**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

JOSÉ CARLOS GUILARDI PACHECO

**Fotossensibilização em cordeiros recriados e
suplementados em pastagem de *Brachiaria brizantha*
cv. Marandu**

**PIRASSUNUNGA
2014**

JOSÉ CARLOS GUILARDI PACHECO

**Fotossensibilização em cordeiros recriados e
suplementados em pastagem de *Brachiaria brizantha*
cv. Marandu**

Tese apresentada à Faculdade de Zootecnia
e Engenharia de Alimentos da Universidade
de São Paulo como parte dos requisitos para
obtenção do Título de Doutor em Zootecnia

Área de Concentração: Qualidade e
Produtividade Animal

Orientador: Prof. Dr. Valdo Rodrigues
Herling

PIRASSUNUNGA
2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Serviço de Biblioteca e Informação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos
da Universidade de São Paulo

P116f Pacheco, José Carlos Guilardi
Fotossensibilização em cordeiros recriados e
suplementados em pastagem de Brachiaria brizantha cv.
Marandu / José Carlos Guilardi Pacheco. -- Pirassununga,
2014.
103 f.
Tese (Doutorado) -- Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo.
Departamento de Zootecnia.
Área de Concentração: Qualidade e Produtividade
Animal.
Orientador: Prof. Dr. Valdo Rodrigues Herling.

1. Fotossensibilização 2. Brachiaria brizantha
3. Saponina 4. Hepatoprotetores 5. Cordeiros. I. Título.

DEDICATÓRIA

À minha família:

Pedro Evaristo Albino Pacheco (*in memorian*), Ana Rosa Guilardi Pacheco, Vilson Guilardi Pacheco (*in memorian*), Paulo Leandro Guilardi Pacheco e Adriano G. Pacheco, pelo apoio e incentivo em todos os momentos.

A minha esposa Carla A. Batista Lorigados, com amor, admiração e gratidão por tudo o que representas para mim.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom de minha vida.

Ao Dr. Ubiraem Mário Schalch , diretor técnico do CAEP – USP – Pirasununga-SP pela oportunidade mais uma vez concedida.

Ao meu orientador Prof. Dr. Valdo Rodrigues Herling, pela orientação, amizade e oportunidade.

Ao Zootecnista Wilson A. Marchesin pela produção da ração utilizada neste experimento (Rações Comigo).

A Kemin pelo fornecimento do cloreto de colina.

Ao Prof. Dr. Eduardo Harry Birgel Júnior e a Dr^a Daniela Becker Birgel pela utilização do Laboratório Multiusuário de Ensino, Pesquisa e Extensão em Análises Clínicas Veterinária do Curso de Medicina Veterinária - FZEA –USP.

A Médica Veterinária Danielle Passarelli do curso de Medicina Veterinária - FZEA – USP pela realização das análises bioquímicas.

Ao Prof. Dr. Marcos Barbosa Ferreira –(UNIDERP) e a Dr^a Valquíria Barbosa Nantes Ferreira (Insituto de Química – UFMT), pela realização das dosagens de saponina.

Ao Prof. Dr. Ricardo A. A. Lemos e a Médica Veterinária Tatiane Cargnin Faccin do Departamento de Patologia Animal da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul pela realização dos exames histopatológicos.

Ao Prof. Dr. César Gonçalves de Lima da FZEA- USP, pela execução da análise estatística.

Aos pós-graduandos do Departamento de Ciências Agrárias – FZEA – USP: César, João, Fábio, Gabriela e Celso.

Aos participantes do Grupo de Estudos em Forragicultura e Pastagens (GEFEP) pelo apoio prestado.

Aos pós-graduandos do Curso de Medicina Veterinária e Zootecnia - FMVZ – USP: Eduardo e Flávio.

Aos estagiários do Departamento de Ciências Agrárias – FZEA – USP: Celso, Murilo, Eduardo, Caio, Willian e Jessica.

A FAPESP pelo apoio financeiro ao projeto.

A todos que direta ou indiretamente participaram deste trabalho.

“Lembra-te também do teu Criador nos dias da tua mocidade, antes que venham os maus dias, e cheguem os anos dos quais venhas a dizer: Não tenho neles contentamento; e o pó volte à terra, como o era, e o espírito volte a Deus, que o deu.”

(Eclesiastes, 12:1 e 7)

Resumo

PACHECO, J. C. G. Fotossensibilização em cordeiros recriados e suplementados em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. 2014. ____ 101f. Tese. (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2014.

Fotossensibilização refere-se ao aumento da resposta à radiação ultravioleta da luz solar, causada por um agente fotodinâmico na pele. A sensibilidade à fotossensibilização de 80 cordeiros mestiços desmamados e manejados em lotação rotativa, durante 120 dias, foi avaliada em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. Os cordeiros foram suplementados a 1% do seu peso corporal com os tratamentos, a saber: A - suplemento basal com 12% PB; B – suplemento com 18% de PB; C – suplemento com 18% de PB + propionato de Zn e D – suplemento com 18% de PB + cloreto de colina protegida. Ao término do experimento os animais foram abatidos. Os objetivos foram: avaliar o efeito da adaptação dos animais suplementados às condições de manejo em *Brachiaria brizantha* e a toxidez da planta aos cordeiros; caracterizar as causas da fotossensibilização; viabilizar o possível controle da verminose associada ao manejo de cordeiros em lotação rotativa e à suplementação mineral e proteica, com ou sem adição de aditivos; relacionar os teores de saponina e a presença de esporos de *Pithomyces chartarum* em amostras da forragem à ocorrência de casos de fotossensibilização hepatógena. O delineamento experimental foi em blocos completos e casualizados, com quatro tratamentos e quatro repetições, num total de 5 animais por tratamento. Realizou-se a análise da variância para as variáveis e as médias foram comparadas pelo teste t-Student ao nível de significância de 5%. Foram observadas baixas contagens de esporos de *Pithomyces chartarum* (0 – 15.000 esporos) na parte senescente da planta. A concentração de saponina protodioscina variou de 0,52 a 0,65%. Do 8º ao 58º dia ocorreram 20% de mortalidade dos animais. A avaliação histopatológica, do fígado dos animais que vieram a óbito, foi compatível com as lesões causadas pela saponina. Os padrões histológicos das lesões hepáticas encontradas nos animais, ao final do experimento, não diferiram entre os tratamentos, bem como para as análises bioquímicas: colesterol, triglicerídeos, bilirrubinas, proteína total, albumina, creatinina, ureia, AST, GGT. Ocorreram diferenças nas concentrações séricas de bilirrubinas, proteínas, albumina, AST, GGT, ureia, creatinina, colesterol, triglicerídeos, entre cordeiros sobreviventes e os que morreram. O método rotativo foi efetivo no controle da verminose, ficando a contagem de ovos por grama de fezes (OPG) abaixo de 500 ao final do experimento, não ocorrendo diferença entre os suplementos proteicos e entre os aditivos utilizados. Não houve efeito no desempenho dos cordeiros, que chegaram ao final do experimento, pela inclusão de suplementos proteicos e de aditivos.

Palavras chave: hepatoprotetores, histopatologia, *Pithomyces chartarum*, saponina

Abstract

PACHECO, J. C. G. **Photosensitization on lambs weaned and supplemented on pasture of *Brachiaria brizantha* cv. Marandu**. 2014. ____f. Tese. (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2014.

Photosensitization refers to increase in response to ultraviolet radiation from sunlight, caused by a photodynamic agent into the skin. The sensitivity of the photosensitization at 80 crossbred lambs weaned was evaluated on *Brachiaria brizantha* cv. Marandu managed in rotational grazing for 120 days. Lambs were supplemented to 1% of their body weight with different treatments: A - basal supplement with 12% CP; B - supplement with 18% CP; C - supplement with 18% CP + zinc propionate and D - supplement with 18 % of CP + protected choline chloride. At the end of the experiment the animals were slaughtered. The objectives were to evaluate the effect of adaptation of animals supplemented to handling *Brachiaria brizantha* and toxicity of the plant to lambs weaned; to characterize the causes of photosensitivity, the possible control of parasitism associated with the management of sheep grazing on rotational grazing, mineral supplementation and protein with or without the addition of additives; to relate the levels of saponin and the presence of spores *Pithomyces chartarum* in samples of forage and the occurrence of hepatic photosensitization. The experimental design was a complete randomized block design and assigned to four treatments and four replications for a total of five animals per treatment. The analysis of variance was performed and the means test t-Student a significance level of 5% for the effect of each treatment was used. Low count of *Pithomyces chartarum* spores (spores 0-15,000) in the senescent part of the plant was observed. The concentration of saponin protodioscine ranged from 0.52 to 0.65 %. Occurred between the 8^o and 58^o day mortality of 20 % of the animals. Histopathology of the liver of animals that died during the experiment was consistent with lesions determined by saponin. The histological patterns of liver lesions found in animals at the end of the experiment did not differ between treatments, as well as, for biochemical analysis: cholesterol, triglycerides, bilirubin, total protein, albumin, creatinine, urea, AST and GGT. There were differences in serum bilirubin, protein, albumin, AST, GGT, urea, creatinine, cholesterol and triglycerides between survivors and that died. The rotational grazing system was effective in the control of nematode parasites getting below 500 EPG at the end of the experiment, there was no difference between the protein concentrations, nor for the additives used. The additives zinc oxide and choline chloride did not improve the performance of sheep.

Keywords: hepatoprotective, histopatology, *Pithomyces chartarum*, saponin

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -Análise química do solo da área experimental nas profundidades de 0-10cm 10-20 cm.....	42
Tabela 2 -Composição percentual e química dos suplementos utilizados para compor os quatro tratamentos	43
Tabela 3 -Frequências absolutas e relativas da morbidade, letalidade e mortalidade dos animais de acordo com os diferentes tratamentos	50
Tabela 4 -Alterações clínicas observadas nos 23 ovinos que apresentaram quadro compatível com fotossensibilização hepatógena	50
Tabela 5 -Concentração média de saponina protodioscina por bloco.....	52
Tabela 6 -Concentração média de saponina protodioscina por ciclo depastejo.....	52
Tabela 7 -Temperatura, umidade relativa, índice pluviométrico e radiação solar da área experimental durante os ciclos	54
Tabela 8 - Contagem de esporos do fungo <i>Phytomyces chartarum</i> em liteira, na parte senescente e verde em <i>Brachiaria brizantha</i> cv, Marandu	57
Tabela 9 —Média e erro padrão das médias da concentração sérica de colesterol, triglicerídeos, VLDL, albumina, proteína total uréia, creatinina, bilirrubinas, AST,GGT, dos 64 ovinos abatidos ao final do experimento (120 dias), nos diferentes tratamentos.....	63
Tabela 10 -Valores médios e erro padrão da concentração sérica de colesterol, triglicérides e VLDL dos 13 ovinos que vieram a óbito até o dia 30 do experimento	64
Tabela 11 —Médias e erro padrão das médias da concentração sérica de VLDL, colesterol, triglicerídeos, AST, bilirrubinas indireta, direta e total dos animais vivos e mortos por tratamento.....	67
Tabela 12 —Médias e erro padrão das médias da concentração sérica de ureia e creatinina dos 13 ovinos que vieram a óbito até o 30º dia do início do experimento.....	68
Tabela 13 —Médias e erro padrão das médias da concentração sérica de AST e GGT dos 13 cordeiros que vieram a óbito até o 30º dia de experimentação.....	69
Tabela 14 —Médias e erro padrão das médias da concentração sérica das bilirrubinas indireta, direta e total de 13 cordeiros que vieram a óbito até o 30º dia de experimentação.....	71

Tabela 15- Médias e erro padrão das médias da concentração sérica de proteína total de 13 cordeiros que vieram a óbito até o 30º dia de experimentação.....	73
Tabela 16 -Desempenho ($\text{kg.animal}^{-1}.\text{dia}^{-1}$) de cordeiros suplementados e recriados em pasto de <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu.....	74
Tabela 17 –Contagem média de ovos por grama de fezes (OPG) dos 64 ovinos de acordo com os tratamentos.....	78
Tabela 18 –Contagem média de ovos por grama de fezes (OPG) dos 64 ovinos de acordo com os períodos de coleta.....	64
Tabela 19 -Frequências absoluta e relativa das alterações observadas ao exame histopatológico do fígado e linfonodo jejunal dos 64 ovinos abatidos ao final do experimento.....	82
Tabela 20 -Frequências absoluta e relativa das alterações observadas ao exame histopatológico do fígado nos 16 ovinos que vieram a óbito durante o experimento.....	83

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Croqui da área experimental.....	41
Figura 2 - Ovinos suplementados individualmente em cada bloco.....	44
Figura 3 -Ovino apresentando alterações compatíveis com fotossensibilização. A: edema de face e lesão eritematosa em face lateral da orelha direita. B: edema localizado em região submandibular.....	51
Figura 4 -Esporo de <i>Pithomyces chartarum</i> em material senescente de <i>Brachiaria brizantha</i> cv <i>Marandu</i> . (Aumento de 40x).....	56
Figura 5 -Médias e erro padrão das médias da concentração sérica de colesterol dos animais que vieram a óbito até o 30° dia e dos que permaneceram vivos até o final do experimento.....	65
Figura 6 -Médias e erro padrão das médias da concentração sérica de triglicérides dos animais que vieram a óbito até o 30° dia e dos que permaneceram vivos até o final do experimento.....	65
Figura 7 -Médias e erro padrão das médias da concentração sérica de VLDL dos animais que vieram a óbito até o 30° dia e dos que permaneceram vivos até o final do experimento.....	66
Figura 8 –Médias e erro padrão das médias da concentração sérica de ureia dos animais que vieram a óbito até o 30° dia e dos que permaneceram vivos até o final do experimento.....	68
Figura 9 –Médias e erro padrão das médias da concentração sérica de AST dos animais que vieram a óbito até o 30° dia e dos que permaneceram vivos até o final do experimento.....	69
Figura 10 –Médias e erro padrão das média da concentração sérica de GGT dos animais que vieram a óbito até o 30° dia e dos que permaneceram vivos até o final do experimento.....	70
Figura 11 –Médias e erro padrão das médias da concentração sérica de Bilirrubina indireta dos animais que vieram a óbito até o 30° dia e dos que permaneceram vivos até o final do experimento.....	71
Figura 12 –Médias e erro padrão das médias da concentração sérica de Bilirrubina direta dos animais que vieram a óbito até o 30° dia e dos que permaneceram vivos até o final do experimento.....	72

Figura 13 –Médias e erro padrão das médias da concentração sérica de bilirrubina total dos animais que vieram a óbito até o 30º dia e dos que permaneceram vivos até o final do experimento.....	72
Figura 14 -Desempenho ($\text{kg.animal}^{-1}.\text{dia}^{-1}$) de cordeiros suplementados e recriados em pasto de <i>Brachiaria brizantha</i> cv. Marandu, considerando os ciclos de pastejo no período das águas.....	74
Figura 15 – A: Cristais no interior da luz do ducto biliar de um ovino que veio a óbito e com quadro de fotossensibilização , B: Imagem negativa de cristais no interior do ducto biliar	81
Figura 16- Macrófagos espumosos no interior de sinusóides hepáticos.....	81

Sumário

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1 - Fotossensibilização.....	16
2.2 <i>Pithomyces chartarum</i>	19
2.3 Saponinas	20
2.4 Histopatologia	23
2.5 Colina.....	25
2.6 Zinco	28
2.7 Controle parasitário.....	32
2.8 Bioquímica	36
3.HIPÓTESES.....	40
4.OBJETIVOS.....	40
5 MATERIAL E MÉTODOS	40
5.1 Área e estrutura	40
5.2 Correção e adubação dos pastos	41
5.3 Animais e alimentação	42
5.4 Controle parasitário.....	44
5.5 Exames Bioquímicos.....	45
5.6 Contagem de esporos do <i>Pithomyces chartarum</i> e dosagem de saponina	45
5.7 Histopatologia	46
5.8 Análise estatística	47
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
7. CONCLUSÕES	87
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS	87
REFERÊNCIAS.....	89

1. INTRODUÇÃO

A exploração ovina, frente à política socioeconômica da nossa atividade agropecuária, é de fundamental importância, significando alternativa de oferta de carne às populações, principalmente as do meio rural, contribuindo para erradicar a fome e estimular a geração de emprego e renda das famílias. Entretanto, em algumas regiões de criação, a ovinocultura apresenta baixa produtividade, basicamente em razão das condições adversas do meio, do baixo nível tecnológico aplicado ao manejo e do baixo potencial genético das raças. O aumento da produtividade poderá ser obtido em curto ou médio prazo, com a melhoria do manejo, nutrição e controle sanitário, ou em longo prazo com a melhoria do potencial genético do rebanho (SILVA et al., 1995).

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2013), o rebanho de ovinos no Brasil é de 17.662.201 cabeças, e existe demanda crescente por carne ovina, visto que o Brasil precisa importar este produto para suprir o mercado interno. A região sudeste constitui o 4º maior produtor desta espécie com 762.133 cabeças, destacando-se o Estado de São Paulo com grande crescimento nesta atividade, e representando na região mais de 50% do rebanho (452.281 cabeças).

A pecuária nacional tem sua produção baseada, principalmente, em sistemas extensivos de produção em pasto, onde as gramíneas do gênero *Brachiaria* têm significativa importância, nas regiões Centro-Oeste, Sudeste, e Norte do Brasil, por sua alta produção de massa seca, fácil difusão, boa adaptação a diferentes solos, por crescer a maior parte do ano, e pelo baixo custo da área cultivada (FERRAZ, 2003).

A *Brachiaria brizantha* (Hochst, ex. A. Richt) Stapf cv. Marandu foi introduzida em 1983 pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) e, gradualmente, foi substituindo a *Brachiaria decumbens* em grandes áreas. Segundo a Associação Brasileira de Sementes (ABRASEM, 2013), a comercialização de sementes do gênero *Brachiaria* corresponde ao redor de 80% de todas as sementes de plantas forrageiras tropicais.

Mesmo frente a esta vasta extensão de pasto formado por *Brachiaria sp*, ainda, a pecuária ovina tem enfrentado dificuldade em produzir em pastagens formadas com os capins deste gênero, devido principalmente aos casos de

fotosensibilização hepatógena, que apresenta duas possíveis etiologias: saponinas presentes na própria planta, e a esporidesmina, toxina produzida pelo fungo *Pithomyces chartarum* (Berk. e Curt.) M. B. Ellis, saprófita de vida livre na parte senescente da planta.

Devido à importância da ovinocultura, o potencial de expansão que existe e a vasta área de pasto formada por plantas forrageiras do gênero *Brachiaria*, torna-se imprescindível a busca por métodos que viabilizem a produção de ovinos nestas pastagens, amenizando as perdas decorrentes deste processo.

A suplementação proteica e energética para a produção de ruminantes na região tropical e subtropical faz-se necessária devido à marcante flutuação na qualidade e quantidade das pastagens. Nos sistemas de produção intensiva em pastagens, a oferta de proteína e energia das forragens tropicais é insuficiente para atender às exigências dos animais de maior potencial produtivo, restando o uso de estratégia como a suplementação energética e proteica (CORSI et al., 1998). Pode-se obter o benefício de adicionar aditivos a esta suplementação para fins específicos.

O cloreto de colina, aditivo que tem sido utilizado para prevenir distúrbios metabólicos em vacas leiteiras em período de transição (acetonemia), atua como hepatoprotetor, enquanto que o zinco (Zn), dentre inúmeras funções que exerce (antioxidante, imunoestimulante), é utilizado para prevenir casos de fotosensibilização hepatógena em bovinos e ovinos, causada por uma toxina fúngica, a esporidesmina, principalmente na Europa e Nova Zelândia.

Deste modo, o presente estudo objetivou avaliar a ocorrência de fotosensibilização em cordeiros criados em pasto de *Brachiaria brizantha* cv. *Marandu*, manejados em lotação rotativa e alimentados a 1% de seu peso corporal, com suplementos proteicos com adição ou não de aditivos, baseado nas avaliações bioquímicas de sangue, histopatológicas, de desempenho animal e de prevenção de fotosensibilização hepatógena.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 - Fotossensibilização

A fotossensibilização é um aumento da sensibilidade à radiação ultravioleta da luz solar, causada por um agente fotodinâmico na pele. Os agentes fotodinâmicos absorvem certos comprimentos de onda da luz ultravioleta, tornam-se ativados e transmitem a energia extra para as células circunjacentes, resultando em lesão celular. A exposição ao agente de qualquer tipo pode ser sistêmica, ou seja, atingindo a pele pela circulação ou por contato (RADOSTITS et al., 2002).

A fotossensibilização pode ser dividida em primária ou secundária (hepatógena); ou causada pela síntese pigmentar aberrante (porfiria congênita dos bovinos).

Na fotossensibilização primária, o agente químico ingerido atua diretamente como o agente fotodinâmico (TENNANT, 1997). Na fotossensibilização hepatógena ou secundária, a substância hepatotóxica da planta, ou agentes virais, bacterianos, fúngicos e tumorais determinam lesão hepática que interferem no metabolismo da filoeitrina, pigmento fluorescente formado a partir da clorofila nos pré-estômagos dos ruminantes. Em condições normais e sob ação de microrganismos ruminais, a filoeitrina é absorvida pela mucosa intestinal e após sofrer conjugação é eliminada pelo fígado através da bile. Quando há lesão hepática, a filoeitrina pode não ser metabolizada e passa à circulação sanguínea, alcançando finalmente a pele, onde então por ser fotodinâmica, produz reação local, por ação dos raios solares (RADOSTITS et al., 2002).

Frequentemente, é relatada morte de ovinos em pastagens de *Brachiaria sp.* por fotossensibilização, tanto em ocorrências de surtos naturais (GRAYDON et al., 1991; LEMOS et al., 1996), como experimentais (CASTRO et al., 2007; SANTOS JR., 2008), sendo este um fator que dificulta a expansão da ovinocultura, pois estas gramíneas predominam em pastagens no Brasil.

A grande maioria dos surtos de fotossensibilização é verificada em pastagens de *Brachiaria decumbens* (FAGLIARI et al., 1993; LEMOS et al., 1996; LEMOS et al., 1997; BRUM et al., 2007). São observados, também, em menor proporção em

Brachiaria brizantha (LEMOS et al., 1998; ALBERNAZ et al., 2010; MUSTAFA, et al., 2012).

As perdas econômicas provocadas por esta patologia são relevantes e atingem diferentes espécies, a saber: bovinos (FAGLIARI et al., 1993); ovinos (DRIEMEIER et al., 2002; BRUM et al., 2007, MUSTAFA, 2012); caprinos (LEMOS et al., 1998); equinos (BARBOSA et al., 2006) e bubalinos (RIET-CORREA et al., 2011). Ocorrem, principalmente, nas regiões Sudeste e Centro-Oeste (RIET-CORREA e MEDEIROS, 2001, CASTRO, 2009). A toxicidade destas plantas não é constante e uniforme, sendo afetada por diversos fatores que são pouco estudados (TOKARNIA et al., 2000).

Em levantamento de surtos na região Centro-Oeste, ocorrido com ovinos, Mustafa et al., (2012) verificou que a ocorrência se dá em qualquer época do ano e em qualquer fase da planta.

As lesões que ocorrem na pele são características e ocorrem, principalmente, em áreas de pele despigmentada ou desprotegida de pelo ou lã, e o aparecimento das lesões é muito rápido (YAGER e SCOTT, 1993). Os sintomas iniciam-se por eritema seguido por edema inflamatório, com espessamento das partes afetadas. Finalmente, ocorre necrose da pele e gangrena seca (TOKARNIA et al., 2000). Há casos hiperagudos caracterizados por rápida depressão, ausência de icterícia, hiperemia das mucosas, edema facial e de orelha e morte rápida, relatado em ovinos (SANTOS JR., 2008).

Os ovinos são mais susceptíveis do que os bovinos (RIET-CORREA e MÉNDEZ, 2007; LEMOS et al., 2009) e os animais mais jovens são mais susceptíveis que adultos. No Brasil Central, de 11 surtos em ovinos, descritos entre 2006 e 2008, 10 afetaram somente animais com menos de um ano de idade (MUSTAFA, 2012). Em bovinos são relatados quadros subclínicos, com menor produtividade e ausência de sinais clínicos (FAGLIARI et al., 1993; FIORAVANTE, 1999; MOREIRA et al., 2009).

A manifestação de sinais clínicos, após o início de pastejo, podem variar entre 10 (LEMOS et al., 1997), 40 (TORRES e COELHO, 2001), 50 (BRUM et al., 2007), 77, 89 e 150 dias (DRIEMEIER et al., 2002) ou mesmo até 5 meses (SCHENK et al., 1991). Os sinais clínicos em ovinos ocorrem de maneira mais aguda e severa em animais jovens que não tiveram contato anterior com a pastagem. Observa-se apatia; anorexia; fotofobia; edema das orelhas, periocular e da face; hiperemia da

conjuntiva e secreção ocular bilateral. Estes animais não apresentam icterícia e o curso clínico é de 24-96 horas. Os primeiros sinais ocorrem 7-10 dias ou até 50 dias após o acesso ao pasto.

Em animais com pelagem preta não ocorrem lesões características de pele, porém manifestam edema de face, edema periocular, com epífora e conjuntivite (CASTRO et al., 2007; SANTOS JR., 2008; MUSTAFA et. al, 2012). O quadro clínico mais frequente evolui de subagudo a crônico no intervalo de 15 a 45 dias. Neste caso, os animais podem apresentar anorexia, depressão, perda de peso, edema da face e orelhas, corrimento ocular e nasal purulento, cegueira, fotofobia com contínuos movimentos da cabeça, icterícia e dermatite da face e orelhas. Em ovinos deslanados e de pele branca pode haver dermatite em outras áreas brancas da pele. Essas formas subagudas ou crônicas podem afetar tanto ovinos introduzidos em pastagens de *Brachiaria*, quanto ovinos já adaptados às mesmas (CASTRO et al., 2007; SANTOS JR., 2008, SATURNINO et al., 2010).

Mustafa et. al, (2012), em revisão de 18 casos de surto de intoxicação *Brachiaria sp.* na região Centro-Oeste, observou 15,4 a 57,1% de morbidade; 15,0 a 42,8% de mortalidade e 29,4 a 86,5% de letalidade.

O primeiro relato de fotossensibilização hepatógena em pastagem de *Brachiaria sp.*, no Brasil, foi em 1975 (DRIEMEIER et al. 1999, TOKARNIA et al. 2000).

