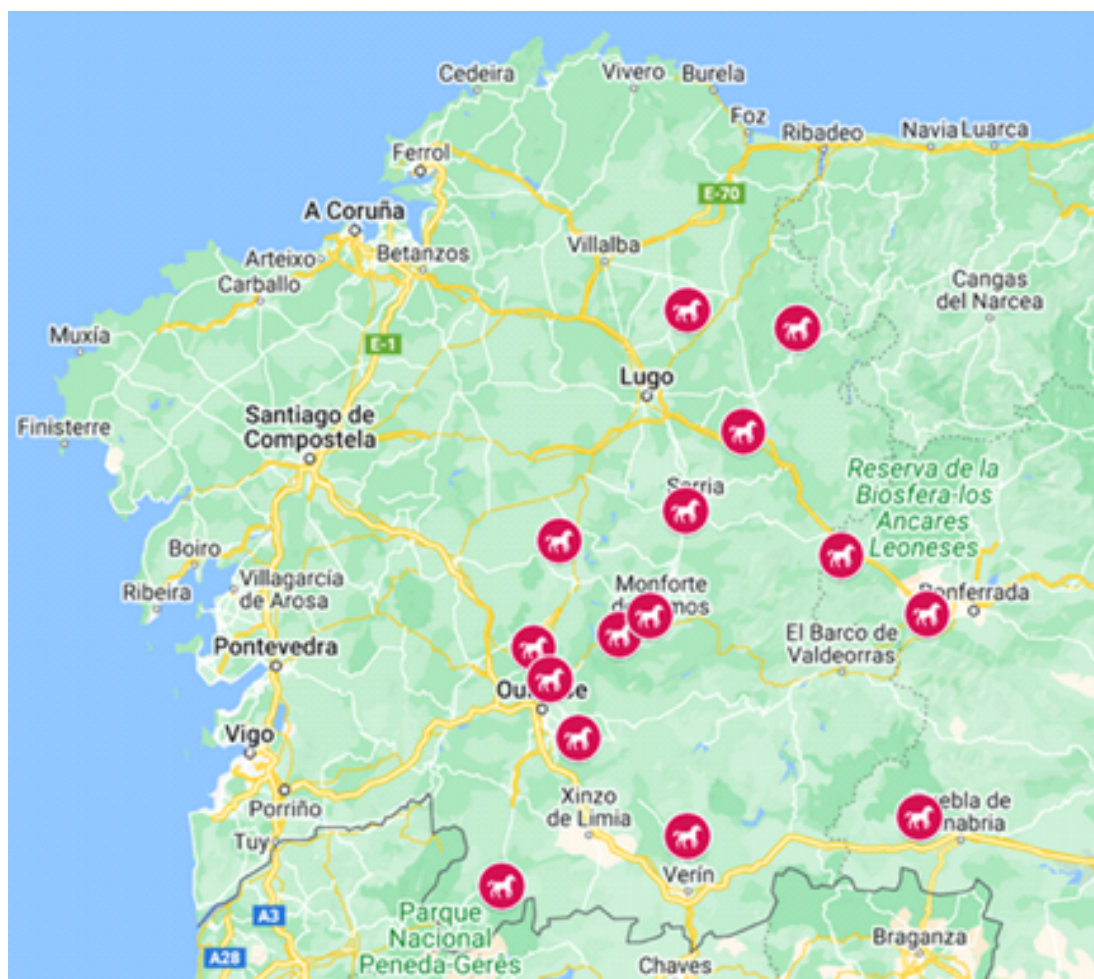
Tagliapietra, V., Arnoldi, D., Luca, M.D., Toma, L., Rizzoli, A. (2019). Investigation on potential malaria vectors (*Anopheles* spp.) in the Province of Trento, Italy. *Malar J* 18:151. <https://doi.org/10.1186/s12936-019-2785-z>

Uslu, U. y Dik, B. (2017). Description of breeding sites of *Culicoides* species (Diptera: Ceratopogonidae) in Turkey. *Parasite* 4:173–177. <https://doi.org/10.1051/parasite/2007142173>

Vázquez, A., Ruiz, S., Herrero, L., Moreno, J., Molero, F., Magallanes, A., ... Tenorio, A. (2011). West Nile and Usutu Viruses in Mosquitoes in Spain, 2008–2009. *Am J Trop Med Hyg*, 85(1), 178–181. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2011.11-0042>.

Vogels, C.B., Fros, J.J., Göertz, G.P., Pijlman, G.P., Koenraadt, C.J. (2016). Vector competence of northern European *Culex pipiens* biotypes and hybrids for West Nile virus is differentially affected by temperature. *Parasit. Vectors* 9: 393.

Fig. 1. Localización de centros ecuestres muestreados en el Noroeste de España para la identificación de dípteros de interés sanitario.



51

Tabla 1: Ejemplares identificados de la familia Culicidae

Genero	Especie	Nº ejemplares	% total especies	% total por género
<i>Anopheles</i>	<i>An. spp</i>	5	1,49	8,36
	<i>An. maculipennis</i> s.l.	14	4,19	
	<i>An. claviger/petragnani</i>	7	2,09	
	<i>An. plumbeus</i>	2	0,59	
<i>Culex</i>	<i>Cx. spp</i>	53	15,9	51,83
	<i>Cx. pipiens</i> s.l.	102	30,54	
	<i>Cx. theileri</i>	17	5,09	
	<i>Cx. perexiguus/univitattus</i>	1	0,30	
<i>Culiseta</i>	<i>Cs. annulata</i>	87	26,05	38,62
	<i>Cs. longiareolata</i>	42	12,57	
<i>Aedes</i>	<i>Ae. vexans</i>	3	0,89	0,89
<i>Ochlerotatus</i>	<i>Oc. leucomelas</i>	1	0,30	0,30
Total		334	100	

□

Tabla 2: Número de ejemplares de culicidos y culicoides de cada especie identificada en los centros muestreados

Familia	Culicidae							Ceratopogonidae
Género	<i>Culex</i>			<i>Anopheles</i>			<i>Aedes</i>	<i>Culicoides</i>
Especie	<i>pipiens</i>	<i>theileri</i>	<i>perexiguus / univitattus</i>	<i>maculipennis</i>	<i>claviger / petragnani</i>	<i>plumbeus</i>	<i>vexans</i>	<i>obsoletus</i>
Centros								
1	1	1	0	0	0	0	0	0
2	1	1	0	0	0	0	0	1
3	1	1	0	1	0	0	0	0
4	1	1	1	1	0	0	0	0
5	1	1	0	1	1	0	0	0
6	1	0	0	0	0	0	0	0
7	1	1	0	0	1	0	0	0
8	1	0	0	0	0	0	1	0
9	1	0	0	0	0	0	0	0
10	1	1	0	1	1	0	1	0
11	1	0	0	0	1	0	0	0
12	1	1	0	1	1	1	0	0
13	1	1	0	1	0	0	0	0
14	1	0	0	0	0	0	0	0
15	1	0	0	0	0	0	0	1

NUEVA SOLUCIÓN PARA REDUCIR LA PERSISTENCIA DE PARÁSITOS DE INTERÉS VETERINARIO EN PRADOS

**Miguel Baena Laseca¹,
Inês Abreu Ramos¹,
Jorge Alexander León González^{1,2},
María Sol Arias Vázquez¹,
Cristiana Cazapal-Monteiro¹,
Mercedes Camiña García³,
José Ángel Hernández Malagón^{1,*}**

¹Grupo de Investigación COPAR (GI-2120; USC) - Departamento de Patología Animal, Facultad de Veterinaria, Universidade de Santiago de Compostela. 27002-Lugo (España).

