

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO ALIMENTAR SOBRE A
OCORRÊNCIA DE INTOXICAÇÃO POR *BRACHIARIA* SPP.
EM CORDEIROS

Gleice Kelli Ayardes de Melo

CAMPO GRANDE, MS
2018

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO**

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO ALIMENTAR SOBRE A
OCORRÊNCIA DE INTOXICAÇÃO POR *BRACHIARIA* SPP.
EM CORDEIROS**

Effect of fed supplemented on the occurrence of poisoning by *Brachiaria* spp.
in lambs

Gleice Kelli Ayardes de Melo

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Antônio Amaral de Lemos

Tese apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de Doutora em Ciência Animal.

Área de concentração: Produção Animal.

CAMPO GRANDE, MS
2018

Certificado de aprovação

GLEICE KELLI AYARDES DE MELO

**Efeito da suplementação alimentar sobre a ocorrência de
intoxicação por *Brachiaria* spp. em cordeiros**

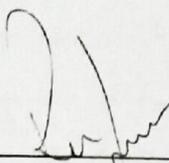
**Effect of fed supplemented on the occurrence
of poisoning by *Brachiaria* spp. intoxication in lambs**

Tese apresentada à Universidade
Federal de Mato Grosso do Sul, como
requisito à obtenção do título de
doutora em Ciência Animal.

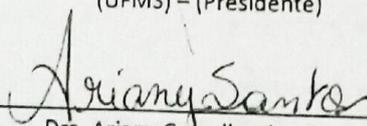
Área de concentração:
Produção Animal.

Aprovado(a) em: 28-06-2018

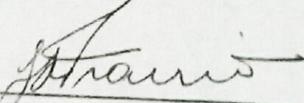
BANCA EXAMINADORA:



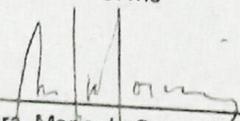
Dr. Ricardo Antonio Amaral de Lemos
(UFMS) – (Presidente)



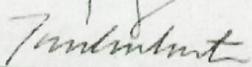
Dra. Ariany Carvalho dos Santos
UFGD



Dr. Gumercindo Loriano Franco
UFMS



Dra. Maria da Graça Moraes
UFMS



Dra. Tessie Beck Martins
UFMS

Dedicatória

Dedico aos meus avós Simona Moreno Rodrigues e Felipe Ayarden Rodrigues por me transmitirem valores sobre caráter, bondade, dignidade e honestidade, fundamentais para minha formação pessoal e profissional (in memoriam)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus e a N. Senhora do Perpétuo Socorro por me manter perseverante em minha caminhada;

À Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) e à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ) pela possibilidade de executar o presente trabalho;

Ao programa de Pós-Graduação em Ciência Animal pela oportunidade concedida;

À Coordenação de aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo concedida;

À minha família, em especial à minha mãe Justina Loida Ayardes de Melo por me apoiar e confiar em meus potenciais; e à minha irmã Reni Ayardes de Melo, que sempre me serviu como exemplo;

Ao meu orientador Prof. Dr. Ricardo Antônio Amaral de Lemos por ser um grande exemplo de profissional, por sua orientação, seus ensinamentos e por me apoiar em minha formação;

Aos professores do programa de Pós – Graduação em Ciência Animal por todo conhecimento passado; em especial aos professores doutores Alexandre Menezes Dias, Camila Celeste Brandão Ferreira Ítavo, Fernando de Almeida Borges, Gumercindo Lorian Franco e Maria da Graça Morais;

À equipe do Laboratório de Anatomia Patológica, Prof. Dr. Danilo Carlotto Gomes, Profa. Dra. Tessie Beck Martins. Aos médicos veterinários Amanda Gimelli, Carolina de Castro Guizelini, Hugo Storari Loro e ao zootecnista Westerlly Jacobson da Silva, pela ajuda prestada quando eram estagiários. Em especial, às minhas colegas de trabalho, que se tornaram grandes amigas Juliana Paniago Lordello de Paula, Nickolly Lilge Kawski de Sá Ribas, Paula Velozo Leal, Rayane Chitolina Pupin e Stephanie Carrelo de Lima, pela amizade e por tornar os dias mais divertidos;

Aos meus amigos e parceiros de trabalho, pessoas que se tornaram fundamentais para a realização do presente trabalho, Jonilson Araújo da Silva, Pâmila Carolini Gonçalves da Silva e Kedma Leonora Silva Monteiro Ferelli.

A todos que contribuíram para execução do presente trabalho e para minha formação acadêmica
OBRIGADA!

Nada é mais real

Que aprender maneira simples de viver

Tudo é tão normal

Se a gente não se cansa nunca de aprender

Sempre olhar como se fosse a primeira vez

Se espantar como criança a perguntar porquês

Almir Sater & Paulo Simões

Resumo

MELO, G.K.A. Efeito da suplementação alimentar sobre a ocorrência de intoxicação por *Brachiaria* spp. em cordeiros. 2018. 58 f. (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2018.

Após a introdução de gramíneas do gênero *Brachiaria* no Brasil, a intoxicação hepatógena passou a ser descrita com grande frequência e tornou-se uma dos principais problemas sanitários em rebanhos bovinos e ovinos criados extensivamente. Objetivou-se avaliar a influência de diferentes tratamentos nutricionais a cordeiros lactentes e na fase de terminação de diferentes origens genéticas, sobre as frequências de intoxicação causadas pela ingestão de *Brachiaria* spp. Além disso, objetivou-se comparar metodologias de coletas das pastagens para determinação das concentrações de protodioscina presentes nestas pastagens. No primeiro artigo avaliou-se a frequência de intoxicação em pastagens de *Brachiaria* spp. em 34 cordeiros lactentes suplementados com concentrado proteico em *creep feeding* e 34 cordeiros não suplementados. Constatou-se que baixas concentrações de protodioscina são consideradas tóxicas para cordeiros lactentes e que a ingestão de concentrado proteico em sistema *creep-feeding* diminuiu os efeitos da intoxicação por *Brachiaria* spp. nesses cordeiros. No segundo artigo objetivou-se avaliar a frequência de intoxicação por *Brachiaria* spp. em cordeiros com origens genéticas distintas na fase de terminação, submetidos a níveis crescentes de suplementação alimentar. Concluiu-se que os crescentes níveis de suplementação não foram suficientes para diminuir a frequência de intoxicação que foi determinada pela origem genética dos cordeiros. No entanto, a suplementação foi eficiente para minimizar os efeitos da intoxicação nos cordeiros na fase de terminação. No terceiro artigo objetivou-se avaliar métodos de coleta de *Brachiaria* spp. (Pastejo Simulado vs Coleta Total) para determinação das concentrações de protodioscina e realizar o monitoramento das intoxicações em rebanhos sensível e resistentes à intoxicação. Concluiu-se que ambas as metodologias são eficazes para determinação da protodioscina nas pastagens. No entanto, em períodos de surtos, o Pastejo simulado foi mais eficaz, pois retrata de maneira mais fidedigna as quantidades de protodioscina ingerida pelos cordeiros.

Palavras-chave: Fotossensibilização hepatógena, Plantas tóxicas, Protodioscina, Suplementação, Pequenos ruminantes

Abstract

MELO, G.K.A. Effect of fed supplemented on the occurrence of poisoning by *Brachiaria* spp. in lambs 2018. 58 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2018.

After the introduction of grasses of *Brachiaria* genus in Brazil, hepatogenic intoxication been described with great frequency and has become one of the main sanitary problems in bovine and ovine cattle raised extensively. The objective of this study was to evaluate the influence of different nutritional treatments on suckling lambs and the termination phase of different genetic origins on the frequency of intoxication caused by the ingestion of *Brachiaria* spp. In addition, the objective was to compare pasture collection methodologies to determine the concentrations of protodioscin present in these pastures. In the first article the frequency of intoxication was evaluated in pastures of *Brachiaria* spp. in 34 suckling lambs supplemented with protein concentrate in creep feeding and 34 lambs not supplemented. It was found that low concentrations of protodioscin are considered toxic for suckling lambs and that the ingestion of protein concentrate in a creep-feeding system decreased the effects of *Brachiaria* spp. intoxication in these lambs. In the second article we aimed to evaluate the frequency of intoxication by *Brachiaria* spp. in lambs with distinct genetic origins in the termination phase, submitted to increasing levels of dietary supplementation. It was concluded that increasing levels of supplementation were not enough to decrease the frequency of intoxication that was determined by the genetic origin of the lambs. However, supplementation was efficient to minimize the effects of intoxication on lambs at the termination stage. In the third article the objective was to evaluate methods of *Brachiaria* spp. (Simulated Grazing vs Total Collection) to determine the concentrations of protodioscin and to conduct the monitoring of intoxication in susceptible and resistant herds of intoxication. It was concluded that both methodologies are effective for determination of protodioscin in the pastures. However, during periods of outbreaks, simulated grazing was more effective, as it more reliably portrays the amounts of protodioscin ingested by lambs.

Keywords: Hepatogenic photosensitization, Toxic plants, Protodioscin, Supplementation, Small ruminants

Lista de ilustrações

Figura 1 – Determinação das concentrações de protodioscina (% MS) em pastagens de *Brachiaria* spp. de maio de 2014 a fevereiro de 2015 em amostras obtidas por pastejo simulado e coleta total

58

.....

Lista de tabelas

Tabela 1 – Alocação do rebanho ovino em função dos tratamentos nutricionais com base nos critérios do estudo experimental.....	28
Tabela 2 – Quantidade de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), nutrientes digestíveis totais (NDT) e carboidratos não estruturais (CNE) do concentrado dos cordeiros e do concentrado das ovelhas	29
Tabela 3 – Concentração da protodioscina (%MS) em pastagens de <i>Brachiaria</i> spp. e o número de casos da doença em 2014 em cordeiros dos tratamentos <i>creep feeding</i> e controle.....	30
Tabela 4 – Epidemiologia e curso clínico das intoxicações em pastagens de <i>Brachiaria</i> spp. nos tratamentos experimentais <i>Creep feeding</i> (suplementados) e controle (não suplementados)	31
Tabela 5 – Frequência de intoxicações nos cordeiros lactentes dos rebanhos R1 e R2 nos tratamentos <i>creep feeding</i> (suplementados) e controle (não suplementados) em 2013 e 2014.....	32
Tabela 1 – Distribuição dos cordeiros em função dos tratamentos nutricionais.....	44
Tabela 2 – Epidemiologia, origem genética, evolução clínica, histórico de intoxicação na fase de cria de cordeiros em pastagens de <i>Brachiaria</i> spp. na fase de terminação.....	45
Tabela 3 – Frequência de intoxicação de cordeiros do rebanho R1 e R2 na fase de terminação submetidos a diferentes tratamentos nutricionais.....	46
Tabela 1 – Concentrações de protodioscina (%) pelos métodos de pastejo simulado e coleta total para determinação das concentrações tóxicas em ovinos em pastagens de <i>Brachiaria</i> spp.....	57

SUMÁRIO

1. Introdução	1
2. Revisão de Literatura.....	2
2.1 Características gerais e histórico da <i>Brachiaria</i> spp.	2
2.2 Espécies Sensíveis	3
2.3 Epidemiologia	3
2.4 Partes e quantidades tóxicas das plantas	4
2.5 Princípio tóxico	5
2.6 Patogenia	5
2.7 Sinais Clínicos	6
2.8 Patologia.....	6
2.9 Diagnóstico e diagnóstico diferencial	7
2.10 Medidas de Controle.....	7
REFERENCIAS	9
Capítulo I - Intoxicação por <i>Brachiaria</i> spp. em cordeiros lactentes suplementados em sistema <i>creep feeding</i> e não suplementados	14
Introdução.....	16
Material e Métodos.....	17
Resultados	20
Discussão.....	22
Conclusões.....	25
Referências	26
Capítulo II - Intoxicação por <i>Brachiaria</i> ssp em cordeiros de origens genéticas distintas, submetidos a níveis crescentes de suplementação na fase de terminação....	33
Introdução.....	35
Material e Métodos.....	36
Resultados	38
Discussão.....	40
Referências	42
Capítulo III – Eficácia de dois métodos de coleta para determinação da protodisocina e monitoramento da intoxicação por <i>Brachiaria</i> spp.	47
Introdução.....	48
Material e Métodos.....	49
Resultados	51
Discussão.....	52
Referências	54

1. INTRODUÇÃO

Plantas tóxicas são apontadas como importantes causadoras de morte de animais com perdas diretas e indiretas no rebanho (Rissi et al., 2007). As perdas diretas incluem a morte dos animais, redução do rebanho produtivo (abortos, infertilidade, problemas congênitos) e da produção (redução do ganho de peso, menor peso ao desmame e ao abate, menor produção de leite ou de lã), além de outras alterações ou doenças intercorrentes em razão do aumento da susceptibilidade da depressão imunológica. As perdas indiretas são associadas ao custo do controle das plantas tóxicas nas pastagens, como as medidas de manejo para evitar as intoxicações (construções de cercas, retirada dos animais do pasto), compra de animais para substituir os animais mortos e com custo do diagnóstico das intoxicações e do tratamento dos animais acometidos. Além disso, há de se considerar a redução do valor das pastagens devido ao subpastejo e, conseqüentemente, seu baixo aproveitamento e a redução do valor da terra pela infestação com plantas tóxicas (Riet-Correa & Medeiros, 2001, Riet-Correa & Mendez, 2007, Tokarnia et al., 2012).

No Brasil, tem sido relatado novas plantas tóxicas ao longo dos anos. Em 1990 eram descritas 60 espécies de plantas tóxicas de 54 gêneros (Tokarnia et al., 1990). Em 2000 eram conhecidas 90 espécies (Riet-Correa & Medeiros, 2001). Este número elevou-se para 113 espécies e 64 gêneros em 2004 (Riet-Correa & Mendez, 2007) e continuou aumentando, alcançando em 2012, 131 espécies e 79 gêneros (Pessoa et al., 2013). Em 2014 já haviam sido identificadas outra três plantas tóxicas de diferentes gêneros.

Apesar do avanço no conhecimento sobre intoxicações por plantas no Brasil, ainda existem limitações, principalmente no que se refere às medidas de prevenção e controle destas intoxicações. Atualmente, a profilaxia e o controle das intoxicações por plantas no Brasil são realizados com base no conhecimento da epidemiologia e as principais medidas preconizadas são: manejo dos animais e das pastagens, incluindo evitar o superpastejo; utilizar animais de espécies ou idades resistentes, evitar colocar animais recentemente transportados com fome ou sede em pastagens infestadas por plantas tóxicas; construção de cercas para evitar o contato dos animais com áreas infestadas por plantas tóxicas; eliminação manual das espécies tóxicas, utilização de herbicidas, roçadas, capinas, aração, queimadas ou pelo pastejo de animais não susceptíveis; utilização de sementes registradas para evitar a difusão de espécies tóxicas; a produção de feno e silagens, considerando que o princípio tóxico poderia perde-se; dispor de reserva alimentar (volumoso/concentrado)

para evitar a carência alimentar no período de seca (Riet-Correa & Mendez, 2007, Tokarnia et al., 2012).

Estas medidas têm apresentado resultados limitados e custos elevados e, considerando que várias espécies tóxicas são subarbustos nativos, a destruição desta floresta, embora muitas vezes preconizada, do ponto de vista toxicológico, não é indicado, pois poderia causar desequilíbrio ambiental. Por outro lado, existem plantas, que embora tóxicas, possuem potencial forrageiro, como o caso das gramíneas do gênero *Brachiaria*.