Inicialmente, essa síndrome foi atribuída à presença do fungo *Pithomyces chartarum* produtor da toxina esporidesmina (NOBRE e ANDRADE, 1976; TOKARNIA et al., 1979; FAGLIARI et al., 1990; FIORAVANTI, 1999).

Alterações histológicas de colangiohepatopatia, associada a cristais, semelhantes às encontradas nas intoxicações por *Panicum sp.*, *Nartheceum ossifragum* (MILES et al., 1991), *Agave lecheguillae*, *Tribulus terrestris* (JACOB e PEET, 1987), foram observadas em animais que desenvolvem fotossensibilização em pastagens de *Brachiaria*. Isto levou alguns pesquisadores relatarem que, possivelmente, as plantas deste gênero, também, possuíam saponinas litogênicas. O isolamento de sapogeninas de extratos purificados de conteúdo ruminal de ovinos intoxicados por *Brachiaria decumbens* reforçaram esta teoria (SALLAM ABDULLAH et al., 1992; CRUZ et al., 2001; LAJIS et al., 1993).

Alguns pesquisadores mencionam serem as saponinas responsáveis pelos quadros de intoxicação de animais consumindo plantas forrageiras deste gênero

(SMITH e MILES, 1993; LEMOS et al., 1996; LEMOS et al., 1997; LEMOS et al., 1998; CRUZ et al., 2000; DRIEMEIER et al., 2002).

2.2 *Pithomyces chartarum*

Pithomyces chartarum é um fungo mitospórico, enquadrado entre os hifomicetos da família Dematiaceae (Deuteromycota). Possui micélio pigmentado com conidióforos simples, pouco diferenciados. Cada conidióforo origina um conídio terminal. Os conídios são verrugosos, de pigmentação escura e com 3-4 (maioria 3) septos transversais (RUSSOMANNO et al., 2003).

O fungo é cosmopolita e considerado saprófito em vegetais. A sua ocorrência já foi constatada em todos os continentes, em cerca de 40 espécies de vegetais, pertencentes a diversos gêneros (CINTRA et al., 1977).

A ocorrência de *Pithomyces chartarum* está diretamente ligada à ecologia desse fungo. Ele vive em material vegetal morto e, no decorrer das estações, a sua sobrevivência está condicionada, principalmente, a três fatores: umidade, temperatura e substrato, sendo que os dois primeiros influenciam todos os estágios de desenvolvimento desse microrganismo. Sua disseminação é feita pela dispersão dos esporos no ar, acima da pastagem, em tempo seco e ventoso. Os esporos instalam-se sobre o hospedeiro, no qual se desenvolvem, apenas, de forma saprófita, nas folhas mais velhas. Quando as condições climáticas se tornam favoráveis, ou seja, quando ocorrem temperaturas na faixa de 18° a 27° C e intensa umidade relativa (ao redor de 96%), provocada por períodos chuvosos ou abundante orvalho, que garanta esta umidade durante 12 horas ou mais, há significativa infestação da pastagem, com intensa esporulação das colônias (RUSSOMANO et al., 2003).

A intensificação do pastejo constitui condição que favorece o desenvolvimento da pitomicototoxicose, o que provavelmente, obriga os animais a ingerir o capim rente ao solo (SMITH e TOWERS, 2002).

Dimena et al. (1973) relataram que a estreita associação entre produção de esporos e esporulação fornece subsídios para afirmar que a contagem de esporos é um índice confiável do grau de toxicidade das pastagens. Alvariza (1993) acrescenta que a toxicidade das pastagens depende da quantidade mínima de 40.000 esporos/g na massa vegetal morta, e o mínimo de 100.000 esporos/g na pastagem

para ocorrer morte dos animais. Segundo Tokarnia et al. (2000), o número de esporos considerado potencialmente tóxico é de 200.000 esporos/g de pastagem.

Meagher et al. (1996) relataram que a presença e quantidade de esporos na pastagem não é suficiente para determinar que o fungo seja responsável pela manifestação, sendo necessário que ele seja produtor de esporidesmina. Observaram, também, que amostras de *Brachiaria decumbens*, causadora do surto de fotossensibilização hepatógena, continham menos que 5.500 esporos de *Pithomyces chartarum* por grama de pasto seco e nenhum dos 21 isolados do fungo produziram esporidesmina.

No Brasil, Andrade et al. (1978) realizaram um estudo, em condições controladas de laboratório, sobre a atividade toxigênica de *Pithomyces chartarum* e observaram que as amostras isoladas não apresentavam a produção de esporidesmina. Collin et al. (1996) analisaram amostras de diversos países e verificaram a produção de esporidesmina em 138 de 207 (66,6%) isolados da Austrália, em 336 de 391 (85,93%) da Nova Zelândia, em 51 de 182 (28,02%) do Uruguai e apenas 1 de 51 (1,96%) do Brasil. Estas amostras brasileiras (21 do Estado de Goiás e 30 do Mato Grosso), formadas de *Brachiaria sp.*, produziram casos de fotossensibilização.

Existem estudos que indicam que as cepas produtoras da toxina da Nova Zelândia são geneticamente diferentes das cepas não produtoras da esporidesmina da África do Sul e da América (BEEVER e PARKES, 1993), sendo que os esporos das cepas da Nova Zelândia são sempre tóxicos (SMITH e MILES, 1993).

No Brasil a participação da esporidesmina na fotossensibilização hepatógena, que ocorre nos pastos de *Brachiaria sp.* não tem sido confirmada. Diversos autores relatam casos de intoxicação por braquiária em animais que se encontram em pastos, onde os esporos de *Pithomyces chartarum* não são detectados ou são detectados em baixas concentrações (LE MOS et al., 1996; CRUZ et al., 2000; BRUM et al., 2007; CASTRO et al., 2007; MENDONÇA et al., 2008; SANTOS JR., 2008; MOREIRA et al., 2009).

2.3 Saponinas

As saponinas são substâncias derivadas do metabolismo secundário vegetal, relacionadas ao sistema de defesa. São encontradas nos tecidos mais vulneráveis

ao ataque de fungos, bactérias ou insetos, e estão presentes em pelo menos 400 espécies de 60 famílias de plantas (WINA et al., 2005).

Em sua estrutura encontra-se uma porção lipofílica (triterpeno ou esteroide) e outra hidrofílica (açúcares), com propriedade de redução da tensão superficial da água e suas ações detergentes e emulsificantes (SCHENKEL et al., 2007).

Nas plantas, as saponinas são encontradas em órgãos como raiz, tubérculo, casca, folha, semente e fruto. As saponinas triterpênicas são encontradas principalmente nas dicotiledôneas, enquanto que as saponinas esteroidais ocorrem nas monocotiledôneas, que abrangem as gramíneas (SCHENKEL et al., 2007).

A capacidade de formar complexos com esteroides, proteínas e fosfolípidos nas membranas celulares determina várias propriedades biológicas para essas substâncias, destacando-se sua ação nas membranas celulares, alterando sua permeabilidade, ou causando sua destruição. Relacionadas com essa ação nas membranas estão as atividades hemolíticas, ictiotóxicas e moluscolicida (SCHENKEL et al., 2007).

O princípio tóxico presente em *Brachiaria sp.* é um componente da própria planta, identificado como sendo uma saponina litogênica, que causa hepatotoxicidade, obstrução de ductos biliares e fotossensibilização (GRAYDON et al., 1991; SALAM ABDULLAH et al., 1992; LEMOS et al., 1997; DRIEMEIER et al., 1999; WISLOFF et al., 2002; BRUM et al., 2007; SANTOS JR, 2008).

As saponinas esteroidais litogênicas contidas em *Brachiaria sp.* levam à formação de cristais no sistema biliar. A hidrólise das braquiárias resulta em sapogenina, diosgenina e yamogenina, que após passarem pelo metabolismo no trato digestivo dos animais vão resultar nas sapogeninas epismilagenina e episarsa sapogenina, que se conjugam com o ácido glicurônico, formando glicuronídeos, que se ligam aos íons de cálcio e formam sais insolúveis que se depositam na forma de cristais (MEAGHER et al., 1996). Saponinas esteroidais capazes de induzir fotossensibilização hepatógena foram isoladas de *Brachiaria decumbens* (SMITH E MILES, 1993; MEAGHER et al., 1996; PIRES et al., 2002; HARAGUCHI et al., 2003). De um lote de 28 ovinos, pastejando *Brachiaria brizantha*, Brum et al. (2007) isolaram pela primeira vez a protodioscina, uma saponina esteroidal furostânica, em um surto em que 7 animais foram acometidos e 6 animais morreram, sendo a principal saponina encontrada em *Brachiaria sp.* (BRUM et al., 2009; CASTRO et al., 2009; MUSTAFA et al., 2012, SATURNINO, 2010).

Em um experimento numa pastagem de *Brachiaria brizantha*, os níveis de protodioscina foram significativamente maiores nas folhas verdes do que nas folhas maduras ou senescentes, sendo respectivamente 3,61% nas folhas novas; 1,94% nas folhas maduras e 1,01% nas folhas senescentes. (BARBOSA-FERREIRA et al., 2011).

Em pastagens brasileiras estudos mostraram que a concentração da saponina protodioscina, em cultivares de *Brachiaria decumbens* e *Brachiaria brizantha*, varia de acordo com a fase de desenvolvimento da gramínea. Na fase final do ciclo de vida das plantas, onde estão verdes e com a queda de sementes, apresentam os maiores teores de saponina (BRUM, 2006).

Moreira et al. (2007) encontraram teores de saponina em pastagens de *Brachiaria* e *Andropogon*, respectivamente, de 0,03 a 1,09% e de 0,02 a 0,17%, sendo as maiores concentrações observadas na estação chuvosa, quando os pastos eram ocupados por bovinos do desmame até o abate, sem manifestação de sintomas clínicos.

Brum et al. (2007) encontraram concentração de 2,36% de protodioscina em um pasto em crescimento de *Brachiaria decumbens* que causou intoxicação em ovinos. Em pastagem de *Brachiaria decumbens*, Castro (2007) constatou teores de protodioscina variando de 1,06% na rebrotação até 0,56% na pastagem seca, em diferentes períodos e com animais adaptados e não adaptados à *Brachiaria decumbens*. Dos 10 animais não adaptados, 9 ficaram doentes e 2 morreram, enquanto que dos animais adaptados, apenas um animal adoeceu e morreu.

Gracindo (2010) avaliou o ganho de peso de cordeiros nascidos em pasto de *Brachiaria sp.*, e recriados em pastos de diversas espécies, cujos teores médios de protodioscina foi de 0,86% em *Brachiaria decumbens*; 0,54% em *Brachiaria brizantha*; 0,0% em *Panicum maximum* e 0,12% em *Andropogon gayanus*. Neste experimento, os ganhos de peso dos cordeiros, recriados nas duas espécies de *Brachiaria*, foram semelhantes aos demais, exceto para os animais em *Andropogon gayanus* que ganharam menos peso.

Em amostras de pastagens colhidas durante cinco surtos de fotossensibilização, Mustafa (2012) verificou concentrações de protodioscina numa amplitude de 0,30% a 2,56%, sendo que houve variação em sua concentração de 2,56% a 1,29% no período chuvoso e de 0,30% a 1,6% no período seco.

Experimentalmente, foi demonstrado que pastagens de *Brachiaria decumbens*, com 15 dias de rebrotação, são mais tóxicas e contêm maior concentração de saponinas que a mesma pastagem 45 dias após o início da rebrotação, enquanto que as com 45 dias de rebrotação foram mais tóxicas que as com 90 dias (SANTOS JR. et al., 2009). Lima et al.(2009) verificaram maiores concentrações de saponinas em pastagens de *Brachiaria decumbens* comparada à *Brachiaria brizantha*.

2.4 Histopatologia

São evidenciadas na necropsia de animais: hepatomegalia, que pode apresentar cor amarelada ou com tons de marrom, às vezes com evidenciação do padrão lobular, icterícia, vesícula biliar distendida e com edema da parede, edemas subcutâneos de cor amarelada, ascite, hidropericárdio, hidrotórax, atrofia gelatinosa da gordura visceral e emaciação. O rim pode estar escurecido e a urina de coloração castanha escura. Em casos crônicos pode-se observar fígado com aumento do padrão lobular, aumentado de consistência, com áreas esbranquiçadas deprimidas ou com cápsula irregular engrossada e esbranquiçada (LEMOS et al., 1996; TOKARNIA et al., 2000; LEMOS e PURISCO, 2002; RIET-CORREA e MÉNDEZ, 2007;; MENDONÇA et al., 2008; CASTRO et al., 2009).

Cruz et al. (2001) reproduziram, após 3 a 18 dias, lesões hepáticas em ovinos pela administração oral de extratos de *Brachiaria decumbens*, porém sem a manifestação de sinais clínicos.

As lesões mais características da intoxicação por *Brachiaria sp.* são a presença de cristais birrefringentes ou sua imagem negativa nos ductos biliares ou em hepatócitos (LEMOS et al., 1996, 1997,1998; DRIEMEIER et al., 2002; SILVEIRA et al., 2009; e a presença de macrófagos com citoplasma de aspecto espumoso, as vezes contendo cristais (LEMOS et al., 1997; DRIEMEIER 1998,1999; GOMAR, 2002; GOMAR et al., 2005; SANTOS JR., 2008). Estes macrófagos são encontrados em casos agudos em ovinos (DRIEMEIER et al., 2002; CASTRO et al., 2007; 2009; SANTOS JR., 2008).

Driemeier et al. (1999) observaram a relação do surgimento de macrófagos espumosos em fígados de bovino, a partir de 1976, época de grande difusão de pastagens de *Brachiaria sp.* por sementes.

Mendonça et al. (2008), em um surto de fotossensibilização hepática em ovinos, causada pela ingestão de *Brachiaria decumbens* sem a presença de esporos do fungo *Pithomyces chartarum*, relataram o acúmulo de pigmentos biliares, hepatócitos binucleares, alguns com núcleo picnótico, e proliferação de ductos biliares.

Moreira et al. (2007) observaram lesões de Colangiohepatite em 65% de bovinos nelore (13/20) em pastos de *Andropogon gayanus* e em 70% (14/20) em pastos de *Brachiaria sp.*; presença de macrófagos espumosos em 55% dos animais em pastos de *Andropogon gayanus* e 100% em *Brachiaria sp.*; animais sem sintomas clínicos, do desmame até o abate, atingindo peso final 560,31 kg em pastos de *Brachiaria sp.* e 601,84 em pastos de *Andropogon gayanus*, porém a lotação do grupo *Andropogon gayanus* era a metade do grupo *Brachiaria sp.* Os macrófagos espumosos estavam localizados no parênquima hepático e linfonodos mesentéricos. Houve correlação negativa entre quantidade de macrófagos espumosos e peso dos animais.

Gomar et al. (2005) observaram correlação entre a presença de macrófagos espumosos e o grau de retenção biliar. Verificaram em bovinos abatidos provenientes de pastos de *Brachiaria sp.* aumento hepatocelular difuso, marcada colangite multifocal, proliferação de ductos biliares e infiltrado mononuclear na tríade portal, macrófagos espumosos no fígado e linfonodos de todos os animais, frequentemente formando células multinucleadas. Constatou um marcador para quantificar os macrófagos espumosos, porém sem definir a composição destas células.

Brum et al. (2007) constataram, no fígado de ovinos, em um surto: degeneração epitelial, necrose e hiperplasia em ductos biliares; havia também discreta quantidade de macrófagos espumosos (principalmente na região centroacinar), tumefação e vacuolização difusas de hepatócitos; imagens negativas de cristais birrefringentes dentro dos ductos biliares, macrófagos espumosos e lúmen de alguns túbulos renais.

Driemeier et al. (2002) observaram degeneração hidrópica dos hepatócitos de todos os animais, sendo mais acentuada no animal com sinais clínicos aos 89 dias. Na microscopia eletrônica as alterações foram observadas a partir de 14 dias: hiperplasia de retículo endoplasmático liso, numerosos cristais birrefringentes

citoplasmáticos (muitos delimitados por uma membrana) e lisossomos com grânulos de alta densidade.

Cruz et al. (2001) administraram extratos de *Brachiaria decumbens* não reproduzindo fotossensibilização, mas reproduziu as lesões hepáticas. Cruz et al. (1999) avaliaram dois grupos de ovinos (10 animais), observando que somente um animal manifestou fotossensibilização, sendo que a presença de macrófagos espumosos no fígado e linfonodos mesentéricos ocorreu, apenas, quando o período de ingestão foi maior, 150 dias.

A necrose hepática, lesão característica da esporidesmina não é observada nos surtos de intoxicação por braquiária no Brasil (LE MOS et al., 1996; DRIEMEIER et al., 1998; CRUZ et al., 2001; TORRES e COELHO, 2003; GOMAR et al., 2005; CASTRO et al., 2007; MENDONÇA et al., 2008; SANTOS JR., 2008).

Em fígados de búfalos abatidos em frigoríficos, provenientes de pastagens de *Brachiaria sp.*, verificaram-se marcada infiltração por macrófagos espumosos, isolados ou em grupos, e lesões às vezes severas de vacuolização de hepatócitos, enquanto que búfalos provenientes de pastagens nativas não apresentavam estas lesões (RIET-CORREA et al., 2011).

Seixas (2009) comparou casos de pitomicotoxicose no arquipélago de açores, pertencente a Portugal, aos do Brasil de aspectos clínico-patológicos com as intoxicações em bovinos, afirmando que os casos relatados no Brasil em sua grande maioria são devido à ação de saponinas, principalmente pelas diferentes apresentações das lesões, achados histopatológicos, e diferenças na ocorrência dos casos.

A esporidesmina afeta primariamente o sistema biliar, causando uma colangite obstrutiva, com extensa necrose na adventícia dos ductos com fibroplasia acentuada e cicatrização. Ocorre proliferação de tecido conjuntivo e de ductos biliares próximos ao espaço-porta (THÓT et al., 2007).

2.5 Colina

Em pesquisas realizadas tem-se observado que a colina funciona como protetor hepático, auxiliando no metabolismo energético no fígado (ZEISEL, 1992). A colina pode ser encontrada tanto em alimentos como farelo de soja, farelo de

algodão, cevada, milho, aveia, quanto em suplementos como cloreto de colina, sendo que, nessas formas ela é extensivamente degradada no rúmen. A sua degradação ruminal resulta na produção de acetaldeído e trimetilamina. O grupo metil originado da trimetilamina é subsequentemente degradado a metano (NEILL et al., 1979). Desta forma, a suplementação com colina não protegida torna-se inútil, conforme National Research Council (NRC), (2007).

Devido à alta degradabilidade das fontes de colina, faz-se necessária a utilização de métodos de proteção da mesma contra a metabolização ruminal. Sua recomendação em suplementos para ruminantes tem sido feita na forma protegida (PIEPENBRINK e OVERTON, 2003; PINOTTI et al., 2004).

Neill et al. (1979), em experimentação com ovinos, alimentados com dieta à base de feno e aveia, e considerando que toda a colina presente no abomaso é de origem dietética, calcularam que não mais do que 20-25 mg/dia escapam da metabolização ruminal, principalmente na forma de fosfatidilcolina, e que é muito possível que esta seja uma superestimativa. Isto representa uma quantidade de colina equivalente a cerca de 0,0020% -0,0025% da ingestão dietética total de matéria seca, e é uma concentração que certamente produziria graves lesões patológicas (esteatose hepática, hemorragia renal) e morte em muitas espécies não ruminantes.

Ovinos sintetizam quantidades significativas de colina em tecidos extra-hepáticos, com o músculo esquelético contribuindo com 60% desta síntese endógena, e ocorre extensivamente recirculação biliar de colina entre o intestino delgado e o fígado (ROBINSON et al., 1987). Consequentemente, os ovinos têm um grande aporte endógeno de colina com uma taxa de rotatividade lenta, e uma necessidade mínima de colina exógena (DAWSON et al., 1981)

A formação de colina endógena ocorre pela metilação sequencial de fosfatidiletanolamina, os grupos metil que são fornecidos por S-adenosil-L-metionina (ZEISEL, 2000). Grupos metil podem ser derivados a partir de fontes exógenas tais como Metionina, betaína e também colina, mas pode ocorrer também como tetraidrofolato, onde a vitamina B₁₂ também está envolvida. Todos estes elementos: colina dietética, metionina, betaína, ácido fólico, vitamina B₁₂, contribuem para que sejam atendidas as necessidades orgânicas de colina. Por esta razão, foi sugerido que a colina pode ser um nutriente essencial para os mamíferos, quando o excesso

de metionina e ácido fólico não estão disponíveis na dieta (ZEISEL, 2000). Não existem exigências nutricionais das espécies domésticas para colina (NRC, 2007).

Pinotti et al. (2005) sugerem a suplementação de colina para incremento da produção de leite, quando existe baixa ingestão de compostos relacionados com o grupo metil (metionina, folato, vitamina B₁₂), na dose de 12 – 20 g/dia, principalmente, quando as dietas são baseadas em silagem de milho, ou de proteína de baixa qualidade.

A maioria dos trabalhos publicados com cloreto de colina protegida refere sua atuação no período de transição em vacas leiteiras, no início do pós-parto, onde existe um período de balanço energético negativo. A necessidade de energia para a produção de colostro, leite e manutenção, supera a quantidade de energia fornecida pela ingestão de matéria seca. Em função disso, diversos eventos homeostáticos ocorrem com o intuito de manter o aporte metabólico para a lactação, de forma a garantir o fornecimento de energia necessária, ocorrendo mobilização da gordura corpórea (GRUMMER, 2008).

O maior potencial de uso da colina na nutrição de vacas leiteiras no período de transição tem sido focado no metabolismo de lipídeos, onde a fosfatidilcolina é necessária para a síntese e liberação de lipoproteínas de baixa densidade (VLDL) pelo fígado (OVERTON e WALDRON, 2004), sendo que a deficiência de VLDL compromete a capacidade dos hepatócitos em secretar triglicerídeos acumulados no tecido hepático, favorecendo a ocorrência de esteatose hepática, o que compromete a fisiologia hepática, reduzindo a gliconeogênese a partir do propionato, e também reduzindo a capacidade hepática de metabolizar a amônia em ureia (BERCHIELLI et al., 2006). Diversos estudos foram conduzidos com o objetivo de avaliar a produção de leite em vacas suplementadas com colina protegida. Pires e Grummer (2009) compararam 16 estudos, sendo que em seis houve aumento significativo na produção de leite ($p < 0,05$), e em outro houve tendência de aumento na produção de leite ($p < 0,15$). No entanto, não houve relação entre melhor resposta e vaca de elevada produção, de forma que as maiores respostas foram obtidas em vacas com produções médias de 30 a 35 kg de leite por dia.

Entretanto, Piepenbrink e Overton (2003), suplementando vacas leiteiras com 0, 45, 60 e 75 g de colina protegida da degradação ruminal, de 21 dias antes do parto até 63 dias pós-parto, não observaram diferença na produção de leite entre os grupos avaliados, embora as vacas suplementadas com colina protegida tenham

apresentado tendência em produzir mais leite, além disso, as vacas suplementadas com colina protegida apresentaram menor capacidade em acumular ácidos graxos não esterificados e também maior conteúdo de glicogênio no fígado, o que pode explicar a maior tendência em produzir leite pelas vacas suplementadas com colina protegida, ficando menos predispostas a quadro de cetose.

Bryant et al. (1999) utilizaram suplementação com cloreto de colina protegida, e observaram alteração no desempenho, crescimento e terminação de bovinos em dietas de alto teor de concentrado. No entanto, a resposta não é consistente entre os níveis de colina utilizados. Os autores observaram em bovinos maior peso corporal na menor concentração oferecida na dieta (0,25%), seguida por (0,50%), sendo que os pesos foram semelhantes para 0 e 1%. Sugeriram que o modo de ação do cloreto de colina parece mais provavelmente associado com mudanças no metabolismo de gordura e (ou) de hormônios relacionados ao metabolismo de gordura.

Bindel et al. (2005) não verificaram mudanças no metabolismo lipídico, detectáveis por análises séricas de bovinos em crescimento (280 kg), nem no metabolismo proteico, com doses de 5g/colina/dia.

De acordo com Pires e Grummer (2009), a maior parte dos trabalhos publicados sobre a utilização de colina protegida não contém as informações sobre a taxa de degradabilidade ruminal e sobre a biodisponibilidade pós-ruminal da fonte utilizada. Dessa forma, torna-se mais difícil avaliar a falta de resposta dos animais suplementados com colina protegida, dificultando assim informações sobre dose resposta.

Goselink et al. (2013) demonstraram pelo uso de marcadores moleculares, que o efeito benéfico da colina protegida no desempenho dos animais ocorre devido tamponamento e transporte intracelular de ácidos graxos não esterificados, pelo aumento da concentração de carnitina, melhoria da excreção de VLDL, e melhoria do metabolismo de hidratos de carbono.

2.6 Zinco

Aqueles minerais requeridos em miligramas ou microgramas são referidos como minerais traços, dentre eles o Zn, que aparece como componente de mais de 200 metaloenzimas que dele dependem, seja estruturalmente ou para atividade catalítica ou enzimática, como Cobre-Zn superóxido dismutase, anidrase carbônica,

álcool dehidrogenase, carboxipeptidase, fosfatase alcalina e RNA polimerase, com efeitos no metabolismo de carboidratos, proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos ((TRAMONTE, 1996).

A utilização de aminoácidos na síntese de proteína é prejudicada pela deficiência de Zn, o que justifica sua importância no desempenho animal. Aproximadamente um terço da absorção do Zn pelo organismo de ruminantes ocorre no abomaso, sendo o restante absorvido no intestino delgado, e levado até o fígado, que é o maior órgão de metabolismo de Zn (Conrad et al., 1985).

O Zn é o micromineral mais abundante no meio intracelular, com baixa concentração nos fluidos extracelulares (TRAMONTE, 1996). Em outros trabalhos, a recomendação de suplementação com óxido de Zn é sugerida como regenerador celular e protetor do sistema imune (BEACH et al., 1981), e que poderia auxiliar no controle de fotossensibilização produzida por esporidesmina (MUNDAY et al., 2001). No NRC (2007) constam 20 a 33 mg/kg como recomendação de cordeiro de 20 kg e ganhando 100 gramas por dia.

Embora o Zn seja encontrado nas plantas forrageiras, sabe-se que elas crescendo em solos tropicais, são deficientes em grande parte em macro e microminerais necessários aos animais domésticos. Tokarnia et al. (1999) verificaram que as pastagens brasileiras são geralmente deficitárias em Zn, sendo recomendada sua suplementação para animais em pastejo.