²Ciencia Animal: Parasitología Veterinaria, Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales (UDCA), Bogotá (Colombia).

³Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria, Universidade de Santiago de Compostela. 27002-Lugo (España).

*Autor de correspondencia: joseangel.malagon@usc.es

RESUMEN

Las infecciones por algunos parásitos provocan importantes mermas en herbívoros, que limitan su estado sanitario, así como productividad y bienestar. El control de helmintos como nematodos gastrointestinales (ascáridos, estrongilidos) sigue constituyendo un problema importante a pesar de que existen antiparasitarios eficaces, por lo que parece esencial aplicar procedimientos prácticos para prevenir su infección y reducir la administración de fármacos a aquellas situaciones que lo requieren. Con este objetivo, se diseñaron dos ensayos con dos hongos parasiticidas saprófitos e inocuos para plantas, animales y personas, *Mucor circinelloides* (ovicida) y *Duddingtonia flagrans* (larvicida), que se distribuyeron en el suelo mediante dos formas: remojando semillas forrajeras en un cultivo líquido que contenía 10^6 esporas fúngicas/mL de cada uno antes de sembrarlas en bandejas de plástico (Ensayo 1), y mediante pulverización directa en el suelo, para lo cual se delimitaron pequeñas subáreas de terreno con marcos de madera (15x40x30 cm) (Ensayo 2). Quince días después, se colocaron 12 g de heces de lechones con 3450 huevos de *Ascaris suum* / g heces (HPG), y 12 g de heces de caballos con 685 HPG ciatostominos sobre la vegetación germinada. Tras un periodo de 25-30 días a 16-22°C y 70-81% HR, la viabilidad de los huevos de ascáridos se redujo en un 62%, y la mitad de ellos permanecieron sin desarrollar; además, se registró una reducción del 64% en los recuentos de larvas L3 de ciatostominos. En el ensayo 2 (a una temperatura de 16-28°C y 78-84% HR), se colocaron 50 g de heces de lechones (3450 HPG *A. suum*) y 50 g de heces de caballos (685 HPG ciatostominos) en cada subárea de terreno, y la viabilidad de los huevos de ascáridos disminuyó en un 55%, en con una tasa de infectividad del 30%, mientras que los recuentos de L3 disminuyeron en un 57%. Se concluye que el riesgo de infección por ascáridos y ciatostominos puede reducirse a menos de la mitad sembrando las zonas de suelo con semillas forrajeras pretratadas con hongos, por lo que podría convertirse en una solución práctica para el control de parásitos entre los animales mantenidos en prados de pequeña-mediana extensión. Se están llevando a cabo nuevas investigaciones para confirmar esta novedosa estrategia.

PALAVRAS-CHAVE

hongos saprófitos, parasitosis, prevención, suelo, semillas

INTRODUCCIÓN

Con objeto de asegurar una nutrición adecuada de especies de herbívoros, es preciso mantener los prados/pastizales en condiciones adecuadas, en las que ciertos patógenos también pueden encontrar hábitats idóneos para sobrevivir y desarrollarse hasta sus fases infectivas (Mkandawire et al. 2022). La infección por diferentes patógenos es frecuente entre el ganado en pastoreo, y especialmente por ciertos endoparásitos que afectan a especies animales criadas en régimen de pastoreo (Morales et al. 2001), porque algunas especies de parásitos desarrollan la fase externa del ciclo biológico en el suelo, donde evolucionan de ooquistes o huevos a sus respectivos estadios infectivos, que son ooquistes esporulados o huevos que contienen una larva en su interior; otros mudan de huevos a larvas (López-Osorio et al. 2020; Mkandawire et al. 2022). Como consecuencia, son frecuentes las infecciones por protozoos o helmintos que causan múltiples pérdidas económicas y productivas, además de alterar el entorno de bienestar de los animales (Quijada et al. 2012).

Alrededor de las posibilidades de control de parásitos en animales se ha generado una gran controversia en cuanto a la metodología, basándose casi exclusivamente en el tratamiento con productos químicos. Un aspecto a tener en cuenta es el continuo reporte de resistencia a antiparasitarios químicos debido a su uso indiscriminado en las granjas, lo que ha fortalecido la aparición de cepas resistentes a determinados tratamientos, lo que ha llevado a considerar diferentes posibilidades para prevenir la infección, y disminuir de este modo la utilización de antiparasitarios convencionales (Viña et al. 2020).

Se han obtenido resultados muy satisfactorios con diversos hongos filamentosos saprófitos sobre algunos estadios parasitarios que se desarrollan en el suelo. En este estudio se diseñó una estrategia que consistió en sumergir semillas de especies vegetales forrajeras en un medio líquido en el que se cultivaron dos especies de hongos parasitoides, *Mucor circinelloides* (ovicida) y *Duddingtonia flagrans* (larvicida); a continuación, las semillas se sembraron en bandejas o en pequeñas áreas de terreno. El objetivo principal fue restaurar el equilibrio entre hospedadores, patógenos y antagonistas.

MATERIAL Y MÉTODOS

a) Hongos parasitófagos

Se cultivó una mezcla de dos hongos filamentosos del suelo (*M. circinelloides* CECT 20824 y *D. flagrans* CECT 20823) en el medio líquido COPFr hasta conseguir una concentración $\geq 1 \times 10^6$ clamidosporas de cada especie / mL [13]. Se trata de hongos aislados a partir de muestras de heces de animales y del suelo, por el Grupo de Investigación COPAR (GI-2120; Universidad de Santiago de Compostela, España) y depositados en la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT, Valencia, España) (Arias et al. 2013).

b) Preparación de las semillas forrajeras para la siembra

En la presente investigación se utilizó una formulación comercial de semillas forrajeras compuesta por 40% de *Lolium perenne* solen, 10% de *Lolium multiflorum* locobelo, 40% de *Lolium x boucheanum* Kunth, 5% de *Trifolium repens* huia y 5% de *Trifolium pratense* rozeta. Se llevó a cabo el pretratamiento de las semillas, que consistió en colocar 100 g en una bandeja con 200 mL de medio de cultivo (proporción 1:2, masa/volumen). Después de un período de 2 a 5 h para que las semillas se remojaran adecuadamente y, a continuación, se dejaron secar al aire, y finalmente se almacenaron en bolsas de plástico hasta su siembra, que siempre se llevó a cabo en un plazo inferior a 7 días.

c) Diseño del estudio

Se desarrollaron dos ensayos, en bandejas y en pequeñas áreas de terreno (subáreas) delimitadas con ayuda de marcos de madera (Figura 1).