No estado de Mato Grosso do Sul, as gramíneas do gênero *Brachiaria* são as forrageiras mais utilizadas (Euclides et al., 2009), devido à alta capacidade de adaptação ao clima e à baixa fertilidade dos solos característicos da região Centro-Oeste (Peron & Evangelista, 2004). Ao mesmo tempo, a intoxicação causada por essas gramíneas está associada a perdas diretas e indiretas em rebanhos bovinos e ovinos (Riet-Correa et al., 2011).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Características gerais e histórico da *Brachiaria* spp.

A *Brachiaria* é uma gramínea pertencente à família Poaceae. É um gênero de plantas de regiões tropicais, principalmente África e Brasil (Seiffert, 1980), sendo muito amplo, com mais de 100 espécies, na grande maioria de origem africana (Assis et al., 2003).

No Brasil, a primeira introdução oficial para avaliação como forrageira foi da *Brachiaria decumbens*, em 1952, feita pelo Instituto de Pesquisa do Norte (IPEAN), em Belém, PA. No entanto, devido a sua baixa produção de sementes, no Brasil, não ganhou importância comercial (Valle, 1991, Alvim et al., 2002, Karia et al., 2006).

No início da década de 1960, um segundo genótipo da *Brachiaria decumbens* foi introduzido no interior do estado de São Paulo, pelo International Research Institute (IRI), a cultivar australiana Basilisk de *B. decumbens*. Essa cultivar demonstrou excelente adaptação às condições edafoclimáticas brasileiras e logo se tornou a principal espécie forrageira do país (Karia et al., 2006). Porém, foi a partir de 1965, após importações da *Brachiaria ruziziensis* e da *Brachiaria brizantha* e da grande quantidade de sementes, que o gênero *Brachiaria* conseguiu seu reconhecimento, principalmente na região Centro-Oeste do Brasil (Alvim et al., 2002).

No Brasil, ocorreu aumento das pastagens cultivadas por gramíneas do gênero *Brachiaria* a partir de 1970, especialmente da *B. decumbens*, *B. humidicola*, *B. brizantha*

e *B. ruziziensis* que tiveram boas condições de adaptação às condições edafoclimáticas do Brasil tropical (Alvim et al., 2002).

Em meados de 1970, a cigarrinha-das-pastagens, causadas pelos insetos-praga (*Deois flavopicta* e *Zulia enteriana*) causou grandes prejuízos às pastagens e à pecuária brasileira. A *Brachiaria decumbens* apresentou grande susceptibilidade à cigarrinha-das-pastagens e, por isso, foi sendo substituída por espécies de forrageiras mais resistentes ao ataque desses insetos (Alvim et al., 2002, Karia et al., 2006). Em 1984, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA - CNPGC) lançou a *Brachiaria brizantha* cv Marandu, que se tornou o capim mais plantado no Brasil até os dias atuais (Karia et al., 2006, Cabral et al., 2016).

Ao mesmo tempo em que a *Brachiaria* começava a ser difundida no país, eram registrados os primeiros casos de intoxicação hepatógena, observados principalmente pelos surtos de fotossensibilização em bovinos e ovinos (Tokarnia et al., 2012). Nos anos de 1970 e 1980 foram descritos surtos de fotossensibilização hepatógena associadas à ingestão da *Brachiaria* spp. em bovinos e ovinos em diversos países (Opasina, 1985, Salam Abdullah et al., 1988, Baber, 1989, Graydon et al., 1991) e também no Brasil (Dobereiner et al., 1976).

No Brasil, a intoxicação hepatógena por ingestão de *Brachiaria* spp. passou a ser descrita com grande frequência e tornou-se um dos principais problemas sanitários, especialmente, em rebanhos bovinos e ovinos criados extensivamente.

2.2 Espécies sensíveis

A intoxicação por *Brachiaria* spp. (*B. decumbens*, *B. brizantha* e *B. humidicola*) é descrita em bovinos (Dobereiner et al., 1976, Lemos et al., 1997, Driemeier et al., 1998, Driemeier et al., 1999, Riet-Correa et al., 2002, Souza et al., 2010, Riet-Correa et al., 2011, Faccin et al., 2015, Faccin et al., 2016), ovinos (Lemos et al., 1996, Cruz et al., 2000, Brum et al., 2007, Mendonça et al., 2008, Albernaz et al., 2010, Saturnino et al., 2010, Riet-Correa et al., 2011, Mustafa et al., 2012, Porto et al., 2013, Faccin et al., 2014, Pupin et al., 2016, Castro et al., 2018, de Melo et al., 2018, Ogliari et al., 2018), caprinos (Lemos et al., 1998, Ogliari et al., 2018), bubalinos (Rozza et al., 2004, Oliveira et al., 2013) e equinos (Barbosa et al., 2006).

2.3 Epidemiologia

São descritas intoxicações espontâneas em todas as épocas do ano, independentemente do estágio vegetativo da planta (Riet-Correa et al., 2011, Tokarnia et al., 2012). Alguns autores afirmaram que os surtos normalmente ocorrem no início da época das chuvas e na fase de brotação da forrageira (Meagher et al., 1996, Tokarnia et al., 2012), ou ainda quando as folhas estão maduras (Brum et al., 2009). Em intoxicações experimentais, observou-se que as lâminas foliares jovens apresentam maior concentração de saponinas quando comparadas às partes da planta em senescência. Mesmo o experimento sendo realizado no período de chuvas, com precipitação pluviométrica entre 62,2 mm a 928,6 mm, não foi possível fazer uma correlação com a precipitação diária e a concentração de saponinas presentes nas partes da planta (Faccin et al., 2014). Também foram descritas intoxicações experimentais em cordeiros entre os meses de julho a setembro, período de seca, com precipitações pluviométricas de 15,2 mm a 182,4 mm. Neste período de seca as amostras de pastejo correspondiam à lâminas foliares completas e em elevado estágio de senescência (Melo, 2014). Neste caso, fica evidente que as intoxicações não dependem apenas das características relacionadas à planta forrageira, mas também a fatores intrínsecos aos animais.

São acometidos animais de diferentes categorias, mas animais jovens são mais susceptíveis que animais mais velhos e ovinos são mais sensíveis que bovinos (Riet-Correa et al., 2011, Mustafa et al., 2012, Tokarnia et al., 2012). Animais lactentes também podem ser acometidos (de Melo et al., 2018), e aqueles não adaptados são mais susceptíveis que animais nascidos e criados em pastagens de *Brachiaria* spp. (Faccin et al., 2014, Castro et al., 2018).

2.4 Partes e quantidades tóxicas da planta

A intoxicação não depende da quantidade exata de forragem ingerida, mas relaciona-se às concentrações de saponinas presentes nas pastagens (Tokarnia et al., 2012). As saponinas estão presentes em diversas partes da planta, como raiz, colmo, folhas e sementes, mas em diferentes concentrações (Wina et al., 2005). Na *Brachiaria* spp. as folhas são consideradas mais tóxicas (Albernaz et al., 2010, Mustafa et al., 2012, Porto et al., 2013, Faccin et al., 2014), especialmente folhas jovens (Riet-Correa et al., 2011, Faccin et al., 2014).

Há vários trabalhos descrevendo diferentes concentrações de protodioscina presente nas pastagens de *Brachiaria* spp. Em surtos espontâneos em ovinos foram

encontradas concentrações de 0,30, 0,88, 0,92 e 2,56% (Brum et al., 2007, Albernaz et al., 2010, Mustafa et al., 2012). Em reproduções experimentais foram encontradas concentrações de 0,66, 0,74, 0,87, 0,94, 1,13, 1,62, 1,81, 2,58% (Albernaz et al., 2010, Porto et al., 2013, Faccin et al., 2014, Pupin et al., 2016, de Melo et al., 2018). Estas variações, estão relacionadas a fatores como período de coleta, espécie da *Brachiaria* e forma de coleta da forragem. Nas intoxicações espontâneas as coletas geralmente são realizadas após os aparecimentos dos surtos, não representando as concentrações realmente tóxicas. Nos experimentos foram realizadas diversas metodologias de coleta, que podem interferir nas concentrações de protodioscina presentes nas pastagens. Apesar do grande número de informações a respeito das intoxicações ainda não é possível determinar quais concentrações de protodioscina seriam tóxicas (Brum et al., 2009).

2.5 Princípio tóxico

As lesões causadas pela fotossensibilização hepatógena ou secundária são atribuídas às saponinas esteroidais litogênicas (Purisco & Lemos, 2008). Quimicamente as saponinas são glicosídeos de esteroides ou de terpenos policíclicos. Este tipo de estrutura possui uma parte com característica lipofílica (triterpeno ou esteroide) e outra parte hidrofílica (açúcares), o que determina a propriedade de redução da tensão superficial da água e suas ações detergentes e emulsificantes. São substâncias derivadas do metabolismo de defesa das plantas, encontradas nos tecidos mais vulneráveis ao ataque fúngico, bacteriano ou predatório dos insetos (Wina et al., 2005).

2.6 Patogenia

A fotossensibilização é caracterizada por manifestações de sensibilidade exagerada do animal aos raios solares. São dois tipos de fotossensibilização causados pela ingestão de plantas: a primária e a secundária ou hepatógena. Ambos os tipos de fotossensibilização estão associados à presença de um pigmento fotodinâmico na corrente sanguínea do animal. Levado à pele através da circulação periférica, o pigmento absorve radiação solar, tornando os animais hipersensíveis aos raios solares. (Puriso & Lemos, 2008).

No caso da fotossensibilização hepatógena ou secundária ocorre um processo complexo. A protodioscina presente na *Brachiaria* é uma saponina esteroideal litogênica que induz alterações patológicas no parênquima hepático e no ducto biliar, interrompendo a depuração da filoeiritrina (Brum et al., 2007). A filoeiritrina é um pigmento fotodinâmico formado nos pré-estômagos dos ruminantes, a partir da degradação da clorofila, pela ação

de bactérias e protozoários presentes no rúmen. Em condições normais, a filoteritina é absorvida pela mucosa intestinal e eliminada pelo fígado sadio através da bile (Purisco & Lemos, 2008).

Nos casos de fotossensibilização secundária ocorre uma sequência de transformações químicas das saponinas esteroideais litogênicas que danifica o fígado. As saponinas ingeridas com a forragem são hidrolisadas no rúmen, produzindo as sapogeninas diosgenina e yamogenina, que são convertidas em smilagenina e sarsasapogenina, respectivamente. Estes compostos são então epimerizados para os respectivos isômeros, epismilagenina e episarsapogenina (Miles et al., 1994a). Estes isômeros são absorvidos e transportados através do sangue para o fígado onde se conjugam com ácido glucurônico, produzindo epismilagenina e episarsapogenina glucoronídeos que se ligam aos íons de cálcio, formando cristais insolúveis de sal de cálcio, que precipitam e danificam o parênquima hepático e os canais biliares (Miles et al., 1994b, Meagher et al., 1996). Devido à lesão hepática a filoteritina não é metabolizada e passa à circulação sistêmica, alcançando a pele e induzindo a hipersensibilidade aos raios solares (Purisco & Lemos, 2008).

2.7 Sinais clínicos

São descritos fotofobia, inquietação do animal com movimentos constantes da cabeça, orelhas e lábios (Riet-Correa & Mendez, 2007, Faccin et al., 2014). No entanto, o sinal clínico mais descrito na literatura é a fotossensibilização hepatógena. Caracterizada por lesões em áreas restritas da pele, em regiões despigmentadas, principalmente a região da face e orelhas, consistindo em alopecia, eritema, formação de crostas, desprendimento e retração cicatricial, além de apatia, anorexia, icterícia e perda de peso (Brum et al., 2007, Albernaz et al., 2010, Riet-Correa et al., 2011, Mustafa et al., 2012, Faccin et al., 2014, Pupin et al., 2016, Castro et al., 2018, de Melo et al., 2018, Ogliari et al., 2018). Também são descritos quadros de emagrecimento, sem lesões de fotodermatite, e associados à lesões hepáticas (Saturnino et al., 2010, Faccin et al., 2014, Pupin et al., 2016).

2.8 Patologia

Os achados de necropsia caracterizam-se por edema subcutâneo, icterícia de grau variável associada com hepatomegalia, fígado firme, amarelado ou acastanhado com evidência do padrão lobular e vesícula biliar distendida. Outros achados incluem manchas esbranquiçadas multifocais por todo o parênquima hepático, opacidade de córnea, ascite, hidrotórax, hidropericárdio, atrofia gelatinosa do tecido adiposo e emaciação. Os

rins podem apresentar coloração marrom amarelada e aumento de tamanho (Purisco & Lemos, 2008, Albernaz et al., 2010, Mustafa et al., 2012, Porto et al., 2013, Faccin et al., 2014, Pupin et al., 2016, de Melo et al., 2018, Ogliari et al., 2018).

As principais alterações histopatológicas ocorrem no fígado e se caracterizam por desorganização do padrão estrutural do órgão, com infiltração de macrófagos. Os macrófagos apresentam citoplasma abundante e vesiculoso, com núcleos deslocados para a periferia. Podem ocorrer retenção biliar no citoplasma e nos espaços extracelular, associadas à tumefação e vacuolização difusa dos hepatócitos, além da necrose individual das células. Também são observadas hiperplasia de ductos biliares e a presença de material cristalóide refringente, ocluindo a luz de ductos biliares. Outras alterações histopatológicas podem ser observadas. Nos rins podem ser descritas leves alterações degenerativas das células epiteliais dos túbulos uriníferos, sob a forma de tumefação. A pele pode apresentar múltiplos focos epidérmicos ligeiros e moderados de necrose coagulativa associada à infiltração celular com neutrófilos degenerados e viáveis e presença de fibrinas (Albernaz et al., 2010, Saturnino et al., 2010, Mustafa et al., 2012, Porto et al., 2013, Faccin et al., 2014, Pupin et al., 2016, de Melo et al., 2018, Ogliari et al., 2018).

2.9 Diagnóstico e diagnóstico diferencial

O diagnóstico baseia-se na epidemiologia, nos sinais clínicos e nos achados de necropsia e histopatológicos (Purisco & Lemos, 2008, Tokarnia et al., 2012). A enfermidade deve ser diferenciada de outras causas de fotossensibilização, principalmente o *Enterolobium contortisiliquum* e casos de intoxicação por *Stryphnodendrum fissuratum* com evolução prolongada. Nesses casos, é fundamental a interpretação dos dados clínicos e epidemiológicos, uma vez que a intoxicação por *E. contortisiliquum* ocorre nos meses de agosto a novembro, afetando animais adultos de forma severa, sendo descritos casos de abortos em vacas prenhes. A intoxicação por *Stryphnodendrum fissuratum* ocorre nos meses de julho e agosto, quando os frutos caem no pasto e há escassez de forragem (Purisco & Lemos, 2008, Tokarnia et al., 1999).

2.10 Medidas de Controle

As medidas preconizadas de controle e profilaxia são de baixa eficiência para o controle da intoxicação por *Brachiaria* spp. Não há tratamento específico, sendo que a remoção dos animais dos pastos de *Brachiaria* spp. para outro, formado por gramíneas de outros gêneros e encaminhá-los para abrigos protegidos do sol são as principais medidas

adotadas (Purisco & Lemos et al., 2008, Pupin et al., 2016, de Melo et al., 2018). No entanto, essas medidas são apenas paliativas, pois não eliminam o problema sanitário do rebanho e ainda do ponto de vista produtivo geram custos adicionais como a compra de alimentos volumosos e concentrados para os animais internados, gastos com o diagnóstico e construção de abrigos para os animais acometidos. Além de não amenizar as perdas com os animais mortos ou que se tornam improdutivos.