Segundo CONRAD et al. (1985), com o amadurecimento das plantas, o Zn tende a se deslocar para o sistema radicular, decrescendo a quantidade disponível nas folhas para a alimentação animal. Para ser absorvido (MORAES, 1998), todo mineral deve fazer uma ligação denominada quelatação com os aminoácidos livres no estômago e intestino, podendo haver competição de diferentes minerais para se ligarem aos mesmos aminoácidos, sendo esse o caso do Zn e do Co que precisam da metionina para a absorção.

Pode ocorrer interação com os elementos como cálcio (Ca), cobre (Cu) e ferro (Fe) influenciando sua absorção, e com magnésio (Mg), fosfatos e vitamina D favorecendo sua absorção. O excesso de ácido fítico, presente principalmente nas plantas forrageiras, nos cereais e nas sementes oleaginosas, diminui a absorção do Zn devido a formação de um complexo insolúvel de fitato de Zn, podendo causar deficiência. Outra causa é a falta do Zn na dieta, quando se instalam processos

infecciosos, agudos ou crônicos, e em condições de estresse prolongado. Alimentos especialmente ricos são cereais, farinha de ossos e melaço (Gonzalez, 2000).

Um grande número de quelatos de reduzido peso molecular, incluindo citrato, picolinato, ácido etileno diamino tretacético (EDTA) e aminoácidos como histidina e ácido glutâmico, atravessam a parede celular, e aumentam a absorção do Zn. Dentro das células da mucosa, a transferência de Zn é mediada pela metalotioneína, proteína produzida no fígado e cuja síntese é influenciada pelo nível de Zn da dieta e do sangue, e controla a homeostase do mineral no organismo (McDOWELL, 1992).

Quando ocorre estresse, há mobilização da metalotioneína, dependente de Zn. Essa proteína funciona como agente vigilante do órgão que necessita de Zn para sua manutenção e função, assim mobiliza o Zn endógeno e armazena-o no fígado. Esse mecanismo tem a função de manter a integridade do sistema de defesa contra agentes infecciosos (bactérias, vírus, toxinas) e atua na regeneração do tecido lesado (UNDERWOOD e SUTTLE, 1999).

Conforme Barbosa (2009), as deficiências marginais dos microminerais são de difícil diagnóstico por não apresentarem sinais clínicos característicos e, geralmente, estão associadas às interações com vários outros microminerais. Na grande maioria, a deficiência se reflete nos índices zootécnicos como baixo ganho de peso, alto índice de repetição de cio e abortos. Deficiências subclínicas de minerais afetam não somente o desempenho reprodutivo, mas também a imunidade.

A administração oral de sulfato de Zn nas doses de 0,125 - 2,0 g/dia nos dias 1 e 5, protegeu de doses de esporidesmina de 0,4 ou 0,8 mg/kg, administradas nos dias 2 - 4, reduzindo os casos clínicos e o escore de injúria hepática em proporção à dose de Zn, porém observaram redução de peso na dose de 2,0 g, indicando que este poderia ser um limite tóxico (TORRES et al., 1975).

A administração oral de Zn na dose de 30 mg/Kg para bovinos (SMITH et al., 1978) e de 25 mg/Kg para ovinos (SMITH e TOWERS, 1984), sob a forma de sulfato, carbonato, cloreto e óxido de Zn, adicionados à água de beber ou à pastagem por aspersão, tem sido relatada como terapia eficiente para minimizar os efeitos tóxicos da esporidesmina.

O Zn difere dos outros metais de transição, pois contém a camada eletrônica "d" completa e assim não participa de reações de redução, mas age como ácido de Lewis para aceitar um par de elétrons, fazendo com que seja um íon estável.

Geralmente, se complexa com aminoácidos, peptídeos e nucleotídeos e tem afinidade com grupos tióis e hidrogênio (COZZOLINO e MAFRA, 2004).

A esporidesmina contém um grupo dissulfureto, que é prontamente reduzido para o ditiol. A forma de ditiol sofre "auto-oxidação" in vitro numa reação que gera radical superóxido (O_2^-). É sugerido que os radicais livres de oxigênio possam estar envolvidos no início do efeito deletério da micotoxina (MUNDAY, 1984).

Para Munday (1984), o Zn diminuiu a taxa de formação de peróxido de hidrogênio em eritrócitos e o dano oxidativo subsequente, sugerindo que esta ação poderia estar envolvida na ação protetora de Zn.

Munday (1985) descobriu que o ferro e o cobre catalisam a auto-oxidação da esporidesmina, e o Zn tem capacidade em inibir a absorção intestinal de cobre, que pode também estar envolvido no mecanismo pela ação de seus sais na proteção contra os efeitos nocivos da esporidesmina no animal vivo, e que as lesões hepáticas causadas pela esporidesmina em ovelhas podem ser reduzidas.

Smith (1978) verificou que as vacas leiteiras foram protegidas contra a intoxicação por esporidesmina, quando administrou via oral sulfato de Zn, mas não recomendaram seu uso, devido à estreita margem entre as doses terapêuticas e tóxicas. Smith et al. (1977) observaram o mesmo efeito trabalhando com ovelhas. Verificaram que as quantidades de sulfato de Zn necessárias para se obter significativa proteção são bem superiores às necessárias para o crescimento normal e manutenção em ruminantes. Pelos resultados há indicação de que as doses orais de sulfato de Zn podem exercer grau significativo de proteção às ovelhas contra os efeitos tóxicos da esporidesmina, quando ambos são administrados durante o mesmo período. A proteção aumentava numa taxa decrescente com aumento da dose de sulfato de Zn.

Fonseca (2005), em trabalho com bovinos mestiços nelore, concluiu que a maior concentração de Zn na dieta confere maior absorção aparente, porém quando o equilíbrio metabólico é atingido, este excesso na dieta não é absorvido, sendo eliminado pelas fezes, e que fontes orgânicas tiveram melhor conversão alimentar em confinamento, mas mesmo desempenho que fontes inorgânicas.

Kincaid et al. (1997) observaram que a inclusão de cerca de 300 mg/kg de Zn-Metionina e Zn-Lisina na dieta de bezerros, aumentaram a concentração de Zn no soro, de albumina, e a concentração de Zn no fígado, comparativamente ao óxido de

Zn e ao controle. A suplementação de Zn não influenciou o consumo de ração e ganho médio diário.

Bennison et al. (2010) verificaram que altas concentrações de Zn no trato gastrointestinal pode ser associado à proteção contra esporidesmina, independentemente de assimilação na corrente sanguínea. Bolus intraruminiais de Zn podem reduzir atividades de GGT, associado às contagens elevadas de esporos. A associação entre as concentrações de Zn nas fezes e atividades de GGT sugere que uma concentração mínima de Zn no trato gastrintestinal pode ser importante na proteção contra esporidesmina.

Smith e Embling (1999) observaram que a toxicidade sobre o pâncreas, determinada pelo Zn, é maior quando o Zn é administrado após a injúria hepática provocada por esporidesmina, sendo que a margem de segurança para a utilização de Zn é reduzida se ele é administrado após injúria hepática.

Nagalakshmi et al. (2009) mostraram que a suplementação de 15 mg/kg Zn, na forma de Zn proteinato, a uma ração basal com 29,28 mg/kg, aumentou a resposta imune (humoral e mediada por células) e as atividades de superóxido dismutase e catalase em cordeiros. Não houve efeito dos níveis mais elevados (30 e 45 mg/kg).

2.7 Controle parasitário

Paralelamente, aos prejuízos causados pela fotossensibilização, outro fator preocupante na exploração de ovinos em pastagens tem sido as helmintoses, causadas pela susceptibilidade desta espécie, aliada às medidas de manejo e sanitárias ineficientes (AMARANTE et al., 2004).

Em relação às verminoses, a *Brachiaria brizantha* possui características peculiares que favorecem sua utilização na produção de ovinos, como o crescimento ereto, além de resistência ao pisoteio (NUNES et al., 1985).

Estima-se que 5-10% dos nematódeos gastrintestinais encontram-se no animal e 90-95% na pastagem na forma de vida livre. O controle estratégico de endoparasitos necessita de um manejo de pastagens que propicie condições para uma rebrotação rápida e abundante, satisfatório valor nutritivo de forragem, eficiente aproveitamento da forragem produzida, além da adoção de estratégias para diminuição da população de larvas infectantes (BORBA et al., 1993).

No sistema de produção de pequenos ruminantes, a racionalização e a intensificação da utilização de pastagens são de extrema importância. Contudo, segundo Macedo et al. (2000), a terminação de cordeiros em confinamento foi mais rentável, pois em pastagens a verminose limitou o ganho de peso.

As gramíneas forrageiras com hábito de crescimento prostrado têm sido recomendadas para a criação de ovinos (SIQUEIRA, 1988). Os capins prostrados apresentam-se como alternativa interessante tanto do ponto de vista nutricional, quanto da facilidade de manejo da pastagem. Por outro lado, o alto percentual de cobertura de solo pode contribuir com a formação de microclima úmido, com temperaturas amenas, favorecendo o desenvolvimento das larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais, que provocam sérios prejuízos econômicos (SANTOS et al., 2002).

Segundo SANTOS et al. (1999), a adoção de capins eretos, apesar de possuírem manejo mais difícil, é recomendada sob manejo de desfolha intermitente. Neste método, a baixa altura do pasto no pós-pastejo, possivelmente contribua para redução da população de larvas infectantes dos nematódeos.

A taxa de lotação e o percentual de aproveitamento da forragem em uma pastagem influenciam diretamente o índice de contaminação por nematódeos, considerado o maior entrave da produção de pequenos ruminantes nos trópicos. Com maior número de animais/ha, ocorre a diminuição das áreas de rejeição de forragem ao redor das fezes, onde há maior concentração das larvas infectantes (GORDON, 2000).

Existem algumas práticas de manejo das pastagens e medidas de controle integradas, que podem ser utilizadas no intuito de reduzir os prejuízos dos nematódeos nos animais. As gramíneas forrageiras cespitosas, pastejadas de forma intermitente, com altura pós-pastejo baixa, pode contribuir para a redução da infecção dos animais (BUENO et al., 2005).

Referente à suplementação proteica, seu maior impacto no sistema imunológico de animais explorados em pastagem tem sido observado no controle de nematódeos (COOP e HOLMES, 1996). A suplementação proteica tem sido relatada como um fator importante no aumento da resiliência e resistência às infecções simples ou mistas de nematódeos gastrointestinais de cordeiros (VAN HOUTERT e SYKES, 1996). Haile et al. (2002) relataram que o incremento no teor de proteína

bruta de uma dieta reduziria as perdas na produção causadas por infecções de endoparasitas, com a utilização mínima de anti-helmínticos.

Alternativas de manejo podem ser adotadas na propriedade com o objetivo de reduzir a dependência da utilização dos anti-helmínticos para o controle de verminose, como o consórcio da criação de ovinos com bovinos (FERNANDES et al., 2004), ou o confinamento das categorias mais susceptíveis, como é o caso dos cordeiros (SUSIN, 2003).

Segundo Gardner e Alvim (1985), para que a lotação rotativa resulte em aumento da produção animal, e consequentemente se obtenha maior lucro, é necessário que haja aumento na produção ou no valor nutritivo dos pastos, aumento no consumo animal, maior persistência das espécies forrageiras e melhor controle de parasitas no animal. Os referidos pesquisadores afirmam que com baixas taxas de lotação, provavelmente, não haverá aumentos de produção em função da lotação rotativa.

Conforme Anderson (1982), o *Haemoncus contortus* adulto mede entre 12 e 17 mm, sendo o mais prolífico dos nematódeos, chegando a produzir 10 mil ovos/fêmea/dia. Os ovos são sensíveis ao frio, necessitando, para eclodirem as larvas, de temperaturas superiores a 18°C e alta umidade. Os ovos e as larvas são sensíveis à dessecação. Consequentemente, períodos com alta pluviosidade e temperaturas amenas ou elevadas, favorecem o seu desenvolvimento.

As infecções por parasitas gastrointestinais em ruminantes são responsáveis por interferências no proteinograma sérico, incluindo diminuição das proteínas totais e albumina (FERNANDEZ et al., 2006) levando a menor ganho de peso.

As observações de Gastaldi (1999) indicaram que, contagens de OPG mais altas, coincidiram com as maiores concentrações de larvas infectantes na pastagem. A ocorrência, severidade e o controle das doenças causadas por nematódeos estão diretamente correlacionados à disponibilidade de larvas infectantes na pastagem, que é influenciada pelo nível de contaminação de ovos, condições sazonais e o manejo do pastejo (ANDERSON, 1982). Segundo este autor, sob condições adequadas, cerca de 20% dos ovos de nematódeos gastrintestinais depositados nas fezes dos animais completam o ciclo como adultos. Todavia, na seca, apenas 1% completa sua fase livre.

As larvas infectantes conseguem sobreviver a maior variação de ambiente, em relação aos estádios pré-infectivos, que utilizam as fezes para proteção. O

número de larvas infectantes na planta forrageira representa somente pequena proporção do total de larvas na fase livre no pasto. Assim, o número de larvas disponível pode crescer, mesmo algumas semanas após a retirada dos animais da pastagem, o que torna preocupante o tempo de descanso de 3 a 6 semanas, no método rotativo (ANDERSON, 1982).

Em geral, o ideal, para o desenvolvimento das larvas é a ocorrência de temperaturas entre 22 e 26°C, com umidade de 100%, sendo o mínimo requerido de 85%, num microclima de pasto de gramíneas, ou vegetação. Alguns nematódeos podem desenvolver-se em temperaturas abaixo de 5°C, mas numa taxa muito baixa. Outros conseguem sobreviver às altas temperaturas (acima de 30°C), porém a mortalidade larval nessas condições é elevada (HANSEN e PERRY, 1994).

A radiação solar direta, o calor, e o vento matam larvas e desidratam os ovos, diminuindo a contaminação por larvas no solo e na base do capim de porte baixo (DEL CARRATORE, 2004).

O número de OPG encontrados em ovinos pastejando os capins Tanzânia, Estrela africana e *Andropogon* não diferiram significativamente, com média de 1228, aparentemente, a utilização de capins cespitosos visando redução da contaminação de nematódeos gastrintestinais em ovinos não foi eficaz, quando manejados sob lotação contínua (SANTOS et al., 2002) alertaram para a auto-infestação, quando os animais permanecem mais de 5 dias no mesmo piquete, ingerindo larvas oriundas de ovos de seus próprios parasitos.

A contagem de OPG, na faixa de 50 – 800, em se tratando de infecção mista, é classificada como infecção de grau leve; de 800-1200, grau moderado, e acima de 1200, grau pesado. Em relação à ação exclusiva do gênero *Haemonchus* sp., esses valores são de 100-2000, 2000- 7000 e >7000; e *Trichostrongylus* sp., de 100-500, 500-2000 e >2000, para leve, moderado e pesado, respectivamente (HANSEN e PERRY, 1994).

Os aumentos da precipitação e da temperatura elevam, de forma acentuada, a contagem de OPG, devido ao acréscimo do número de larvas infectantes contido na forragem ingerida (MACHADO, 1987).

Githigia et al. (2001) relataram a possibilidade para o controle relativo de nematódeos e obtenção de bons níveis de produção, em cordeiros desmamados, sem o uso de anti-helmínticos, em países de clima temperado, quando os animais foram desmamados no início de julho e colocados em pastagens descontaminadas

por 3-4 semanas, prevendo a retirada dos animais para o confinamento, ou abate, ao final da estação de pastejo. Esses autores afirmaram que, ainda, não é possível eliminar o uso de anti-helmínticos, todavia métodos devem ser usados para manter a eficácia dos medicamentos disponíveis, evitando a resistência, sendo o manejo integrado de pragas o único controle sustentável de parasitos, que pode ser realizado na criação.

Neste contexto, a escolha da planta forrageira e da altura de pastejo influenciaram a disponibilidade de larvas infectantes, podendo ser utilizada como ferramenta preventiva, juntamente às outras práticas, visando o aumento da eficácia dos produtos anti-helmínticos.

2.8 Bioquímica

O fígado é o responsável pelos processos de síntese, excreção e catabolismo (KELLY, 1993). As substâncias absorvidas pelo intestino têm seu primeiro contato no organismo com o fígado, que numa posição estratégica, impede a exposição do restante do organismo à ação de toxinas. Os sistemas enzimáticos de detoxificação hepática, como a citocromo P-450, atuam de forma rápida e têm ampla especificidade, dando ao animal a capacidade de suportar grande variedade de desafios causados por toxinas naturais e sintéticas (CHEEKE, 1994).

Os testes de função hepática incluem os que medem o transporte (secreção, conjugação e excreção), tais como bilirrubina e ácidos biliares, a atividade enzimática no soro para detectar necrose, colestase e carcinomas, e os bioquímicos, que avaliam a capacidade hepática de metabolização de nutrientes como carboidratos, lipídios e proteínas (KRAMER e HOFFMAN 1997).

Segundo Kerr (2003) como as enzimas não são encontradas em um único órgão, a especificidade pode ser melhorada com a determinação de mais de uma enzima. Uma associação abrangente é a avaliação da enzima hepato-específica gama glutamil transferase (GGT), de importância para os ruminantes, e utilizada na rotina clínica conjuntamente com a avaliação da enzima não-específica aspartato amino transferase (AST).

A determinação da atividade sérica da GGT é um bom indicador de lesão nos hepatócitos, proliferação dos ductos biliares e colestase, sendo sensível e específico indicador de hiperplasia biliar. Apesar da GGT ser encontrada em outros tecidos

corporais (intestino, pâncreas e rim), o aumento de sua atividade no soro é sempre de origem hepática e/ou biliar e, em grande animais, está associada à lesão hepática crônica (MEYER e HARVEY, 2004).

A enzima AST é encontrada no citoplasma e mitocôndria de hepatócitos, células musculares estriadas esqueléticas e estriadas cardíacas. Em lesões hepáticas agudas ou crônicas, os níveis desta enzima tendem a se elevar na circulação (TENNANT, 1977).

A dosagem de AST e GGT vem sendo utilizada como exame complementar no diagnóstico da intoxicação por capim-braquiária em ruminantes (HANSEN et al., 1994, FIORAVANTI 1999, BRUM et al., 2007). Concentrações de gama glutamil transferase (GGT), aspartato amino transferase (AST) e bilirrubina total, direta e indireta são detectadas, tanto nos casos naturais como nos experimentais de intoxicação por *Brachiaria sp.* em bovinos e ovinos (FAGLIARI et al., 1994; FIORAVANTI, 1999; LEMOS e PURISCO, 2002; MENDONÇA et al., 2008; CASTRO et al., 2007; SANTOS JR. et al., 2008; SATURNINO et al., 2010). O aumento sérico de GGT é o melhor indicador da ocorrência da intoxicação, pois se apresenta elevada devido à colestase e lesão no epitélio biliar, tendendo a permanecer elevada por um período mais longo (FAGLIARI et al., 1994; CASTRO et al., 2007; SANTOS JR., 2008; SATURNINO et al., 2010). As dosagens de AST podem permanecer dentro dos valores normais (MENDONÇA et al., 2008) ou estar aumentadas em alguns animais (SATURNINO et al., 2010). O aumento nos níveis séricos de AST e GGT não foi relacionado com a severidade ou com o prognóstico da intoxicação por capim-braquiária em ovinos (CASTRO et al., 2007; SANTOS JR. et al., 2008).

Moreira et al. (2009) verificaram que bovinos alimentados com *Brachiaria brizantha* consorciada com *Brachiaria decumbens* ou *Andropogon gayanus* apresentaram função hepática semelhantes. Independentemente do tipo de capim ingerido pelos bovinos, ao longo do período experimental, ocorreu aumento da AST, GGT e bilirrubinas, acompanhado de ausência de sinais clínicos, sugerindo presença de alteração hepática crônica subclínica.

São observadas elevações nos níveis séricos de algumas enzimas indicativas de alterações hepáticas em animais sem sintomatologia. Em animais com sinais clínicos podem ser observadas alterações mais significativas. Em experimentos realizados com ovinos, verificou-se o aumento da GGT somente no animal com

fotossensibilização, embora todos tenham desenvolvido lesões hepáticas (CRUZ et al., 2001).

A bilirrubina existe no soro sob duas formas: indireta ou não conjugada (hemobilirrubina) e direta ou conjugada (diglicuronato de bilirrubina). A soma das duas representa a bilirrubina total. O exame laboratorial do soro, visando à detecção de quantidades relativas de bilirrubina não conjugada e bilirrubina conjugada é essencial na determinação da causa da icterícia (SMITH, 2002).

O aumento da bilirrubina direta no soro indica colestase, mas não é específico, no entanto sua elevação sanguínea vai produzir bilirrubinúria, pois a mesma é hidrossolúvel. Elevações séricas da bilirrubina indireta são observadas na hemólise, enfermidades hepáticas e colestase, principais causas de icterícia (LASSEN, 2007). A icterícia frequentemente observada na intoxicação pela ingestão do capim-braquiária ocorre sob duas formas. A primeira forma é resultante de alterações no metabolismo do hepatócito, tendo como consequência a não conjugação da bilirrubina com o ácido glicurônico. A segunda forma ocorre devido à obstrução mecânica do fluxo biliar pelos cristais na luz dos ductos (GRAYDON et al., 1991; KELLY, 1993; SANTOS et al., 2008). Kerr (2003) comentam que a colestase resulta em bilirrubinemia maior da bilirrubina direta do que da indireta.

O proteinograma é um exame indicado para a determinação da causa do edema. A insuficiência hepática resulta na falha da síntese de aminoácidos e proteínas, principalmente albumina, essa condição manifesta-se por emagrecimento e queda dos níveis das proteínas plasmáticas e, se suficientemente acentuada, resulta em edema por decréscimo na pressão osmótica do plasma (RADOSTITS et al., 2002).

Em geral, elevadas concentrações sanguíneas de colesterol e triglicerídeos indicam quadro de balanço energético positivo, sendo a via metabólica da lipogênese ativada (FERNANDES et al., 2012). Variações na concentração sérico/plasmática de colesterol estão relacionadas à condição nutricional dos animais. O colesterol é um indicador confiável do metabolismo energético no fígado, particularmente da exportação de lipídios na forma de VLDL (NDLOVU et al., 2007).

Uma das provas utilizadas para avaliar a atividade metabólica hepática é a dosagem de colesterol, esteróide mais encontrado no organismo e importante precursor dos ésteres do colesterol, ácidos biliares e hormônios esteroidais. Pode ser obtido da dieta ou sintetizado pelo fígado, a partir do acetato. A

hipercolesterolemia pode ser observada em enfermidades hepatobiliares, principalmente, naquelas que causam colestase extra-hepática, pois a bile é a principal via de excreção do colesterol do organismo. Portanto, em distúrbio no fluxo biliar (colestase), pode aumentar a concentração sérica de colesterol (THRALL, 2007). A enfermidade hepática crônica está associada, às vezes, às concentrações plasmáticas de colesterol anormalmente baixas (KERR, 2003).

Os triglicerídeos são a principal forma de armazenamento de ácidos graxos no tecido adiposo, e são compostos por uma molécula de glicerol ligada a três moléculas de ácidos graxos de cadeia longa.

De acordo com Kozloski (2011), após absorção das gorduras, aproximadamente 95% dos lipídios plasmáticos totais estão associados às lipoproteínas. Somente 5% são ácidos graxos não-esterificados, que circulam ligados à albumina. Dos lipídios associados às lipoproteínas, em torno de 90% são fosfolipídeos e colesterol, e somente em torno de 10% são triglicerídeos. Parte dos ácidos graxos é reesterificada a triglicerídeos, que são incorporados nas lipoproteínas (principalmente VLDL). Estas são liberadas na circulação linfática e, posteriormente, atingem a circulação sanguínea e são direcionadas aos tecidos periféricos.

A ureia é produzida pelo fígado pelo catabolismo das proteínas e sua mensuração no soro é normalmente feita para avaliar a função renal, falência hepática ou anomalias congênitas do sistema porta (MEYER, 2004), e pode, ainda, ser influenciada pela dieta rica em proteína e hemorragia no interior do trato gastrointestinal. A creatinina é formada durante o metabolismo da musculatura esquelética e é utilizada como índice da filtração glomerular, onde severa perda muscular poderá reduzir a quantidade de creatinina formada, e assim como para a ureia, a redução na taxa de filtração glomerular aumenta a concentração sérica de creatinina (MEYER, 2004).

Sandrini (2006) encontrou aumento sérico da ureia em bovinos pastejando *Brachiaria sp.* sem apresentarem sintomas, porém dentro da faixa de referência. Gracindo (2010) encontrou a mesma condição em ovinos sem sintomatologia, porém com as concentrações acima do limite referência. Brum et al. (2007) encontraram aumento sérico de ureia em ovinos com sintomatologia de fotossensibilização.

3. HIPÓTESES

O método rotativo de pastagens utilizado será eficiente no controle de nematóides intestinais.

Cordeiros em pastejo sobre *Brachiaria brizantha* manifestarão quadro de fotossensibilização provocado pelo fungo ou pela saponina.

O cloreto de colina e o zinco terão efeito preventivo da fotossensibilização e melhorarão o desempenho animal.

4. OBJETIVOS

Avaliar a ocorrência e possível causa de fotossensibilização em cordeiros recriados em pasto de *Brachiaria brizantha* cv. *Marandu*, manejados em lotação rotativa e alimentados a 1% de seu peso corporal, com suplementos proteicos e adição ou não de aditivos (zinco ou colina), relacionando o manejo com:

infestação de nematódeos intestinais,

avaliações bioquímicas séricas,

histopatologia,

desempenho animal.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Área e estrutura

A área experimental consistiu de 04 unidades de pastejo (blocos), composta de 6 piquetes de 40 x 20 metros cada, em pastagem de *Brachiaria brizantha* (Hochst, ex. A. Richt) Stapf cv. *Marandu* (Figura 1), um corredor de manejo, onde os animais tinham acesso livre à água servida em dois bebedouros por bloco e acesso diário ao cocho de suplemento.

Cada bloco tinha 6 piquetes, nos quais os cordeiros eram manejados em lotação rotativa. A duração do ciclo de pastejo de 25 dias, nos seis piquetes de cada bloco, foi calculada pela somatória do período de ocupação e o período de descanso de cada piquete ($CP = PO + PD$), e o número de piquetes calculado pela fórmula:

$NP = PD/PO + 1$, onde NP = número de piquetes, PD = período de descanso e PO = período de ocupação; sendo 5 dias de utilização, com descanso de 25 dias.