Ensayo 1:

Se esterilizó en autoclave sustrato vegetal (compost), que se colocó en 32 bandejas de plástico proporcionadas con el producto comercial (Vitalkraft; Madrid; 5,6 x 13,5 x 25,2 cm). Se establecieron tres grupos (Fig. 2):

- G-T: testigo. Se añadieron 50 g de semillas (sin tratar) a 12 bandejas con 200 g de compost.
- G-Mc: se añadieron 50 g de semillas pre-tratadas con *Mucor circinelloides* en 10 bandejas.
- G-Ta: se sembraron 10 bandejas con 50 g de semillas pre-tratadas con *D. flagrans*.

Las bandejas se mantuvieron durante 30 días bajo condiciones de temperatura entre 16 y 22°C, y humedad relativa del 70-81%. En la mitad de las bandejas de cada grupo se añadieron 12 g de heces de lechones que eliminaban 3450 huevos de *Ascaris suum* / g heces (HPG), y en la otra mitad 12 g de heces de caballos que eliminaban 685 HPG de *ciatostominos*.

A los 15 días del inicio del estudio se analizó la mitad de las bandejas, y a los 30 días la otra mitad (J. A. Hernández et al. 2017).

Ensayo 2 (subáreas de) tierra:

En el suelo de una parcela se delimitaron 32 subáreas con marcos de madera (15 × 40 × 30 cm) (Figura 2). En doce subáreas se pulverizó agua, constituyendo el grupo testigo (G-tT). En 10 subáreas se pulverizaron 600 mL de medio con esporas de *M. circinelloides* (G-tMc), y en otras 10 de *D. flagrans* (G-tDf), los días -8, 0, y 14. En la mitad de cada grupo se añadieron 50 g de heces de lechones que excretaban 3450 HPG de *Ascaris suum*, y en la otra mitad 50 g de heces de caballos que eliminaban 685 HPG de *ciatostominos*.

Las condiciones ambientales en las que se realizó este ensayo consistieron en temperaturas en torno a 16-28°C y HR alrededor del 78-84%. A los quince días colocar las heces, se recogieron la mitad de las zonas de cada grupo, y las restantes al final del ensayo (día 30). El análisis se llevó a cabo mediante técnicas coprológicas (Cernea, Madeira de Carvalho, and Cozma 2008).

d) Evaluación del efecto antiparasitario

Para comprobar la influencia de la estrategia parasiticida, se analizaron las variaciones en el número de huevos viables de *A. suum* y de larvas de tercer estadio (L3) de *ciatostominos*. Esta evaluación consistió en la observación de un mínimo de 200 parásitos (huevos o larvas, respectivamente) en cada una de las bandejas y zonas de suelo preparadas.

Ascáridos

Con el objetivo de analizar el efecto antagonista frente a huevos de ascáride, en el ensayo 1 se utilizó una técnica de sedimentación modificada (J. A. Hernández et al. 2017), consistente en tomar directamente el contenido de cada bandeja y emulsionarlo en 1 L de agua. Tras mezclarlo completamente, el contenido se hizo pasar secuencialmente por tamices con diferentes diámetros de poro (4, 0,52, 0,15 y 0,050 mm) para reducir la presencia de partículas gruesas. El líquido resultante se depositó en vasos de sedimentación durante 24 h. Finalmente, el sedimento obtenido se analizó al microscopio colocando alícuotas de 50 µL entre portaobjetos y cubreobjetos de vidrio (Cernea, Madeira de Carvalho, and Cozma 2008). En el ensayo 2 se aplicó un procedimiento similar, tomando la mitad de cada muestra de suelo delimitada por los marcos de madera (aprox. 5x40x30 cm) y hundiéndola en 2 L de agua hasta sumergirla por completo. La mezcla se filtró a lo largo de diferentes tamices, como ya se ha mencionado, y el filtrado se colocó en copas de sedimentación durante 24 h. Tras descartar el sobrenadante hasta obtener 100 mL, el volumen final se observó al microscopio, como ya se ha mencionado. Basándose en investigaciones anteriores, los huevos se clasificaron en no viables y viables teniendo en cuenta la presencia de daños o alteraciones en la cáscara (Araújo et al. 2024).

El porcentaje de reducción (PR) de huevos de *A. suum* se calculó en función de los recuentos de huevos viables por gramo de heces (HPG) en los días 15 y 30, como sigue:

$$PR_{15} (\%) = [1 - (HPG_{día15}/EPG_{día0})] \times 100$$

$$PR_{30} (\%) = [1 - (HPG_{día30}/EPG_{día0})] \times 100$$

No obstante, considerando que un porcentaje de huevos de *A. suum* se convierte en inviable de forma natural (Paz-Silva et al. 2023), el posible efecto atribuido a los hongos antiparasitarios se ajustó teniendo en cuenta la diferencia entre el PR en los expuestos y en los testigos; entonces, el Porcentaje ajustado de Reducción (%) se calculó como:

$$\text{PAR (\%)} = \text{PR}_{\text{tratados}} - \text{PR}_{\text{testigos}}$$

Ciatostominos

En el ensayo 1, se evaluó la acción sobre las larvas de tercer estadio (L3) de *ciatostominos* colocando la mitad del contenido de cada bandeja en 1 L de agua y mezclando durante 1 h. A continuación, el contenido se filtró sucesivamente a través de tamices con diferentes diámetros de poro (4, 0,52, 0,15 y 0,050 mm), y la solución final se analizó mediante la prueba de Baermann para recoger las L3, los estadios infectivos (VanHoy 2023). En el ensayo 2 se aplicó el mismo protocolo a la mitad del contenido de cada superficie. La identificación de las de tercer estadio (L3) de *ciatostominos* se realizó mediante claves morfológicas (Cernea, Madeira de Carvalho, and Cozma 2008). Por último, la reducción de larvas L3 de *ciatostominos* (PRL3) se estimó de la siguiente manera:

$$\text{PRL3 (\%)} = [1 - (\text{LPG}_{\text{tratados}}/\text{PG}_{\text{testigos}})] \times 100$$

e) Análisis estadístico de los resultados

La prueba de Kolmogorov-Smirnov mostró que los datos recogidos para los recuentos fecales de huevos de *A. suum* se distribuían normalmente ($Z = 1,155$, $p = 0,138$), y la prueba de Levene volvió a revelar que las varianzas eran homogéneas (Estadístico = 4,792, $p = 0,053$). El análisis del número de L3 de *ciatostominos* reveló que estos datos también eran normales ($Z = 0,866$, $p = 0,441$) y que las varianzas eran homogéneas (Estadística = 4,792, $p = 0,053$). Por consiguiente, se realizó un ANOVA con medidas repetidas a un nivel de significación de $p < 0,05$. Todas las pruebas se emplearon con el programa estadístico SPSS, versión 22 (IBM SPSS, Inc., Chicago, IL, EEUU).