Considerando a vasta literatura sobre a intoxicação hepatógena causada pela ingestão de *Brachiaria* spp. observa-se que ainda são recentes os estudos que propõem alternativas para controlar ou minimizar as perdas ocasionadas por este problema. São descritos trabalhos sobre resistência e sensibilidade dos animais às intoxicações (Pupin et al., 2016, Castro et al., 2018) e formas de adaptação do animal ao consumo da *Brachiaria* spp. sem causar perdas produtivas ao rebanho (Castro et al., 2018, de Melo, et al. 2018).

Neste sentido, objetivou-se avaliar a influência de diferentes protocolos nutricionais em cordeiros de diferentes origens genéticas, do nascimento a terminação sobre as frequências de intoxicação causadas pela ingestão de *Brachiaria* spp. Também testou-se metodologias de coleta para dosagem de *Brachiaria* spp. relacionados aos surtos de intoxicação. Os resultados estão apresentados na forma de artigos intitulados: “Intoxicação por *Brachiaria* spp. em cordeiros lactentes suplementados em sistemas *creep feeding* e não suplementados”, Intoxicação por *Brachiaria* spp. em cordeiros de origens genéticas distintas, submetidos a níveis crescentes de suplementação na fase de terminação” e “Eficácia de dois métodos de coleta para determinação das concentrações tóxicas de protodioscina e monitoramento da intoxicação por *Brachiaria* ssp.”.

REFERÊNCIAS

- ALBERNAZ, T.T.; SILVEIRA, J.A.S; SILVA, N.S. Fotossensibilização em ovinos associada à ingestão de *Brachiaria brizantha* no estado do Pará. Pesquisa Veterinária Brasileira, v.30, n.9, p.741-748, 2010.
- ALVIM, J.M.; BOTREL, M.A.; XAVIER, D.F. As principais espécies de *Brachiarias* utilizadas no Brasil. Juiz de Fora: Embrapa – CNPGL. Comunicado Técnico 22. 2002. 4p.
- ASSIS, G.M.L.; EUCLYDES, R.F.; CRUZ, C.D. et al. Discriminação de espécies de *Brachiaria* baseada em diferentes grupos de caracteres morfológicos. Revista Brasileira de Zootecnia, v.32, n.3, p.576-584, 2003.
- BABER, R. Photosensitisation: a note of caution in the use of *Brachiaria* pastures – a review. Tropical Animal Health and Production (short communication), v.21, p.277-280, 1989.
- BARBOSA, J.D.; OLIVEIRA, C.M.C.; TOKARNIA, C.H. et al. Fotossensibilização hepatógena em equinos pela ingestão de *Brachiaria humidicola* (Graminae) no estado do Pará. Pesquisa Veterinária Brasileira, v.26, n.3, p.147-153, 2006.
- BRUM, K.B.; HARAGUCHI, M.; LEMOS, R.A.A 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.
- BRUM, K.B.; HARAGUCHI, M.; GARUTTI, M.B. et al. Steroidal saponin concentrations in *Brachiaria decumbens* and *B. brizantha* at different developmental stages. Ciência Rural, v.39, n.1, p.279-281, 2009.
- CABRAL, C.E.A.; CABRAL, L.S.; BONFIM-SILVA, E.M. et al. Resposta da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e fertilizantes nitrogenados associados ao fosfato natural reativo. Comunicata Scientiae, v.7, n.1, p.66-72, 2016.
- CASTRO, M.B.; GRACINDO, C.V.; LANDI, M.F.A et al. Sheep adaptation management, and investigation of inherited resistance to prevent *Brachiaria* spp. poisoning. Small Ruminant Research, n.158, p.42-47, 2018.
- CRUZ, C.; DRIEMEIER, D.; PIRES, V.S. et al. Isolation of steroidal saponins implicated in experimentally induced cholangiopathy of sheep grazing *Brachiaria decumbens* in Brazil. Veterinary and Human Toxicology, v.42, n.3, p.42-45, 2000.
- DE MELO, G.K.A; ÍTAVO, C.C.B.F; SILVA, J.A. et al. Poisoning by *Brachiaria* spp. in suckling lambs supplemented and unsupplemented in a creep-feeding system. Small Ruminant Research, n.158, p.30-34, 2018.
- DÖBEREINER, J.; TOKARNIA, C.H.; MONTEIRO, M.C.C. et al. Intoxicação de bovinos em pastos de *Brachiaria decumbens* contaminados por *Pithomyces chartarum*. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.11, p.87-94, 1976.

- DRIEMEIER, D.; BARROS, S.S.; PEIXOTO, P.V. et al. Estudos histológicos 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.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P.V. et al. Relação entre macrófagos espumosos (“foam cells”) no fígado de bovinos e ingestão de *Brachiaria* spp. no Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.19, n.2, p.79-83, 1999.
- EUCLIDES, V.P.B.; MACEDO, M.C.M.; VALLE, C.B. et al. Valor nutritivo da forragem e produção animal em pastagens de *Brachiaria brizantha*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.44, n.1, p.98-106, 2009.
- FACCIN, T.C.; RIET-CORREA, F.; RODRIGUES, F.S. et al. Poisoning by *Brachiaria brizantha* in flocks of naïve and experienced sheep. *Toxicon*, v.82, p.1-8, 2014.
- FACCIN, T.C.; BRUMATTI, R.C.; LIMA, S.C. et al. Perdas econômicas pela condenação em matadouro frigorífico de fígados de bovino por fibrose causada por ingestão de *Brachiaria* spp. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.35, n.6, p.547-551, 2015.
- FACCIN, T.C.; KOMMERS, G.D.; GALIZA, G.J.G. et al. Chronic liver disease in cattle associated with ingestion of *Brachiaria* spp. *Ciência Rural*, *online*, 2016.
- GRAYDON, R.J., HAMID, H., ZAHARI, P. et al. Photosensitisation and crystal-associated cholangiohepatopathy in sheep grazing *Brachiaria decumbens*. *Australian Veterinary Journal*, v.68, p.234-236, 1991.
- KARIA, C.T.; DUARTE, J.B.; ARAUJO, A.C.G. Desenvolvimento de cultivares do gênero *Brachiaria* (Trin.) Griseb. No Brasil. Planaltina: Embrapa – CPAC. Documentos 63. 2006.
- LEMOS, R.A.A.; FERREIRA, L.C.L.; SILVA, S.M. et al. Fotossensibilização e colangiopatia associada a cristais em ovinos em pastagens com *Brachiaria decumbens*. *Ciência Rural*, v.26, n.1, p.109-113, 1996.
- LEMOS R.A.A., SALVADOR S.C.; NAKAZATO L. Photosensitization and crystal associated cholangiohepatopathy in cattle grazing *Brachiaria decumbens* in Brazil. *Toxicol*, v.39, p.376-377, 1997.
- LEMOS, R.A.A.; NAKAZATO, L.; HERRERO JUNIOR, G.O. et al. 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.
- MEAGHER, L.P.; WILLKINS, A.L.; MILES, C.O. et al. Hepatogenous photosensitization of ruminants by *Brachiaria decumbens* and *Panicum dichotomiflorum* in the absence of sporidesmin: lithogenic saponins may be responsible. *Veterinary and Human Toxicology*, v.38, n.4, p.271-274, 1996.

MELO, G.K. **Desempenho de cordeiros lactentes suplementados em cocho privativo em pastagens de *Brachiaria* spp.** 2014. 62f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

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

MILES C.O.; WILKINS A.L.; ERASMUS G.L et al. Photosensitivity in South Africa. Ovine metabolism of *Tribulus Terrestris* saponins during experimentally induced geeldikkop. *Onderst. Journal Veterinary Research*, n. 61, p.351-359, 1994a.

MILES C.O.; WILKINS A.L.; ERASMUS G.L. et al. Photosensitivity in South Africa. Chemical composition of biliary crystals from a sheep with experimentally induced geeldikkop. *Onderst. Journal. Veterinary. Research*, n. 61, p.215-222, 1994b.

MUSTAFA, V.S.; MOSCARDINI, A.R.C.; BORGES, J.R.J. et al. Intoxicação natural por *Brachiaria* spp. em ovinos no Brasil Central. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.32, n.12, p.1272-1280, 2012.

OGLIARI, D.; MOLOSSI, F.A.; SAVARIS, T. et al. Intoxicação espontânea por *Brachiaria* híbrida cv mulato I em ovinos e caprinos e experimental por *Brachiaria* híbrida cv mulato II em ovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.38, n.2, p.229-233, 2018.

OLIVEIRA, C. H. S.; BARBOSA, J. D.; OLIVEIRA, C. M. C. et al. Hepatic photosensitization in buffaloes intoxicated by *Brachiaria decumbens* in Minas Gerais state, Brazil. *Toxicon*, v. 73, p. 121-129, 2013.

OPASINA, B.A. Photosensitization jaundice syndrome in West African dwarf and sheep. *Tropical Grasslands*, v.19, p.120-123, 1985.

PERON, A.J.; EVANGELISTA, A.R. Degradação de pastagens em regiões de Cerrado. *Ciência e Agrotecnologia*, v.28, n.3, p.655-661, 2004.

PESSOA, C.R.M. et al. Importância econômica, epidemiologia e controle das intoxicações por plantas no Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.33, n.6, p.752-758, 2013.

PORTO, M.R.; SATURNINO, K.C.; LIMA, E.M.M. et al. Avaliação da exposição solar na intoxicação experimental por *Brachiaria decumbens* em ovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.33, n.8, p.1009-1015, 2013.

PUPIN, R.C., MELO, G.K.A., HECKLER, R.F. et al. Identification of lamb flocks susceptible and resistant against *Brachiaria* poisoning. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.36, n.5, p. 383-388, 2016.

RISSI, D.R.; RECH, R.R.; PIEREZAN, F.; GABRIEL, A.L.; TROST, M.E; BRUM, J.S.; KOMMERS, G.C.; BARROS, C.S.L.; Intoxicações por plantas e micotoxinas

associadas a plantas em bovinos no Rio Grande do Sul: 461 casos. Pesquisa Veterinária Brasileira, v..27, p.261-268, 2007.

PURISCO, E.; LEMOS, R.A.A. Plantas que Causam Fotossensibilização Hepatógena. In: LEMOS, R.A.A; LEAL, C.R.B. (Ed) Doenças de Impacto Econômico em Bovinos de Corte. 1 ed UFMS, 2008.p.231-236

RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R.M.T. Intoxicação 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.C. Intoxicações por plantas e micotoxinas. In: RIET-CORREA, F.; SHILD, A.L.; LEMOS, R.A.A.; BORGES, J.R.J. (Ed) Doenças de Ruminantes e Equídeos. 3.ed. Pallotti:Fernovi, 2007. p.39-42.

RIET-CORREA, B.; RIET-CORRA, F.; SCHILD, A.L. et al. Wasting and death in cattle associated with chronic grazing of *Brachiaria decumbens*. Veterinary and Human Toxicology, v.44, n.3. p.179-180, 2002.

RIET-CORREA B., CASTRO M.B., LEMOS R.A.A. et al. *Brachiaria* spp. poisoning of ruminants in Brazil. Pesquisa Veterinária Brasileira, v.31, n.3, p. 183-192, 2011.

ROZZA, D.B.; SEITZ, A.L.; BANDARRA, P.M. et al. Fotossensibilização por *Brachiaria decumbens* em búfalo. Pesquisa Veterinária Brasileira, v.24 (suplemento), p.55-56, 2004.

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

SATURNINO,K.C.; MARIANI, T.M.; BARBOSA-FERREIRA, M. et al. Intoxicação experimental por *Brachiaria decumbens* em ovinos confinados. Pesquisa Veterinária Brasileira, v.30, n.1, p.195-202, 2010.

SEIFFERT, N.F. Gramíneas forrageiras do gênero *Brachiaria*. Campo Grande: Embrapa – CNPQC. Circular técnica I. 1980. 74p.

SOUZA, R.I.C; RIET-CORREA, F.; BRUM, K.B. et al. Intoxicação por *Brachiaria* spp. em bovinos no Mato Grosso do Sul. Pesquisa Veterinária Brasileira, v.30, n.12, p.1036-1042, 2010.

TOKARNIA, C.H.; DÖBEREINER, J.; DUTRA, I.S. et al. Experimentos em bovinos com as favas de *Enterolobium contortisiliquum* e *Enterolobium timbouva* para verificar propriedades fotossensibilizantes e/ou abortivas. Pesquisa Veterinária Brasileira, v.19, p.39-45, 1999.

TOKARNIA, C.H; BRITO, M.F.; BARBOSA, J. et al. Plantas Tóxicas do Brasil para animais de produção. Rio de Janeiro: Helianthus, 2012. 566p.

VALLE, C.B. Avaliação de germoplasma e melhoramento genético de Braquiárias. In: PAULINO, V.T. In: Encontro para discussão sobre capins do gênero *Brachiaria*, 2, 1991, **Anais...**Nova Odessa, Instituto de Zootecnia, 1991. p. 301-342.

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

CAPÍTULO I

Intoxicação por *Brachiaria* ssp. em cordeiros lactentes

suplementados em sistema *creep feeding* e não suplementados

Gleice Kelli Ayardes de Melo, Camila Celeste Brandão Ferreira Ítavo, Jonilson Araújo da Silva, Kedma Leonora Silva Monteiro, Tatiane Cargin Faccin, Rayane Chitolina Pupin, Rubiane Ferreira Heckler, Luís Carlos Vinhas Ítavo, Pâmila Carolini Gonçalves da Silva, Paula Velozo Leal & Ricardo Antônio Amaral de Lemos.

(Artigo publicado em: Small Ruminant Research, v.158, p.30-34, 2018)

Intoxicação por *Brachiaria* em cordeiros lactentes suplementados em sistema de *creep feeding* e não suplementados

Gleice Kelli Ayardes de Melo^{a*}, Camila Celeste Brandão Ferreira Ítavo^a, Jonilson Araújo da Silva^a, Kedma Leonora Silva Monteiro^a, Tatiane Cargin Faccin^b, Rayane Chitolina Pupin^a, Rubiane Ferreira Heckler^a, Luís Carlos Vinhas Ítavo^a, Pâmila Carolini Gonçalves da Silva^a, Paula Vellozo Leal^a, Ricardo Antônio Amaral de Lemos^a

^aPrograma de Pós Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, UFMS, Av. Filinto Muller, 2,443, Campo Grande, CEP 79074-460, Mato Grosso do Sul, Brazil. E-mail: gleiceayardes@gmail.com, camila.itavo@ufms.br, jonilsonsilva@zootecnista.com.br, ked_monteiro@hotmail.com, rayane.pupin@gmail.com, rubiferreira@yahoo.com.br, luis.itavo@ufms.br, carolinigoncalves@zootecnista.com.br, paulavleal@hotmail.com, ricardo.lemos@ufms.br

^bLaboratório de Patologia Veterinária, Avenida Roraima, nº 1000, Bairro: Camobi, CEP: 97105-900, Santa Maria, RS, Brazil. E-mail: tatifaccin@hotmail.com

* Autor para correspondência: cel: +55 67 33453615; fax: +55 67 33453601.
E-mail: gleiceayardes@gmail.com (G.K.A. Melo)

Resumo: objetivou-se avaliar a frequência de intoxicação em pastagens de *Brachiaria* spp. em 34 cordeiros lactentes suplementados com concentrado proteico em *creep feeding* e 34 cordeiros não suplementados. Para determinação das concentrações de protodioscina foram coletadas a cada 28 dias amostras de *Brachiaria* spp. Cordeiros com sinais clínicos de intoxicação por *Brachiaria* spp. foram separados do rebanho, juntamente com suas mães, e passaram a receber feno de alfafa (*Medicago sativa*) e capim Tifton-85 (*Cynodon dactylon*) como alternativa de volumoso. As concentrações de protodioscina foram de 0,3-0,9% e 0,4-1,4% no tratamentos *creep feeding* e controle, respectivamente. Os cordeiros dos tratamentos *creep feeding* e controle apresentaram sinais clínicos entre 41-48 e 34-74 dias de idade, respectivamente. Os sinais clínicos incluíram edema de face e orelhas, alopecia e eritema com a formação de crostas e desprendimento da pele, deixando expostas áreas de erosão na pele, com posterior retração cicatricial nas orelhas. Houve efeito significativo ($p < 0,1$) entre os tratamentos nutricionais, mas não entre as composições genéticas ou ano ($p > 0,1$). Conclui-se que a *Brachiaria* spp. é tóxica para cordeiros lactentes. Baixas concentrações de protodioscina são tóxicas para cordeiros, especialmente se forem suscetíveis à intoxicação. A ingestão de

concentrado proteico em sistema *creep feeding* diminuiu os efeitos da intoxicação por *Brachiaria* spp. em cordeiros lactentes.