O manejo ocorria simultaneamente em todos os blocos, de maneira que eram ocupados dentro do ciclo de pastejo, os mesmos piquetes em todos os blocos.

O ciclo iniciava no piquete 1 em cada bloco e terminava quando do retorno ao piquete 1. Ao final foi realizado 4 ciclos em função da avaliação de desempenho dos animais (120 dias). A área experimental foi implantada na Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, Campus de Pirassununga, e o experimento conduzido no período entre 28 de outubro de 2011 a 25 de fevereiro de 2012.

Figura 1 - Croqui da área experimental.

5.2 Correção e adubação dos pastos

Em junho de 2010, amostras do solo a 20 cm de profundidade foram retiradas para análise química, os resultados são apresentados, conforme tabela 1.

A correção do solo pela calagem foi realizada em julho de 2010 para elevação do índice de saturação de bases para 70% com a aplicação em área total de calcário dolomítico (90% PRNT), na dosagem de 1,32 t/ha.

Tabela 1. Análise química do solo da área experimental nas profundidades de 0-10 cm e 10-20 cm.

	P	MO	pH	K	Ca	Mg	H+Al	Al	SB	CTC	V	m	B	Cu	Fe	Mn	Zn
(cm)	(mg/dm ³)	(g/kg)	(CaCl ₂)	(mmolc/dm ³)				(%)				(mg/dm ³)					
0 a 10	6	28	5,3	1,7	21	6	26	TR	29	55	53	TR	0,15	4,1	27	6	1,1
10 a 20	4	27	5	1,3	18	3	31	2	22	53	42	7	0,13	4,4	24	5	0,9
Média	5	28	5,1	1,5	20	5	28	1	25	54	48	3	0,14	4,2	25	5	1,0

A adubação fosfatada em dose total foi realizada em março de 2011 para elevar os teores de fósforo no solo de 6 mg/ dm³ para 20 mg/dm³. A fonte foi o superfosfato simples (18% P₂O₅) na dose de 777 kg/ha (140 kg de P₂O₅/ha). Neste momento, como não havia mais possibilidade de ter os animais (dificuldade de compra e também pelo inadequado período para a rebrotação da planta forrageira em crescimentos sucessivos) optou-se também pela aplicação de 50 kg/ha de nitrogênio (N) e potássio (K₂O), utilizando-se da fórmula 20 – 00 – 20 (250 kg/ha). De março a outubro de 2011, a área experimental não teve a presença de animais, permanecendo em descanso.

Em 24 de outubro, com a chegada dos animais, realizou-se um ciclo de pastejo de adaptação aos piquetes e na saída fez-se a roçada e a adubação de cobertura com nitrogênio e potássio, sendo 30, 40 e 30 kg de N e K₂O/ha em cada piquete em novembro, dezembro e janeiro, após uma roçada e dois pastejos.

Após o período de adaptação aos piquetes e ao suplemento **A**, fornecido individualmente, iniciaram-se os ciclos de pastejo, a saber: 1º ciclo de pastejo: 27 de novembro a 26 de dezembro de 2011; 2º ciclo de pastejo: 27 de dezembro de 2011 a 26 de janeiro de 2012 e 3º ciclo de pastejo: 27 de janeiro a 25 de fevereiro de 2012.

5.3 Animais e alimentação

Foram utilizados 91 cordeiros mestiços (Dorper x Santa Inês) desmamados, de 2 a 3 meses, separados por peso, considerando 4 categorias: 1ª - até 17 kg; 2ª -

de 17 a 20 kg; 3ª – de 20 a 22 kg e 4ª – acima de 22 kg), sendo 80 animais experimentais e 12 destinados à reposição por óbito. Os animais foram contidos individualmente, por ocasião da alimentação em cocho, realizada na proporção de 1% de seu peso corporal ajustada uma vez por mês por ocasião da pesagem, sendo realizada uma vez ao dia.

Os animais foram divididos em quatro blocos, formados por 23 cordeiros cada, utilizando-se quatro tratamentos por bloco. Os blocos eram formados por animais com distribuição de 4 faixas de pesos, cada faixa de peso por tratamento, dentro de cada bloco, sendo 5 animais por tratamento. Os animais reguladores foram divididos proporcionalmente, para que em cada bloco ocorresse a mesma intensidade de pastejo. O delineamento foi em blocos casualizados, envolvendo quatro tratamentos de suplementação: A - suplemento basal com 12% PB; B – suplemento com 18% de PB; C – suplemento com 18% de PB + propionato de Zn; e D – suplemento com 18% de PB + cloreto de colina protegida (Tabela 2), e quatro repetições (blocos). Os suplementos foram oferecidos aos animais individualmente na proporção de 1% do peso corporal, ajustada por ocasião das pesagens mensais, (Figura 2). Os cordeiros utilizados não haviam tido contato anterior com *Brachiaria* sp.

Figura 2 - Ovinos suplementados individualmente em cada bloco, (Prof. Dr. Valdo R. Herling, 2014).

Tabela 2 – Composição percentual e química dos suplementos utilizados para compor os quatro tratamentos experimentais

Ingredientes (%MS)	Tratamentos			
	A	B	C	D
Milho grão moído	74,50	61,00	60,70	60,50
Polpa cítrica peletizada	18,00	18,00	18,00	18,00
Farelo de soja	5,00	18,50	18,50	18,50
Ureia	0,50	0,50	0,50	0,50
Mistura mineral-Ovinos ¹	1,00	1,00	1,00	1,00
Fosfato bicálcico	1,00	1,00	1,00	1,00
Propionato de Zn	-	-	0,30	-
Cloreto de Colina protegida	-	-	-	0,50
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00
Nutrientes² (%MS)	A	B	C	D
Matéria seca	89,28	90,48	89,57	89,82
Proteína Bruta	12,2	18,10	18,00	18,00
Energia metabolizável - SRNS (Mcal/kg)	2,90	2,99	2,83	2,85

¹ Composição: 7,5% P; 19% Ca; 1% Mg; 7% S; 14,3% Na; 21,8% Cl; 500 mg/kg Fe; 300 mg/kg Cu; 4600 mg/kg Zn; 1100 mg/kg Mn; 80 mg/kg I; 405 mg/kg Co; 30 mg/kg Se.

² Valores estimados pelo SRNS (Cannas et al., 2004).

Os animais eram examinados diariamente e, ao apresentarem anorexia, associada a sinal clínico de fotossensibilização, eram separados em uma enfermaria, onde ficavam abrigados da luz solar, e sem contato com a pastagem. Eram tratados com silagem de milho, feno de Tifton 85, água *ad libitum* e suplemento do tratamento A. Passados os sintomas e após a sua recuperação, retornavam ao pasto no mesmo bloco. Conforme a possível ocorrência de casos, foram determinadas as taxas de morbidade (animais com sinais clínicos/doentes), taxa de letalidade (animais do grupo morbidade que vieram a óbito) e taxa de mortalidade (número total de animais que vieram a óbito, em relação ao rebanho).

5.4 Controle parasitário

Por ocasião da aquisição dos animais de uma propriedade localizada na cidade de Poloni/SP, amostras de fezes colhidas diretamente do reto de cada animal

foram utilizadas para realização de exame coproparasitológico. Após isto, as fezes eram colhidas mensal e individualmente, para a quantificação do número de ovos por grama de fezes (OPG) de acordo com Gordon e Whitlock (1939), utilizando-se de solução saturada de cloreto de sódio (NaCl) e leitura no microscópio em câmara McMaster.

Anterior ao início da fase experimental todos os cordeiros eram medicados com antiparasitário à base de ivermectina 200 mg, levamisol 7,5 mg e albendazol 5,0 mg¹, via oral, na dose de 1mL/4Kg de peso corporal, em dose única. Durante o experimento, os animais com resultado igual ou superior a 2750 OPG deveriam ser novamente medicados.

5.5 Exames Bioquímicos

As coletas de sangue para os exames bioquímicos foram realizadas nos dias 0, 7, 15, 30, 60, 90, 120 da chegada dos animais. Utilizou-se como referência Kaneko et al. (2008).

A obtenção de amostras de sangue para a realização de exames bioquímicos foi feita por meio da punção da veia jugular externa. O sangue foi acondicionado em tubos protegidos da luz e, em seguida, centrifugado a 3000 RPM por 20 minutos, a 4°C, para a obtenção do soro. Eram acondicionados 2mL de soro em microtubos com tampa tipo ependorff, em duplicata de cada animal e congelados a – 20°C.

A função hepática e renal foi realizada pela avaliação das amostras de soro em aparelho automático², utilizando-se *kits* comerciais³ para bioquímica.

5.6 Contagem de esporos do *Pithomyces chartarum* e dosagem de saponina

Amostras de plantas dos piquetes 1, 3, e 5 de cada bloco, simultaneamente, em 6 pontos distintos, eram colhidas no dia da ocupação do piquete, à altura de aproximadamente 5 cm do solo, em áreas aleatórias de 0,5 m², para a contagem de esporos do fungo *Pithomyces chartarum* e análise da concentração de saponinas.

¹Trimix® - Laboratório Merial

²Mindray BS 120

³Dialab

A contagem de esporos foi realizada utilizando o método de lavagem em amostras frescas da gramínea como descrito por Tokarnia et al. (1979). Este método preconiza a adição de dez vezes o volume de água destilada à quantidade em gramas da planta, 60 gramas de forragem picada e 600 mL de água destilada, e homogeneização por agitação vigorosa por um minuto. Após a lavagem era utilizado o sobrenadante em câmara de Neubauer para análise microscópica e identificação morfológica dos esporos de *Pithomyces chartarum*, segundo a descrição de Russomanno et al. (2003). Cada esporo observado por 2 mm³ foi multiplicado por 5000. A contagem de esporos foi realizada na porção verde da planta, senescente e liteira do pasto.

A amostra de forragem foi separada em porção verde e senescente, levada para secagem em estufa, com circulação forçada de ar, a 38°C por 72 horas. Após, foi processada e encaminhada para análise qualitativa e quantitativa dos teores de saponinas pelo método de cromatografia líquida de alta performance (HPLC), utilizando o detector de evaporação por dispersão de luz (Evaporative Light Scattering Detector) de fase reversa (RP-18), marca Shimadzu, em coluna de gradiente de água/acetonitrile (GJULEMETOWA et al., 1982, BARBOSA-FERREIRA et al., 2009).

5.7 Histopatologia

Durante a fase experimental os animais que vieram a óbito eram necropsiados colhendo-se fragmento de fígado. Todos os animais ao final do experimento foram abatidos e durante o procedimento colheram-se linfonodo mesentérico, linfonodo hepático e fragmento de fígado. Os fragmentos de ambos os grupos eram fixados em formol a 10%, processados rotineiramente, incluídos em parafina, realizado cortes de 5 µm, corados com hematoxilina e eosina (HE) e analisados em microscopia de luz conforme descrito por Prophet et. al, (1992).

A avaliação das lesões histopatológicas foi realizada pelo Departamento de Patologia Animal da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, usando os seguintes graus para as lesões: ausente, leve, moderada e severa.

5.8 Análise estatística

Os dados resultantes de todas as variáveis avaliadas foram submetidos à análise da variância (ANOVA). Para as medidas repetidas utilizou-se os modelos lineares mistos e o PROC MIXED do SAS, segundo Littell et al. (2006), enquanto que para os achados histopatológicos de animais vivos e mortos, utilizou-se ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Nestes estudos escolheu-se a melhor estrutura de covariâncias para explicar a correlação entre as medidas repetidas e a possível heterogeneidade de variâncias nas diversas ocasiões. A comparação das médias dos suplementos foi feita utilizando o teste t-Student a 5% de significância.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não há como negar a expansão da pecuária nacional após a década de 1970, com a introdução de espécies e ou cultivares do gênero *Brachiaria*, que predominam em áreas de pastagens cultivadas. A *Brachiaria brizantha* cv. *Marandu* assume papel importante deste gênero de plantas forrageiras, por sua atual área cultivada, crescente comercialização de sementes, maior produtividade e resistência à pragas em relação à *Brachiaria decumbens*. Assim, por representar cerca de 20% das áreas de pastagens cultivadas no Brasil, o gênero *Brachiaria* tem se destacado

Devido às vantagens que tem a *Brachiaria brizantha* em relação à *Brachiaria decumbens*, está ocorrendo, desde 1983, a substituição gradual de uma pela outra, principalmente, na região norte do Brasil, onde o cultivar *Marandu* ganhou grande espaço.

Nessas substituições, um fato relevante foi que a grande maioria dos surtos de fotossensibilização era observada em pastagens de *Brachiaria decumbens* (FAGLIARI et al., 1983; LEMOS et al., 1996; LEMOS et al., 1997; BRUM et al., 2007). Posteriormente, alguns surtos, também, foram observados, em menor proporção, em *Brachiaria brizantha* (LEMOS et al., 1998; ALBERNAZ et al., 2010; MUSTAFA, 2012).

Desse modo, devido à importância que tem o gênero na produção pecuária nacional, à área ocupada pelo cultivar *Marandu*, à necessidade de rápida expansão da ovinocultura, pela pressão de demanda interna, à ocupação de áreas já existentes com plantas forrageiras deste gênero, é premente a necessidade de se avaliar o comportamento da espécie ovina, em relação a aspectos produtivos e

viabilidade da utilização deste cultivar, diante da possibilidade de manifestação de quadros de fotossensibilização hepatógena em diversas espécies animais, como relatada em bovinos (FAGLIARI et al., 1993), ovinos (DRIEMEIER et al., 2002; BRUM et al., 2007; MUSTAFA, 2012), caprinos (LEMOS et al., 1998), equinos (BARBOSA et al., 2006) e bubalinos (RIET-CORREA et al., 2010), levando à perdas econômicas.

Neste estudo, o experimento foi conduzido de 24 de outubro de 2011 até 25 de fevereiro de 2012, período em que foi possível manejar os animais e a pastagem, com rebrotações sucessivas de *Brachiaria brizantha* cv. *Marandu*, para desafiá-los a quadros de fotossensibilização. Devido às condições meteorológicas favoráveis ao processo de crescimento sucessivo da planta forrageira, este período reuniu todos os possíveis fatores predisponentes para a ocorrência das duas possíveis etiologias para este quadro: a presença do fungo *Pithomyces chartarum* (NOBRE e ANDRADE, 1976; TOKARNIA et al., 1979; FAGLIARI et al., 1990; FIORAVANTI, 1999) ou da saponina (SMITH; MILES, 1993; LEMOS et al., 1996; GRAYDON, 1991; CRUZ et al., 2001; DRIEMEIER et al., 2002).

A intoxicação por *Brachiaria* sp. difere de outras intoxicações por plantas tóxicas, pois invariavelmente constitui a totalidade ou a maior parte da dieta dos ruminantes, sendo difícil determinar seus níveis tóxicos em condições de criações extensivas ou semiextensivas ou mesmo em condições experimentais, em relação a esporidesmina, uma vez que os estudos experimentais desafiam os animais com doses de toxina pré-estabelecida (SMITH et al., 1977, SMITH et al., 1978).

A morbidade no presente estudo, conforme apresentado na tabela 2 foi 28,8%, sendo inferior a relatada em outros estudos experimentais, 50% (CASTRO et al., 2007) e 42,8% (SANTOS JR, et al., 2008). Em relação à mortalidade (20%), verificou-se a mesma observada por Mustafa (2009) em surtos naturais, próximo também ao verificado por Brum et al. (2007) de 18,4% e inferior a descrita por Santos Jr. (2008) de 42,8%. A taxa de letalidade neste trabalho foi de 69,6%, inferior a relatada por Brum et al. (2007) de 85,7%. Mustafa (2009) verificou num surto de intoxicação em ovinos, em pasto de *Brachiaria* sp., na região Centro-Oeste, morbidade de 15,4% a 57,1%, mortalidade de 15% a 42,8% e letalidade de 29,4% a 86,5%.

Os resultados desta pesquisa, comparados aos estudos experimentais, foram superiores aos de Castro et al. (2007) de 30%, e inferior aos de Santos Jr. (2008) de

75%. Estes dois últimos estudos foram realizados com *Brachiaria decumbens*, que segundo Lima et al. (2009), apresenta maiores concentrações de saponina que a *Brachiaria brizantha*.

A mortalidade no presente estudo foi de 20% (16/80), sendo de alta ocorrência nos animais no bloco 2 (11,25%). Não se observou diferença nas dosagens de saponina entre blocos, contudo para os ciclos de pastejo, no segundo foi observado maior teor de saponina (0,65%), quando ocorreram 7 óbitos (8,75%), menor que no primeiro ciclo, tendo as plantas 0,55% de saponina e ocorrência de 9 óbitos. No terceiro ciclo, o teor foi de 0,52% e não foi registrado óbito. As diferenças entre estudos experimentais e casos de ocorrência naturais parecem estar mais vinculadas a fatores predisponentes como faixa etária, espécie, susceptibilidade individual, e contato anterior ou nenhum contato com o pasto, do que propriamente com o teor de saponina (SANTOS JR., 2008; RIET-CORREA e MÉNDEZ, 2007). Evidente que animais não adaptados e desafiados a maiores concentrações de saponina poderão manifestar o quadro em menor tempo de exposição e mais graves. As manifestações clínicas podem variar entre 10 dias a 5 meses após o início do pastejo (SCHENK et al., 1991; LEMOS et al., 1997; TORRES e COELHO, 2001; DRIEMEIER et al., 2002; BRUM et al., 2007).

Dos 80 animais acompanhados durante o experimento observou-se morbidade de 28,75% (animais doentes/sinais clínicos), letalidade de 69,56% (animais que vieram a óbito do grupo morbidade) e mortalidade de 20,00% (animais que vieram a óbito do total do rebanho). Comparando-se os tratamentos, ocorreu maior mortalidade no grupo A (60%), seguido dos grupos B e C (10% cada), tabela 2. Não ocorreu mortalidade de animais do tratamento D, apenas dois deles apresentaram sinais clínicos relacionados à fotossensibilização (Tabela 3 e Figura 3), recuperando-se ao longo do período experimental.

Tabela 3 - Frequências absolutas (F.A.) e relativas (F.R.%) de morbidade, letalidade e mortalidade dos animais de acordo com os tratamentos.

Tratamento	Sem alterações		Morbidade		Letalidade		Mortalidade	
	F.A.	F.R. (%)	F.A.	F.R. (%)	F.A.	F.R. (%)	F.A.	F.R. (%)
A	6	30,00	14	70,00	12	85,71	12	60,00
B	17	85,00	3	15,00	2	66,66	2	10,00
C	16	80,00	4	20,00	2	50,00	2	10,00
D	18	90,00	2	10,00	0	0,00	0	0,00
Total	57	71,25	23	28,75	16	69,56	16	20,00

A - suplemento basal com 12% PB; B – suplemento com 18% de PB; C – suplemento com 18% de PB + propionato de Zn; e D – suplemento com 18% de PB + cloreto de colina protegida.

Tabela 4 - Alterações clínicas observadas em 23 ovinos que apresentaram quadro compatível com a fotossensibilização hepatógena.

Alterações clínicas	F.A.	F.R. (%)
Eritema, descamação, edema e necrose de pele	6/23	26,08
Anorexia	16/23	69,53
Fotofobia	9/23	39,13
Edema de orelha, face e periocular	8/23	34,78
Apatia	16/23	69,53
Hiperemia da mucosa	10/23	43,47
Icterícia	13/23	56,52
Epífora	7/23	30,43
Conjuntivite	6/23	26,08
Corrimento ocular	9/23	39,13
Corrimento nasal	4/23	17,39
Hemoglobinúria	4/23	17,39
Perda de peso	16/23	69,53
Ataxia, convulsão	02/23	8,60

F.A. – Frequência Absoluta; F.R. (%) – Frequência Relativa

Figura 3 – Ovino apresentando alterações compatíveis com fotossensibilização.

A: edema de face e lesão eritematosa em face lateral da orelha direita.

B: Edema localizado em região submandibular (Prof. Dr. Valdo R. Herling, 2014) .

Neste estudo, o primeiro caso teve manifestação de sinais clínicos no 8º dia e o último relato no 58º dia, bastante similar ao verificado em surtos experimentais por Santos Jr. (2008), Saturnino et al. (2010).

A ocorrência de lesões características de pele, como eritema, edema, descamação e necrose, relatada por Yager e Scott (1993) e Tokarnia et al. (2000), ocorreram em 7 animais, sendo que destes, 6 de 16 (37,5%) com sintomas vieram a óbito. Chamou a atenção em um dos animais que apresentou lesões de pele, a ocorrência de necrose e queda da ponta da cauda. Outras manifestações clínicas observadas, como apatia, anorexia, fotofobia, edema periorcular, de orelha e face, hiperemia de mucosa, icterícia, epífora, conjuntivite, corrimento ocular e nasal, sintomatologia neurológica, perda de peso e bilirrubinúria também foram relatados por Castro et al. (2009), Santos Jr. (2008), Mustafa (2009) e Saturnino et al. (2010). Sete animais que apresentaram quadro clínico, se recuperaram, sendo que um deles apresentou sintomatologia em dois momentos distintos, recuperando-se e chegando ao final do experimento. Outros dois casos, com a apresentação neurológica, os animais manifestaram ataxia, convulsões, movimentos de pedalagem, vindo a óbito. Sintomatologia neurológica, também, foi observado por Albernaz et al. (2010), em pastagens de *Brachiaria brizantha* e por Lemos et al. (1996) e Cruz et al. (2001), em *Brachiaria decumbens*. Segundo Kelly (2003), estes casos ocorrem secundários à encefalopatia hepática, decorrente do acúmulo de substâncias na corrente sanguínea, no líquido cefalorraquidiano e no encéfalo, como

amônia, ácidos graxos de cadeias curtas e mercaptanos, entre outras, além de alterações nas concentrações de neurotransmissores.

Na necropsia dos animais do grupo dos óbitos verificou-se icterícia em 12 animais, sendo em 6 de forma severa, 4 moderada e dois leve. Lesões na pele como eritema, descamação e necrose, hepatomegalia, com coloração variando do amarelo a amarelo-cobre e distensão da vesícula biliar foram observadas. Os seis ovinos que apresentavam a forma severa de icterícia foram os que manifestaram as lesões características na pele. Os animais abatidos ao final do experimento não apresentaram lesões macroscópicas dignas de nota na inspeção. Todas as alterações observadas neste estudo foram verificadas também por Tokarnia et al. (2000), Riet-Correa e Méndez (2007) e Lemos e Purisco (2002), ocorrendo por retenção da filoeritrina (RADOSTITS, 2002)

Em relação às concentrações de saponina, não houve diferença significativa entre os blocos ($p=0,78$), nem efeito da interação ciclo de pastejo e bloco ($p=0,98$), porém ocorreu diferença entre os três ciclos de pastejo ($p=0,02$), sendo que a maior concentração foi observada no segundo ciclo de pastejo, conforme tabelas 4 e 5.

Tabela 5 - Concentração média de saponina protodioscina por bloco.

Bloco	Concentração média de saponina (%)	EPM
1	0,60	0,040
2	0,56	0,037
3	0,59	0,037
4	0,55	0,040

EPM – Erro Padrão da Média

Tabela 6 - Concentração média de saponina protodioscina por ciclo de pastejo.

Ciclo	Concentração média de saponina (%)	EPM
1	0,55	0,068
2	0,65	0,050
3	0,52	0,021

EPM – Erro Padrão da Média

A ocorrência de casos naturais foi observada em diversos períodos (estação seca e chuvosa) em concentrações de saponina que variaram de 0,30 até 2,56%, com as maiores concentrações no período das águas (MUSTAFA et al., 2012).

Neste estudo, que teve início no período de transição seca – águas, prematuramente começaram os primeiros casos de mortalidade. Os animais entravam nos piquetes sempre durante a fase de rebrotação. Esta fase foi descrita por Santos Jr. (2008) como a que exibe as maiores concentrações de saponina em *Brachiaria decumbens*, porém, o autor verificou mortalidade em todas fases de crescimento da planta. Em relação à concentração de saponina, diferentes dados aos relatados foram obtidos por Brum et al. (2007), que verificaram durante a reprodução da planta forrageira o período de maior concentração, porém as sementes não contém saponina. Barbosa-Ferreira et al. (2011) verificaram que em *Brachiaria brizantha* as maiores concentrações estavam nos brotos, do que nas maduras e senescentes, fazendo referência ao período de desenvolvimento da planta.

Lima et al. (2009) não observou diferença na concentração de saponina, quando utilizou três doses de nitrogênio (0, 50 e 100 kg/ha) na forma de ureia fertilizante. No entanto, observaram que *Brachiaria decumbens* apresentava maior concentração que *Brachiaria brizantha*. As concentrações foram decrescentes e maiores nas duas primeiras colheitas no período chuvoso. Neste estudo verificou-se maior concentração de saponina no segundo ciclo de pastejo, justamente quando a maior dose de nitrogênio foi aplicada e associada às condições climáticas favoráveis para o crescimento da planta, chuva e radiação (tabela 6).

Nas plantas, as saponinas são encontradas em órgãos como raiz, tubérculo, casca, folha, semente e fruto. As saponinas triterpênicas são encontradas principalmente nas dicotiledôneas, enquanto que as saponinas esteroidais ocorrem nas monocotiledôneas, que abrangem as gramíneas (SCHENKEL et al., 2007). *Brachiaria brizantha* por ser uma monocotiledônea, de ciclo de fixação de carbono C₄, com potencial de produção de massa de forragem cerca de 2 a 3 vezes maior do que as das dicotiledôneas, segundo Corsi e Nascimento Jr. (1987), poderá em condições edafoclimáticas favoráveis apresentar maiores teores de açúcares sintetizados pela fotossíntese, que associados à adubação nitrogenada, poderá aumentar a concentração de saponinas, principalmente da porção hidrofílica composta de açúcares (SCHENKEL et al., 2007).