MATERIAL Y MÉTODOS

a) Actividad sobre ascáridos

Como se indica en la Figura 3, el número de huevos viables de *A. suum* mantenidos en bandejas con hierba durante 30 días mostró ligeras variaciones en los controles (≈ 6 -10%). El número de huevos viables colocados en las bandejas sembradas con semillas previamente embebidas en medio líquido que contenía esporas pertenecientes a las dos especies fúngicas disminuyó un 19,3% durante los primeros 15 días con respecto a los testigos (no expuestos a los hongos antiparasitarios) ($F = 42,148$, $p = 0,023$). Al final del estudio (día 30), el número de huevos viables se redujo en un 62% ($F = 37,130$, $p = 0,026$), y la mitad se mantuvo sin desarrollar.

En cuanto a los datos recogidos en las subáreas de tierra, la viabilidad de los huevos de *A. suum* en los testigos se redujo en un 7-13%. Cuando los huevos se colocaron en subáreas con hongos antiparasitarios, los huevos viables disminuyeron en un 17% a los 15 días ($F = 23,125$, $p = 0,037$), y un 62% el día 30 ($F = 20,892$, $p = 0,036$).

b) Actividad sobre ciatostominos

No se detectaron larvas al inicio del estudio (Figura 4). Los porcentajes de L3 desarrolladas en las bandejas de control fueron del 20% el día 15 y del 60,4% el día 30. En las bandejas con hongos, los porcentajes de larvas recuperadas fueron del 10,7% y del 16,5%, respectivamente.

En cuanto a las subáreas testigo, el porcentaje de larvas L3 que evolucionaron a partir de huevos de *ciatostominos* fue del 15,3% y 52% en los días 15 y 30. En cuanto a la exposición a hongos antiparasitarios, los porcentajes registrados fueron del 9,5% y el 17,7% en los días 15 y 30. Se registraron diferencias significativas al final del estudio en las bandejas ($F = 22,381$, $p = 0,031$) y en el suelo ($F = 18,231$, $p = 0,042$).

MATERIAL Y MÉTODOS

Los herbívoros están expuestos a un alto riesgo de infección por parásitos que desarrollan algunos estadios en el suelo, donde pueden sobrevivir y completar su evolución (VanHoy 2023). Mediante la inmersión de semillas forrajeras en medios con los hongos filamentosos saprófitos (*M. circinelloides* y *D. flagrans*) y su posterior siembra, se consiguió reducir la presencia en el suelo de *A. suum* en aproximadamente un 65% y de las larvas del tercer estadio (L3) de ciatostominos en alrededor de un 75%. Estos resultados concuerdan parcialmente con estudios anteriores en los que se utilizaron especies fúngicas como *M. circinelloides*, *Trichoderma atroviride*, o *Clonostachys rosea* rociadas directamente sobre las heces de los cerdos (Cortiñas et al. 2015), en los que se encontraron porcentajes de reducción similares de dos tercios para *A. suum* y de un tercio para los nematodos estrongílicos.

El control de parásitos entre los animales en pastoreo consiste básicamente en administrar fármacos, pero dado que muchas infecciones provocadas por parásitos gastrointestinales se originan cuando se ingieren los estadios infecciosos que se desarrollan en el suelo (Rapiya et al. 2019), es decir, durante el pastoreo, parece esencial disponer de un procedimiento realista para limitar el número de estos estadios infecciosos. Se ha ensayado ampliamente la difusión adecuada de esporas de hongos filamentosos del suelo, abarcando sobre todo su administración oral a través de diferentes formulaciones comestibles, con el objetivo de que las esporas fúngicas sean eliminadas en las heces junto con algunos estadios parasitarios, y una vez en el suelo, desarrollen sus micelios y actúen contra los patógenos (J. Á. Hernández et al. 2019). En la presente investigación se ha demostrado la utilidad de pulverizar los prados con un cultivo líquido con los hongos *M. circinelloides* y *D. flagrans*, consiguiéndose una reducción notable de los recuentos de huevos de *A. suum*, el ascárido del cerdo, y de ciatostominos de caballos tras un periodo de 30 días.

Los ascáridos y los nematodos estrongílicos (como los ciatostominos) son parásitos frecuentemente identificados sobre todo en las heces de animales que disfrutan de parcelas con tierra y/o vegetación, y su presencia persiste a pesar de la administración regular de antihelmínticos eficaces (J. Á. Hernández et al. 2018; Mendoza-de Gives et al. 2023). Un resultado destacable en la presente investigación fue la observación de una reducción del número de huevos viables de *A. suum* en un 10,1% a los quince días, en contraste con el 38,1% respecto a las L3 de ciatostominos. Hay que tener en cuenta que la cáscara de los huevos de ascáride proporciona protección frente a condiciones ambientales adversas (congelación, sequedad, radiación UV...), lo que explicaría la necesidad de que transcurra un cierto tiempo antes de que los hongos sean capaces de dañarla, romperla y penetrar en su interior (Viña et al. 2020). Es importante destacar la inocuidad de estos procedimientos para los animales en pastoreo (J. Á. Hernández et al. 2018; Voinot et al. 2020; 2021).

Por último, los ensayos realizados demostraron que el pre-tratamiento de semillas de especies forrajeras constituye un procedimiento muy adecuado para la distribución de clamidosporas y el desarrollo de micelios pertenecientes a los hongos parasitocidas *M. circinelloides* y *D. flagrans*, al igual que su pulverización directa sobre el suelo. Estas estrategias proporcionan una herramienta muy útil y aplicable para disminuir la presencia de formas infectivas de endoparásitos en el prado.

CONCLUSIONES

El control de los parásitos que están desarrollando sus fases infectivas en zonas con tierra y vegetación requiere medidas preventivas para reducir el riesgo de infección. La siembra del suelo con semillas previamente remojadas en un medio sumergido para el cultivo de los hongos parasitofagos *Mucor circinelloides* y *Duddingtonia flagrans* ofrece una estrategia innovadora y eficaz para disminuir el número de huevos viables de *A. suum* y los recuentos de L3 de ciatostominos. La pulverización directa también proporciona unos resultados similares.

El riesgo de infección por ascáridos y ciatostominos puede reducirse al menos a la mitad sembrando las zonas pastoreo con semillas forrajeras pretratadas con hongos, por lo que podría convertirse en una solución práctica para el control de parásitos entre los animales mantenidos en prados de pequeña-mediana extensión.

FINANCIACIÓN

Parcialmente financiado con los Proyectos FEADER 2022/017B - GRUPOS OPERATIVOS AEI 2022 (Axencia Galega da Calidade Alimentaria – AGACAL, Xunta de Galicia), y PID2020-120208RB-I00 (Agencia Estatal de Investigación, RETOS 2020; FEDER).

BIBLIOGRAFÍA

Araújo, Jackson Victor De, Júlia Dos Santos Fonseca, Beatriz Bacelar Barbosa, Helbert Ananias Valverde, Huarrisson Azevedo Santos, and Fabio Ribeiro Braga. 2024. 'The Role of Helminthophagous Fungi in the Biological Control of Human and Zoonotic Intestinal Helminths'. *Pathogens* 13 (9): 741. <https://doi.org/10.3390/pathogens13090741>.