Termos de Indexação: *Brachiaria* spp, produção ovina, fotossensibilização hepatógena, nutrição

Introdução

Apesar de serem consideradas tóxicas, gramíneas do gênero *Brachiaria* são as forrageiras mais utilizadas para a criação de ruminantes no Centro-Oeste do Brasil. Estima-se que 85% das pastagens cultivadas para produção da pecuária extensiva seja composta por *Brachiaria* spp. (Moreira et al., 2009). A grande disseminação dessa gramínea se deve a alta adaptação aos solos da região (Araújo et al., 2008).

Fotossensibilização hepatógena é o sinal clínico mais associado a intoxicação por *Brachiaria* em ovinos (Saturnino et al., 2010; Riet-Correa et al., 2001; Porto et al., 2013; Pupin et al., 2016). Casos de anorexia e cirrose hepática são descritos com menor frequência (Faccin et al., 2014). Mas, todos esses sinais clínicos são associados com baixo desenvolvimento corporal e a morte dos animais (Saturnino et al., 2010; Riet-Correa et al., 2011; Porto et al., 2013).

A protodioscina é o princípio tóxico presente na *Brachiaria* spp. Esta substância é uma saponina esteroidal litogênica que induz alterações patológicas no parênquima hepático e no trato biliar, interrompendo a depuração da filoeitrina, um pigmento fotodinâmico (Brum et al., 2007). Uma sequência de transformações químicas das saponinas esteróidais litogênicas danifica o fígado. As saponinas ingeridas com a forragem são hidrolisadas no rúmen, produzindo as sapogeninas diosgenina e yamogenina, que são convertidas em smilagenina e sarsasapogenina, respectivamente. Estes compostos são então epimerizados para os respectivos isômeros, epismilagenina e episarsapogenina

(Miles et al., 1994a). Estes isômeros são absorvidos e transportados através do sangue para o fígado onde se conjugam com ácido glucurônico, produzindo epismilagenina e episarsapogenina glucoronídeos que se ligam aos íons de cálcio, formando cristais insolúveis de sal de cálcio, que precipitam e danificam o parênquima hepático e os canais biliares Miles et al., 1994b, Meagher et al., 1996).

Considera-se que ovinos jovens são mais susceptíveis à intoxicação (Riet-Correa et al., 2011). No entanto, não há estudos sobre a intoxicação em cordeiros lactentes. Objetivou-se com esse estudo avaliar as frequências de intoxicação por *Brachiaria* spp. em dois grupos de cordeiros lactentes, um suplementado com concentrado proteico em *creep feeding* e outro não suplementado.

Material e Métodos

O estudo desenvolveu-se com cordeiros lactentes, pertencentes ao rebanho ovino do setor de ovinocultura, na fazenda experimental (20°26'34.31"S, 54°50'27.86"W; 530.7 m a.s.l.) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS). O experimento foi aprovado pela Comissão de Experimentos com Animais da UFMS sob protocolo nº 481/2012.

Os cordeiros do experimento pertenciam a dois rebanhos distintos. Rebanho 1 (R1) consistia de 33 ovelhas SRD com média de quatro anos de idade. Estas ovelhas nasceram e foram criadas em pastagens de *Brachiaria* spp. e foram levadas a Fazenda experimental em janeiro de 2012 e foram acasaladas com reprodutor da raça Ile de France. O rebanho 2 (R2) consistiu de 26 ovelhas cruzadas com média de oito meses de idade. Estas ovelhas nasceram no Sul do Brasil e foram criadas em pastagens formadas de *Paspalum notatum* e *Lolium multiflorum*. As ovelhas R2 foram introduzidas na Fazenda Experimental em outubro de 2012 e cruzadas com reprodutor da raça White Dorper. Ambos os carneiros não haviam consumido pastagens de *Brachiaria* spp até serem levados à fazenda experimental

quando tinham aproximadamente 8 meses de idade. Ambos foram adaptados e não apresentaram sinais clínicos de intoxicação.

A estação de monta foi de 90 e 60 dias no primeiro e segundo ano, respectivamente. O período experimental foi de maio a outubro de 2013 e de 21 de março a 28 de junho de 2014. O período experimental correspondeu ao período do aleitamento, ou seja, desde o nascimento do primeiro animal até o dia do último desmame. Os cordeiros e suas respectivas mães foram mantidos em pastejo contínuo em uma área de 4,77 ha, composto por *Brachiaria decumbens* e *B. brizantha*, dividido em seis piquetes com tamanhos iguais (três para cada rebanho). As ovelhas e cordeiros receberam suplementação mineral a água *ad libitum* durante o período experimental.

Após o nascimento, os 68 cordeiros foram divididos em dois grupos: controle (pastagem, suplementação mineral e leite materno) e *creep feeding* (pastagem, suplementação mineral, leite materno e concentrado proteico em cocho privativo). Os cordeiros foram distribuídos entre os grupos de acordo com a ordem de parto (primípara ou múltípara), tipo de parto (simples ou gemelar) e sexo dos cordeiros. O tratamento *creep feeding* foi composto por 26 cordeiros R1 e oito cordeiros R2, e o tratamento controle consistiu de 21 cordeiros R1 e 13 cordeiros R2 (Tabela 1).

O *creep feeding* correspondeu a uma área de 2,6 m² (2,0 x 1,3m). Os cochos permaneceram dentro de cercados de madeira, providos de sistemas de abertura com dimensões de 30 cm de altura e 20 cm de largura. O concentrado (Tabela 2) foi oferecido às 8:00h, e os cordeiros tinham acesso ilimitado aos cochos.

A quantidade de concentrado disponível para os cordeiros (a) e a quantidade de concentrado restante (b) foram pesadas e a quantidade média de concentrado consumida pelos cordeiros foi calculada como a-b. Todas as ovelhas em lactação foram suplementadas com 350 g/d/ovelha de concentrado composto de milho e soja que forneceu 1,26 kg de

matéria seca (MS) e cerca de 30% dos requisitos para ovelhas lactantes com peso corporal (PC) de 50 kg, de acordo com o NRC (2007).

Os cordeiros foram observados a cada 12 horas, do amanhecer ao pôr do sol, a cada 14 dias para avaliar o comportamento alimentar usando o método de varredura instantânea ou de esquadramento (Altman, 1974). O comportamento ingestivo foi registrado a cada 10 minutos, observando-se a atividade realizada, tempo de pastejo e acesso ao *creep feeding* (somente no tratamento *creep feeding*). As observações indicaram que a idade média para o início do pastejo foi 10 dias após o nascimento. O período de exposição ao princípio tóxico foi então estimado subtraindo 10 dias da idade dos cordeiros a partir do aparecimento dos sinais clínicos. Este cálculo foi baseado na idade média do início do pastejo dos cordeiros, determinado pela avaliação do comportamento ingestivo.

Em 2014, foi realizada a coleta do pasto a cada 28 dias para determinação das concentrações de protodioscina. Foram realizadas 10 coletas, em pontos aleatórios do piquete, utilizando um quadrado metálico com área de 0,25m² (Mc Meninan, 1997). As amostras foram pesadas e o componente selecionado pelos cordeiros durante o pastejo (lâmina foliar) foi seco em estufa de ventilação forçada a 55°C durante 96 h. As lâminas foliares foram então processadas num moinho tipo Willey dotado de peneira com crivos de 1 mm e direcionado para análise de protodioscina, utilizando cromatografia líquida de alta performance (HPLC), segundo Ganzera et al. (2001).

Os cordeiros e as matrizes foram identificados através de códigos numéricos para o controle sanitário e de desempenho dos animais. O manejo sanitário dos cordeiros logo após o nascimento consistiu em corte e desinfecção do cordão umbilical com tintura a base de iodo. O controle parasitológico foi feito com base na contagem de ovos por grama de fezes (OPG) segundo Gordon & Whitlock (1939). Sinais clínicos de fotossensibilização foram monitorados para indicar intoxicação por *Brachiaria* spp. caracterizados por lesões

em áreas restritas da pele, em regiões despigmentadas, principalmente a região da face e orelhas, consistindo em alopecia, eritema, formação de crostas, desprendimento e retração cicatricial, além de apatia, anorexia, icterícia e perda de peso (Faccin et al., 2014). Cordeiros com sinais clínicos foram separados do rebanho, juntamente com suas mães, e colocados em abrigos, protegidos do sol. Passaram a consumir feno de alfafa (*Medicago sativa*) e Tifton-85 (*Cynodon dactylon*) como opção de volumoso nos anos de 2013 e 2014, respectivamente, com suplementação mineral e água *ad libitum*. Após completa recuperação, os cordeiros e suas mães eram reintroduzidos aos seus respectivos tratamentos. Os cordeiros que morreram foram necropsiados, e fragmentos de vários órgãos foram amostrados, fixados em formalina a 10%, rotineiramente processados histopatologicamente e corados com hematoxilina-eosina.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados com base na ordem de parto (primiparas x multiparas) e tipo de parto (simples ou gemelar) nas duas estações (2013/2014) para os dois tratamentos (*creep feeding* e controle) e duas origens genéticas. Os dados dos dois tratamentos (*creep feeding* x controle) e das origens genéticas foram analisados por qui-quadrado ($p < 0,1$) com base no período experimental dos cordeiros nas pastagens.

Resultados

As ovelhas não manifestaram sinais clínicos de intoxicação por *Brachiaria* spp. Coletas de pastagens de *Brachiaria* spp. foram realizadas somente no ano de 2014. As concentrações totais de protodioscina (% de MS) variaram de 0,3 a 1,3% (Média \pm DP: $0,7 \pm 0,3$), entre os piquetes de todos os tratamentos. A concentração de protodioscina nos piquetes do tratamento *creep-feeding* (1, 2 e 5, Tabela 3) variaram de 0,3 a 0,9% ($0,7 \pm 0,2$). Não foram observados sinais clínicos de intoxicação no piquete 1 no ano de 2014. As

concentrações de protodioscina variaram de 0,4 a 1,4% ($0,8 \pm 0,4$) nos piquetes do tratamento controle (3,4 e 6, Tabela 3).

Os sinais clínicos foram observados em quatro, dos 34 cordeiros do tratamento *creep feeding*, dos quais três sobreviveram e um morreu, representando uma taxa de morbidade de 11,8% e taxa de mortalidade de 2,9%. O curso clínico dos cordeiros que sobreviveram foi de 6-14 dias. O curso clínico do cordeiro que morreu foi de 14 dias. Nos cordeiros do tratamento controle, os sinais clínicos foram observados em 17 dos 34 cordeiros. Destes, quatro morreram, ou seja, uma taxa de morbidade de 50% e de mortalidade de 14,7%. O curso clínico dos cordeiros que sobreviveram foi de 6-29 dias. O curso clínico dos cordeiros que morreram foi de 5-24 dias (Tabela 4).

Os cordeiros começaram a ingerir a forragem com maior intensidade a partir dos 10 dias de idade, independentemente do tratamento. O total de horas de pastejo não diferiu significativamente entre os tratamentos. Os cordeiros dos dois tratamentos atingiram uma média de 4,5 horas de pastejo em uma observação por um período de 12 horas. Os cordeiros do grupo *creep-feeding* manifestaram os primeiros sinais clínicos entre 41-48 dias de idade, correspondendo a 31-38 dias de pastejo. Os cordeiros do grupo controle manifestaram os primeiros sinais clínicos entre 34-74 dias de idade, correspondendo a 24-64 dias de pastejo. A média de concentrado consumido no tratamento *creep feeding* foi de 21,9 g/kg/PC.

Sinais clínicos de intoxicação foram observados em 21 dos 68 cordeiros. Sendo 11,8% nos cordeiros do tratamento *creep feeding* e 50% nos cordeiros do tratamento controle. O número de casos clínicos nos cordeiros do rebanho R1 foi de 40,5% e no rebanho R2 de 19,3%. Houve efeito significativo entre os tratamentos nutricionais, mas não entre os grupos genéticos ou ano.

Os achados clínicos, de necropsia e histopatológicos diferiram em intensidade, mas foram semelhantes entre os tratamentos. Os principais sinais clínicos incluíram fotossensibilização hepatógena, com lesões restritas a locais específicos de pele não pigmentada, principalmente na face, e consistiram de alopecia, eritema, crostas com desprendimento das crostas, apatia, anorexia, icterícia e perda de peso. Um cordeiro do tratamento *creep feeding* apresentou apenas anorexia, apatia e icterícia (sem sinais de fotossensibilização). Os achados de necropsia incluíram mucosas oculares e oral pálidas e ligeiramente ictéricas; também foi observado icterícia nas superfícies serosas e íntimas dos vasos sanguíneos, com áreas amareladas e área de depressão do parênquima com coloração esbranquiçada. Foram observadas alterações histopatológicas na pele e fígado. A pele apresentava múltiplos focos epidérmicos leves a moderados de necrose coagulativa associada à infiltração celular com neutrófilos viáveis e degenerados e quantidades moderadas de fibrina. As alterações hepáticas consistiram de desorganização da arquitetura hepática por infiltrado inflamatório acentuado nos sinusoides, composto por macrófagos com citoplasma espumoso, colangio-hepatite em graus variáveis associadas às imagens negativas de cristais na luz de ductos biliares e no citoplasma de hepatócitos.

Discussão

As concentrações de protodioscina nas pastagens durante os casos clínicos de intoxicação foram de 0,3 e 1,4% em abril e junho de 2014, respectivamente. Estas concentrações são inferiores às anteriormente referidas como tóxicas. No entanto, comparar as concentrações de protodioscina entre os estudos é difícil, porque os vários relatos (Mustafa et al., 2012, Porto et al., 2013, Faccin et al., 2014, Pupin et al., 2016) têm utilizado diferentes métodos de amostragem das pastagens para análise química em diferentes intervalos.

Estudos anteriores relataram concentrações de protodioscina de 1,62% (Albernaz et al., 2010), 2,56% (Mustafa et al., 2012) e 0,94% (Porto et al., 2013), mas as concentrações de protodioscina nesses relatos foram determinadas apenas durante os surtos em amostras constituídas por todas as partes da planta. As concentrações de protodioscina foram 0,83-2,45% em outro estudo que avaliou folhas novas, onde foram determinadas as maiores concentrações de protodioscina, quando comparadas com as folhas maduras e senescentes (Faccin et al., 2014). Estas variações demonstram a necessidade de estabelecer uma metodologia padronizada para amostragem e análise de protodioscina. Resultados conflitantes das concentrações tóxicas ou potencialmente tóxicas de protodioscina indicam que uma padronização é difícil, se não impossível, devido à grande variação nas concentrações tóxicas e na suscetibilidade individual dos animais.