O que chamou atenção nestes dois primeiros ciclos de pastejo foi a mortalidade de 12 animais (85,71%) do tratamento A (12% PB) e 2 animais (14,28%) do tratamento B (18 % PB), ambos sem aditivos, e de 2 animais do tratamento C

(18% + Zn). A maior susceptibilidade dos animais do tratamento A, talvez não esteja ligada ao menor teor de proteína na ração, mas com alta possibilidade de estar relacionada com o peso inicial dos animais. Dos óbitos ocorridos no grupo do tratamento A, 6 eram fêmeas de um total de 21 fêmeas adquiridas (28,57%), e faziam parte do grupo de animais mais leve. O restante dos animais que vieram a óbito era composto por 10 machos de um total 59 machos (16,94%). Embora o desenvolvimento destes animais, até o início do experimento, estivesse sob a influência de diversos fatores (genética, manejo, sanitário), houve diferença significativa da mortalidade entre os mais leves e os mais pesados ao início do experimento. Isto indica que o peso dos animais deva ser um fator a ser considerado na exploração de cordeiros em pastagens formadas pelo gênero *Brachiaria*.

Tabela 7 - Temperatura, umidade relativa, índice pluviométrico e radiação solar da área experimental durante os ciclos

Mês/Ano	C.P.	Temperatura (°C)			U.R. (%)	Chuva (mm/mês)	R.S. (W/m ² .dia ⁻¹)
		Máxima	Mínima	Média			
Outubro/2011	0	22,5	22,2	22,4	72,5	214,4	214,4
Novembro/2011	1	22,4	22,2	22,3	72,2	224,0	264,3
Dezembro/2011	2	24,2	23,9	24,0	75,8	219,0	271,3
Janeiro/2012	3	22,1	21,9	22,0	83,4	316,0	206,7
Média		23,2	22,9	23,1	76,6	211,7	243,5

C.P. – Ciclo de Pastejo; U.R. – Umidade Relativa; R.S. – Radiação Solar

Foi identificada na pastagem presença de esporos do fungo *Pithomyces chartarum*, sendo a sua contagem feita em amostras de matéria verde e senescente da planta e da liteira. Não foi constatada a presença de esporos na matéria verde, conforme, também, observado por Dimenna et al. (2009) e Russomano et al. (2003). Na liteira, a contagem variou de 0 a 25.000 esporos/g, enquanto que na matéria senescente variou de 0 a 15000 esporos/g. Existiu em todos os ciclos de pastejo cobertura vegetal adequada, e apesar da alta densidade de lotação dos piquetes, cerca de 3 unidades animal por hectare (900 kg de peso corporal), as plantas

alteraram a forma de crescer seus perfilhos, mantendo-os próximos ao solo, o que diminuiu a sua decapitação e manteve o pasto vigoroso.

Os pastos foram manejados com 16 cm de altura na entrada dos animais e 6 cm na saída. As plantas estiveram sempre no estágio de rebrotação, com folhas verdes e a quase inexistência de material senescente, o que justifica a baixa contagem de esporos. Alvariza (1993) acrescenta que a toxicidade das pastagens depende da quantidade mínima de 40.000 esporos/g de matéria vegetal, e mínimo de 100.000 esporos/g de matéria vegetal para ocorrer morte dos animais. Segundo Tokarnia et al. (2000), o número de esporos considerado potencialmente tóxico é de 200.000 esporos/g de matéria vegetal. No entanto, apenas a contagem de esporos pode não significar problemas para a saúde animal, uma vez que, em estudo realizado por Collin et al. (1996) com amostras de *Brachiaria sp.* de diversos países, constataram que a produção de esporidesmina ocorria em apenas uma amostra de 51 (1,96%) do Brasil. Destas amostras brasileiras, 21 eram oriundas do estado de Goiás e 30 do Mato Grosso, onde ocorreram casos de fotossensibilização. Meagher (1996) cita a necessidade dos esporos produzirem esporidesmina para ocorrência de fotossensibilização.

Neste estudo não foi realizada a cultura do fungo para verificar a produção de esporidesmina, porém observou-se a ocorrência dos casos antes de iniciar as chuvas, fora das condições ideais para crescimento, esporulação e produção de esporidesmina. Conforme relatado por Russomano et al. (2003) e Di Menna (2009) são necessárias temperaturas na faixa de 18°C a 27° C e intensa umidade relativa do ar, ao redor de 96%, provocada por períodos chuvosos ou abundante orvalho que garanta esta umidade durante 12 horas ou mais. Outro detalhe interessante foi que o período no qual se observou a maior contagem de esporos, ou seja, no terceiro ciclo, não ocorreu nenhum caso de fotossensibilização. Em outros trabalhos foram relatados casos de fotossensibilização com contagens baixas ou ausência de esporos (LEMOS et al., 1996; CRUZ et al., 2000; BRUM et al., 2007; CASTRO et al., 2007; MENDONÇA et al., 2008; SANTOS JR., 2008; MOREIRA et al., 2009; ALBERNAZ et al., 2009).

Para tirar o efeito de diluição na contagem de esporos, o método de amostragem de material vegetal foi modificado em relação aos trabalhos pesquisados, uma vez que a maior parte do tempo de pastejo os animais tinham

disponível material vegetal verde e muito pouco senescente. Mesmo assim, havia a separação morfológica.

Dessa forma, as contagens de esporos deste estudo podem estar superestimadas em relação ao material senescente, pois foi realizada em 60g de folhas senescentes e não em 60g composta por folhas verdes e senescentes, como realizado em outros estudos (BRUM et al., 2007; ALBERNAZ, 2010; MUSTAFA, 2012; GRACINDO, 2010). Isto ocorreu pois era objetivo neste trabalho estudar as interações do agente com o ambiente, nas condições climáticas da região. Analisou-se, também, a presença de esporos na liteira, pois a proximidade com o solo poderia fornecer condições mais adequadas para formação de esporos e as maiores quantidades foram observadas neste estrato, após o início das chuvas.

Após o final do experimento, um piquete da área experimental foi vedado por 365 dias para a avaliação da presença de esporos (Pacheco - dados não publicados), sendo constatados 25.000 esporos na parte senescente da planta, ou seja, 10.000 esporos a mais que no período de chuvas avaliado no experimento decrescendo novamente no período seco para 10.000 esporos.

A quantidade de esporos presentes na pastagem variou de 5000 a 25000 esporos por grama na massa seca na liteira, de 5000 a 15000 na parte senescente da planta (Figura 4), não sendo encontrados esporos nas folhas verdes (Tabela 7).

O terceiro ciclo foi o que apresentou os maiores índices de esporos, porém não ocorreu nenhum óbito neste período até o final do experimento. O período que antecedeu o terceiro ciclo foi o de maior ocorrência de chuva (316 mm) e a umidade relativa média neste período foi de 83,4% (Tabela 6).

Figura 4 – Esporo de *Pithomyces chartarum* em material senescente de *Brachiaria brizantha* cv *Marandu*, aumento de 40x (José Carlos G. Pacheco, 2014).

Tabela 8 - Contagem ($\text{n}^\circ/\text{g.MN}^{-1}$) de esporos do fungo *Pithomyces chartarum*, considerando o ciclo de pastejo, na liteira, no material senescente e material verde de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu.

Bloco	Piquete	Solo			Planta					
		Liteira			Material Senescente			Material Verde		
		Ciclo de pastejo								
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
I	1	N	5000	10000	N	N	5000	N	N	N
	3	5000	N	5000	N	N	5000	N	N	N
	5	N	N	25000	N	5000	10000	N	N	N
II	1	N	N	5000	N	N	10000	N	N	N
	3	N	N	5000	N	N	5000	N	N	N
	5	N	N	5000	N	15000	5000	N	N	N
III	1	N	N	15000	N	N	15000	N	N	N
	3	10000	N	N	5000	N	N	N	N	N
	5	N	10000	N	N	N	N	N	N	N
IV	1	N	N	N	N	N	5000	N	N	N
	3	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	5	5000	N	N	N	10000	5000	N	N	N

MN – matéria natural; N – sem ocorrência

Na tabela 9 são apresentados os resultados dos exames laboratoriais de colesterol, triglicérides, VLDL (Lipoproteína de Baixa Densidade), albumina, proteína total, ureia, creatinina, bilirrubina indireta, direta e total, AST (Aspartato Amino Transferase) e GGT (Gama Glutamil Transferase) dos animais abatidos ao final do experimento.

Não se observou efeito do tratamento nas dosagens de colesterol ($p=0,88$), triglicérides ($p=0,52$) e VLDL ($p=0,47$), e nem efeito da interação tratamento e período de coleta nas concentrações séricas médias de colesterol ($p=0,73$), triglicérides ($p=0,88$) e VLDL ($p=0,80$), apenas efeito isolado do período de coleta ($p=0,0001$).

As concentrações séricas médias de colesterol estiveram sempre entre a amplitude considerada como padrão de referência ($52-76 \text{ mg.dL}^{-1}$), enquanto que as de triglicérides foram semelhantes, independente da suplementação recebida, e estiveram acima daquela considerada como padrão de referência ($9-30 \text{ mg.dL}^{-1}$), tendo variado de $20,48$ (tratamento D) a $34,34 \text{ mg.dL}^{-1}$ (tratamento B). Para as

médias de VLDL observadas não foi encontrada a variação da concentração sérica padrão de referência, tendo variado de 6,05 a 6,88 mg.dL⁻¹.

As médias das concentrações séricas de triglicérides nos animais de todos os tratamentos apresentaram-se pouco acima das concentrações de referência, sendo maior no tratamento B. Essas concentrações elevadas estão relacionadas ao balanço energético positivo, no qual a via metabólica da lipogênese é ativada (FERNANDES et al., 2012). As médias das concentrações séricas de colesterol estavam dentro das dosagens normais de referência, sendo uma prova adicional da funcionalidade hepática, pois variações na concentração sérico/plasmática de colesterol estão relacionadas à condição nutricional dos animais. O colesterol é um indicador confiável do metabolismo energético no fígado (NDLOVU et al., 2007).

Foram incluídas neste estudo as dosagens da concentração sérica de VLDL, uma vez que o objetivo era observar o comportamento dos animais suplementados com cloreto de colina em relação aos outros tratamentos. A principal atuação da colina é na distribuição dos triglicerídeos através do fígado, pois parte dos ácidos graxos é reesterificada a triglicerídeos, que são incorporados nas lipoproteínas (principalmente VLDL). Estas por sua vez são liberadas na circulação linfática e, posteriormente, alcançam a circulação sanguínea sendo direcionadas aos tecidos periféricos (KOZLOSKI, 2009).

Não se observou nenhum efeito dos tratamentos nas dosagens de VLDL, colesterol e triglicerídeos nos animais mortos. Porém, ocorreu diferença significativa nas concentrações séricas médias de VLDL, triglicérides e de colesterol entre os animais vivos e os mortos. Estas diferenças entre os animais que adoeceram e apresentaram sintoma pode ser explicada, pois a bile é a principal via de excreção do colesterol do organismo, e um distúrbio no fluxo biliar (colestase) pode aumentar a concentração sérica de colesterol (THRALL, 2007). O aumento do colesterol em animais com sintomas foi verificado também por Brum et al. (2007). Assim, como ocorre com o colesterol, verifica-se aumento dos níveis séricos/plasmáticos de triglicerídeos no período absorptivo. Durante o processo de absorção dos lipídeos nos enterócitos, parte dos ácidos graxos é reesterificada a triglicerídeos, que são incorporados nas lipoproteínas (principalmente VLDL). Como existe esta relação entre síntese, metabolização e distribuição entre VLDL, triglicerídeos e colesterol, é provável o aumento destes três constituintes em uma colestase.

Não ocorreu efeito do tratamento nas dosagens de albumina ($p=0,37$) e proteína total ($p=0,62$), tabela 9. Não se observou também interação com o período de coleta ($p=0,30$), apenas ocorreu diferença entre as médias para período de coleta ($p=0,0003$).

Para as concentrações de albumina, verificou-se a amplitude de 2,87 a 3,03 g.dL⁻¹, sendo que apenas para os animais suplementados com o tratamento B tiveram dosagens levemente acima do padrão de referência (2,4 a 3,0 g.dL⁻¹). Para as concentrações de proteína total, observou-se variação de 7,14 a 7,22 g.dL⁻¹, tendo ficado dentro da variação padrão de referência (6,0-7,2g.dL⁻¹). Os animais do tratamento B, também apresentaram dosagem média ligeiramente acima do preconizado como normal.

Ocorreu diferença entre os grupos vivo e morto, com dosagens maiores de albumina e proteína nos mortos.

O aumento na concentração de albumina e proteínas está relacionado a casos de desidratação entre os animais acometidos. O emagrecimento verificado em alguns animais, durante o curso clínico da doença, neste período, pode estar vinculado ao menor aporte energético/proteico destes animais em função de hiporexia/anorexia.

Não ocorreu efeito do tratamento nas dosagens séricas de ureia ($p=0,49$) e creatinina ($p=0,45$), tabela 9. Não houve interação com o período de coleta ($p=0,77$), apenas ocorreu diferença entre as médias para o período de coleta ($p=0,0001$) na variação das concentrações de ureia e creatinina.

As concentrações séricas de ureia variaram de 22,91 (tratamento A) a 26,19 mg.dL⁻¹ (tratamento D) e as de creatinina de 1,20 (tratamento A) a 1,75 mg.dL⁻¹ (tratamento C), e se mostraram dentro dos valores de referência para ureia (15,2 – 42,8 mg.dL⁻¹) e para os de creatinina (1,2-1,9 mg.dL⁻¹).

Porém, houve diferença estatística nas concentrações séricas médias de ureia entre os animais vivos e mortos. Foi observado aumento da ureia sanguínea em animais com intoxicação por braquiária (LEMOS et al. 2002, BRUM et al. 2007). Neste experimento, observou-se que as dosagens de creatinina não estavam alteradas, indicando função renal normal. Neste período os animais doentes provavelmente não receberam aporte proteico aumentado devido à anorexia. Sandrini (2006) observou, em bovinos mantidos em pastagem com maior teor de saponina, concentrações maiores de ureia, mas sem ultrapassar os limites de

normalidade, mencionando a influência, também, da melhor pastagem onde os animais estavam alocados. No presente estudo, os animais doentes apresentaram concentração de ureia acima dos valores de referência, justamente anterior ao período de maior concentração de saponina na forragem.

A excreção urinária de ureia é influenciada não apenas pela taxa de filtração glomerular, mensurada pela creatinina, uma vez que a ureia é reabsorvida nos túbulos renais para contribuir na manutenção do gradiente de concentração medular dos rins. Quando o fluxo tubular diminui, a reabsorção da ureia aumenta, elevando o gradiente de concentração para subsequente reabsorção de água e concentração urinária pelos túbulos coletores. A desidratação pode reduzir desproporcionalmente o fluxo tubular, em comparação com a taxa de filtração glomerular (desequilíbrio glomerotubular), e deste modo resultar em aumento desproporcionalmente maior da ureia do que aquele provocado apenas pela diminuição da taxa de filtração glomerular (FETTMAN e REBAR, 2007). A desidratação provavelmente foi responsável pelo aumento da ureia nos animais doentes.

Não se observou efeito do tratamento nas dosagens de bilirrubina indireta ($p=0,70$), direta ($p=0,30$) e total ($p=0,43$), tabela 9. Também não houve interação com o período de coleta ($p=0,66$), apenas diferença entre as médias de período de coleta ($p=0,0001$).

Comparando as concentrações séricas médias de bilirrubina indireta, direta e total com os padrões de referência, verifica-se que elas estiveram dentro da amplitude normal de $0,1 - 0,23 \text{ mg.dL}^{-1}$ – bilirrubina total; de $0 - 0,27 \text{ mg.dL}^{-1}$ – bilirrubina direta e de $0,1 - 0,5 \text{ mg.dL}^{-1}$ – bilirrubina total. Para bilirrubina indireta a amplitude encontrada foi de $0,10$ (tratamento B) a $0,19 \text{ mg.dL}^{-1}$ (tratamento D); para bilirrubina direta encontrou-se variação de $0,08$ (tratamento C) a $0,17 \text{ mg.dL}^{-1}$ (tratamento D) e para bilirrubina total de $0,19$ (tratamentos A e B) a $0,37 \text{ mg.dL}^{-1}$ (tratamento D) (Tabela 8).

O grupo de cordeiros que veio a óbito apresentou aumento nas concentrações séricas de bilirrubina direta, indireta e total, com diferença significativa dos que terminaram a fase experimental. Contudo, não houve diferença entre os tratamentos, também, para este grupo de animais, porém ocorreu diferença entre animais mortos e vivos conforme apresentado nas figuras 7, 8 e 9.

O aumento da bilirrubina direta no soro pode indicar colestase, mas não é específico, no entanto, sua elevação sanguínea vai produzir bilirrubinúria, uma vez

que é hidrossolúvel. Elevação sérica da bilirrubina indireta é observada na hemólise, enfermidade hepática e colestase, sendo principal causa de icterícia (THRALL, 2007). Aumentos de bilirrubina total, direta e indireta são detectados tanto nos casos naturais como nos experimentais de intoxicação por *Brachiaria sp.* em bovinos e ovinos (FAGLIARI et al., 1994; FIORAVANTI, 1999; LEMOS e PURISCO, 2002; MENDONÇA et al., 2008; CASTRO et al., 2007; SANTOS JR. et al., 2008; SATURNINO et al., 2010). Kerr (2003) relataram que a colestase resulta em bilirrubinemia maior da bilirrubina direta do que da indireta. Observou-se que a bilirrubina indireta aumentou aproximadamente 21 vezes seu limite máximo da referência, indicando falta de conjugação no hepatócito, a bilirrubina direta aumentou aproximadamente 13,5 vezes seu limite superior, ambas indicando colestase. Quatro dos animais com sintomas mais severa apresentaram bilirrubinúria. Estas alterações são indicativas de distúrbios nos hepatócitos, como de colestase (GRAYDON et al., 1991; KELLY, 1993).

Para os animais que permaneceram vivos até o abate, não se verificou efeito significativo de tratamentos nas concentrações médias de AST ($p=0,58$) e GGT ($p=0,19$), tabela 9, e da interação tratamentos e período de coleta ($p=0,53$). Houve apenas diferenças entre as médias para o período de coleta ($p=0,0001$).

As concentrações séricas médias encontradas estiveram dentro do padrão de referência para AST ($60 - 280 \text{ UI.L}^{-1}$), tendo variado de 111,74 (tratamento C) a 128,36 UI.L^{-1} (tratamento D) e acima dos padrões para as concentrações séricas médias de GGT, com variação de 73,92 a 99,02 UI.L^{-1} (Tabela 8).

Ocorreu diferença significativa na dosagem destas duas variáveis entre animais vivos e mortos, sendo maior nos mortos. A dosagem de AST e GGT vem sendo utilizada como exame complementar no diagnóstico da intoxicação por braquiária em ruminantes (HANSEN et al., 1994; FIORAVANTI 1999, BRUM et al., 2007). Constatou-se aumento mais precoce da GGT do que de AST. A GGT é uma enzima específica de colestase (MEYER e HARVEY, 2004). A enzima AST é encontrada no citoplasma e mitocôndria de hepatócitos, células musculares estriadas esqueléticas e estriadas cardíacas.

Em lesões hepáticas agudas ou crônicas, os níveis desta enzima tendem a se elevar na circulação (TENNANT, 1977). Nesta pesquisa foram observadas que as concentrações séricas médias de GGT dos animais vivos, dos tratamentos, ficaram acima do limite referência, porém não houve prejuízo no desempenho dos animais e

todos os outros parâmetros sanguíneos estavam dentro dos parâmetros de normalidade. Nos animais mortos as alterações foram mais significativas, fato observado por Cruz et al. (2001) que também observaram aumento nos níveis séricos de algumas enzimas indicativas de alterações hepáticas em animais sem sintomatologia e aumento da GGT somente no animal com fotossensibilização, embora todos tenham desenvolvido lesões hepáticas. Nos animais mortos a AST aumentou 2,5 vezes seu valor máximo de referência até o dia 30 e a GGT 5 vezes. O aumento sérico de GGT é o melhor indicador da ocorrência da intoxicação, pois se apresenta elevada devido à colestase e lesão no epitélio biliar, tendendo a permanecer elevada por um período mais longo (FAGLIARI et al., 1994; CASTRO et al., 2007; SANTOS JR, 2008; Saturnino et al., 2010). Entretanto, o aumento nos níveis séricos de AST e GGT não foi relacionado com a severidade ou o prognóstico da intoxicação por braquiária em ovinos (CASTRO et al., 2007; SANTOS JR et al., 2008).

Tabela 9 - Médias e erro padrão das concentrações séricas de colesterol, triglicerídeos, VLDL, albumina, proteína total, ureia, creatinina, bilirrubinas indireta, direta e total, aspartato amino transferase (AST) e gama glutamil transferase (GGT) dos 64 ovinos abatidos ao final do experimento (120 dias), nos diferentes tratamentos.

Exame bioquímico	Tratamento A		Tratamento B		Tratamento C		Tratamento D		Valores de referência *
	Média	EPM	Média	EPM	Média	EPM	Média	EPM	
Colesterol (mg.dL ⁻¹)	61,4	2,50	58,73	2,61	61,17	2,50	61,0	2,41	52 – 76
Triglicerídeos (mg.dL ⁻¹)	32,66	1,98	34,34	2,07	31,00	1,98	30,5	1,91	9 – 30
VLDL (mg.dL ⁻¹)	6,49	0,39	6,88	0,41	6,16	0,39	6,05	0,38	não disponível
Albumina (g.dL ⁻¹)	2,88	0,10	3,03	0,11	2,95	0,10	2,87	0,10	2,4 – 3,0
Proteína total (g.dL ⁻¹)	7,19	0,10	7,22	0,10	7,18	0,10	7,14	0,09	6,0-7,2
Ureia (mg.dL ⁻¹)	22,91	1,70	23,91	1,77	23,09	1,70	26,19	1,65	15,2 – 42,8
Creatinina (mg.dL ⁻¹)	1,20	0,02	1,60	0,02	1,75	0,02	1,70	0,02	1,2-1,9
Bilirrubina indireta (mg.dL ⁻¹)	0,16	0,06	0,10	0,06	0,12	0,06	0,19	0,05	0,1 – 0,23
Bilirrubina direta (mg.dL ⁻¹)	0,09	0,03	0,09	0,04	0,08	0,03	0,17	0,03	0 – 0,27
Bilirrubina total (mg.dL ⁻¹)	0,19	0,09	0,19	0,09	0,21	0,09	0,37	0,08	0,1 – 0,5
AST (UI.L ⁻¹)	120,04	8,45	120,34	8,80	111,74	8,45	128,36	8,18	60 – 280
GGT (UI.L ⁻¹)	99,02	8,89	73,92	9,26	76,51	8,89	88,80	8,57	20-52

*KANEKO et al., 2008; EPM – Erro Padrão da Média

Nas tabelas de 10 a 14 são apresentados os resultados referentes às dosagens séricas dos 13 animais que vieram a óbito no decorrer de 30 dias do início da fase experimental.

Das figuras 5 a 13 são comparadas as dosagens séricas de colesterol, triglicerídeos, VLDL, ureia, AST, GGT, bilirrubinas indireta, direta e total, respectivamente, entre os animais mortos e vivos no referido período.

Não houve efeito de tratamento nas concentrações séricas de colesterol ($p=0,54$), de triglicerídeos ($p=0,32$) e de VLDL ($p=0,35$), nem da interação tratamento e período de coleta para colesterol ($p=0,32$), triglicerídeos ($p=0,73$) e VLDL ($p=0,74$), ocorrendo apenas efeito significativo de período de coleta na dosagem de colesterol ($p=0,0044$), triglicerídeos ($p=0,0058$) e VLDL ($p=0,0072$), tabela 09.

Comparando as dosagens médias de colesterol, triglicerídeos e VLDL encontradas com aquelas consideradas padrão de referência, constatou-se para o colesterol no 7º ($48,58 \text{ mg.dL}^{-1}$) e 30º dias ($106,30 \text{ mg.dL}^{-1}$) que suas concentrações estiveram abaixo e acima, respectivamente, da amplitude padrão ($52 - 76 \text{ mg.dL}^{-1}$), permanecendo nesta amplitude nos dias 0 e 14 do início das coletas. Para os triglicerídeos, observaram-se concentrações acima do padrão de referência a partir do 14º dia, permanecendo na amplitude recomendada de 0 a 7 dias do início das coletas. Embora sem referências às dosagens consideradas padrão para VLDL, constatou-se concentrações crescentes de 0 a 30 dias, variando de 3,75 a $15,20 \text{ mg.dL}^{-1}$.

Tabela 10 - Médias e erro padrão das médias da concentração sérica de colesterol, triglicérides e VLDL dos 13 cordeiros que vieram a óbito até o dia 30 do experimento.

Dia	Colesterol* (mg.dL⁻¹)	EPM	Triglicérides** (mg.dL⁻¹)	EPM	VLDL*** (mg.dL⁻¹)	EPM
0	56,69	6,56	18,27	3,87	3,75	0,76
7	48,58	5,01	23,47	2,52	4,61	0,57
14	69,03	8,69	49,28	9,46	9,90	1,97
30	106,30	17,19	76,13	17,52	15,20	3,55

* Valor de referência: $52 - 76 \text{ mg.dL}^{-1}$ (KANEKO et al., 2008).

**Valor de referência: $9 - 30 \text{ mg.dL}^{-1}$ (KANEKO et al., 2008).

*** Valor de referência não disponível.

EPM – Erro Padrão da Média

Figura 5 – Médias e erro padrão das médias da concentração sérica de colesterol dos animais que vieram a óbito até o 30º dia e dos que permaneceram vivos até o final do experimento.

Figura 6 – Médias e erro padrão das médias da concentração sérica de triglicérides dos animais que vieram a óbito até o 30º dia e dos que permaneceram vivos até o final do experimento.

Figura 7 - Médias e erro padrão das médias da concentração sérica de VLDL dos animais que vieram a óbito até o 30º dia e dos que permaneceram vivos até o final do experimento.

No grupo dos animais que foram suplementados com o tratamento C, houve diferença significativa ($p=0,0002$) entre as concentrações séricas médias de colesterol na coleta do 30º dia para os animais mortos e os que permaneceram vivos até o final do experimento (Tabela 10).

Para os triglicerídeos houve diferença significativa nas concentrações séricas médias entre os animais vivos e os mortos do grupo que receberam o tratamento A ($p=0,01$) e o tratamento C ($p=0,06$) da coleta realizada no 30º dia (Tabela 14).

Houve diferença significativa nos valores médios da concentração sérica de VLDL entre os animais vivos e os mortos do tratamento A ($p=0,01$) e do tratamento C ($p=0,06$) na dosagem realizada no dia 30 (Tabela 10).

Tabela 11 – Médias e erro padrão das médias da concentração sérica de VLDL, colesterol, triglicerídeos, AST, bilirrubinas indireta, direta e total dos animais vivos e mortos por tratamento.