Arias, M. S., C. F. Cazapal-Monteiro, J. Suárez, S. Miguélez, I. Francisco, F. L. Arroyo, J. L. Suárez, A. Paz-Silva, R. Sánchez-Andrade, and P. Mendoza De Gives. 2013. 'Mixed Production of Filamentous Fungal Spores for Preventing Soil-Transmitted Helminth Zoonoses: A Preliminary Analysis'. *BioMed Research International* 2013:1–8. <https://doi.org/10.1155/2013/567876>.

Cernea, Mihai, Luís M. Madeira de Carvalho, and Vasile Cozma, eds. 2008. *Atlas de Diagnostic al Strongilidozelor la Ecvină: = Atlas of diagnosis of equine Strongylidosis = Atlas de diagnóstico da estrongilidose equina*. Cluj-Napoca: Ed. Acad. Pres.

Cortiñas, F.J., C.F. Cazapal-Monteiro, J.A. Hernández, F.L. Arroyo, S. Miguélez, J. Suárez, M.E. López De Arellano, et al. 2015. 'Potential Use of *Mucor Circinelloides* for the Biological Control of Certain Helminths Affecting Livestock Reared in a Care Farm'. *Biocontrol Science and Technology* 25 (12): 1443–52. <https://doi.org/10.1080/09583157.2015.1062843>.

Hernández, José A., Rosa A. Vázquez-Ruiz, Cristiana F. Cazapal-Monteiro, Esther Valderrábano, Fabián L. Arroyo, Iván Francisco, Silvia Miguélez, Rita Sánchez-Andrade, Adolfo Paz-Silva, and María S. Arias. 2017. 'Isolation of Ovicidal Fungi from Fecal Samples of Captive Animals Maintained in a Zoological Park'. *Journal of Fungi* 3 (2): 29. <https://doi.org/10.3390/jof3020029>.

Hernández, José Ángel, Cristiana Filipa Cazapal-Monteiro, Rodrigo Bonilla Quintero, Antonio Miguel Palomero Salinero, María Isabel Silva Torres, Mathilde Voinot Messnier, María Vilá Pena, et al. 2019. 'Advantageous Fungi against Parasites Transmitted through Soil'. In *Fungal Infection*, edited by Érico Silva de Loreto and Juliana Simoni Moraes Tondolo. Rijeka: IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.81027>.

López-Osorio, Sara, Jenny J. Chaparro-Gutiérrez, and Luis M. Gómez-Osorio. 2020. 'Overview of Poultry *Eimeria* Life Cycle and Host-Parasite Interactions'. *Frontiers in Veterinary Science* 7 (July):384. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00384>.

Mendoza-de Gives, Pedro, María Eugenia López-Arellano, Agustín Olmedo-Juárez, Rosa Isabel Higuera-Pierdrahita, and Elke Von Son-de Fernex. 2023. 'Recent Advances in the Control of Endoparasites in Ruminants from a Sustainable Perspective'. *Pathogens* 12 (9): 1121. <https://doi.org/10.3390/pathogens12091121>.

Mkandawire, Tapoka T., Richard K. Grencis, Matthew Berriman, and María A. Duque-Correa. 2022. 'Hatching of Parasitic Nematode Eggs: A Crucial Step Determining Infection'. *Trends in Parasitology* 38 (2): 174–87. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2021.08.008>.

Morales, Gustavo, Luz Arelis Pino, Espartaco Sandoval, Libia De Moreno, L Jiménez D, and C Balestrini. 2001. 'Dinámica de Los Niveles de Infección Por Estrongilidos Digestivos En Bovinos a Pastoreo'. *Parasitología al Día* 25 (3–4). <https://doi.org/10.4067/S0716-07202001000300008>.

Paz-Silva, Adolfo, Rami Salmo, Cándido Viña, Antonio Miguel Palomero, José Ángel Hernández, Rita Sánchez-Andrade, Cristiana Cazapal-Monteiro, and María Sol Arias. 2023. 'Gelatin Treats Containing Filamentous Fungi to Promote Sustainable Control of Helminths among Pets and Zoo Animals'. *Biological Control* 179 (April):105184. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2023.105184>.

Quijada, Jessica, Angélica Bethencourt, Deisy Sulbarán, Pedro Salcedo, Aixa Aguirre, Isis Vivas, Edgar López, and Arlett Pérez. 2012. 'Estrongilidos digestivos en caprinos: contajes fecales de huevos y valores de la escala Famacha® en un rebaño infectado naturalmente'. *Revista Científica XXII* (5): 418–25.

Rapiya, Monde, Heidi-Jayne Hawkins, Voster Muchenje, John F. Mupangwa, Munyaradzi C. Marufu, Kennedy Dzama, and Cletos Mapiye. 2019. 'Rotational Grazing Approaches Reduces External and Internal Parasite Loads in Cattle'. *African Journal of Range & Forage Science*, October. <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.2989/10220119.2019.1628104>.

VanHoy, Grace. 2023. 'Overview of Gastrointestinal Parasites of Ruminants - Digestive System'. *MSD Veterinary Manual*. 2023. <https://www.msddvetmanual.com/digestive-system/gastrointestinal-parasites-of-ruminants/overview-of-gastrointestinal-parasites-of-ruminants>.

Viña, Cándido, María Isabel Silva, Antonio Miguel Palomero, Mathilde Voinot, María Vilá, José Ángel Hernández, Adolfo Paz-Silva, Rita Sánchez-Andrade, Cristiana Filipa Cazapal-Monteiro, and María Sol Arias. 2020. 'The Control of Zoonotic Soil-Transmitted Helminthoses Using Saprophytic Fungi'. *Pathogens* 9 (12): 1071. <https://doi.org/10.3390/pathogens9121071>.

Voinot, Mathilde, Rodrigo Bonilla, Sérgio Sousa, Jaime Sanchís, Miguel Canhão-Dias, José Romero Delgado, João Lozano, Rita Sánchez-Andrade, María Sol Arias, and Luís Madeira De Carvalho. 2021. 'Control of Strongyles in First-Season Grazing Ewe Lambs by Integrating Deworming and Thrice-Weekly Administration of Parasitocidal Fungal Spores'. *Pathogens* 10 (10): 1338. <https://doi.org/10.3390/pathogens10101338>.

Voinot, Mathilde, Cristiana Cazapal-Monteiro, José Ángel Hernández, Antonio Miguel Palomero, Fabián Leonardo Arroyo, Jaime Sanchís, José Pedreira, Rita Sánchez-Andrade, Adolfo Paz-Silva, and María Sol Arias. 2020. 'Integrating the Control of Helminths in Dairy Cattle: Deworming, Rotational Grazing and Nutritional Pellets with Parasiticide Fungi'. *Veterinary Parasitology* 278 (February):109038. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109038>.

FIGURAS

Figura 1. Se desarrollaron dos tipos de ensayos en los que se sembraron semillas pre-tratadas con hongos parasitoides, a) en bandejas plásticas (5,6 x 13,5 x 25,2 cm) y (b) en subáreas de terreno delimitadas con marcos de madera (15 x 40 x 30 cm).