Não houve diferença significativa entre os grupos genéticos. Mas observou-se que 15 cordeiros do rebanho R1 apresentaram sinais clínicos de intoxicação, enquanto que no rebanho R2 seis cordeiros manifestaram sinais clínicos. Um componente genético para resistência a intoxicação por *Brachiaria* spp. foi recentemente demonstrado (Pupin et al., 2016). A identificação de raças resistentes de animais é, portanto, uma alternativa promissora para o controle da intoxicação.

Houve efeito significativo entre os tratamentos nutricionais. O consumo de concentrado proteico (21,9 g/kg/PC) minimizou a influência genética. Não foi possível determinar como a suplementação preveniu ou minimizou os efeitos da intoxicação, mas discutiremos duas hipóteses. A primeira hipótese seria que o consumo de suplemento poderia conseqüentemente diminuir o consumo da forragem, e também a ingestão do princípio tóxico, pois as necessidades dietéticas dos animais já teriam sido alcançadas pela ingestão do concentrado. Esta possibilidade não pode ser corroborada neste estudo, pois os cordeiros suplementados e não suplementados dispenderam o mesmo número de horas para

a atividade de pastejo. Uma segunda possibilidade é que a suplementação concentrada-proteica tenha modificado a flora ruminal. As lesões hepáticas decorrentes dessa intoxicação são dependentes do metabolismo das saponinas presentes no rúmen (Miles et al., 1991), e dessa forma, a intoxicação por *Brachiaria* spp. pode ter sido influenciada pelas alterações que ocorreram na microbiota ruminal.

Observações em estudos anteriores ainda não caracterizam claramente esta intoxicação (Faccin et al., 2014, Pupin et al., 2016). Por exemplo, a taxa de intoxicação pode ser baixa em altas concentrações de protodioscina, ou altas taxas de intoxicação podem ser encontradas em pastagens de *Brachiaria* spp. com baixas concentrações de protodioscina. Essas correlações negativas podem estar associadas ao efeito cumulativo da protodioscina na planta, mas nossos resultados não suportam essa premissa, pois os casos de intoxicação ocorreram tanto quando as concentrações de protodioscina estão elevadas ou não. Nossos resultados assim caracterizaram o efeito cumulativo da protodioscina como uma adaptação do animal ao princípio tóxico (Faccin et al., 2014, Pupin et al., 2016).

Não é possível comparar nossos dados para as taxas de morbidade e letalidade e a duração do curso clínico, com dados reportados em outros estudos, pois estes estudos não abordaram especificamente a intoxicação em cordeiros lactentes. Nossos dados, no entanto, são consistentes com os relatados em estudos semelhantes (Mustafa et al., 2012, Faccin et al., 2014, Pupin et al., 2016).

O aparecimento de sinais clínicos ocorreu em cordeiros entre 30 dias e seis meses de idade, após terem sido introduzidos em pastagem contendo *Brachiaria* spp. (Mustafa et al., 2012). Sinais clínicos foram observados em cordeiros desmamados 57 dias após serem transferidos para uma pastagem contendo *B. decumbens* (Pupin et al., 2016). Os primeiros sinais clínicos em ovelhas não adaptadas ocorreram 35 dias após a sua introdução em

pastagens contendo *B. brizantha* (Faccin et al., 2014). Estes estudos, no entanto, não forneceram dados detalhados sobre o tempo de recuperação da intoxicação.

Neste estudo, demonstrou-se a intoxicação por *Brachiaria* spp. em cordeiros lactentes. Os primeiros casos foram observados em cordeiros com 34 dias de idade. Em ambos os tratamentos os cordeiros começaram a consumir forragem com maior intensidade a partir de 10 dias de idade, portanto estima-se que a intoxicação ocorreu aproximadamente 20 dias após a ingestão de *Brachiaria*. Relatos anteriores indicam que cordeiros são mais vulneráveis à intoxicação (Mustafa et al., 2012), mas não especificaram se eram cordeiros lactentes. Esses resultados, no entanto, são importantes, pois demonstraram que os cordeiros começaram a pastar nos primeiros dias de vida, com ou sem suplementação, ingerindo assim o capim *Brachiaria* numa fase em que são mais vulneráveis à intoxicação.

Os aspectos clínicos e patológicos da intoxicação por *Brachiaria* nos cordeiros deste estudo foram associados à fotossensibilização hepatógena e as alterações histológicas características da intoxicação por *Brachiaria* (Albernaz et al., 2010, Mustafa et al., 2012, Faccin et al., 2014, Pupin et al., 2016).

Conclusões

Pastagens com baixas concentrações de protodioscina (0,3-1,3%) podem causar intoxicação em cordeiros lactentes. A suplementação concentrada proteica (21,9 g/kg/PC) em sistema *creep-feeding* é uma ferramenta nutricional que pode diminuir os efeitos da intoxicação em cordeiros lactentes criados em pastagens formadas por *Brachiaria* spp.

Referencias

- Albernaz, T.T.; Silveira, J.A.S.; Silva, N.S.; Oliveira, C.H.S.; Belo Reis, A.S.; Oliveira, C.M.C.; Duarte, M.D.; Barbosa, J.D., 2010 Fotossensibilização em ovinos associada à ingestão de *Brachiaria brizantha* no estado do Pará. *Pesq. Vet. Brasil*, n.30, v.9, p.741-748.
- Altmann, J., 1974. Observational study of behavior sampling methods. *Behavior*, n.49, 227-267.
- Brum, K. B.; Haraguchi, M.; Lemos, R.A.A.; Riet-Correa, F.; Fioravanti, M.C.S. Crystal-associated cholangiopathy in sheep grazing *Brachiaria decumbens* containing the saponin protodioscin., 2007. *Pesq. Vet. Brasil*, n.27 v.1, p. 39-42.
- Faccin, T.C.; Riet-Correa, F.; Rodrigues, F.S.; Santos, A.C.; Melo, G.K.A.; Silva, J.A.; Ferreira, R.; Ítavo, C.C.B.F.; Lemos, R.A.A., 2014. Poisoning by *Brachiaria brizantha* in flocks of naïve and experienced sheep. *Toxicon*, n.82, p.1-8.
- Ganzera, M., Bedir, E., Khan, I.A., 2001. Determination of steroidal saponins in *Tribulus terrestris* by reversed-phase high-performance liquid chromatography and evaporative light scattering detection. *J. Pharm Sci*, n. 90 v.11, p.1752-1758.
- Gordon, H.M.C.L., Whitlock, H.V., 1939. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *J. Sci. Ind. Res*, n.12, p. 50-52.
- Meagher, L. P.; Wilkins, A. L.; Miles, C. O.; Collin, R.G.; Flagliari, J.J., 1996. Hepatogenous photosensitization of ruminants by *Brachiaria decumbens* and *Panicum dichotomiflorum* in the absence of sporidesmin: lithogenic saponins may be responsible. *Vet. Human. Toxicol*, n.38, v.4, p. 271-274.
- MCMENIMAN, N.P., 1997. Methods of estimating intake of grazing animals. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Simpósio Sobre Tópicos Especiais Em Zootecnia. 34, 131-168.
- Miles C.O.; Munday S.C.; Holland P.T.; Smith, B.L.; Embling, P.P.; Wilkins, A.L., 1991. Identification of a saponin glucuronide in the bile of sheep affected by *Panicum dichotomiflorum* toxicosis. *New. Zeal. Vet. J.* n.39, p.150-152.
- Miles C.O.; Wilkins A.L.; Erasmus G.L.; Kellerman, T.S., 1994a. Photosensitivity in South Africa. Ovine metabolism of *Tribulus Terrestris* saponins during experimentally induced geeldikkop. *Onderst. J. Vet. Res.*, n. 61, p.351-359.

- Miles C.O.; Wilkins A.L.; Erasmus G.L.; Kellerman, T.S.; Coetzer, J.A.W., 1994b. Photosensitivity in South Africa. Chemical composition of biliary crystals from a sheep with experimentally induced geeldikkop. *Onderst. J. Vet. Res.*, n. 61, p.215-222, 1994b.
- Moreira, L.M.; Martuscello, J.A.; Fonseca, D.M.; Mistura, C.; Morais, R.V.; Ribeiro Junior, J.I., 2009 Perfilamento, acúmulo de forragem e composição bromatológica do capim-braquiária adubado com nitrogênio. *Rev. Brasil Zootec.*, n. 32, v.1, p. 98-106.
- Mustafa, V.S.; Moscardini, A.R.C.; Borges, J.R.J.; Reckziegel, G.C.; Riet-Correa, F.; Castro, M.C., 2012 Intoxicação natural por *Brachiaria* spp. em ovinos no Brasil Central. *Pesq. Vet. Brasil*. n.32, v.12, p.1272-1280.
- NRC, 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminants. National Research Council. Washington, DC.
- Porto, M.R.; Saturnino, K.C.; Lima.; Lee, S.T.; Lemos, R.A.A.; Marcolongo-Pereira, C.; Riet-Correa, F.; Castro, M.B., 2013. Avaliação da exposição solar na intoxicação experimental por *Brachiaria decumbens* em ovinos. *Pesq. Vet. Brasil*, n.33, v.8, p.1009-1015.
- Pupin, R.C.; Melo, G.K.A.; Heckler, R.F.; Faccin, T.C.; Itavo, C.C.B.F.; Fernandes, E.F.; Gomes, D.C.; Lemos, R.A., 2016. Identification of lambs flocks susceptible and resistant against *Brachiaria* poisoning, *Pesq. Vet. Brasil*, n.36, v.5, p.383-388,
- Riet-Correa, B.; Castro, M.B.; Lemos, R.A.A.; Riet-Correa, G.; Mustafa, V.; Riet-Correa, F., 2011. *Brachiaria* spp. poisoning of ruminants in Brazil. *Pesq. Vet. Brasil*, n. 31 v.3, p.183-192.
- Saturnino, K.C., Marian, T.N., Barbosa-Ferreira, M.; Brum, K.B.; Fernandes, C.E.S.; Lemos, R.A.A., 2010. Intoxicação experimental por *Brachiaria decumbens* em ovinos confinados. *Pesq. Vet. Brasil*, n.30, v.3, p.195-202.

Tabela 1. Alocação do rebanho ovino em função dos tratamentos nutricionais com base nos critérios* do estudo experimental.

Categoria	Número de ovinos			
	R1		R2	
	Creep feeding	Control	Creep feeding	Control
Ovelhas multiparas	13	15	7	3
Ovelhas primiparas	2	2	7	8
Parto simples	14	13	10	9
Parto gemelar	1	4	4	2
Cordeiros	11	13	8	7
Cordeiras	5	8	10	6

* ordem de parto (primípara ou múltipara), tipo de parto (simples ou gemelar), sexo dos cordeiros

Tabela 2. Quantidades de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), nutrientes digestíveis totais (NDT) e carboidratos não estruturais (CNE) do concentrado dos cordeiros e do concentrado das ovelhas

	Concentrado <i>creep</i> <i>feeding</i> ¹ (g/kg MS)	Concentrado ovelhas ² (g/kg MS)
MS (g/kg)	897,9	900,1
MO (g/kg DM)	932,0	904,0
PB (g/kg DM)	230,3	163,9
EE (g/kg DM)	26,4	27,7
FDN (g/kg DM)	143,2	170,5
NDT (g/kg DM) ³	828,4	812,8
CNE (g/kg DM)	532,1	541,9

¹Ingredientes (g/kg): 517,0 milho, 472,0 soja, 10 mineral premix.

²Ingredients (g/kg): 761,1 milho, 198,9 soja, 40 carbonato de cálcio.

*estimado pela equação de Capelle (Capelle et al., 2001): $NDT = 91.0246 - 0.571588 * FDN$ ($r^2 = 0.61$; $P < 0.01$).

Tabela 3. Concentração da protodioscina (% MS) em pastagens de *Brachiaria* spp. e o número de casos da doença em 2014 em cordeiros dos tratamentos *creep feeding* e controle

Piquete	Tratamento	Concentração de protodioscina				Número de casos		
		Abril	Maior	Junho	Media	Abril	Maior	Junho
1	<i>Creep feeding</i>	0.7	0.7	0.9	0.8			
2	<i>Creep feeding</i>	0.3	0.7	0.6	0.5		1	
5	<i>Creep feeding</i>	0.3	0.9	0.7	0.6		1	
3	Control	0.5	1.0	1.4	1.0	2	3	
4	Control	1.1	0.5	1.3	1.0		3	1
6	Control	0.4	0.4	1.0	0.6		2	

Tabela 4. Epidemiologia e curso clínico das intoxicações em cordeiros intoxicados em pastagens de *Brachiaria* spp. nos tratamentos experimentais *creep feeding* (suplementados) e controle (não suplementados)

Tratamento	Rebanho	Cordeiros ID*	ISC** (d)	Mês de intoxicação	Desfecho (dias)	
					Recuperação	Morte
<i>Creep feeding</i>	R1	1334	48	Setembro	14	-
<i>Creep feeding</i>	R1	1423	41	Maio	6	-
<i>Creep feeding</i>	R2	1307	45	Julho	-	14
<i>Creep feeding</i>	R2	1415	41	Maio	9	-
Controle	R1	1314	50	Julho	10	-
Controle	R1	1316	46	Julho	22	-
Controle	R1	1319	36	Julho	19	-
Controle	R1	1321	34	Julho	12	-
Controle	R1	1327	74	Setembro	19	-
Controle	R1	1405	36	Abril	29	-
Controle	R1	1406	36	Maio	15	-
Controle	R1	1408	49	Maio	14	-
Controle	R1	1413	47	Maio	-	6
Controle	R1	1414	38	Maio	-	5
Controle	R1	1418	48	Junho	15	-
Controle	R1	1434	36	Maio	9	-
Controle	R1	1439	34	Maio	6	-
Controle	R2	1335	53	Setembro	9	-
Controle	R2	1403	36	Abrill	29	-
Controle	R2	1424	41	Maio	-	24
Controle	R2	1427	38	Maio	-	11

*Identificação.

**Idade do início dos sinais clínicos (dias).

Tabela 5. Frequência de intoxicação nos cordeiros lactentes dos rebanhos R1 e R2 nos tratamentos *creep feeding* (suplementados) e controle (não suplementados) em 2013 e 2014.

Treatmento	Rebanho				P
	R1 ¹		R2 ²		
	2013	2014	2013	2014	
	Positive cases (%)				
<i>Creep feeding</i>	11,1 (1/9) bA	14,3 (1/7) bA	14,3 (1/7) bA	9,1 (1/11) bA	0.5218
Controle	55,6 (5/9) aA	66,7 (8/12) aA	20,0 (1/5) aA	37,5 (3/8) aA	0.4517
P	0.0001	0.0001	0.0247	0.0001	

Diferentes letras minúsculas dentro de uma coluna indicam diferenças significativas no teste χ^2 ($P < 0.10$).

Diferentes letras maiúsculas dentro da mesma linha indicam diferenças significativas no teste χ^2 ($P < 0.10$).

¹Cordeiros do grupo 1 são filhos de matrizes criadas desde o nascimento em pastagens de *Brachiaria* spp e de um reprodutor da raça Ile de France

²Cordeiros filhos de ovelhas nãive com reprodutor da raça White Dorper

Ambos os carneiros foram criados em pastagens sem contato com a *Brachiaria* e foram transferidos para pastagens contendo *Brachiaria* spp. cerca de dois anos antes do início da experiência

CAPÍTULO II

**Intoxicação por *Brachiaria* ssp. em cordeiros de origens genéticas
distintas submetidos a níveis crescentes de suplementação
na fase de terminação**

Gleice Kelli Ayardes de Melo, Camila Celeste Brandão Ferreira Ítavo,
Jonilson Araújo da Silva, Kedma Leonora Silva Monteiro Ferelli,
Pâmila Carolini Gonçalves da Silva, Rayane Chitolina Pupin &
Ricardo Antônio Amaral de Lemos.