Váriáveis	Animais	Tratamento A		Tratamento B		Tratamento C	
		Média	EPM	Média	EPM	Média	EPM
VLDL	Vivos	6,78	0,58	7,15	0,61	6,31	0,59
	Mortos	9,42	0,82	6,01	1,5	9,37	1,5
		*		ns		*	
Colesterol	Vivos	78,46	8,56	68,83	8,91	63,76	8,56
	Mortos	89,16	13,48	76,75	20,46	153,50	21,84
		ns		ns		*	
Triglicerídeos	Vivos	34,38	2,93	35,91	3,06	31,69	2,94
	Mortos	47,35	4,08	29,41	6,55	47,00	7,47
		*		ns		*	
AST	Vivos	129,46	45,13	161,33	50,40	112,38	48,43
	Mortos	436,16	60,46	239,45	117,54	570,50	123,5
		*		ns		*	
Bilirrubina indireta	Vivos	0,24	0,22	0,13	0,23	0,14	0,22
	Mortos	2,62	0,31	0,92	0,49	1,47	0,56
		*		ns		*	
Bilirrubina direta	Vivos	0,14	0,19	0,1	0,3	0,06	0,29
	Mortos	4,14	0,44	2,46	0,74	3,53	0,74
		*		*		*	
Bilirrubina Total	Vivos	0,24	0,37	0,24	0,38	0,22	0,37
	Mortos	4,86	0,54	1,62	0,84	2,64	0,95
		*		*		*	

p<0,05 *; p≥0,05 - ns (não significativo)

A - suplemento basal com 12% PB; B – suplemento com 18% de PB; C – suplemento com 18% de PB + propionato de Zn; e D – suplemento com 18% de PB + cloreto de colina protegida.

Não ocorreu efeito do tratamento nas dosagens de ureia (p=0,38) e creatinina (p=0,45) para os animais que vieram a óbito. Não houve efeito da interação tratamento e período de coleta nos teores de ureia (p=0,83) e creatinina (p=0,16),

ocorrendo apenas diferença entre médias de períodos de coleta para ureia ($p=0,02$) e creatinina ($p=0,0001$), tabela 11

Tabela 12 – Médias e erro padrão das médias da concentração sérica de ureia e creatinina dos 13 ovinos que vieram a óbito até o 30º dia do início do experimento.

Dia	Ureia* (mg.dL ⁻¹)	EPM	Creatinina** (mg.dL ⁻¹)	EPM
0	14,86	2,54	1,28	0,04
7	25,00	19,53	1,53	0,09
14	84,03	36,39	1,32	0,30
30	91,83	24,20	1,22	0,06

*Valor de referência: 15,2 – 42,8 mg.dL⁻¹ (KANEKO et al., 2008).

**Valor de referência: 1,2-1,9 mg.dL⁻¹ (KANEKO et al., 2008).

EPM – Erro Padrão da Média

As concentrações séricas de ureia entre os animais vivos e os mortos foram diferentes nas coletas do 14º($p=0,06$) e 30º dias ($p=0,0001$), figura 8.

Figura 8 – Médias e erro padrão das médias da concentração sérica de ureia dos animais que vieram a óbito até o 30º dia e dos que permaneceram vivos até o final do experimento.

Nos cordeiros que vieram a óbito, as dosagens de ureia nestes dias se mostraram acima do limite de referência (15,2 – 42,8 mg.dL⁻¹). As concentrações séricas médias de creatinina entre os animais mortos estiveram dentro do limite considerado normal (1,2 – 1,9 g.dL⁻¹).

Para os cordeiros que morreram até o 30º dia de experimentação, não se observou efeitos de tratamentos ($p=0,36$) e da interação tratamento e período de coleta ($p=0,39$) na concentração sérica de AST, ocorrendo apenas efeito significativo de período de coleta ($p=0,01$), tabela 12.

Na comparação dos animais vivos e mortos, verificou-se para aqueles que foram suplementados com o tratamento A, diferença na concentração sérica de AST no 7º ($p=0,02$), 14º ($p=0,0003$) e 30º dia ($p=0,0001$) e com o tratamento C, apenas no 30º ($p=0,0001$), (Tabela 10). As dosagens no 14º e 30º estiveram acima do limite padrão de referência ($60\text{--}280 \text{ UI.L}^{-1}$).

Tabela 13 – Médias e erro padrão das médias da concentração sérica de AST e GGT dos 13 cordeiros que vieram a óbito até o 30º dia de experimentação.

Dia	AST UI.L^{-1}	Erro padrão	GGT UI.L^{-1}	Erro padrão
0	96,94	8,45	50,28	13,44
7	122,57	64,27	71,14	12,10
14	342,27	136,51	151,17	27,47
30	694,93	172,62	257,51	36,63

* Valor de referência: $60\text{--}280 \text{ UI.L}^{-1}$ (KANEKO et al., 2008).

**Valor de referência: $20\text{--}52 \text{ UI.L}^{-1}$ (KANEKO et al., 2008).

EPM – Erro Padrão da Média

Figura 9 – Médias e erro padrão das médias da concentração sérica de AST dos animais que vieram a óbito até o 30º dia e dos que permaneceram vivos até o final do experimento.

Não foi observada influência de tratamento ($p=0,97$) e da interação tratamento e período de coleta ($p=0,88$) nas dosagens de GGT, apenas ocorreram diferenças entre as médias de período de coleta ($p=0,0001$), (tabela 11), e entre os animais vivos e mortos nos 14º e 30º dias (figura 10).

Figura 10 – Médias e erro padrão das média da concentração sérica de GGT dos animais que vieram a óbito até o 30º dia e dos que permaneceram vivos até o final do experimento.

Considerando, apenas, os animais que vieram a óbito, os níveis séricos de bilirrubina indireta não tiveram influência de tratamento ($p=0,36$), período de coleta ($p=0,11$) e da interação tratamento e período de coleta ($p=0,57$). Entre os grupos de cordeiros vivos e mortos houve diferença nos 14º ($p=0,03$) e 30º dias ($p=0,0001$), figura 11. Os níveis séricos de bilirrubina indireta foram diferentes entre os dois grupos quando suplementados com tratamento A ($p=0,0001$) e o C ($p=0,03$) nos 14º e 30º dias (Tabela 10). As dosagens estiveram acima do limite de referência de 0,1 a 0,23 mg.dL⁻¹, nos 14º e 30º dias (Tabela 13).

Não houve efeito de tratamento ($p=0,18$) e da interação tratamento e período de coleta ($p=0,66$), apenas do período de coleta ($p=0,0065$) nas dosagens de bilirrubina direta para os animais que vieram a óbito até o 30º dia de experimentação. Quanto à comparação entre os vivos e os mortos, houve diferença entre eles nos 14º ($p=0,0001$) e 30º dias ($p=0,0001$), quando suplementados com o

tratamento A; no 30º dia com o tratamento B ($p=0,0042$) e C ($p=0,0001$), tabela 10. As dosagens estiveram acima do limite de referência nos 14º e 30º dias (Tabela 13 e Figura 12).

Para as dosagens de bilirrubina total dos cordeiros que morreram até o 30 dia de experimentação, não houve efeito de tratamento ($p=0,23$), da interação tratamentos e período de coleta ($p=0,63$), sendo verificado apenas efeito significativo de período de coleta ($p=0,0069$). Entre os grupos de cordeiros mortos e vivos houve diferença na dosagem nos 14º ($p=0,0119$) e 30º dias ($p=0,0001$), figura 13, tendo permanecido nestes dias acima do considerado normal (Tabela 14).

Tabela 14 – Médias e erro padrão das médias da concentração sérica das bilirrubinas indireta, direta e total de 13 cordeiros que vieram a óbito até o 30º dia de experimentação.

Dia	Bilirrubina indireta* (mg.dL ⁻¹)	EPM	Bilirrubina direta** (mg.dL ⁻¹)	EPM	Bilirrubina total*** (mg.dL ⁻¹)	EPM
0	0,07	0,04	0,09	0,68	0,17	1,52
7	0,09	0,04	0,07	0,68	0,16	1,52
14	2,27	1,49	1,51	0,69	3,58	1,55
30	4,80	1,92	3,66	0,79	8,24	1,77

* Valor de referência: 0,1 – 0,23 mg.dL⁻¹ (KANEKO et al., 2008).

**Valor de referência: 0 – 0,27 mg.dL⁻¹ (KANEKO et al., 2008).

*** Valor de referência: 0,1 – 0,5 mg.dL⁻¹ (KANEKO et al., 2008).

EPM – Erro Padrão da Média

Figura 11 – Médias e erro padrão das médias da concentração sérica de Bilirrubina indireta dos animais que vieram a óbito até o 30º dia e dos que permaneceram vivos até o final do experimento.

Figura 12 – Médias e erro padrão das médias da concentração sérica de Bilirrubina direta dos animais que vieram a óbito até o 30º dia e dos que permaneceram vivos até o final do experimento.

Figura 13 – Médias e erro padrão das médias da concentração sérica de bilirrubina total dos animais que vieram a óbito até o 30º dia e dos que permaneceram vivos até o final do experimento.

As concentrações séricas de albumina estiveram acima daquelas consideradas normais nos 14º (3,28 g.dL⁻¹) e 30º dias (3,40 g.dL⁻¹), conforme tabela 14. Não ocorreu efeito de tratamento ($p=0,22$) e da interação tratamento e período de coleta ($p=0,88$), apenas de período de coleta nas concentrações séricas de proteína total ($p=0,0038$) dos animais que vieram a óbito até o 30º dia de experimentação.

Entre os grupos de cordeiros mortos e vivos houve diferença na concentração sérica de proteína total aos 30 dias do início do experimento ($p=0,0465$), tabela 15, sendo que as dosagens estiveram acima da amplitude considerada normal nos 14º e 30º dias de experimento.

Tabela 15 – Médias e erro padrão das médias da concentração sérica de proteína total de 13 cordeiros que vieram a óbito até o 30º dia de experimentação.

Dia	Albumina* (g.dL ⁻¹)	EPM	Proteína total** (g.dL ⁻¹)	EPM
0	3,08	0,12	6,91	0,25
7	3,13	0,09	7,46	0,25
14	3,28	0,09	7,98	0,26
30	3,40	0,11	8,44	0,29

*Valor de referência: 2,4 – 3,0 g.dL⁻¹**Valor de referência: 6,0-7,2g.dL⁻¹ (KANEKO et al., 2008).
EPM – Erro Padrão da Média

Quanto ao desempenho animal (kg.animal⁻¹.dia⁻¹) não houve efeito de tratamento ($p=0,87$) e de bloco ($p = 0,41$). Os cordeiros apresentaram diferença de desempenho no decorrer dos ciclos de pastejo ($p=0,0001$).

Apesar de não ter havido efeito significativo de tratamento, observa-se analisando os dados médios da tabela 15, que o desempenho dos cordeiros foi expressivo, considerando que eram suplementados com apenas 1% de seu peso corporal, devendo retirar do pasto de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu aproximadamente 75% de suas necessidades diárias de matéria seca.

Para os ciclos de pastejo, ao desdobrar os graus de liberdade, verificou-se efeito quadrático (Figura 14), com desempenhos expressivos de aproximadamente 0,180 kg.animal⁻¹.dia⁻¹ no 2º e 3º ciclos de pastejo. Os cordeiros iniciaram o experimento com a idade de 2 a 3 meses, e no período que tiveram melhor desempenho foi coincidente com maior produção de massa de forragem em janeiro e fevereiro.

Tabela 16 - Desempenho ($\text{kg.animal}^{-1}.\text{dia}^{-1}$) de cordeiros suplementados e recriados em pasto de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu.

Tratamento	Ciclo de Pastejo				Média
	1	2	3	4	
A	0,154	0,196	0,188	0,107	0,161a
B	0,163	0,203	0,181	0,094	0,163a
C	0,146	0,184	0,164	0,095	0,147a
D	0,108	0,147	0,161	0,109	0,131a
Média	0,143	0,183	0,174	0,101	

A - suplemento basal com 12% PB; B – suplemento com 18% de PB; C – suplemento com 18% de PB + propionato de Zn; e D – suplemento com 18% de PB + cloreto de colina protegida.

Figura 14 - Desempenho ($\text{kg.animal}^{-1}.\text{dia}^{-1}$) de cordeiros suplementados e recriados em pasto de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, considerando os ciclos de pastejo no período das águas.

Em relação a utilização do Zn adicionado à ração objetivou-se avaliar duas variáveis: sua influência no desempenho dos animais por aumentar a imunidade, conforme descrito por Fonseca (2006), Conrad et al. (1985) e Barbosa (2009), e a segunda, se poderia minimizar a ocorrência e a gravidade das injúrias hepáticas

associadas aos quadros de fotossensibilização (SMITH et al., 1977; MUNDAY et al., 1997).

Nos animais que receberam Zn como aditivo (tratamento C) ocorreram dois óbitos, mesmo número que ocorreu no grupo tratado com ração com mesmo teor proteico, porém sem o Zn (tratamento B). Em relação às lesões observadas no exame histopatológico do fígado não ocorreram diferenças entre os tratamentos, mas foram significativas entre os animais vivos e mortos.

Conrad et al. (1985) comentaram que a deficiência de Zn leva a prejuízo na formação de proteínas, devido falha no requerimento de aminoácidos, o que justifica sua importância no desempenho animal. Em todos os animais do experimento os níveis de proteína estiveram normais. Embora não ocorreu diferença no desempenho nos diferentes tratamentos, os dois melhores desempenhos foram dos tratamentos que não possuíam aditivos, tratamentos A e B.

Vilela et al. (2011) não observou diferença significativa em relação ao ganho de peso entre os tratamentos com duas fontes de Zn (orgânica e inorgânica) e o controle em ovinos, com diferentes concentrações que variavam de 200 a 600 mg/Zn de ingestão diária. Contudo, verificou menor desempenho no grupo controle sem Zn. Kincaid et al. (1997) observou que a inclusão de cerca de 300 mg/kg de Zn-Metionina e Zn-Lisina na dieta de bezerros não influenciou no consumo de ração e ganho de peso médio diário e observaram aumento sérico da concentração de albumina. Neste estudo não observamos diferença entre os tratamentos em relação a concentração de albumina no soro, porém a fonte de Zn utilizada foi diferente (óxido de Zn).

Os animais do tratamento C, dos quatro blocos, receberam dose de Zn, considerando a ingestão de 1% de seu peso em concentrado, em média, que variou de 440 a 538 mg/kg, no início do experimento. Ao final do experimento recebiam de 758,26 a 953,94 mg/kg. As recomendações do NRC para as exigências de Zn para cordeiro de 20 kg ganhando 100grs/dia é de 20– 33 mg/kg. Torres et al. (1975) verificou que doses de 2,0 g reduzem o ganho de peso, considerando este como possível limite tóxico. Tem sido comprovada a ação protetora do Zn em casos de intoxicação por esporidesmina (TOWERS, 1977; SMITH et al., 1977, TOWERS e SMITH, 1978). Essa ação protetora ocorreria em função do Zn se ligar aos grupos tióis (COZZOLINO e MAFRA, 2004) presentes na molécula de esporidesmina,

impedindo sua oxidação e, conseqüente, formação do radical superóxido (O_2^-) (MUNDAY, 1982).

Outra função do Zn seria na diminuição da formação de peróxido de hidrogênio em eritrócitos, diminuindo o dano oxidativo subsequente. Ocorrem interações entre o Zn e outros minerais (GONZALEZ, 2000) como Fe, Cu, Ca. O Fe e o Cu catalisam a oxidação da esporidesmina, o Zn por competição na absorção diminuiria as concentrações destes dois elementos (MUNDAY, 1984).

Todas as evidências encontradas neste estudo levam a definir que os casos ocorridos foram por ação da saponina protodioscina presente na *Brachiaria brizantha* e não pela esporidesmina, mesmo assim o Zn poderia exercer papel protetor por sua ação antioxidante. Ainda existem muitas divergências entre pesquisadores em relação à origem das alterações que ocorrem na fotossensibilização. Miles (1993), Smith e Miles (1993) referem a formação de cristais que impedem a excreção da filioeritrina. Alguns estudos descrevem lesões celulares do parênquima hepático decorrente do acúmulo de metabólitos tóxicos (BRIDGES et al., 1987) ou por peroxidação lipídica (ZHANG et al., 2001).

Nagalakshmi et al. (2009) mostraram que a suplementação de 15 mg/kg de Zn, na forma de Zn proteinato, em uma ração basal com 29,28 mg/kg de Zn, aumentou a resposta de enzimas antioxidantes. Zhang et al. (2001) realizaram experimento na tentativa de esclarecer a associação entre Zn e enzimas antioxidantes, sugerindo que a suplementação com Zn pode deprimir a capacidade antioxidante e melhorar a peroxidação lipídica durante intoxicação por *Brachiaria decumbens*.

Em experimento realizado por Vilela et al. (2011) verificaram que a ingestão de 600 mg dia de Zn proteinato, aumentou sua concentração sérica a valores de 1,4 mg/kg, sendo os valores referência de 0,60 a 0,80 mg/kg (McDOWELL, 1992). As concentrações no fígado ao final do experimento oscilaram dentro da faixa de normalidade (75 a 300mg/kg de MS), indicando existir forte regulação de sua absorção pela metalotioneína. Tramonte (1996) já afirmava que o Zn é o micro mineral mais abundante no meio intracelular, com baixa concentração nos fluidos extracelulares.

Pela mortalidade e pelas lesões histopatológicas não foi possível comprovar efeito protetor do Zn neste estudo, embora seja necessário melhor conhecimento a respeito dos mecanismos de degradação das saponinas e possíveis interações

destes compostos, para que se possa atuar de maneira preventiva mais efetiva. A utilização de substâncias que poderiam se conjugar com as saponinas, impedindo sua atuação ou absorção, daria um tempo mais seguro para os animais desenvolverem uma possível adaptação ruminal.

Albernaz et al. (2010) verificaram que cordeiros que receberam fluido ruminal de ovelhas adaptadas a *Brachiaria sp.* obtiveram valores menores nos exames bioquímicos (AST, creatinina e bilirrubinas) comparados aos animais do grupo controle. Wina et al. (2005) verificaram que a adaptação da microbiota ruminal leva de 9 a 90 dias com consumo regular de saponinas.

O cloreto de colina utilizado neste estudo foi na forma protegida segundo recomendação de Piepenbrink e Overton (2003), Pinotti et al. (2004), pois sem esta proteção, a colina seria extensivamente degradada no rúmen (NEIL et al., 1979). A colina tem sua ação no metabolismo de lipídeos, onde é necessária para a síntese e liberação de lipoproteínas de baixa densidade, carreando os triglicerídeos acumulados no fígado, impedindo a esteatose hepática (BERCHELLI, et al., 2006).

O cloreto de colina foi utilizado a 0,5% na ração do grupo D, onde os animais eram suplementados a 1% do peso vivo, recebendo dose de 800 a 1200 mg/kg no início do experimento, chegando ao final entre 1300 a 2100 mg/kg. Bryant et al. (1999) observaram em bovinos ingerindo 90% de concentrado, maior peso vivo na menor concentração oferecida na dieta (0,25%), seguida por (0,50%), sendo que os pesos foram semelhantes para 0 e 1%. Sugeriram que o modo de ação do cloreto de colina parece estar mais associado a mudanças no metabolismo da gordura e/ou de hormônios relacionados ao metabolismo da gordura. A condição experimental neste estudo foi suplementação com concentrado a 1% do peso vivo, contendo 0,5% de cloreto de colina, no qual não se verificou diferença. A utilização do cloreto de colina neste experimento foi objetivando sua atuação hepatoprotetora (ZEISEL, 1992; BERCHIELLI et al., 2006).

O ganho de peso diário em condições normais depende basicamente do potencial genético e do manejo alimentar a que o animal está submetido (VOLTOLINI, 2009). Nas condições em que ocorreu o experimento, onde não ocorreu diferenças nas alturas de pastagens, nenhuma diferença envolvendo blocos ou tratamentos, não ocorrendo diferença em nenhum dos intervalos de pesagens é possível estabelecer que o metabolismo hepático dos animais nas condições deste desafio, foi determinante para o peso final dos animais. Avaliando as lesões

hepáticas dos animais que permaneceram vivos até o final do experimento e as diferentes análises sanguíneas, verificando-se que não houve diferença entre os tratamentos e o desempenho deste grupo foi menor, leva-nos a acreditar que a susceptibilidade da categoria utilizada e o fato de não ter contato anterior com *Brachiaria sp* foram determinantes, independente dos tratamentos utilizados. Os animais que sobreviveram do tratamento A, obtiveram o melhor desempenho com proteína menor que os outros grupos. O desempenho neste estudo variou de 131g (D) até 163 g (B). Gracindo (2010), obteve desempenho na mesma espécie forrageira com os animais suplementados a 1% de 117,8g ($\pm 74,4$). Outros fatores ainda podem estar envolvidos, como a resistência genética (CASTRO et al. 2011).

Tem se verificado a ação da colina nos casos de balanço energético negativo em vacas leiteiras (GRUMMER, 2008; PIRES e GRUMMER, 2009; OVERTON e WALDRON, 2004). Uma situação bastante frequente em ovinos é a toxemia da gestação, na qual também ocorre balanço energético negativo. Talvez a colina possa contribuir de maneira mais efetiva nestes casos, ressaltando a grande capacidade de produção e reciclagem da colina pelos ovinos (ROBINSON et al., 1984; ROBINSON et al., 1987; DAWSON et al., 1981).

A contagem de ovos por grama de fezes (OPG) não foi diferente entre tratamentos ($p=0,60$), tabela 17, e também não foi influenciada pela interação tratamentos e período de coleta. Contudo, ocorreu diferença significativa ($p=0,0001$) entre o período de coletas, conforme tabela 18. O tratamento realizado na primeira semana do experimento influenciou no resultado da coleta no 30º dia, quando houve redução na contagem de OPG. A partir da coleta realizada ao 60º dia ocorreu aumento da concentração de OPG, porém sem alcançar o limite pré-estabelecido para tratamento individual (1750 OPG).

Tabela 17 – Contagem média de ovos por grama de fezes (OPG) dos 64 ovinos de acordo com os tratamentos.

Tratamento	OPG (nº.g ⁻¹)	EPM
A	234,17	47,00
B	224,17	47,00
C	273,87	45,18
D	189,85	42,06

A - suplemento basal com 12% PB; B – suplemento com 18% de PB; C – suplemento com 18% de PB + propionato de Zn; e D – suplemento com 18% de PB + cloreto de colina protegida.

Tabela 18 – Contagem média de ovos por grama de fezes (OPG) dos 64 ovinos de acordo com os períodos de coleta.

Períodos de coleta (dias)	OPG (nº.g⁻¹)	EPM
0	140,23	48,76
30	38,37	10,81
60	195,31	26,23
90	341,57	53,09
120	437,09	59,28

Foi intenção deste estudo também avaliar o comportamento da carga parasitária por se trabalhar com animais em faixa etária altamente susceptível, sendo outro sério problema na ovinocultura (AMARANTE et al., 2004).

O sistema de pastejo rotativo adotado, com descanso de 25 dias e cinco de ocupação, possibilitaria que os animais não ingerissem as larvas infectantes (L3) no mesmo período de ocupação (SANTOS et al., 2002) e tivessem acesso ao piquete sempre na fase de valor nutritivo alto da planta (BORBA et al., 1993).

Foi utilizada lotação de 20 cordeiros em área de 0,08 ha, nos sucessivos piquetes dentro de cada bloco, o que poderia predispor a altas reinfestações (GORDON, 2000). Isto não foi observado, mesmo em condições ambientais favoráveis, com temperaturas médias em torno dos 23°C, umidade relativa do ar em torno de 80% e período com aumento dos índices pluviométricos (ANDERSON, 1982). Não ocorreram diferenças entre os tratamentos, observou-se diminuição na contagem de OPG aos 30 dias por efeito de tratamento realizado no início do experimento, após houve aumento gradual. O controle das condições ambientais na base da planta foram determinantes, pois Gastaldi, (1999) relata que contagens de OPG altas coincidem com maior concentração de larvas na pastagem. Embora a suplementação protéica tenha impacto em relação à carga parasitária dos animais (HAILE et al., 2002), não observou-se diferença entre os dois níveis proteicos administrados (12% e 18%), apesar disto, Van Houtert e Sykes, (1996) relataram que a suplementação proteica é um fator de resiliência e resistência a verminose, porém o desafio neste estudo foi alto, devido a lotação mantida.

Com o manejo adotado não houve necessidade de tratamento, durante o período experimental devido a contagem baixa de OPG, segundo escala de Hansen e Perry (1994), o que permitiu um bom desempenho. A otimização dos tratamentos auxiliam na eficácia dos produtos anti-helmínticos utilizados, prevenindo a resistência aos produtos (GITHIGIA et al., 2001).

A infestação não interferiu no desempenho dos animais e não ocorreu hipoproteinemia (FERNANDEZ et al., 2006). As concentrações séricas de proteína estavam normais em todos os animais durante o curso do experimento, inclusive nos que foram acometidos pela fotossensibilização.

Não ocorreu diferença nas alturas da forragem, de entrada e saída dos piquetes, durante os ciclos, nem interação com os blocos. Os animais entravam com altura em torno de 14-15 cm e deixavam o piquete com 6-7 cm de resíduo pós-pastejo, o que determinou a exposição do estrato basal para controle ambiental (SANTOS et al., 2002; DEL CARRATORE, 2004). As características da *Brachiaria brizantha* facilitaram o manejo neste sistema (NUNES et al., 1985), o mesmo não foi observado por Cunha et al. (2000) e Santos et al. (2002) trabalhando com ovinos em pastejo contínuo nos capins Tanzânia, estrela-africana e andropogon, obtendo médias altas de OPG (1228) em uma altura residual mais alta (20 cm).

Esta utilização intensiva foi possível devido à adubação realizada pós-desocupação, sendo que não houve problema com degradação da pastagem. O sistema de rotação de pastagens exige a intensificação para obtenção de melhores resultados (GARDNER e ALVIM, 1985).

Foi realizada a necropsia e exame histopatológico do fígado (Figura 15) e linfonodo jejunal dos cordeiros abatidos ao final do experimento e somente do fígado dos cordeiros que vieram a óbito. A frequência absoluta e relativa das alterações histopatológicas observadas no fígado é mostrada nas tabelas 19 e 20.