Figura 2. Diseño del estudio. b: bandeja. T: siembra con semillas sin pre-tratamiento (testigo); Mc: siembra con semillas sumergidas en *M. circinelloides*; Df: siembra con semillas sumergidas en *D. flagrans*. as: heces de lechones con huevos de *A. suum*; ci: heces de caballos con huevos de *ciatostomus*. t: subáreas de tierra.

Figura 3. Variaciones en la viabilidad de huevos de nematodos ascáridos (*A. suum*) en presencia de hongos saprófitos parasitoides. (*: $p < 0.05$).

Figura 4. Variaciones en los recuentos de larvas de tercer estadio (L3) de nematodos *ciatostomus* en presencia de hongos saprófitos parasitoides. (*: $p < 0.05$).

LONGEVIDADE PRODUTIVA DE VACAS ABERDEEN-ANGUS EM PORTUGAL

Pedro Santos Vaz^{1,2*},
Mercedes Camiña²,
Miguel Gomes¹,
José Pedro Araújo^{3,4,5}

1. Aberdeen-Angus Portugal, Vinha Brava – Parque de Exposições Bloco Este, Piso 0, 9701-861 Angra do Heroísmo;
2. Departamento de Fisiologia, Facultad de Veterinaria de Lugo - Universidad de Santiago de Compostela (USC);
3. Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Refóios do Lima, 4990-706 Ponte de Lima, Portugal;
4. Centro de Investigação de Montanha (CIMO - ESA-IPVC), Praça General Barbosa, V. Castelo, 4900-347 Viana do Castelo, Portugal;
5. Centro de Investigação e Desenvolvimento em Sistemas Agro-alimentares e Sustentabilidade (CISAS), IPVC, Viana do Castelo, Portugal.
Email: *pedro.vaz@aberdeen-angus.pt

RESUMO

A longevidade produtiva de uma vaca, considerada como o período entre o primeiro parto e a saída da exploração, por morte ou refúgio para abate, apresenta um impacto significativo na rentabilidade e sustentabilidade das explorações de bovinos de carne. O seu aumento diminui os custos de recria, eleva o número de animais produtivos no efectivo, sendo um indicador indirecto de saúde animal, resiliência e bem-estar. Devido à recente introdução da raça Aberdeen-Angus em Portugal, os dados de animais nascidos são relativamente escassos. A longevidade produtiva inclui-se entre os principais objectivos de melhoramento para a raça Aberdeen-Angus, justificando-se a sua análise. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da pelagem, região de origem e mudança de exploração na longevidade produtiva de fêmeas Aberdeen-Angus em Portugal. Após edição, foram usados dados de 836 animais, nascidos em Portugal entre 2008 e 2022, com pelo menos um parto e término da sua vida produtiva por abate, morte natural ou causa desconhecida. Foram considerados animais nascidos na Região Autónoma dos Açores e no Continente, a pelagem Preta e Vermelha e a mudança ou não de exploração. Recorreu-se a um modelo linear geral (GLM) com o software IBM SPSS Statistics versão 29.0. A longevidade produtiva foi de $44,6 \pm 1,0$ meses, com um máximo de 147,1 meses e um mínimo de 0,0 meses, o número de partos $3,6 \pm 0,1$, com um máximo de 13 e um mínimo de 1. Foram obtidas diferenças significativas ($p > 0,001$) relativamente à pelagem, superior nos animais de pelagem vermelha ($1634,8 \pm 1095$ dias versus $1263,4 \pm 890$ dias nos de preta), à região de origem, com os animais oriundos do Continente com longevidade superior ($1400,4 \pm 962$ dias versus $947,7 \pm 830$ dias nos oriundos dos Açores). Os animais que mudaram de região apresentaram maior longevidade ao longo da sua vida ($1490,7 \pm 982$ dias versus $1260,5 \pm 930$ dias nos que permaneceram na região). O final da vida produtiva justificou-se pela saída de animais da exploração para abate (61,6%), morte natural (30,8%) e causa desconhecida (7,6%). A recente introdução da raça em Portugal e o elevado número de animais exportados justificam a realização de mais trabalhos sobre o tema.

PALAVRAS-CHAVE

Aberdeen-angus; longevidade produtiva; sistema extensivo; bovinos de carne

INTRODUÇÃO

A raça Aberdeen-Angus encontra-se distribuída globalmente, sendo uma das principais raças de bovinos de carne. A sua introdução em Portugal é relativamente recente, com as primeiras importações organizadas de animais ocorridas na primeira década de 2000. No final do primeiro semestre de 2024 estavam inscritos no Livro Genealógico Português 6.012 fêmeas adultas distribuídas por 308 criadores, a maioria deles muito recentes com efectivos jovens. Destes, 167 estão localizados em Portugal Continental, com 3.532 fêmeas adultas, 69 na Região Autónoma dos Açores, com 892 fêmeas adultas, encontrando-se os restantes criadores e animais em Espanha. Estes factores dificultam a avaliação da longevidade das fêmeas Angus, sendo importante a sua determinação na apreciação do desempenho das explorações e o estabelecimento de objectivos produtivos e reprodutivos.

A longevidade e a eficiência reprodutiva são determinantes para a rentabilidade da produção de bovinos de carne. A longevidade de uma vaca, pode ser medida após o seu refugo ou morte, sendo influenciada por factores como a aptidão reprodutiva e maternal, a conformação e a manutenção de uma boa condição corporal nas diferentes épocas do ano (Berry et al., 2014; Larracharte et al., 2021; Wellnitz et al., 2022). Em bovinos de carne é a longevidade produtiva é avaliada pelo período de tempo entre o primeiro parto e o refugo ou morte da vaca e não pela duração da vida do animal. É, ainda, de extrema importância avaliar a produtividade dos animais ao longo da vida produtiva (Parish, 2010; Oliveira et al., 2020; Larracharte et al., 2021). A idade do reprodutor no momento do seu primeiro parto ou cobrição e do seu refugo estabelece, por um lado, a longevidade produtiva do animal e, por outro, a idade média dos reprodutores ativos. Por sua vez, a longevidade produtiva e a fertilidade influenciam o número de descendentes por reprodutor, a evolução demográfica e a taxa de substituição (Rogers et al., 2004).

Independentemente do conceito, a longevidade depende do refugo voluntário ou involuntário realizado pelo criador. Em termos gerais, o refugo voluntário é motivado pela reduzida produtividade, temperamento ou morfologia do animal, e o refugo involuntário por motivos de saúde, reprodução e morte natural. O número de trabalhos que reflitam os motivos do refugo e que permitam incorporar esses dados na avaliação genética é reduzido (Oliveira et al., 2020).