(Artigo redigido nas normas da revista Tropical Animal Health
Production)

**INTOXICAÇÃO POR *BRACHIARIA* SPP. EM CORDEIROS DE ORIGENS
GENÉTICAS DISTINTAS, SUBMETIDOS A NÍVEIS CRESCENTES DE
SUPLEMENTAÇÃO NA FASE DE TERMINAÇÃO**

Gleice Kelli Ayardes de Melo, Camila Celeste Brandão Ferreira Ítavo, Jonilson Araújo da
Silva, Kedma Leonora Silva Monteiro Ferelli, Pâmila Carolini Gonçalves da Silva,
Rayane Chitolina Pupin, Ricardo Antônio Amaral de Lemos

Resumo: Objetivou-se avaliar a frequência de intoxicação por *Brachiaria* spp. em cordeiros na fase de terminação, com origens genéticas distintas e submetidos níveis crescentes de concentrado. Utilizou-se cordeiros na fase de terminação em pastagens de *Brachiaria* spp. com histórico de intoxicação. 45 cordeiros foram distribuídos em quatro tratamentos: sal mineral (SM), suplementação concentrada proteica de 0,8% do peso corporal (0,8% PC), suplementação concentrada proteica de 1,6% do peso corporal (1,6% PC), suplementação concentrada proteica de 2,4% do peso corporal (2,4% PC) divididos em dois rebanhos distintos (R1 e R2). Foram observados sinais clínicos de intoxicação em todos os tratamentos. Todos os cordeiros do tratamento SM morreram. As maiores frequências de intoxicação foram observadas nos tratamentos 0,8% PC e 1,6% PC. No tratamento 2,4% PC todos os animais se recuperaram. Independentemente do tratamento nutricional os cordeiros R1 apresentaram frequência de intoxicação superior aos cordeiros do R2. As taxas de morbidade dos cordeiros R1 e R2 foram de 52,3% e 16,7%, respectivamente. A suplementação não foi suficiente para diminuir a frequência de intoxicação em cordeiros na fase de terminação que foi determinada pela origem genética dos cordeiros. No entanto, a suplementação proteica-energética é um manejo nutricional eficiente para minimizar os efeitos da intoxicação em cordeiros terminados em pastagens de *Brachiaria* spp.

Palavras-chave: fotossensibilização hepatógena, plantas tóxicas, pequenos ruminantes

G.K.A. de Melo (✉)

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Avenida Felinto Muller, 2.443, Campo Grande, CEP 79091-700, Mato Grosso do Sul, Brasil. E-mail:
gleiceayardes@gmail.com; cel: + 55 67 3345-3615

C.C.B.F. Ítavo, K.L.S.M. Ferelli, P.C.G. da Silva, R.C. Pupin, R.A.A. de Lemos

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Avenida Felinto Muller, 2.443, Campo Grande, CEP 79091-700, Mato Grosso do Sul, Brasil.

J.A.da Silva
Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Rodovia Aquidauana/cera km 12, Aquidauana, CEP 79200-000, Mato Grosso do Sul, Brasil.

INTRODUÇÃO

Grande parte das pastagens da cultivadas no Brasil é formada por gramíneas do gênero *Brachiaria* (de Oliveira et al. 2014). Estima-se que o Cerrado brasileiro tenha aproximadamente 60 milhões de hectares em pastagens cultivadas, sendo que 85% seria formada por pastagens do gênero *Brachiaria* (Macedo, 2005). No entanto, a intoxicação por esta gramínea é uma causa de perdas diretas e indiretas em rebanhos ovinos (Mustafa et al. 2012; Porto et al. 2013). Foram descritos surtos em cordeiros desmamados, na fase de terminação (Riet-Correa et al. 2011; Mustafa et al. 2012; Pupin et al. 2016) e em cordeiros em aleitamento (de Melo et al. 2018), demonstrando que esta categoria é mais vulnerável que as demais, sendo susceptível à intoxicação desde o início do consumo da forragem (de Melo et al. 2018).

O conhecimento da influência da genética na sensibilidade à intoxicação (Pupin et al. 2016; Castro et al., 2018) indica que a seleção de animais geneticamente resistentes à intoxicação é um meio eficiente de prevenção da mesma. Porém, este é um processo lento, pois ainda não há metodologias definidas para a identificação de animais resistentes. Foram desenvolvidas alternativas como o pastejo controlado (Castro et al. 2018), reduzindo o tempo de pastejo e conseqüentemente a quantidade da gramínea ingerida pelos ovinos. Este método, embora eficiente em condições experimentais, requer para sua aplicação o cultivo de outras forrageiras, além da *Brachiaria* spp., fator limitante em propriedades que são constituídas apenas por forrageiras deste gênero. A suplementação alimentar mostrou ser uma alternativa promissora e de fácil execução para cordeiros lactentes (de Melo et al. 2018), porém não avaliada em ovinos de outras categorias.

Neste sentido objetivou-se avaliar a frequência de intoxicação por *Brachiaria* spp. em cordeiros de origens genéticas distintas na fase de terminação e submetidos a níveis crescentes de suplementação proteica-energética.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento (aprovado na comissão de ética da UFMS no uso de animais sobre protocolo nº 481/12) foi conduzido na Fazenda Experimental da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ), (20°26'34.31''S 54°50'27.86''O, 530,7 m de altitude), pertencente a Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS).

Foram utilizados 45 cordeiros com idade inicial média de 80 dias e peso médio de 19,47 kg, oriundos de dois rebanhos distintos, denominados de rebanho R1 (R1) e de rebanho 2 (R2). O R1 era constituído por filhos de matrizes SRD criadas em pastagens de *Brachiaria* spp. e reprodutor da raça Ile de France e o rebanho R2 filhos de matrizes nãive Dorper x Santa Inês e reprodutor da raça White Dorper. Ambos os reprodutores foram criados sem contato com gramíneas do gênero *Brachiaria* e introduzidos em pastagens de *Brachiaria* spp. cerca de dois anos antes do início do experimento e, não apresentaram sinais clínicos de intoxicação ao longo da vida.

O experimento compreendeu dois ensaios. O primeiro com início no dia 16 de agosto e término no dia 26 de novembro de 2013, e o segundo com início no dia 11 de julho e término no dia 19 de setembro de 2014. A fase de terminação (desmame ao abate) caracterizou-se como período experimental.

Após o desmame os cordeiros foram distribuídos nos tratamentos e passaram a receber diferentes níveis de suplementação proteico-energético (Tabela 1). Os cordeiros foram alocados em piquetes formados por gramíneas do gênero *Brachiaria* com histórico de intoxicações. A suplementação proteico-energética foi fornecida diariamente às 8:00 horas da manhã, e os cordeiros tinham livre acesso ao alimento. Da mesma forma, tinham

livre acesso ao consumo de água e ao suplemento mineral independentemente do tratamento.

Os piquetes eram formados por pastagens mistas de *Brachiaria humidicola*, *B. decumbens* e *B. brizantha*, com predomínio da *B. brizantha*. Foram utilizados 12 piquetes (3 repetições por tratamento) de 0,4 ha cada. A carga animal utilizada por piquete foi determinada em função da oferta de matéria seca da lâmina foliar (10% do peso corporal), com lotação variável, e quando necessário, foram utilizados animais controladores (ovelhas) para o ajuste da carga animal.

Para determinação das concentrações de protodioscina foram coletadas 10 amostras de áreas representativas em todos os piquetes, a cada 28 dias, utilizando quadrados metálicos de 0,5m x 0,5m, sendo os cortes realizados rente ao solo (McMeniman 1997), com separação posterior das lâminas foliares.

As amostras das lâminas foliares foram pré-secas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 96 horas e trituradas em moinho com peneiras de 1mm. A concentração de protodioscina foi determinada pelo método descrito por Ganzera et al. (2001).

Os cordeiros foram pesados ao início e fim do período experimental, com jejum de sólidos de 16 horas, e pesagens intermediárias a cada 14 dias. No momento em que os animais do grupo com maior aporte nutricional (2,4% SPE) atingiram 32 kg de peso corporal médio foi determinado o fim do período de terminação.

O acompanhamento parasitológico, assim como as aplicações de antiparasitários foram realizados a cada 14 dias. Foram coletadas amostras fecais direto da ampola retal a fim de quantificar os ovos por grama de fezes (Gordon e Whitlock, 1939-modificada), com sensibilidade de 1:25. Os cordeiros foram vermifugados quando o OPG estava igual ou superior a 500, com princípio ativo a base de Monepantel.

Diariamente os cordeiros foram monitorados para observação dos sinais de intoxicação por *Brachiaria* spp. As lesões esperadas para determinação da intoxicação nos cordeiros eram: lesões restritas a locais específicos de pele não pigmentada, principalmente na região da face e orelhas. Consistiram em edema, alopecia, eritema, formação e desprendimento das crostas, além de apatia, anorexia, icterícia e perda de peso (Mustafa et al. 2012; Porto et al. 2013; Pupin et al. 2016; de Melo et al. 2018).

Ao apresentar sinais clínicos, os cordeiros foram separados do rebanho e alocados em abrigos protegidos da incidência dos raios solares. Eles foram alimentados com feno de Tifton-85 (*Cynodon dactylon*), suplementação proteico-energética, suplementação mineral e água à vontade. Ao se observar completa recuperação os cordeiros foram reintroduzidos aos respectivos tratamentos. Os cordeiros que morreram foram necropsiados, e fragmentos de diversos órgãos foram amostrados, fixados em formalina a 10%, rotineiramente processados e corados com hematoxilina-eosina.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados em função do rebanho de origem e os cordeiros distribuídos nos tratamentos (SM, 0,8% SPE, 1,6% SPE ou 2,4% SPE). A frequência de intoxicação foi avaliada pelo teste do qui-quadrado a 5% de significância.

RESULTADOS

As concentrações de protodioscina (%MS), variaram de 1,04 a 2,17 (média±DP: 1,59±1,33) nos piquetes experimentais.

Em todos os níveis de suplementação foram observados sinais clínicos de intoxicação. A epidemiologia, evolução clínica, a origem genética, tratamento nutricional na fase de terminação de cordeiros submetidos a suplementação em pastagens estão descritos na Tabela 2.

Não houve diferença significativa ($P>0,05$) na frequência de intoxicação entre os níveis de suplementação (Tabela 3). No entanto, houve diferença significativa ($P<0,05$) entre as origens genéticas dos cordeiros. As taxas de morbidade dos cordeiros do rebanho R1 e R2 foram de 52,3% (11/21) e 16,7% (4/24), respectivamente (Tabela 3).

Nos níveis de suplementação as maiores frequências de intoxicação observadas foram nos tratamentos 0,8% e 1,6% SPE. No tratamento 0,8% SPE cinco cordeiros adoeceram e se recuperaram. No tratamento 1,6% SPE quatro cordeiros manifestaram sinais clínicos, sendo que três sobreviveram e um morreu. Nos tratamentos SM e 2,4% SPE três cordeiros adoeceram em cada tratamento. No tratamento SM todos os cordeiros morreram e no tratamento 2,4% SPE todos se recuperaram.

A média de idade ao abate para os cordeiros de todos os tratamentos foi de 165 dias. O peso final dos cordeiros dos níveis de suplementação SM, 0,8, 1,6, e 2,4 SPE foi de 25,1, 26,2, 29,2 e 32,0, respectivamente.

Os achados clínicos, de necropsia e histopatológicos diferiram em intensidade, mas foram semelhantes entre os tratamentos. Os principais sinais clínicos incluíram fotossensibilização hepatógena, com lesões restritas a locais específicos de pele não pigmentada, principalmente na face, e consistiram de edema, alopecia, eritema, formação e desprendimento das crostas, apatia, anorexia e perda de peso.

Os achados de necropsia observados foram semelhantes e consistiram de alopecia e formação de crostas ao redor dos olhos e nas orelhas, com retração cicatricial nas orelhas. As mucosas oculares e oral estavam amareladas, assim como o subcutâneo, a pleura parietal, o omento, o mesentério e a íntima dos grandes vasos sanguíneos. No fígado, observou-se bordos arredondados, evidenciação do padrão lobular e coloração difusamente marrom clara. Os rins estavam enegrecidos e ao corte a pelve era amarelada.

Histologicamente, as lesões estavam presentes no fígado e na pele das orelhas e da pálpebra.

DISCUSSÃO

As concentrações de protodioscina ($1,59 \pm 1,33\%$) estão dentre aquelas observadas como tóxicas tem trabalhos anteriores para cordeiros. Foram relatadas concentrações que variaram de 0,74 a 2,56% (Mustafa et al. 2012; Pupin et al., 2016) em cordeiros desmamados e de 0,62 a 1,15% em cordeiros lactentes (de Melo et al. 2018).

Independentemente do nível de suplementação, a frequência de intoxicação foi maior no rebanho R1. As taxas de morbidade dos cordeiros do rebanho R1 e R2 foram de 52,4 e 16,7%, respectivamente. Das quatro mortes que ocorreram, três foram no rebanho R1 e uma no rebanho R2. Neste caso, fica evidente que existe um componente genético responsável pela resistência ou sensibilidade dos animais à intoxicação. O papel da genética na sensibilidade à intoxicação foi anteriormente descrito por Pupin et al. (2016) ao observarem que cordeiros descendentes de progenitores sensíveis apresentaram 73,33% de morbidade, em diferentes graus de sensibilidade, enquanto cordeiros descendentes de progenitores resistentes não manifestaram sinais clínicos.

No decorrer do período experimental 15 cordeiros apresentaram sinais clínicos, 11 dos quais já haviam manifestado sinais de intoxicação na fase de cria, com recidiva na fase de terminação. Destes, 63,63% sobreviveram e 36,36% morreram. Outros quatro cordeiros apresentaram sinais de intoxicação apenas na fase de terminação e todos sobreviveram. Evidencia-se, portanto, diferentes graus de adaptação dos ovinos ao consumo da *Brachiaria* spp. Os mecanismos dessa adaptação ainda não são conhecidos, mas sugere-se que ocorram modificações na microbiota ruminal, alterando as transformações do princípio tóxico (Albernaz et al. 2010; Riet-Correa et al. 2011). Observou-se que a administração de conteúdo ruminal de ovinos adultos e adaptados ao pastejo de *Brachiria brizantha* a

cordeiros suscetíveis reduziu a taxa de morbidade, quando comparados aos cordeiros que não receberam transfaunação do conteúdo ruminal (Castro et al. 2018).

Embora a origem genética dos cordeiros tenha sido determinante para a ocorrência da intoxicação, observou-se diferentes graus de severidade dos sinais clínicos frente aos níveis de suplementação. Nos tratamentos em que os cordeiros receberam a suplementação proteico-energética, 12 animais apresentaram sinais clínicos, sendo 5, 4 e 3 nos níveis de suplementação 0,8%, 1,6% e 2,4% SPE, respectivamente. Ocorreu apenas uma morte no tratamento 1,6% SPE. No Tratamento SM, três animais adoeceram e a taxa de letalidade foi de 100%. Neste caso, observou-se que suplementação proteico-energética minimizou os efeitos da intoxicação, influenciando nas taxas de letalidade nos diferentes níveis de suplementação.