Figura 15 – **A**: Cristais no interior da luz do ducto biliar de um ovino que veio a óbito e com quadro de fotossensibilização. (HE, 40X). **B**: Imagem negativa de cristais no interior do ducto biliar (HE, 40X). (Tatiane C. Faccin, 2014).

Figura 16 – Macrófagos espumosos no interior de sinusóides hepáticos, (HE, 40X). (Tatiane C. Faccin, 2014).

Tabela 19 - Frequências absoluta e relativa das alterações observadas ao exame histopatológico do fígado e linfonodo jejunal dos 64 ovinos abatidos ao final do experimento.

Alterações ao exame histopatológico	A		L		M		S		Total
	FA	FR (%)	FA	FR (%)	FA	FR (%)	FA	FR (%)	
Tumefação e vacuolização de hepatócitos	1	1,6	51	79,7	12	18,8	0	0	64
Necrose individual de hepatócitos	61	95,3	3	4,7	0	0	0	0	64
Cristais no interior de hepatócitos	64	100	0	0	0	0	0	0	64
Cristais no interior de macrófagos	64	100	0	0	0	0	0	0	64
Cristais no interior de ductos biliares	63	98,4	1	1,6	0	0	0	0	64
Proliferação de ductos biliares	62	96,9	2	3,1	0	0	0	0	64
Retenção biliar	64	100	0	0	0	0	0	0	64
Infiltrado mononuclear periportal	38	59,4	26	40,6	0	0	0	0	64
Macrófagos com citoplasma espumoso	56	87,5	8	12,5	0	0	0	0	64
Fibroplasiaperiportal	64	100	0	0	0	0	0	0	64
Infiltrado neutrofílico focal	64	100	0	0	0	0	0	0	64
Células gigantes	64	100	0	0	0	0	0	0	64
Macrófagos espumosos em linfonodo jejunal	57	89,1	7	10,9	0	0	0	0	64

A – ausente; L - leve; M - moderado; S - severo

Tabela 20 - Frequências absoluta e relativa das alterações observadas ao exame histopatológico do fígado nos 16 ovinos que vieram a óbito durante o experimento.

Alterações ao exame histopatológico	A		L		M		S		Total
	FA	FR(%)	FA	FR(%)	FA	FR(%)	FA	FR(%)	
Tumefação e vacuolização de hepatócitos	3	18,8	10	62,5	3	25	0	0	16
Necrose individual de hepatócitos	10	62,5	6	37,5	0	0	0	0	16
Cristais no interior de hepatócitos	8	50	8	50	0	0	0	0	16
Cristais no interior de macrófagos	7	43,8	6	37,5	0	0	3	18,8	16
Cristais no interior de ductos biliares	8	50	4	25	3	18,8	1	6,3	16
Proliferação de ductos biliares	3	18,8	13	81,3	0	0	0	0	16
Retenção biliar	14	87,5	2	12,5	0	0	0	0	16
Infiltrado mononuclear periportal	9	56,3	7	43,8	0	0	0	0	16
Macrófagos com citoplasma espumoso	3	18,8	3	18,8	4	25	6	37,5	16
Fibroplasiaperiportal	14	87,5	2	12,5	0	0	0	0	16
Infiltrado neutrofílico focal	14	87,5	2	12,5	0	0	0	0	16
Células gigantes	15	93,8	1	6,3	0	0	0	0	16

A – ausente; L - leve; M - moderado; S – severo

Houve diferença significativa entre mortos e vivos ($p=0,0001$) nas seguintes lesões: cristais no interior de hepatócitos, cristais no interior de macrófagos, cristais no interior de ductos biliares, necrose individual de hepatócitos, proliferação de ductos biliares, macrófagos com citoplasma espumoso, retenção biliar ($p>0,046$), fibroplasia periportal ($p=0,037$), infiltrado neutrofílico focal ($p=0,004$), tabelas 18 e 19. Foram observados macrófagos espumosos no linfonodo jejunal em 7/64 (10,9%) do grupo abatido no final do experimento.

As lesões histopatológicas apresentaram-se mais acentuadas em animais que vieram a óbito com manifestação clínica de fotossensibilização, conforme observado por Driemeier et al. (2002).

As alterações histopatológicas mais características da intoxicação por *Brachiaria sp* são a presença de cristais birrefringentes ou imagens negativas nos ductos biliares ou em hepatócitos, como observado por Lemos et al. (1998), Driemeier et al.(2002), Silveira et al. (2009), Santos Jr. (2008) e a presença de macrófagos com citoplasma de aspecto espumoso, às vezes, contendo cristais conforme observado por Lemos et al. (1997), Driemeier et al. (1998), Driemeier et al. (1999), Gomar (2002), Gomar et al. (2005), Moreira (2009), Santos Jr. (2008). Nos animais abatidos que chegaram ao final do experimento não foram observados cristais no interior de hepatócitos, nem em macrófagos. Em apenas um animal (1/64) foi observado cristais no interior de ductos biliares de grau leve. Em relação a estas lesões foi verificada diferença significativa entre o grupo de animais abatidos e os que vieram a óbito durante o experimento, sendo que este último apresentou cristais no interior de hepatócitos de grau leve em 50% dos animais.

O mecanismo provável para formação dos cristais biliares observados na histopatologia envolve a hidrólise dos açúcares das saponinas pelo metabolismo ruminal, redução da dupla ligação entre os carbonos 5 e C6 e conjugação com o ácido glicurônico. Ocorre uma ligação entre os glicuronídeos formados e íons de cálcio, formando sais insolúveis que se depositam na forma de cristais (MILES et al., 1991). Foram observadas lesões que podem estabelecer relação com possível obstrução das vias biliares por estes cristais conforme proposto por Miles (1993).

Em relação aos macrófagos com citoplasma espumoso, também houve diferença significativa entre os dois grupos de animais, os abatidos ao final do experimento e os que vieram a óbito. Esta lesão foi mais frequente e se manifestou em sua forma mais severa nos que vieram a óbito antes do final do experimento. No grupo de animais vivos que manifestaram esta lesão não houve interferência no desempenho dos animais. Graydon et al. (1991) e Cruz et al. (2000) observaram que a presença de macrófagos espumosos no fígado e linfonodos mesentéricos ocorreu apenas quando o período de ingestão da *Brachiaria sp.* foi superior a 150 dias. A lesão neste estudo ocorreu já nos animais que vieram a óbito precocemente a partir de 8 dias. Driemeier et al. 2002, Castro et al. 2007, Castro et al.,2009, Santos Jr. 2008, Mustafa et al 2010, observaram macrófagos espumosos em casos agudos. A

infiltração focal desses macrófagos tem sido descrita no fígado em 67,57% (FIORAVANTI, 1999) a 100% (GOMAR, 2005; MOREIRA et al., 2007) dos bovinos alimentados com capim *Brachiaria* sp. Foram colhidos os linfonodos jejunais dos animais que chegaram ao final do experimento, sendo observados macrófagos espumosos no linfonodo jejunal em 7/64 (10,9%) do grupo abatido no final do experimento. Gomar et al. (2005) verificaram em bovinos abatidos provenientes de pastos de *Brachiaria* sp. macrófagos espumosos no fígado e linfonodos de todos os animais, frequentemente formando células multinucleadas. Constataram um marcador para quantificar os macrófagos espumosos, porém sem definir a composição destas células.

As diferenças entre padrão lesional, manifestação de quadro clínico, mortalidade, estão relacionadas com a maior sensibilidade da espécie ovina em relação à espécie bovina, conforme relatado por Riet-Correa e Méndez (2007) e Lemos et al. (2009).

A tumefação e vacuolização dos hepatócitos foram as lesões mais observadas nos animais que permaneceram até o final do experimento (98,5%) e naqueles que vieram a óbito (87,5%). Não foi encontrada diferença entre os dois grupos quanto a sua frequência, não ocorrendo diferença no desempenho dos animais. Estas lesões foram observadas por (LEMOS et al, 1997; GOMAR et al., 2005). Santos Jr (2008) observou por microscopia eletrônica que esta alteração era devida a hiperplasia do retículo endoplasmático liso, conferindo aspecto tumefeito ao hepatócito. Esta alteração já havia sido descrita em bovinos (DRIEMEIER et al., 1998; TORRES;COELHO 2003) e ovinos (DRIEMEIER et al., 2002). No retículo endoplasmático liso é onde atuam os sistemas enzimáticos de detoxificação, como o citocromo P-450 em desafios causados por toxinas naturais ou sintéticas (CHEEKE, 1994).

A necrose individual de hepatócitos teve diferença entre os grupos, sendo que no grupo de animais que morreram 37,5% (6/16) apresentaram a forma leve e no grupo de animais vivos, 4,7% (3/64). Esta lesão também foi observada por Lemos et al.(1998); Driemeier et al. (2002); Barbosa et al. (2006). Esta apresentação difere da extensa necrose hepática, lesão característica da esporidesmina. A mesma não é observada nos surtos de intoxicação por braquiária no Brasil (LEMOS et al, 1996; DRIEMEIER et al., 1998; CRUZ et al., 2001; TORRES COELHO, 2003, GOMAR et al., 2005; CASTRO et al., 2007; MENDONÇA et al., 2008; SANTOS Jr, 2008).

Ocorreu diferença estatisticamente significativa entre os grupos vivo e morto em relação à proliferação de ductos biliares. A lesão se manifestou de forma leve em 81,3% (13/16) nos mortos e nos animais vivos em 3,1% (2/64). A hiperplasia de ductos biliares é outra alteração microscópica importante e está relacionada a lesões inespecíficas no parênquima que resultam em atividade proliferativa (DRIEMEIER et al., 2002).

Ocorreu diferença entre os grupos em relação à retenção biliar ($p > 0,046$), estando presente em 12,5% (2/16) dos animais que morreram e ausente nos que permaneceram vivos até o final do experimento. Gomar et al. (2005) sugeriram que a presença de macrófagos espumosos pode estar relacionada com o grau de retenção biliar em bovinos. Contudo, nesse estudo não se observou esta relação no exame histopatológico dos ovinos.

Não houve diferença entre os grupos em relação à infiltração de macrófagos na região periportal. Observou-se leve colangite em 40,62% (26/64) dos animais vivos e 43,75% (7/16) dos animais que morreram ao longo do estudo. A manifestação da lesão não limitou o desempenho dos animais, que finalizaram o experimento.

A presença de infiltrados celulares mononucleares também foi observada por CRUZ et al. (2001) em experimento com a administração de extratos fracionados de *Brachiaria decumbens* com níveis não detectáveis de esporos do fungo *Pithomyces chartarum* em ovinos. Lima et al. (2009) observaram a lesão tanto em animais tratados com cana de açúcar, como nos animais tratados com feno de *Brachiaria brizantha*.

A fibrose concêntrica periportal e proliferação do epitélio de ductos biliares, lesões muito semelhantes às causadas pelo *Pithomyces chartarum*, também são descritas, porém os bovinos apresentam diferenças significativas na apresentação, sendo mais severas e crônicas no envolvimento do fungo em relação à intoxicação por *Brachiaria sp.* (Freitas, 2009). Nos ovinos deste estudo verificou-se 12,5% (2/16) dos animais que vieram a óbito com grau leve de fibroplasia periportal. A proliferação de ductos biliares de grau leve esteve presente em 81,3% (13/16) dos animais que morreram e em 3,1% (2/64) dos animais que finalizaram o experimento.

Foi observada diferença entre os grupos com relação a infiltrados neutrofílicos focais, sendo que a mesma não ocorreu nos animais vivos, e foi observada em 12,5% (2/16) dos animais que morreram ao longo do estudo. Os dois animais que

apresentaram estas lesões desenvolveram quadro agudo de fotossensibilização, fato observado também por Santos Jr. (2008), podendo a mesma estar relacionada com a severidade e intensidade do processo.

7. CONCLUSÕES

- A concentração média de saponina de 0,57% está associada com lesões histopatológicas presentes nos animais que vieram à óbito.
- Os aditivos propionato de Zn e cloreto de colina não proporcionaram melhor desempenho e os cordeiros tiveram o mesmo padrão de lesões hepáticas dos cordeiros suplementados e sem aditivos;
- O método rotativo em *Brachiaria brizantha* cv. *Marandu* foi efetivo no controle de verminose, durante o período experimental;
- As lesões hepáticas nos animais sobreviventes, independente do tratamento de suplementação, não interferiram no desempenho nos 120 dias de recria em pasto;
- As concentrações séricas de AST, GGT, ureia, creatinina, proteína total, albumina, colesterol, triglicerídeos, VLDL e bilirrubinas não são alteradas pelo uso de suplemento proteico, com ou sem aditivo;
- Ocorreu diferença entre o padrão das lesões hepáticas e das concentrações séricas de AST, GGT, ureia, creatinina, proteína total, albumina, colesterol, triglicerídeos, VLDL e bilirrubinas entre os animais que morreram e os sobreviventes.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Não houve tempo suficiente de realizar um período de adaptação dos cordeiros aos tratamentos, apenas aos piquetes da área experimental. Preconiza-se a adaptação aos tratamentos por um período mínimo aproximado de trinta dias.

Casos de fotossensibilização ocorreram em fase incipiente do experimento. Contudo, todos os animais foram avaliados durante o período em que sobreviveram por meio de análises laboratoriais e exame histopatológico, sendo que o período experimental estendeu-se por quatro meses.

A realização de pesquisas que procurem viabilizar a utilização dessas áreas de pastagens para recria e terminação de cordeiros é imprescindível para a expansão da ovinocultura, principalmente pelo fato de poder conciliar melhor controle de parasitas gastrointestinais.

Muitas questões ainda precisam ser investigadas. Porque alguns animais conseguem se adaptar ao pastejo de *Brachiaria sp.*? Quais as características de sua microbiota ruminal, sua genética, metabolização hepática? O que determina a concentração de saponina nas plantas e suas variações?

A produção em pasto com suplementação energético/proteica e controle sanitário em sistema de produção que utilize a lotação rotativa torna-se alternativa interessante e viável dentro do processo produtivo, principalmente na realidade das pequenas propriedades rurais.

As gramíneas do gênero *Brachiaria* difundiram-se rapidamente, por sua excelente adaptação e menor exigência que outras espécies forrageiras. No entanto, a *Brachiaria brizantha* é considerada um cultivar de média exigência em fertilidade do solo, portanto, o manejo correto da correção e adubação do solo e da taxa de lotação é fundamental para alcançar excelentes índices zootécnicos.

Parece que o enfoque deve ser no animal, uma vez que objetivar a seleção de gramíneas com menores concentrações de saponina poderá ocorrer o risco de seleção de plantas menos resistentes, já que a saponina faz parte do sistema de defesa da mesma.

Para selecionar animais resistentes, devem ser melhor estudados a metabolização da protodioscina, a população microbiana do rúmen de animais adaptados e não adaptados, as diferenças de enzimas produzidas em função da idade pelo citocromo P-450, marcadores genéticos para estas enzimas, enfim não pode ser dispensado o grande potencial que estas gramíneas podem oferecer para ovinocultura nacional.

REFERÊNCIAS

- ABRASEM - Associação Brasileira de Sementes e Mudanças. Anuário 2013.
<http://www.abrasem.com.br/>
- ALBERNAZ, T.T. et al. Fotossensibilização em ovinos associada à ingestão de *Brachiaria brizantha* no estado do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 30, n.9, p.741-748, Setembro 2010.
 Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/pvb/v30n9/a06v30n9.pdf>>. Acesso em 12 agosto 2011.
- ALVARIZA, F. R. Intoxicação por *Pithomyces chartarum*. In: RIET-CORREA, et al. **Intoxicações por plantas e micotoxinas em animais domésticos**. Pelotas-RS: Editorial Hemisfério Sul do Brasil, 1993, cap. 3, p. 93-101.
- AMARANTE, A.F.T. et al. Resistance of Santa Ines Suffolk and Ile de France lambs to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. **Veterinary Parasitology**, v.120, p.91–106, 2004.
 Disponível:<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401703005041>>
 Acesso em 10 de outubro 2011.
- ANDERSON, N. Internal parasites of sheep and goats. In: COOP, I.E. (Ed). **Sheep and goat production**. World Animal Science, C1. New York: Elsevier, 1982. p. 175-191.
 Disponível em:<<https://publications.csiro.au/rpr/pub?list=BRO&pid=procite:f0c9b671-4e77-42197fe-ac1069c851a8>>. Acesso em: 10 de outubro de 2011.
- ANDRADE, S. O.; LOPES, S. H O.; BARROS, M. A.; LEITE, G. G.; DIAS, S. M. C.; SAUERESSIG, M.; NOBRE, D.; TEMPERINI, J. A. Aspectos da fotossensibilização em bovinos em pastagens de *Brachiaria decumbens* Stapf infestadas por *Pithomyces chartarum*. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 45, n.2, p. 117-136, 1978.
- BARBOSA, J. D. et al. Fotossensibilização hepatógena em equinos pela ingestão de *Brachiaria humidicola* (Gramineae) no Estado do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.26, n.3, p. 147-153, 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pvb/v26n3/a03v26n3.pdf>>. Acesso em: 10 julho 2012.
- BARBOSA-FERREIRA, M. et al. Variations of saponin level x maturation in *Brachiaria brizantha* leaves. In: 8th International Symposium on Poisonous Plants. João Pessoa, Paraíba, Brazil. **Abstracts**. p. 13, 2009.
- BARBOSA-FERREIRA, et al. Variations of saponin level x maturation in *Brachiaria brizantha* leaves. In: RIET-CORREA, F., et al. **Poisoning by Plants, Mycotoxins and related Toxins**. CAB International: London, p. 118-123, 2011.
- BARBOSA F.A.; SOUZA, G. M. **Efeito dos microminerais na reprodução de bovinos**. Belo Horizonte: Portal Agronomia, [2009]. Disponível em:

<http://www.agronomia.com.br/conteudo/artigos/artigos_e_feito_microminerais.htm>. Acesso em: 20 março 2012.

BEACH, R.S., GERSHWIN, M.E., HURLEY, L.S. Nutritional factors and autoimmunity. Immunopathology of zinc deprivation in New Zealand mice. **Journal of Immunology**, v. 126, p.1999-2006, 1981.

BEEVER, R. E.; PARKES, S. L. Variation of *Pithomyces chartarum*, causal agent of facial eczema. Proceedings of a Symposium on Mycotoxicosis of Grassland Farming. **New Zealand Veterinary Journal**, v.41, n.4, p. 212-224, 1993.

BERCHIELLI, T. et al. In. _____ **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. 583 p.

BINDEL, D. J. et al. Effects of choline on blood metabolites associated with lipid metabolism and digestion by steers fed corn-based diets. **Journal Animal Science**, Savoy, v. 83, p.1625-1632, 2005.

Disponível em: <<http://www.journalofanimalscience.org/content/83/7/1625>>. Acesso em: 10 de agosto de 2012.

BORBA, M.F.S. et al. Aspectos relativos a produção de carne ovina. In: SIMPÓSIO PARANAENSE DE OVINOCULTURA, 6, 1993, Maringá. **Anais...** Maringá: 1993. p. 15-26.

BRIDGES, C.H.; CAMP, B.J.; LIVINGSTON, C.W.; BAILEY, E.M. Kleingrass (*Panicum coloratum* L) poisoning in sheep. **Veterinary Pathology**, v. 24, p. 525-531, 1987. Disponível em: <et.sagepub.com/content/24/6/525.short>. Acesso em: 12 de outubro de 2012.

BRUM, K.B. et al. Steroidal saponins concentrations in *Brachiaria decumbens* and *B. brizantha* at different developmental stages. **Ciência Rural**, v. 39, n.1, p. 279-281, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782009000100049&script=sci_arttext> Acesso em 17 de dezembro de 2012.

BRUM, K.B. et al. Crystal associated cholangiopathy in sheep grazing *Brachiaria decumbens* containing the saponin protodioscin. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.27, n.1, p. 39-42, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-736X2007000100007&script=sci_arttext>. Acesso em: 10 de setembro de 2011.

BRUM, K.B. Papel das saponinas e do *Pithomyces chartarum* como agentes hepatotóxicos para ruminantes em sistema de pastejo. 2006. 93f. Tese (Doutorado em Ciência Animal). Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária, 2006. Disponível em: <http://ppgca.vet.ufg.br/uploads/67/original_Tese2006_Karine_Bonucielli.pdf>. Acesso: em 10 de julho de 2012.

BRYANT, T.C.; RIVERA, J.D.; GALYEAN, M.L.; DUFF, G.C.; HALLFORD, D.M.; d MONTGOMERY, T.H. Effects of dietary level of ruminally protected choline on performance and carcass characteristics of finishing beef steers and on growth and

serum metabolites in lambs. **Journal Animal Science**. Savoy, v. 77, p. 2893–2903, 1999.

Disponível em: <<http://www.journalofanimalscience.org/content/77/11/2893.short>>. Acesso em: 20 de outubro de 2012.

BUENO M. S. et al. In: SIMPÓSIO SOBRE CONTROLE DE PARASITAS EM PEQUENOS RUMINANTES. TEMA: AVANÇOS E ALTERNATIVAS. 2005. Nova Odessa. **Anais eletrônicos...** Nova Odessa: SP, 2005. Disponível em: <<http://www.iz.sp.gov.br/pdfs/1249593677.pdf>>. Acesso em: 10 de maio de 2011.

CASTRO, M.B. et al. Susceptibilidade de ovinos a intoxicação por *Brachiaria decumbens*. In: V CONGRESO LATINO AMERICANO DE ESPECIALISTAS EN PEQUEÑOS RUMIANTES Y CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS, Buenos Aires: Argentina, 2007.

CASTRO, M.B. *Brachiaria* spp. poisoning in sheep in Brazil: Experimental and epidemiological findings. In: 8TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON POISONOUS PLANTS. 2009, João Pessoa. **Resumo...** João Pessoa:Paraíba, p. 12, 2009.

CASTRO, M.B.; SANTOS JR., H.L.; MUSTAFA, V.S.; GRACINDO, C.V.; MOSCARDINI, A.C.R.; LOUVANDINI, H.; PALUDO, G.R.; BORGES, J.R.J.; HARAGUCHI, M.; FERREIRA, M.B.; RIET-CORREA F. 2011. *Brachiaria* spp. poisoning in sheep in Brazil: Experimental and epidemiological findings, p.110-117. In: RIET-CORREA F. et al. (Eds), **Poisoning by Plants, Mycotoxins and Related Toxins**. CAB International, Willingford, 2011, p.110-117.

CINTRA, A. F.; ALENCAR, R. A.; MELLO, R. E. A.; ANDRADE, S. O.; NOBRE, D.; CAMARGO, W. V.; NAZÁRIO, W.; AMANTE, E. Informações do Instituto Biológico relativas à fotossensibilização em equinos e bovinos. **O Biológico**, v. 43, n 5/6, p. 141-144, 1977.

COLLIN R.G.; ODRIOZOLA, E.; TOWERS, N.R. Sporidesmin production by *Pithomyces chartarum* isolates from Australia, Brazil. New Zealand and Uruguay. **Mycology Research**., v.106, p.163-166, 1996.

CONRAD, J.H.; MCDOWELL, L.R.; ELLIS, G.L.; LOOSLI, J.K. **Minerais para ruminantes em pastejo em regiões tropicais**. Universidade da Flórida. Gainesville. 91p. 1985.

COOP, R.L.; HOLMES, P.H. Nutrition and parasite interaction. **International Journal of Parasitology**, v. 26, p. 951-962, 1996.

CORSI, M.; MARTA JR, G.B. Manejo de pastagens para produção de carne e leite. In: **SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGEM**, 15.,1998, Piracicaba. **Anais...**Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 55-83.

CORSI, M.; NASCIMENTO JUNIOR, D. Princípios de fisiologia e morfologia de plantas forrageiras aplicados no manejo das pastagens. In: CORSI, M. **Atualização de manejo de pastagem**. Piracicaba: FEALQ, 1987. p.113-151

CRUZ, C.; DRIEMEIER, D.; PIRES, V. S.; COLODEL, E. M.; TAKETA, A. T. C.; SCHENKEL, E. P. Isolation of steroidal sapogenins implicated in experimentally induced cholangiopathy of sheep grazing *Brachiaria decumbens* in Brazil. **Veterinary Human Toxicology**, v. 42, n.3, p.142-145, 2000.

CRUZ, C.; DRIEMEIER, D.; PIRES, V. S.; SCHENKEL, E. P. Experimentally induced cholangiohepatopathy by dosing sheep with fractionated extracts from *Brachiaria decumbens*. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.13, n. 2, p. 170-172, 2001.

DAWSON, R.M.C.; GRIME, D.W.; LINDSAY, D. B. On the insensitivity of sheep to the almost complete microbial destruction of dietary choline before alimentary-tract absorption. **Biochemical Journal**, v.196, p. 499–504, 1981.

DEL CARRATORE, R.R. *Recuperação de larvas infectantes de Haemonchus contortus em três espécies de gramíneas*. 2004, 72p. Tese (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2004.

DI MENNA, M.E., BAILEY, J. R. *Pithomyces chartarum* spore counts in pasture. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, Wellington, v. 5, p. 343-351, 1973.

DI MENNA M.E.; SMITH B.L.; MILES C.O. A history of facial eczema (pithomycotoxicosis) research. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v.52, n.4, p. 345-376, 2009.

DRIEMEIER, D.; BARROS, S.S.; PEIXOTO, P.V.; TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; BRITO, M. F. Estudos histológico, histoquímico e ultra-estrutural de fígados e linfonodos de bovinos com presença de macrófagos espumosos (foam cells). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.18, n.1, p. 29-34, 1998.

DRIEMEIER, D.; COLODEL, E. M.; SEITZ, A. L.; BARROS, S. S.; CRUZ, C. E. F. Study of experimentally induced lesions in sheep by grazing *Brachiaria decumbens*. **Toxicon**, v, 40, n.7, p, 1027-1031, 2002.

DRIEMEIER, D.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V.; BRITO, M. F. Relação entre macrófagos espumosos ("foam cells") no fígado de bovinos e ingestão de *Brachiaria* spp no Brasil. **Pesquis VetEerinária Brasileira**, v.19, n.2, p. 79-83, 1999.

FAGLIARI, J. J. **Estudo epidemiológico, clínico e laboratorial da intoxicação natural de bovinos pela micotoxina esporidesmina**. Botucatu, 1990. 106f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

FAGLIARI, J. J.; KUCHEMBUCK, M. R. G.; OKUDA, H. T.; CURI, P. R. Estudo de alguns constituintes sanguíneos de bovinos intoxicados naturalmente pela micotoxina esporidesmina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.46, n.5, p. 457-475, 1994.