A longevidade produtiva é um factor primordial a considerar em sistemas com vacas aleitantes com épocas de cobrição definidas, nas quais é necessária a entrada em gestação num reduzido período de tempo. O aumento da longevidade resulta normalmente na melhoria da rentabilidade económica das explorações, reduzindo o número de novilhas para reposição e custos com a recria. No entanto, o melhoramento genético do efectivo poderá ser afectado pelo incremento do tempo de vida das fêmeas e pela menor reposição, devido ao maior potencial genético das novilhas e pelo aumento do intervalo entre gerações, ainda que a menor necessidade de novilhas possibilite uma selecção mais criteriosa. Efectivos com maior número de vacas adultas têm, normalmente, uma maior percentagem de vitelos desmamados, pesos ao desmame superiores e menores necessidades alimentares. A longevidade é igualmente um indicador de saúde, produtividade e bem-estar animal (Rogers et al., 2004; Parish, 2010; Berry et al., 2014; Oliveira et al., 2020; Larracharte et al., 2021; Wellnitz et al., 2022). A existência de correlação entre o nascimento no início da época de partos e uma maior longevidade, tendo as vitelas nascidas mais cedo, maior probabilidade de obtenção de um maior tamanho e, por isso, maior probabilidade de serem seleccionadas para reprodutoras (Wellnitz et al., 2022). Indicam também que fêmeas nascidas de vacas com idades moderadas (5 anos ou mais velhas), foram mais produtivas que as nascidas de animais mais jovens (menos de 4 anos de idade). A longevidade é uma das características utilizadas pelos criadores na selecção dos seus animais. Ainda que os critérios de selecção das novilhas para recria variem entre os criadores, normalmente incluem a produtividade da mãe e as suas aptidões maternais. Uma maior longevidade poderá ser um indicador de potencial produtividade da sua descendência (Wellnitz, et al., 2022).

A longevidade deve ser uma parte essencial dos objetivos de selecção, pois reflete a capacidade de um animal se adaptar às condições ambientais de determinado sistema de produção. A heritabilidade da longevidade produtiva em bovinos leiteiros e de carne é, segundo vários autores, baixa, dependendo a melhoria deste parâmetro, sobretudo de práticas de manejo (Shao et al., 2021). Brazáková et al. (2019), num trabalho realizado com diversas raças e uma amostra de 21.895 animais, referem um valor de $h^2=0,096$. No entanto, a baixa heritabilidade não significa que através da selecção genética não se possa alterar a performance fenotípica (Berry et al., 2014). Oliveira et al. (2020) obtiveram valores mais altos de heritabilidade para animais com morte por problemas estruturais ou doença, valores intermédios para mortes por causas naturais e valores mais baixos de heritabilidade para animais refugados por produtividade e fertilidade ou causas mistas.

O melhoramento da longevidade através da selecção genética apresenta ainda outras limitações: trata-se uma característica só avaliável no fim da vida do animal, a sua melhoria aumenta o intervalo entre gerações e a falta de informação inerente às razões do refugo pode enviesar as avaliações genéticas e genómicas (Oliveira et al., 2020).

O número de anos que um animal se mantém ativo como reprodutor pode variar entre 3 e 10, em função do sistema de exploração, da raça, dos indivíduos avaliados, mas, sobretudo do manejo a que os animais são submetidos (Ménissier y Bouix, 1992). Wellnitz et al. (2022) referem que as fêmeas devem permanecer no efectivo reprodutor tempo suficiente para diluir o custo da sua cria e dar lucro. Esse ponto é normalmente atingido após os cinco anos de idade, tendo fêmeas de raça Angus obtido uma longevidade produtiva (do primeiro parto ao fim da vida) de $4,49 \pm 0,13$ anos e $6,68 \pm 0,12$ desde o nascimento ao fim da vida. Parish (2010) refere que a longevidade de vacas aleitantes para obtenção do óptimo retorno económico situa-se entre 8 e os 11 anos. Em fêmeas de raças ibéricas são indicados longevidades produtivas superiores aos 8 anos de idade. Na raça Alentejana a vida produtiva média foi de 9 anos (Afonso et al., 1996); 10,5 anos na Avileña Negra-Ibérica (Fernández y Alenda, 1999), 4,3 anos na Rubia Gallega (Cantalapiedra, 2003), 11,1 na Hereford, 11,0 na Aberdeen Angus, 10,6 na Limousine e 10,9 na Charolesa (Dákay et al., 2005).

A valorização dos animais de refugo depende da sua condição corporal e saúde. Eles são uma fonte de rendimento, sendo importante a detecção de sinais de fim de vida produtiva de um animal e refugá-lo de forma à sua valorização. Entre 50 a 75% dos refugos de uma exploração devem-se a causas do foro reprodutivo, seguindo-se a morte natural e problemas físicos e de locomoção (Dextre, 1978; Vaccaro et al., 1983, Parish, 2010). Nos efectivos Angus, o refugo tem como principais causas a não-gestação, baixa produtividade, dificuldades de parto e reduzida aptidão maternal (Wellnitz et al., 2022).

Para Oliveira et al. (2020) 90% dos animais foram refugados com menos de 12 anos, apenas 7% das vacas tiveram mais de 10 partos e cerca de 20% tiveram apenas um parto. Valores semelhantes são indicados por Brazáková et al. (2019), com 22% na Chéquia refugadas com apenas um parto. Relativamente à idade de refugo por morte natural, Oliveira et al. (2020) obtiveram 9,8 anos, com apenas 10% dos animais refugados devido a problemas de produtividade.

Este trabalho teve como objectivo determinar a longevidade produtiva de fêmeas Aberdeen-Angus em Portugal, o número de partos e os efeitos da pelagem, região de origem e mudança de exploração.

MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho foram usados dados do Livro Genealógico Português da Raça Aberdeen-Angus (LGPRAA) relativos a 836 animais, nascidos em Portugal entre 2008 e 2022, cuja vida produtiva decorreu totalmente em Portugal, com pelo menos um parto com término da vida produtiva por abate, morte natural ou causa desconhecida. A utilização de dados provenientes do LGPRAA validados e sincronizados com o Sistema Nacional de Identificação e Registo Animal (SNIRA) permite identificar todos os partos de um animal ao longo da sua vida, mesmo que este tenha sido transferido para uma exploração de um criador não aderente ao LGPRAA ou que o criador não tenha efetuado a sua correcta comunicação, tornando também possível a determinação da causa da saída da exploração. Considerando as diferenças de sistemas de produção e das condições edafo-climáticas, os animais foram agrupados conforme a região de nascimento: Região Autónoma dos Açores (80 - 9,6%) ou Continente (756 - 90,4%). A pelagem poderá afetar adaptabilidade dos animais, da mesma forma que a mudança de distrito ao longo da vida. pelagem: Preta (625 - 74,8%) ou Vermelha (211 - 25,2%); se mudaram (351 - 42%) ou não de distrito ao longo da vida produtiva (485 - 58%). Dados de animais exportados, valores irrealistas ou registos com lacunas não foram contabilizados. Recorreu-se a um modelo linear geral (GLMm), com o software IBM SPSS Statistics versão 29.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A longevidade produtiva (LP) foi de $44,6 \pm 1,0$ meses, com um máximo de 147,1 e um mínimo de 0,0 meses, sendo este relativo às vacas que morrem no parto. Estes valores são inferiores aos indicados por Wellnitz et al. (2022), Oliveira et al. (2020), e aos obtidos para raças ibéricas, com excepção da Rubia Gallega (Cantalapiedra, 2003).

O final da vida produtiva deveu-se a saída dos animais da exploração para abate (61,6%), morte natural (30,8%) e por causa desconhecida (7,6%).