A suplementação proteico-energética demonstrou eficiência para prevenir os efeitos da intoxicação em cordeiros lactentes, criados em pastagens de *Brachiaria* spp. que receberam a suplementação em *creep feeding*. De 34 cordeiros, quatro manifestaram sinais clínicos de intoxicação. Noutro grupo de cordeiros lactentes, criados sob as mesmas condições de pastejo, mas recebendo apenas suplementação mineral, de 34 cordeiros, 17 apresentaram sinais clínicos (de Melo et al. 2018).

Apesar de não ser possível determinar a forma de atuação do suplemento, é presumível que tenha ocorrido modificação da microbiota ruminal, através da ingestão do alimento concentrado (Miles et al. 1991), alterando a sequência de alterações químicas das saponinas esteroidas litogênicas, que ocorrem no rúmen e que consequentemente causariam danos ao tecido hepático (Miles et al. 1994; Meagher et al. 1996; Albernaz et al., 2010).

As lesões macroscópicas e microscópicas observadas nesses animais são características da intoxicação por forrageiras do gênero *Brachiaria* (Mustafa et al. 2012; Porto et al. 2013; Pupin et al. 2016, de Melo et al., 2018).

Os crescentes níveis de suplementação proteico-energética não foram suficientes para diminuir a frequência de intoxicação, a qual foi determinada pela origem genética dos cordeiros. No entanto, observou-se que a suplementação proteico-energética é uma estratégia nutricional eficiente para minimizar os efeitos da intoxicação em cordeiros terminados em pastagens de *Brachiaria* spp.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albernaz, T.T., Silveira, J.A.S., Silva, N.S., Oliveira, C.H.S., Reis A.S.B., Oliveira, C.M.C., Duarte, M.D., Barbosa J.D., 2010. Fotossensibilização em ovinos associada à ingestão de *Brachiaria brizantha* no estado do Pará, Pesquisa Veterinária Brasileira, 30, 741-748.
- Castro, M.B., Gracindo, C.V., Landi, M.F.A., Cabral Filho, S.L.S., Resende Filho, N.J., Lima, E.M.M., Riet-Correa, F., 2018. Sheep adaptation management, and investigation of inherited resistance to prevent *Brachiaria* spp. poisoning, Small Ruminant Research, 158, 42-47.
- De Oliveira, C.C., Villela, S.D.J., de Almeida, R.G., Alves, F.V., Behling-Neto, A., Martins, P.G.M., 2014. Performance of Nellore heifers, forage, mass, and structural and nutritional characteristics of *Brachiaria brizantha* grass in integrated production systems, Tropical Animal Health and Production, 46, 167-172.
- De Melo, G.K.A., Ítavo, C.C.B.F., Silva, J.A., Monteiro, K.L.S., Faccin, T.C., Pupin, R.C., Heckler, R.F., Ítavo, L.C.V., Silva, P.C.G., Leal, P.V., Lemos, R.A.A., 2018. Poisoning by *Brachiaria* spp. in suckling lambs supplemented and unsupplemented in a creep-feeding system, Small Ruminant Research, 158, 30-34.
- Ganzera, M., Bedir, E., Khan, I.A., 2001. Determination of steroidal saponins in *Tribulus terrestris* by reversed phase high-performance liquid chromatography and evaporative light scattering detection, Journal of Pharmaceutical Sciences 90, 1752-1758.

- Gordon, H.M.C.L., Whitlock H.V., 1939. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces, *Journal of the Council for Scientific and Industrial Research*, 12, 50-52.
- Macedo, M.C.M., 2005. Pastagens no ecossistema do Cerrado: evolução das pesquisas para desenvolvimento sustentável. *Anais da 42 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, Goiânia, 2005 (Sociedade Brasileira de Zootecnia, Occasional Publication 3), 56-84.
- McMeniman, N.P., 1997. Methods of estimating intake grazing animals. *Anais da 34 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, Juiz de Fora, 1997 (Sociedade Brasileira de Zootecnia), 131-138.
- Meagher, L. P., Wilkins, A. L., Miles, C. O., Collin, R.G., Flagliari, J.J., 1996. Hepatogenous photosensitization of ruminants by *Brachiaria decumbens* and *Panicum dichotomiflorum* in the absence of sporidesmin: lithogenic saponins may be responsible, *Veterinary and Human Toxicology*, 38 (4), 271-274.
- Miles, C.O., Munday, S.C., Holland, P.T., Smith, B.L., Embling, P.P., Wilkins, A.L., 1991. Identification of a saponin glucuronide in the bile of sheep affected by *Panicum dichotomiflorum* toxicosis, *New Zealand Veterinary Journal*, 39, 150-152.
- Miles, C.O., Wilkins, A.L., Erasmus G.L., Kellerman, T.S., 1994. Photosensitivity in South Africa. Ovine metabolism of *Tribulus Terrestris* saponins during experimentally induced geeldikkop. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 61, 351-359.
- Mustafa, V.S., Moscardini, A.R.C., Borges, J.R.J., Reckziegel, G.C., Riet-Correa, F., Castro, M.B., 2012. Intoxicação natural por *Brachiaria* spp. em ovinos no Brasil Central, *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 32, 1272-1280.
- Porto, M. R., Saturnino, K. C., Lima, E.M.M., Lee, S.T., Lemos, R.A.A., Marcolongo-Pereira, C., Riet-Correa, F., Castro, M.B., 2013. Avaliação da exposição solar na intoxicação experimental por *Brachiaria decumbens* em ovinos, *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 33, 1009-1015.
- Pupin, R.C., Melo, G.K.A., Heckler, R.F., Faccin, T.C., Ítavo, C.C.B.F., Fernandes, C.E., Gomes, D.C., Lemos, R.A.A., 2016. Identification of lamb flocks susceptible and resistant against *Brachiaria* poisoning, *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 36, 383-388.
- Riet-Correa, B., Castro, M.B., Lemos, R.A.A., Riet-Correa, G., Mustafa, V., Riet-Correa, F. 2011. *Brachiaria* spp. Poisoning of ruminants in Brazil, *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 31, 183-192.

Tabela 1: Distribuição dos cordeiros em função dos níveis de suplementação

Tratamento	Número de animais (R1/R2)**	Descrição
SM ¹	11 (4/7)	Cordeiros em pastejo contínuo, recebendo suplemento mineral
0,8% SPE*	12 (5/7)	Cordeiros em pastejo contínuo, recebendo 0,8% do peso corporal (PC) de SPE
1,6% SPE	10 (7/3)	Cordeiros em pastejo contínuo, recebendo 1,6% do peso corporal (PC) de SPE
2,4% SPE	12 (5/7)	Cordeiros em pastejo contínuo, 2,4% do peso corporal (PC) de SPE

¹Suplemento Mineral; * Suplemento Proteico-Energético (SPE); ** Rebanho 1(R1), Rebanho 2 (R2)

Tabela 2. Epidemiologia, origem genética, evolução clínica, histórico de intoxicação na fase de cria de cordeiros em pastagens de *Brachiaria* spp. na fase de terminação.

Tratamento ¹	Rebanho	Identificação Cordeiro	Idade ² (dias)	ISC ³ (dias)	Mês Intoxicação	Evolução Clínica (dias)		Histórico Intoxicação
						Recuperação	Morte	
SM	R1	1423	115	20	Julho		12	Sim
SM	R2	1403	88	11	Julho		25	Sim
SM	R1	1418	105	18	Julho		93	Sim
0,8% SPE	R2	1419	123	24	Agosto	43		Sim
0,8% SPE	R2	1420	123	24	Agosto	43		Não
0,8% SPE	R1	1441	97	33	Agosto	28		Não
0,8% SPE	R1	1405	126	21	Julho	23		Sim
0,8% SPE	R1	1408	110	21	Julho	24		Sim
1,6% SPE	R1	1321	113	31	Outubro	14		Sim
1,6% SPE	R1	1433	107	14	Julho		56	Sim
1,6% SPE	R1	1435	117	28	Agosto	44		Não
1,6% SPE	R1	1434	115	26	Julho	52		Sim
2,4% SPE	R1	1334	109	62	Novembro	13		Sim
2,4 % SPE	R2	1338	167	120	Janeiro	31		Não
2,4% SPE	R1	1439	68	12	Julho	15		Sim

¹Tratamentos: SM (suplemento mineral); 0,8% (cordeiros recebendo 0,8% do PC de SPE); 1,6 % SPE (cordeiros recebendo 1,6% do PC de SPE); 2,4% SPE (cordeiros recebendo 2,4% do PC de SPE);

² Idade (dias) no início dos sinais clínicos

³Início dos sinais clínicos após o início do período experimental (após o desmame)

Tabela 3. Frequência de intoxicação de cordeiros dos rebanhos R1 e R2 na fase de terminação submetidos a crescentes níveis de suplementação

Tratamentos	Rebanho ¹		P
	R1*	R2**	
	Casos Positivos (%)		
SM	50,0(2/4)a	14,3 (1/7)b	0,8204
0,8% SPE	60,0 (3/5)a	28,6 (2/7)b	0,8220
1,6% SPE	57,1 (4/7)a	0,0 (0/3)b	0,8450
2,4% SPE	40,0(2/5)a	14,3 (1/7)b	0,8320
Total	52,4 (11/21)	16,7 (4/24)	
P	0,0202	0,0222	

¹ Diferentes letras minúsculas na linha indicam diferenças significativas pelo teste de χ^2 ($P < 0,05$)

*Cordeiros do grupo R1 filhos de ovelhas SRD criadas em pastagens de *Brachiaria* spp. e de um reprodutor adaptado ao consumo da raça Ile de France

**Cordeiros do grupo R2 filhos de ovelhas naïve Santa Inês x Dorper e de um reprodutor adaptado ao consumo de *Brachiaria* spp. da raça White Dorper.

CAPÍTULO III

Eficácia de dois métodos de coleta para determinação das concentrações de protodioscina e monitoramento da intoxicação por *Brachiaria* spp.

Gleice Kelli Ayardes de Melo, Westerlly Jacobson da Silva, Rayane Chitolina Pupin, Rubiane Ferreira Heckler, Lucimara Modesto Nonato, Camila Celeste Brandão Ferreira Ítavo, Valquíria Barbosa Nantes Ferreira & Ricardo Antônio Amaral de Lemos.

(Artigo redigido nas normas da revista Toxicon)

Eficácia de dois métodos de coleta para determinação das concentrações de protodioscina e monitoramento da intoxicação por *Brachiaria* spp.

Gleice Kelli Ayardes de Melo^{a*}, Westerlly Jacobson da Silva^b, Rayane Chitolina Pupin^c, Rubiane Ferreira Heckler^a, Lucimara Modesto Nonato^c, Camila Celeste Brandão Ferreira Ítavo^c, Valquíria Barbosa Nantes Ferreira^d,
Ricardo Antônio Amaral de Lemos^{c*}

^aPrograma de pós graduação em Ciência Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Av. Senado Filinto Muller, 2443, Campo Grande, MS, 79070-900, Brazil.

^bAluno do curso de Zootecnia, UFMS, bolsista de iniciação científica CNPq – PIBIC 2016/17, FAMEZ, UFMS, Campo Grande, MS, Brazil

^cFAMEZ, UFMS, Campo Grande, MS, Brazil

^dUFMS, Aquidauana, MS, Brazil

Resumo: Objetivou-se avaliar métodos de coleta de *Brachiaria* spp (Pastejo Simulado vs Coleta Total) para determinação das concentrações de protodioscina e realizar o monitoramento da intoxicação em rebanhos sensíveis e resistentes à intoxicação. Foram realizadas coletas de *Brachiaria* spp. através de duas metodologias distintas. A primeira metodologia consistiu em fazer o lançamento de um quadrado metálico em 10 pontos aleatórios do piquete. A segunda metodologia foi realizada simulando com as mãos o pastejo do ovino, através do comportamento ingestivo dos ovinos. As lâminas foliares das duas metodologias foram acondicionadas em estufa de ventilação forçada. O material seco e moído foi encaminhado para extração e quantificação da protodioscina por cromatografia líquida de alta performance (HPLC) de fase reversa. As coletas foram realizadas em três fases de vida dos cordeiros (cria, recria e terminação). Os cordeiros foram divididos em resistente e sensíveis a intoxicação por *Brachiaria* spp. O critério para o animal ser considerado sensível foi apresentar algum sinal clínico em alguma fase de sua vida. Não foram observadas diferenças significativas entre as médias gerais das duas coletas quando a avaliação foi feita no período total. Porém, foi observada diferença significativa no período do aparecimento dos casos. As concentrações de protodioscina neste período foram superiores pelo método do pastejo simulado. Ambas as metodologias mostraram-se eficientes para determinação da concentração da protodioscina nas pastagens de *Brachiaria* spp. No entanto, nos períodos em que ocorreram os surtos, o método do pastejo simulado foi mais fidedigno.

Palavras-chave: fotossensibilização hepatógena, pastejo simulado, plantas tóxicas, pequenos ruminantes

*Autor para correspondência:

e-mail gleiceayardes@gmail.com (G.K.A. Melo); ricardo.lemos@ufms.br (R.A.A. Lemos)

1. Introdução

Gramíneas do gênero *Brachiaria*, são as principais forrageiras utilizadas nas regiões Centro-Oeste e Sudeste do Brasil (Porto et al., 2013), entretanto são potencialmente tóxicas e causam prejuízos econômicos aos rebanhos ovinos, devido à perdas produtivas e morte dos animais (Riet-Correa et al., 2011; Mustafa et al., 2012; Porto et al., 2013, Pupin et al., 2016).

Não existem metodologias bem definidas para colheita da forrageira quando se deseja dosar concentrações de protodioscina. São descritos relatos de coleta da protodioscina no momento do surto, com diferentes partes da planta (Brum et al., 2007). Em outro estudo as concentrações de protodioscina foram avaliadas em intervalos de 28 dias de acordo com o estágio de maturação da planta (Faccin et al., 2014). No entanto, as metodologias usadas não levaram em consideração o hábito ingestivo dos ovinos.

Sabendo-se que os ovinos consomem as folhas em preferência aos caules e folhas senescentes, ou seja, toda a parte aérea do dossel, e que a forragem selecionada possui características químicas e anatômicas distintas da forragem disponível no pasto (Goes et al., 2003; De Paula et al., 2009) o pastejo simulado é a metodologia mais representativa quando se deseja informações mais confiáveis quando se pretende medir o valor nutritivo (Weir and Torrel, 1959; Cook, 1964; Goes et al., 2003). Assim, essa metodologia poderia ser aplicada com vantagens sobre as anteriormente utilizadas para avaliação das concentrações de protodioscina.

Objetivou-se comparar duas metodologias de coleta de *Brachiaria* spp. (pastejo simulado vs coleta total) para determinação das concentrações de protodioscina e simultaneamente monitorar o curso clínico de ovinos sensíveis e resistentes à intoxicação por *Brachiaria* spp. em três fases da vida (cria, recria e terminação)

2. Material e métodos

O experimento foi realizado na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) (20°44'71.95'' S 54°72' 26.15'' O, 528m de altitude), localizada no município de Campo Grande, MS. Os dados meteorológicos foram obtidos junto ao Instituto Nacional de Meteorologia (INMET)/Centro de Monitoramento do Clima e dos Recursos Hídricos de Mato Grosso do Sul (Cemtec-MS)/Agência de Desenvolvimento Agrário e Extensão Rural (Agraer).