FAGLIARI, J. J.; OLIVEIRA, J. A.; KUCHEMBUCK, M. R. G.; CURI, P. R. Intoxicação natural de bovinos pela micotoxina esporidesmina. III. Desenvolvimento ponderal de bovinos intoxicados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 45, n.3, p. 283-289, 1993.

FERNANDES, L.H.; et al. Efeito do pastejo rotacionado e alternado com bovinos adultos no controle da verminose em ovelhas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.56, n.6, p.733-740, 2004.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352004000600006>

FERNANDES, S.R., et al. Early weaning and concentrate supplementation on the performance and metabolic profile of grazing lambs. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, n.5, p.1292-1300, 2012.

FERNÁNDEZ, S.Y.; JESUS, E.E.V.; PAULE, B.J.A.; UZEDA, R.S.; ALMEIDA, M.A.O.; GUIMARAES, J.E. Proteinograma de caprinos da raça Pardo-Alpina infectados naturalmente por parasitos gastrintestinais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, p.279-282, 2006.

FERRAZ, F. M. Pastagens garantem o futuro da agropecuária brasileira. In: NAKAMAE, I. J.(Ed.). **Anualpec – Anuário da pecuária brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria e Agroinformativos, 2003. p.55-56.

FETTMAN, J.M.; REBAR, A. Avaliação laboratorial da função renal. In: THRALL, M.A. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. São Paulo: Editora Roca. 2007. p. 285-311.

FIORAVANTI, M.C.S. **Incidência, avaliações clínica, laboratorial e anatomopatológica da intoxicação subclínica por esporidesmina em bovinos**.1999 257p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil. 1999.

FIORAVANTI, M.C.S.; TRINDADE, B.R.; BRUM, K.B.; CARNEIRO, R.B.; MENEZES, L.B.; FRANCA, A.F.S.; ORSINI, G.F.; SILVA, L.A.F. Estudo histopatológico do fígado, linfonodo mesentérico, intestino e aorta de bovinos alimentados com *Brachiaria brizantha*. In: **XI ENAPAVE. Anais...** UNESP-Botucatu: 2003. p.35.

FONSECA, C. A. **Fontes e níveis de zinco no desempenho de bovinos terminados em confinamento e relativa biodisponibilidade**. 2005. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária, 2005.

GARDNER, A.L.; ALVIM, M.J. Manejo de pastagem. Documento 19, **EMBRAPA**, Coronel Pacheco, 1985. 54 p.

GASTALDI, K.A. **Utilização do pastejo integrado como controle de nematodíases em ovinos**. 1999. 129f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1999.

GITHIGIA, S.M.; THAMSBORG, S.M.; LARSEN, M. Effectiveness of grazing management in controlling gastrointestinal nematodes in weaner lambs on pasture in Denmark. **Veterinary Parasitology**, v. 99, n. 1-2, p. 15-27, 2001.

GJULEMETOWA, R., TOMOWA M., SIMOWA, M., PANGAROWA, T., PEEWA, S. Über die bestimmung von furostanolsaponinen im präparat tribestan®. **Pharmazie**, v.37, p. 296, 1982.

GOMAR M. S. **Características das células espumosas no fígado, linfonodos mesentéricos e intestino de bovinos associados ao consumo de *Brachiaria* spp.** 62f. 2002. Dissertação (Mestrado em Patologia Veterinária) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

GOMAR, M. S.; DRIEMEIER, D.; COLODEL, E. M.; GIMENO, E. J. Lectin histochemistry of foam cells in tissues of cattle grazing *Brachiaria* spp. **Journal of Veterinary Medicine. A, Physiology Pathology Clinical Medicine**, v.52, n.1, p. 18-21, 2005.

GONZÁLES, F.H.D.; BARCELLOS, J.; PATIÑO, H.O.; RIBEIRO, L.A. **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso na nutrição e doenças nutricionais.** Porto Alegre: Gráfica da UFRGS, 2000. 106 p.

GORDON, I.J., Plant-Animals interactions in complex plant communities: from mechanism to modelling. In: LEMAIRE et al. (Eds.) **Grassland ecophysiology and grazing ecology**. Wellingford: CAB International, 2000. p.191-207.

GORDON, H.M.; WHITLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of the Council of Scientific and Industrial Research**, v. 12, n.1, p. 50-52, 1939.

GOSELINK, R.M.A. et al. Effect of rumen-protected choline supplementation on liver and adipose gene expression during the transition period in dairy cattle. **Journal Dairy Science**, v. 96, p.1102–1116, 2013. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2012-5396>

GRACINDO, C. V. **Avaliação do desempenho e da toxicidade em ovinos mantidos em pastagens de *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria brizantha*, *Panicum maximum* var Aires e *Andropogon gayanus* var Planaltina.** 90f. 2010. Dissertação (Mestrado em Saúde Animal) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2010.

GRAYDON, R. J.; HAMID, H.; ZAHARI, P.; GARDINER, C. Photosensitization and crystal-associated cholangiohepatopathy in sheep grazing *Brachiaria decumbens*. **Australian Veterinary Journal**, v.68, n.7, p. 234-236, 1991.

GRUMMER, R. R. Nutritional and management strategies for the prevention of fatty liver in dairy cattle. **Veterinary Journal**, v.176, p.10–20, 2008.

HAILE, A. et al. Effects of breed and dietary protein supplementation on the responses to gastrointestinal nematode infections in Ethiopian sheep. **Small Ruminants Research**, v. 44, p. 247-261, 2002.

HANSEN, D.E.; McCOY, R.D.; HEDSTROM, O.R.; SNYDER, S. P.; BALLERSTEDT, P. B. Photosensitisation associated with exposure to *Pithomyces chartarum* in lambs. **Journal American Veterinary Society**, Hasting, v.204, n.10, p.1668-1671, 1994.

HANSEN, J.; PERRY, B. **The epidemiology, diagnosis and control of helminth parasites of ruminants**, chap. 2 e 3. Nairobi:ILRAD:FAO, 1994.
Disponível em < <http://www.ilri.cgiar.org/Infoserv/Webpub/Fulldocs/X5492e00.htm>>.
Acesso em:12 de junho 2012.

HARAGUCHI, M.; CUNHA, H.A.; MIMAKI, Y.; BRUM, K.B.; LEMOS, R.A.A.; YOKOSUKA, A., SASHIDA, Y. Furostanol glicosídicos nas folhas de *Brachiaria decumbens*. In: **26ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Anais...** Poços de Caldas, MG. 2003. P.26.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Agropecuária**. Brasília, 2009. Disponível em: < <http://serieestatisticas.ibge.gov.br/series.aspx?Vcodigo=PPM01&sv=59&t=efetivo-dos-rebanhos-por-tipo-de-rebanho>>. Acesso em: 7 julho 2011.

JACOB, R. L.; PEET, R. L. Poisonings of sheep and goats by *Tribulus terrestris*. **Australian Veterinary Journal**, v. 64, p. 288, 1987.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6.ed. San Diego: Academic Press, 2008. 916p.

KELLY W.R. The liver and biliary system, p.319-404. In: JUBB K.V.F.; KENNEDY P.C.; PALMER N. (Eds.). **Pathology of Domestic Animals**. vol.2, 4 ed. Academic Press, San Diego, 1993.

KELLY W.R. Enfermedad del hígado en grandes y pequenos rumiantes. In: **10º CONGRESSO LATINOAMERICANO DE BUIATRIA, 30ª JORNADAS URUGUAYAS DE BUIATRIA**. Paysandú, Uruguai, p.1-6, 2002.

KERR, G. M. **Exames laboratoriais em Medicina Veterinária**. 2.ed. São Paulo: Editora Roca. 2003, 434 p.

KINCAID, L.R.; CHEW, B.P.; CRONRATH, J.D. Oxide and amino acids as sources of dietary zinc for calves: effects on uptake and immunity. **Journal Animal Science**, v.80, p.1381-1388, 1997.

KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. 2.ed. Santa Maria: Ed. da UFSM, 2009. 216p.

LAJIS, N. H.; SALAM ABDULLAH, H.; SALIM, S. J.; BREMNER, J. B.; KHAN, M. N. Epi-sarsasapogenin and epi-smilagenin: two sapogenins isolated from the rumen content of sheep intoxicated by *Brachiaria decumbens*. **Steroids**, v. 58, p. 387-389, 1993.

LASSEN, E.D. Avaliação laboratorial do fígado. In: THRALL, M.A. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. São Paulo: Editora Roca. 2007. p. 335-355.

LEMOS, R. A. A.; FERREIRA, L. C. L.; SILVA, S. M.; NAKATO, L.; SALVADOR, S. C. Fotossensibilização e colangiopatia associada a cristais em ovinos em pastagem de *Brachiaria decumbens*. **Ciência Rural**, v. 26, p.109-113, 1996.

LEMOS, R.A.A.; NAKAZATO, L.; HERRERO JUNIOR, G.A.; SILVEIRA, A.C.; PORFIRIO, L. C. Fotossensibilização e colangiopatia associada a cristais em caprinos mantidos sob pastagens de *Brachiaria decumbens* no Mato Grosso do Sul. **Ciência Rural**, v.28, n.3, p.507-510, 1998.

LEMOS, R.A.A., NOGUEIRA, A.P.A., SOUZA, R.I.C., SANTOS, B.S., CARVALHO, N.M., ANIZ, A.C.M., FREITAS, P.C. *Brachiaria* spp. poisoning in ruminantes in Mato Grosso do Sul, Brazil. In: **8TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON POISONOUS PLANTS**. João Pessoa. **Resumos...**, Paraíba, 2009, p. 98.

LEMOS, R.A.A.; PURISCO, E. Plantas que causam fotossensibilização hepatógena, p.297-315. In: LEMOS, R. A. A.; BARROS, N.; BRUM, K. R. (Eds.). **Enfermidades de Interesse Econômico em Bovinos de Corte: perguntas e respostas**. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande. 2002. 292p.

LEMOS, R.A.; SALVADOR, S.C.; NAKAZATO, L. Photosensitization and crystalassociated cholangiohepatopathy in cattle grazing *Brachiaria decumbens* in Brazil. **Veterinary Human Toxicology**, v.39, n.6, p. 376-377, 1997.

LIMA, F. G.; RIBEIRO, C.; ANDRADE, D.; GUIMARÃES, V.; COSTA, G.; SILVA, A.; FIORAVANTI, M. Avaliação histopatológica hepática e desempenho ovinos alimentados com feno de *Brachiaria brizantha* ou cana-de-açúcar. **Ciência Animal Brasileira, América do Norte**, v.10, p. 117-120, 2009.

MAFRA, D., COZZOLINO, S.M.F. Importância do Zinco na nutrição humana. **Revista de Nutrição**, v.17, n.1, p.79-87, 2004.

McDOWELL, L.R. **Minerals in animal and human nutrition**. New York: Academic, 1992. 524p.

MEAGHER, L. P.; WILKINS, A. L.; MILES, C. O.; COLLIN, R. G.; FAGLIARI, J. Hepatogenous photosensitization of ruminants by *Brachiaria decumbens* and *Panicumdichotomiflorum* in the absence of sporidesmin: lithogenic saponins may be responsible. **Veterinary Human Toxicology**, v.38, n.4, p. 271-4, 1996.

MENDONÇA F.S., et al. Aspectos clínicos e patológicos de um surto de fotossensibilização hepatógena em ovinos pela ingestão de *Brachiaria decumbens* (Gramineae) no município de Cuiabá, Mato Grosso. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 4 p. 1034-1041, 2008.

MEYER, D. J.; HARVEY, J. W. **Veterinary laboratory medicine. Interpretation and diagnosis**. 3.ed. Elsevier: Saunders, 2004, 351p.

MILES, C.O. A role for steroidal saponins in hepatogenous photosensitisation. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 41, p. 221-223, 1993.

MILES, C.O.; MUNDAY, S.C.; HOLLAND, P.T.; SMITH, B.L.; EMBLING, P.P.; WILKINS, A.L. Identification of a sapogenin glucuronide in the bile of sheep affected by *Panicum dichotomiflorum* toxicosis. **New Zealand Veterinary Journal**, v.39, n. 4, p.150-2, 1991.

MOREIRA, C.N.; BANKYS,V. L.; ROSA, B.C.; PINTO, A.S.; SILVA, L.A. F.; HARAGUCHI, M.; FIORAVANTI, M.C.S. Bovinos alimentados com capim *Brachiaria* e *Andropogon*: desempenho, avaliação da quantidade de esporos do fungo *Pithomyces chartarum* e teor de saponina das pastagens. VII Congresso Brasileiro de Buiatria. 10 a 13 de outubro de 2007, Curitiba. Resumo 99. **Archives Veterinary Science** 12 (supl.): 141, 2007.

MOREIRA, C. M.; BANY, V. L.; PINTO, A. S.; FRANCO, L. A. S.; HARAGUCHI, M.; FIORAVANTI, M. C. S. Bovinos alimentados com capim *Brachiaria* e *Andropogon*: desempenho, avaliação da quantidade de esporos do fungo *Pithomyces chartarum* e teor de saponina das pastagens. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 1, p. 184 - 194, 2009.

MUNDAY, R. Studies on the mechanism of toxicity of the mycotoxin sporidesmin. Evidence for intracellular generation of Superoxide radical from sporidesmin. **Journal of Applied Toxicology**, v.4, p.176-181, 1984.

MUNDAY, R. Studies on the mechanism of toxicity of the mycotoxin sporidesmin. IV Inhibition by copper-chelating agents of the generation of superoxide radical by sporidesmin. **Journal of Applied Toxicology**, v.5, p.69-73, 1985.

MUNDAY, R.; THOMPSON, A.M; SMITH, B.L; TOWERS, N.R; O'DONNELL, K.; MCDONALD, R.M., STIRNEMANN, M. A zinc-containing intraruminal device for prevention of the sporidesmin-induced cholangiopathy of facial eczema in calves. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 49, p. 29-33, 2001.

MUSTAFA, V.S.; MOSCARDINI, A.R.C.; BORGES, J.R.; RECKZIEGEL, G.C.; RIET-CORREA, F.; CASTRO, M.B. Caracterização da intoxicação natural por *Brachiaria* spp em ovinos no Brasil Central. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, n. 12, p.1272-1280, 2012.

NAGALAKSHMI, D.; DHANALAKSHMI, K.; HIMABINDU, D. Effect of dose and source of supplemental zinc on immune response and oxidative enzymes in lambs **Veterinary Research Communications**, v.33, p. 631–644, 2009. DOI 10.1007/s11259-009-9212-9.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of small ruminants**. 2007, 362p.

NEILL, A. R., GRIME, D. W., SNOSWELL, A. M., NORTHROP, A. J., LINDSAY, D. B. & DAWSON, R. M. C. (1979). The low availability of dietary choline for the nutrition of the sheep. **Biochemical Journal**, v. 180, p.559-565, 1979.

NDLOVU, T. et al. Assessing the nutritional status of beef cattle: current practices and future prospects. **African Journal of Biotechnology**, v.6, p.2727-2734, 2007.

NOBRE, D.; ANDRADE, S. O. Relação entre fotossensibilização em bovinos jovens e a gramínea *Brachiaria decumbens* Stapf. **O Biológico**, v. 42, p. 249-258, 1976.

NUNES, S. G., BOOCK, A., PENTEADO, M. I. O., GOMES, D.T. ***Brachiaria brizantha* cv. Marandu**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte, Campo Grande, MS. 2. ed. Campo Grande, EMBRAPA-CNPGC, 1985. 31p.

OVERTON T. R.; WALDRON, M. R. Nutritional Management of Transition Dairy Cows: Strategies to Optimize Metabolic Health. **Journal Dairy Science**, v.87 (E. Supl.):E105–E119, 2004.

PIEPENBRINK, M.S.; OVERTON, T.R. Liver metabolism and production of cows fed increasing amounths of rumen-protected choline during the periparturient period. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.1722-1733, 2003.

PINOTTI, L.; CAMPAGNOLI, A.; SANGALLI, L.; REBUCCI, R.; DELL'ORTO, V.; BALDI, A. Metabolism of periparturient dairy cows fed rumen-protected choline. **Journal Animal Feed Science Thecnology**, v.13 (Supl. 1), 551– 554, 2004.

PIRES, V. S.; TAKETA, A. T. C.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. P. Saponins and Sapogenins from *Brachiaria decumbens* Stapf. **Journal Braz. Chem. Soc.** v.13 n.2, p. 135-139, 2002.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. Doenças da pele, conjuntiva e orelha externa. In:____ **Clínica veterinária**. Um tratado de doenças de bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. cap. 14, p. 518 – 537.

RIET-CORREA B.; CASTRO M.B.; LEMOS R.A.A.; RIET-CORREA G.; MUSTAFA V.S.;RIET-CORREA F. *Brachiaria* spp. poisoning of ruminants in Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.31, n.3, p.183-192, 2011.

RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R. M. T. Intoxicações por plantas em ruminantes no Brasil e no Uruguai: importância econômica, controle e riscos para a saúde pública. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 21, n.1, p. 38-42, 2001.

RIET-CORREA, F.; MÉNDEZ, M.D.C. Intoxicações por Plantas e Micotoxinas. In: RIET-CORREA, F., SCHILD, A.L., LEMOS, R.A.A., BORGES, J.R.J. **Doenças de Ruminantes e Equídeos**. Santa Maria: Palotti. 3ed. v.2. 2007. p.99-221.

ROBINSON, B.S.; SNOSWELL, A. M.; RUNCIMAN, W.B; UPTON, R.N. Uptake and output of various forms of choline by organs of the conscious chronically catheterized sheep. **Biochemichal Journal** v.217, p.399–408, 1984.

ROBINSON, B.S.; SNOSWELL, A.M.; SETCHELL, B.P. The enterohepatic recycling of bile choline in sheep. **Compendium of Biochemical Physiology**, v.88 p.283–289, 1987.

RUSSOMANNO, O. M. R.; PORTUGAL, M.A.S.C.; COUTINHO, L.N.; CALIL, E.M. B.; FIGUEIREDO, M. B. *Leptosphaerulina chartarum* (= *Pithomyces chartarum*) e seu envolvimento no eczema facial. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 70, n.3, p.385-390, 2003.

SALAM-ABDULLAH, A.; LAJIS, N.H.; BREMNER, J.B.; DAVIES ;MUSTAPHA, W., RAJION, M.A. Hepatotoxic constituents in the rumen of *Brachiaria decumbens* intoxicated sheep. **Veterinary Human Toxicology**, v.34, p.154-155, 1992.

SALAM-ABDULLAH, A.; NORDIN, M.M.; RAJION, M.A. Signal grass (*Brachiaria decumbens*) toxicity in sheep: changes in motility and pH of retículo-rúmex. **Veterinary Human Toxicology**, v.30, n.3, p. 256-258, 1988.

SANDRINI, C.N.M. Avaliação clínico-laboratorial e desempenho de bovinos alimentados com capim *Brachiaria* e *Andropogon*. 2006. 126f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2006.

SANTOS, L.E. et al. Manejo de pastagens para a produção de ovinos. In: **SIMPÓSIO MINEIRO DE OVINOCULTURA**, 2., WORKSHOP SOBRE CORTES DIFERENCIADOS, 2002, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2002. p. 105-140.

SANTOS JÚNIOR, H.L. **Estudo da toxicidade de diferentes estágios de crescimento de *Brachiaria decumbens* em ovinos**. 70f. 2008. Dissertação (Mestrado em Saúde Animal) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, D, 2008.

SANTOS, L.E.; CUNHA, E.A.; BUENO, M.S. Atualidades na produção ovina em pastagens. **SIMPÓSIO PAULISTA DE OVINOCULTURA**, 5., **ENCONTRO INTERNACIONAL DE OVINOCULTURA**, 1999, Botucatu. **Anais...** Botucatu: SAA/CAT/IZ/UNESP/ASPACO, 1999. p. 35-50.

SATURNINO, K.C.; MARIANI, T.M.; BARBOSA-FERREIRA, M.; BRUM, K.B.; FERNANDES, C.E.S.; LEMOS, R.A.A. Intoxicação experimental por *Brachiaria decumbens* em ovinos confinados. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.3, p.195-202, 2010.

SCHENK, M.A.M.; NUNES, S.G.; SILVA, J. M. Ocorrência de fotossensibilização em equinos mantidos em pastagem de *Brachiaria humidicola*. **EMBRAPA-CNPGC Comunicado Técnico**. Campo Grande, v. 40, p.1-4, 1991.

SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; ATHAYDE, M. L. Saponinas. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6.ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007. p. 711-740.

SEIXAS, J. N. **Diferenciação das intoxicações por *Brachiaria* spp e *Pithomyces chartarum* através dos aspectos epidemiológicos, clínico-patológicos e toxicológicos.** 2009. 245f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2009.

SILVA, F.L.R. et al. Efeitos ambientais e de reprodutor sobre características de crescimento e de reprodução em ovinos Santa Inês, no Estado do Ceará. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.24, n.4, p.559-568,1995.

SILVEIRA, J.A.S.; ALBERNAZ, T.T.; SILVA, N.S.; LOPES, C.T.A; CERQUEIRA, V.D.; OLIVEIRA, C.M.C.; DUARTE, M.D.; BARBOSA, J.D. Fotossensibilização hepatógena em caprinos associada à ingestão de *Brachiaria brizantha* no Estado do Pará. In: **8º CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA**, 2009, Belo Horizonte, MG Anais... Belo Horizonte,2009, p.336-341.

SMITH, B. L. Effects of low dose rates of sporidesmin given orally to sheep. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 48, p.176-181, 2000.

SMITH, B.L.; EMBLING, P.P. Effect of prior sporidesmin intoxication on the pancreopathy associated with zinc oxide toxicity, **New Zealand Veterinary Journal**, v.47, p.25-27,1999.

<http://dx.doi.org/10.1080/00480169.1999.36103>

SMITH, B. L.; MILES, C.O. A letter to the editor. A role for *Brachiaria decumbens* in hepatogenous photosensitization of ruminants? **Veterinary Human Toxicology**, v.35, n.3, p. 256-257, 1993.

SMITH, B. L.; TOWERS, N. R. Mycotoxicoses of grazing animals. **New Zealand Veterinary Journal**, v.25, p. 124-127, 2002.

SUSIN, I. **Potencial produtivo de ovinos Santa Inês confinados e alimentados com rações de alta proporção de concentrado.** 2003. 105f. Tese (Livre Docência) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade São Paulo, Piracicaba, 2003.

TENNANT, B.C. Hepatic Function. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5 ed. London Academic Press, 1997. p.327-352

THRALL, M.A., A. In: **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. São Paulo: Editora Roca. 2007. p. 285-311.

TOKARNIA, C.H.; DOBEREINER, J.; MORAES, S.S. et al. Deficiências minerais em bovinos e ovinos – Revisão dos estudos realizados no Brasil de 1987 a 1998. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.19, p.47-62, 1999.

TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. **Plantas Tóxicas do Brasil**. Editora Helianthus, Rio de Janeiro. 2000

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; SILVA, M. F. **Plantas tóxicas da Amazônia: a bovinos e outros herbívoros**. Manaus: INPA, 1979. 95 p.

TORRES, M.B.A.M.; COELHO, K.I.R. Macrófagos espumosos em fígados de bovinos alimentados com feno de *Brachiaria brizantha*. In: **X ENAPAVE**. Anais... Pirassununga, 21 a 25 de julho. 2001. p. 174.

TORRES, M.B.A. M.; COELHO, K.I.R. Foamy macrophages in the liver of cattle fed *Brachiaria brizantha* hay. **Veterinary Human Toxicology**, v.45, n.3, p.163-164, 2003.

TÓTH, B.; CSŐSZ, M.; DIJKSTERHUIS, J.; FRISVAD, J.C.; VARGA, J. *Pithomyces chartarum* as a pathogen of wheat. **Journal of Plant Pathology**, v. 89, n. 3, p.405-408, 2007.

TRAMONTE, V.L.C.G. Importância do zinco na nutrição humana. **Revista Ciência e Saúde**. Florianópolis, v.15, n. 1 e 2, p.204-219, 1996.

UNDERWOOD, E.J.; SUTTLE, N.F. **The mineral nutrition of livestock**. 3.ed. New York: CABI, 1999. 624p.

VAN HOULERT, M.F.J.; SYKES, A.R. Implications of nutrition for the ability of ruminants to with stand gastrointestinal nematode infections. **International Journal of Parasitology**, v. 26, p. 1151-1168, 1996.

VILELA, F.G.; ZANETTI, M.A.; SARAN NETTO, A.; FREITAS JUNIOR, J.E.; YOSHIKAWA, C.Y.C. Biodisponibilidade de fontes orgânicas e inorgânicas de zinco em ovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.2, p.448-455, 2011.

VOLTOLINI, T.V.; MOREIRA, J.N.; NOGUEIRA, D.M.; PEREIRA, L.G.R.; AZEVEDO, S.R.B.; LINS, P.F.C. Fontes proteicas no suplemento concentrado de ovinos em pastejo. **Acta Scientiarum. Animal Science**, Maringá, v. 31, n. 1, p. 61-67, 2009.

WINA, E.; MUETZEL, S.; BECKER, K. The impact of saponins or saponin containing plant materials on ruminant productions: A review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 53, p. 8093-8105, 2005.

WISLOFF, H.; WILKINS, A. L.; SCHEIE, E.; FLÅOYEN, A. Accumulation of sapogenin conjugates and histological changes in the liver and kidneys of lambs suffering from alveld, a hepatogenous photosensitization disease of sheep grazing *Nartheceum ossifragum*. **Veterinary Research Communication**, v. 26, n. 5, p. 381-396, 2002.

YAGER, J.A.; SCOTT, D.W. The skin and appendages. In: JUBB, K.V.F.; KENNEDY, P. C; PALMER, N. **Pathology of domestic Animals**, 4 ed. San Diego: Academic, 1993. v. 2, cap. 5, p. 531-738.

ZEISEL, S.H. Choline: an important nutrient in brain development, liver function and carcinogenesis. **Journal of the American College of Nutrition**, v.11, p.473–481, 1992.

ZEISEL, S.H. Choline: an essential nutrient for humans. **Nutrition**, v. 16, p.669–671, 2000.

ZHANG S.S., NOORDIN M.M., RAHMAN S.O., HARON M.J. The effect of zinc supplementation on antioxidant and lipid peroxidation status during *Brachiaria decumbens* intoxication in sheep. **Veterinary Human Toxicology**, v. 43, n.2, p. 83-87, 2001.