Verificou-se um número de partos de $3,6 \pm 0,1$, um máximo de 13 e um mínimo de 1, sendo a moda 1 parto (22,4%), com 2,4% dos animais registaram 10 ou mais partos, em concordância com Oliveira et al. (2020).

Verificou-se que a LP apresentou diferenças significativas ($p < 0,001$) em todos os parâmetros avaliados. Os animais nascidos no continente apresentaram uma LP superior aos animais (1400,44 $\pm$ 962 dias) nascidos na Região Autónoma dos Açores (947,65 $\pm$ 830 dias). Na pelagem, os animais vermelhos (1634,78 $\pm$ 1095 dias) apresentaram uma LP superior aos pretos (1263,37 $\pm$ 890 dias). No que respeita à permanência ao longo da vida num dado Distrito, verificou-se que os animais que mudaram de região apresentaram uma LP superior (1490,66 $\pm$ 982 dias) aos que permaneceram no mesmo Distrito (1260,46 $\pm$ 930 dias) (Tabela 1).

Tabela 1 – Longevidade Produtiva fêmeas Aberdeen-Angus (dias)

	Região de Origem		Pelagem		Mudança de Região	
	Continente	Açores	Preta	Vermelha	Sem Mud	Com Mud
LPP	1400,4 $\pm$ 962	947,7 $\pm$ 830	1263,4 $\pm$ 890	1634,8 $\pm$ 1095	1260,5 $\pm$ 930	1490,7 $\pm$ 982 dias
N	756	80	625	211	485	351
	$p < 0,001$		$p < 0,001$		$p < 0,001$	

A ausência de trabalhos sobre o tema não possibilita a comparação dos resultados. O número de fêmeas activas no Livro de Adultos triplicou entre 2015 e 2022 o que se justifica pela recente introdução da raça em Portugal, na década de 2000, a reduzida faixa etária do efetivo, a elevada exportação de reprodutores e adesão de novos criadores à raça.

CONCLUSÃO

A longevidade produtiva foi inferior à obtida por outros autores, assim como o número de partos por fêmea. O elevado número de animais exportados originou uma diminuição significativa do tamanho da amostra. O reduzido número de partos por fêmea poderá estar influenciado por uma elevada taxa de refugo, fruto da pressão de selecção empregue pelos criadores, sendo aconselhável, em futuros trabalhos, uma identificação mais precisa das causas do refugo.

Devido ao crescimento da raça em Portugal, o número de animais que cumpram os requisitos definidos neste trabalho, aumentará significativamente nos próximos anos, possibilitando uma avaliação mais rigorosa da longevidade produtiva, que inclui a longevidade total e o número de partos em função da idade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Afonso, F.P.; Gama, L.T.; Carolino, R.N.; Almeida, J.M.; 1996. Gestão do Património genético, consanguinidade e depressão consanguínea num efectivo bovino de raça Alentejana. Rev. Portuguesa de Zootecnia, 2:31-44.

Araújo, J.P., 2011. Caracterización etnológica, genética y productiva de la raza bovina Minhota. Publisher: Editorial Académica Española; LAP Lambert Academic Publishing GmbH & CO. KG. Saarbrücken, Germany. ISBN: 978-3-8443-4784-5.

Berry, D. P.; Wall, E.; Pryce, J. E.; 2014. Genetics and genomics of reproductive performance in dairy and beef cattle. Animal (2014), 8:s1, pp 105–121; <https://doi.org/10.1017/S1751731114000743>.

- Brazáková, M.; Zavadilová, L.; Příbyl, J.; Pešek, P.; 2019. Estimation of genetic parameters for female fertility traits in the Czech Holstein population. *Czech Journal of Animal Science*, 64, 2019 (5): 199–206. <https://doi.org/10.17221/51/2018-CJAS>
- Cantalapiedra, J.; 2003. Caracterización genética, etnológica y reproductiva de la raza bovina Rubia Gallega: aplicación al programa de mejora genética. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria, Universidad de Santiago de Compostela.
- Dákay, I.; Márton, D.; Lengyel, Z.; Torok, M.; Vincze, Zs.; Szábo, F.; 2005. Study on the longevity of beef cows of different breeds. 56th Annual Meeting of the European Association of Animal Production, Uppsala, Sweden, 5-8 June, 2005. Book of Abstracts of Session 5 – Poster 27:55.
- Dextre, E.J.; 1978. Evaluación genético reproductiva y causas de la eliminación de los animales en los establos lecheros en la irrigación de San Felipe. Tesis. Universidad Agraria la Molina. Lima, Perú.
- Fernández, M.T.; Alenda, R.; 1999. Pesos económicos en vacuno de carne de la raza Aveileña-Negra-Ibérica para la aplicación de un programa de mejora. *ITEA*, 20 (1): 339-341.
- Larracharte, A.; Espasandin, A.C.; Urioste, J.I.; 2021. Longevity and reproductive traits in Angus Cattle: Genetic parameters, predicted and realized genetic change. *Livestock Science*, Volume 250, August 2021, 104604. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2021.104604>.
- Ménissier, F.; Bouix, J.; 1992. Les bovins et ovins producteurs de viande. In *Eléments de génétique quantitative et application aux populations animales*, Productions Animales, número hors série, Ed. INRA, 11-23. <https://doi.org/10.20870/productions-animales.1992.5.HS.4254>.
- Oliveira H. R.; Brito, L. F.; Miller, S. P.; S. Schenkel, F. S.; 2020. Using Random Regression Models to Genetically Evaluate Functional Longevity Traits in North American Angus Cattle. *Animals* 2020, 10, 2410; <https://doi.org/10.3390/ani10122410>. Parish, J.; 2010. Beef Cow Longevity; Mississippi State University: Starkville, MS, USA, 2010.
- Rogers, P.L.; Gaskins, C.T.; Johnson, K.A.; MacNeil, M.D.; 2004. Evaluating longevity of composite beef females using survival analysis techniques. *J. Animal Sci.*, 82: 860-866. [10.2527/2004.823860x](https://doi.org/10.2527/2004.823860x)
- Shao, B.; Sun, H.; Ahmad, M.J.; Ghanem, N.; Abdel-Shafy, H.; Du, C.; Deng, T.; Mansoor, S.; Zhou, Y.; Yang, Y.; Zhang, S.; Yang, L.; Hua, G.; 2021. Genetic Features of Reproductive Traits in Bovine and Buffalo: Lesson From Bovine to Buffalo. *Frontiers in Genetics*, 12:617128. <https://doi.org/10.3389/fgen.2021.617128>.
- Vaccaro, L.; 1990. Survival of European dairy breeds and their crosses with Zebus in the tropics. *Animal Breeding Abstracts*, 58 (6): 475-490.
- Wellnitz, K.R.; Parsons, C. T.; Dafoe, J. M.; Boss, D. L.; Wyffels, S. A.; DelCurto, T.; Van Emon, M.L.; 2022. Impacts of Dam Age on Lifetime Productivity of Angus Replacement Beef Females. *Animals* 2022, 12, 2768. <https://doi.org/10.3390/ani12202768>

REVISTA
PORTUGUESA DE
ZOOTECNIA



APAZ