Foram realizadas coletas de *Brachiaria* spp. durante os meses de maio a dezembro de 2014 e janeiro a fevereiro de 2015 para determinação das concentrações de protodioscina. As coletas foram realizadas a cada 28 dias, por meio de dois métodos distintos. O primeiro (coleta total) consistiu em lançar um quadrado metálico de 0,25 m² (0,5 x 0,5m) em 10 pontos aleatórios e representativos do dossel forrageiro (Mc Meniman, 1997) com ovinos sob pastejo. Os cortes foram realizados rente ao solo, com o auxílio de uma tesoura metálica. Após o corte, de toda parte aérea, as amostras foram pesadas individualmente, em seguida o material foi homogeneizado e quarteado, a fim de se obter uma amostra representativa do piquete. Posteriormente foi realizada a separação morfológica dos componentes lâmina foliar, colmo+bainha e material senescente (lâminas foliares e colmos com

amarelecimento progressivo, escurecimento e desidratação visíveis, caracterizando a fase de senescência do perfilho).

A segunda metodologia foi realizada simulando manualmente o pastejo do ovino (pastejo simulado). Ao observar o comportamento ingestivo dos animais, foram determinados os hábitos alimentares, quanto à altura e às partes da planta consumidas, a fim de se obter amostras semelhantes às consumidas pelos ovinos. A apreensão do capim pelo animal foi simulada com as mãos, e o corte realizado com o auxílio de um canivete, sendo coletados 100 gramas de amostra (Cook, 1964-modificada).

As lâminas foliares das duas metodologias foram acondicionadas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas, trituradas em moinho tipo Willey, em peneiras com crivos de 1mm e analisadas para matéria seca (%MS). O material seco e moído foi encaminhado ao Laboratório de Química/UFMS para extração e quantificação da protodioscina por cromatografia líquida de alta performance (HPLC) de fase reversa, conforme descrito por Ganzera et al. (2001).

As coletas foram realizadas em pastagens com histórico de intoxicação por *Brachiaria* spp. em ovinos. Durante o período experimental, dois grupos foram observados simultaneamente quanto à intoxicação. O primeiro era denominado sensível, formado inicialmente por duas ovelhas e um carneiro. O segundo grupo era denominado resistente, formado inicialmente por três ovelhas e um carneiro. Ovinos considerados sensíveis foram aqueles que apresentaram sinal clínico da intoxicação por *Brachiaria* spp. em qualquer fase da vida. E, os resistentes foram aqueles que não apresentaram sinais clínicos decorrentes da intoxicação em todas as fases de suas vidas (Pupin et al., 2016).

A progênie desses dois grupos, 9 cordeiros sensíveis e 4 resistentes, foi colocada nos mesmos piquetes, onde simultaneamente foram realizadas as coletas. O período experimental foi dividido conforme a fase de vida dos cordeiros, descritas como cria, recria e terminação. Na fase de cria, ocorrida de maio a julho de 2014 os animais (cordeiro+matriz) permaneceram em pastejo contínuo em piquetes formados por *Brachiaria brizantha*. Em agosto de 2014, na recria, os cordeiros foram desmamados e transferidos para um piquete contendo *Brachiaria decumbens*, permanecendo em manejo de pastejo contínuo até novembro de 2014. A fase de terminação iniciou-se em dezembro de 2014, com a início dos ovinos na vida reprodutiva, e permanecendo sob o mesmo manejo de pastejo contínuo nas pastagens de *Brachiaria decumbens*. As manifestações clínicas e as coletas de forragem foram acompanhadas até fevereiro de 2015.

Os valores de protodioscina obtidos nas duas metodologias foram comparados pelo teste de Mann-Whitney a 5% de significância.

3. Resultados

A concentração de protodioscina (%MS) nas amostras colhidas através do método do pastejo seletivo variou de 0,42 a 1,81% ($1,020 \pm 0,448$). Nas amostras por coleta total a concentração variou de 0,24 a 1,22% ($0,773 \pm 0,328$). Não houve diferença significativa entre as médias gerais das duas coletas pelo teste de Mann-Whitney ($P > 0,05$) quando a avaliação foi feita para o período total. Porém, foi observada diferença significativa entre os meses de julho a novembro de 2014 pelo teste de Mann-Whitney ($P < 0,05$) (Tabela 1).

Foram observados casos de intoxicação nos cordeiros do rebanho sensível. Dos nove cordeiros monitorados, oito apresentaram sinais clínicos de intoxicação por *Brachiaria* spp. Após a reintrodução dos cordeiros nas pastagens foram detectadas recidivas clínicas e os cordeiros foram novamente internados (Tabela 1). Os quatro cordeiros do rebanho resistente foram monitorados diariamente durante as três fases do período experimental e nenhum deles apresentou sinal clínico de intoxicação.

No período de cria (maio a julho de 2014) não foram observados casos de intoxicação nos cordeiros em pastagens de *Brachiaria brizantha*. Na fase de recria (agosto a novembro de 2014) foram observadas manifestações clínicas em todos os meses, inclusive recidivas. Na fase de terminação (dezembro de 2014 a fevereiro de 2015) foi registrada apenas uma recidiva (Tabela 1).

Na fase de cria (maio a julho de 2014), quando nenhum cordeiro manifestou sinal clínico de intoxicação, as concentrações de protodioscina foram semelhantes entre os métodos de pastejo seletivo e coleta total. Da mesma forma, na fase de terminação quando foi registrada uma recidiva em fevereiro de 2015, as concentrações de protodioscina não diferiram entre as metodologias estudadas (Tabela 1)

No entanto, em julho de 2014 (mês antecedente ao surto) as concentrações de protodioscina do pastejo simulado foram significativamente superiores quando comparadas com as concentrações da coleta total. Assim como ocorreu nos meses de agosto a novembro de 2014 (meses correspondentes ao surto). Nesta ocasião, oito cordeiros foram internados com sinais de intoxicação. Além de serem observadas recidivas clínicas, ocorrendo mais 11 internações neste período (Tabela 1).

O dossel forrageiro apresentou diferentes características morfológicas que diferiram conforme a época do ano. As amostras do pastejo simulado foram representadas por lâminas foliares em crescimento, pertencentes ao estrato herbáceo superior do dossel, correspondentes às partes mais selecionadas pelos cordeiros durante o pastejo. As lâminas foliares da coleta total, após a separação morfológica, caracterizaram-se por lâminas foliares recém expandidas ou não, e em senescência.

Nos meses de maio, junho e julho de 2014 as precipitações pluviométricas foram de 118,00 54,20 e 119,20 mm, respectivamente. Em maio e junho, as concentrações de protodioscina do pastejo simulado e da coleta total foram semelhantes. Em julho ocorreu diferença significativa entre as

concentrações das duas metodologias de coleta. A concentração de protodioscina do pastejo simulado manteve-se constante entre junho e julho. No entanto, observou-se que pela metodologia da coleta total houve uma variação de 0,75% para 0,24%. (Figura 1).

Nos meses de agosto, setembro e outubro e novembro de 2014 as precipitações pluviométricas foram de 17,20, 65,80, 19, 00 e de 225 mm, respectivamente. Nesta fase, as concentrações de protodioscina do pastejo simulado foram significativamente superiores às concentrações de protodioscina da coleta total. Entre agosto e outubro de 2014 observou-se as maiores concentrações de protodioscina em ambas as metodologias de coleta. (Figura 1).

A partir de novembro de 2014, quando houve aumento da precipitação pluviométrica, observou-se queda das concentrações de protodioscina em ambas as metodologias de coleta. Em dezembro de 2014, janeiro e fevereiro de 2015, as precipitações pluviométricas foram de 364,00, 245,80 e 161,00 mm, respectivamente. Não houve diferença significativa entre as concentrações de protodioscina do pastejo simulado e da coleta total (Figura 1).

4. Discussão

Ao analisar todo o período experimental, não houve diferença significativa entre os valores de protodioscina nas duas metodologias de coleta, demonstrando que ambos os métodos são eficazes para determinação das concentrações de protodioscina em pastagens de *Brachiaria* spp. No entanto, de julho a novembro de 2014, as concentrações de protodioscina pelo método do pastejo simulado foram superiores às concentrações da coleta total. Em julho, mês antecedente ao surto, os cordeiros ainda estavam em aleitamento e alocados em pastagens de *Brachiaria brizantha*. A concentração da protodioscina pelo método da coleta total foi de 0,24%, enquanto que pela metodologia pastejo simulado foi de 0,68%. Em estudos anteriores foram relatados surtos de intoxicação por *Brachiaria brizantha* em cordeiros desmamados, e observou-se concentrações de protodioscina que variaram de 0,88% a 0,92% (Albernaz et al., 2010).

Em agosto de 2014 os cordeiros foram desmamados e transferidos para pastagens de *Brachiaria decumbens*. De agosto a novembro de 2014 foram observadas as maiores concentrações de protodioscina. Na coleta total, as concentrações variaram de 0,67% a 1,14%, enquanto que no pastejo simulado as concentrações de protodioscina variaram de 1,15% a 1,81%. Simultaneamente, nesta fase ocorreu o surto de intoxicação, com oito internações e 11 recidivas clínicas. Em estudos anteriores foram descritos surtos em cordeiros com menos de um ano de idade, mantidos em pastagens mistas de *Brachiaria* ou em pastagens compostas exclusivamente por *B. decumbens*, como concentrações de protodioscina variaram de 0,30% a 2,56% (Mustafa et al., 2012; Porto et al., 2013). Embora as concentrações de protodioscina do presente estudo, de ambas as metodologias apresentadas, estejam dentro das concentrações relatadas em trabalhos anteriores, que também

descrevem surtos em ovinos da mesma categoria, não é possível fazer uma comparação adequada, especialmente se for considerado as distintas formas da coleta e os diferentes intervalos entre essas coletas. Nos exemplos citados anteriormente, as amostras colhidas do dossel forrageiro consideraram toda a parte aérea da planta (lâmina foliar, colmo+bainha e material senescente) em intervalos que variaram de sete a 15 dias (Mustafa et al., 2012; Porto et al., 2013). Além de ser descrita uma coleta realizada após o acontecimento dos surtos e com a retirada dos animais do plantel forrageiro (Mustafa et al., 2012).

Apesar de haver inúmeras informações a respeito das concentrações de protodioscina e também sobre as diferentes formas de coleta, até o momento não haviam estudos comparando diferentes métodos de coleta da *Brachiaria* spp. para análise da protodioscina, e simultaneamente relacionando essas concentrações com as manifestações clínicas da doença. Igualmente não são considerados nos trabalhos anteriores, o hábito alimentar dos ovinos, que são mais selecionadores quando comparado com os bovinos, pois preferem consumir lâminas foliares em crescimento (De Paula et al., 2009).

Durante o período do surto (agosto a novembro de 2014) as amostras de lâminas foliares da coleta total eram formadas por lâminas foliares expandidas ou em estado de senescência. Por outro lado, as amostras do pastejo simulado eram compostas por lâminas foliares em crescimento ou lâminas foliares recém expandidas, pertencendo ao estrato superior do dossel, correspondendo às partes mais selecionadas pelos cordeiros. A partir destes resultados é possível demonstrar que as concentrações de protodioscina nas lâminas foliares em crescimento, que são mais selecionadas pelos ovinos, são significativamente maiores do que as concentrações pertencentes a outras partes menos consumidas. Desta forma, pode-se afirmar que a metodologia do pastejo simulado permite uma estimativa mais próxima das concentrações de protodioscina responsáveis pela ocorrência dos casos clínicos de intoxicação. Ou seja, a ocorrência de casos clínicos e de recidivas concomitantemente com as maiores concentrações de protodioscina nas lâminas foliares em crescimento está relacionada com comportamento ingestivo dos cordeiros (De Paula et al., 2009; Faccin et al., 2014).

As amostras de ambas as metodologias apresentaram diferenças e semelhanças entre si, que variaram de acordo com o período do ano. Da mesma forma, as concentrações de protodioscina variaram conforme as estações do ano. As maiores concentrações de ambas as metodologias foram observadas no período das secas (julho a novembro de 2014), nas estações outono-inverno, fase em que há menor precipitação pluviométrica. Devido à estas características de julho a novembro de 2014, o pasto diminuiu a produção de lâminas foliares novas e ocorre aumento de sua fração fibrosa. Nas amostras da coleta total há predomínio de material senescente e se diferencia do material do pastejo seletivo (lâminas foliares em crescimento ou expandidas. Neste período, a umidade das plantas diminui e o teor de MS aumenta, e consequentemente as concentrações de protodioscina se elevam

nas lâminas foliares em expansão do pastejo seletivo. Como as amostras da coleta total contendo em sua totalidade mais colmos e folhas senescentes a concentração do princípio tóxico diminuiu. A partir de novembro de 2014, houve aumento das lâminas foliares em crescimento nas amostras da coleta total, pois houve aumento da precipitação pluviométrica.

Nos meses de dezembro de 2014 a fevereiro de 2015 houve aumento da precipitação pluviométrica e observou-se na coleta total maior produção de massa de forragem e maior predomínio de lâminas foliares em crescimento, amostra semelhante ao que os ovinos selecionavam no pastejo seletivo e dessa forma, os valores de protodioscina se aproximaram porque em ambas as amostragens predominavam a presença da mesma fração que foi correspondente a lâminas foliares novas ainda não expandidas. Como estas lâminas foliares possuem elevado teor de umidade, as concentrações de protodioscina expressa em base de matéria seca (MS) diminuem porque a fração fibrosa na qual se associa o princípio tóxico é menor.

Apesar das maiores concentrações do princípio tóxico nas coletas do pastejo simulado coincidirem com o período de aparecimento dos casos clínicos não é possível determinar a concentração tóxica da protodioscina para cordeiros devido à diferentes graus de intoxicação observada nos ovinos. Ressalta-se que no presente estudo, os casos ocorreram apenas em cordeiros provenientes de um rebanho sensível, filhos de pais e mães que apresentam sinais clínicos da intoxicação, conforme citado por Pupin et al. 2016. A existência de graus variados de sensibilidade estão relacionados a fatores genéticos e adaptação desses animais ao consumo da *Brachiaria* spp. (Faccin et al., 2014, Castro et al., 2018; de Melo et al., 2018).

Ambas as metodologias mostraram-se eficazes para determinação da concentração da protodioscina nas pastagens. No entanto, em períodos de surtos em ovinos, o pastejo simulado mostrou-se mais eficiente, pois retrata de maneira mais fidedigna a quantidade efetivamente ingerida da protodioscina pelos cordeiros.

REFERÊNCIAS

- ALBERNAZ, T.T., SILVEIRA, J.A.S., SILVA, N.S., OLIVEIRA, C.H.S., REIS, A.S.B., OLIVEIRA, C.M.C., DUARTE, M.D., BARBOSA, J.D. 2010. Fotossensibilização em ovinos associada à ingestão de *Brachiaria brizantha* no estado do Pará. *Pesq. Vet. Bras.* 30 (9) 741-748.
- BRUM, K., HARAGUCHI, M., LEMOS, R.A.A., RIET-CORREA, F., FIORAVANTI, M. C. 2007. Crystal-associated cholangiopathy in sheep grazing *Brachiaria decumbens* containing the saponin protodioscin. *Pesq. Vet. Bras.* 27 (1) 39-42.
- CASTRO, M.B., GRACINDO, C.V., LANDI, M.F.A., CABRAL FILHO, S.L.S., RESENDE FILHO, N. J., LIMA, E.M.M., RIET-CORREA, F. 2018. Sheep adaptation management, and

- investigation of inherited resistance to prevent *Brachiaria* spp. poisoning. Small Rumin. Res. 158: 42-47.
- COOK, C.W. 1964. Symposium on nutrition of forages and pastures: Collecting Forage samples representative of ingested material of grazing animals for nutrition studies. J. Anim. Sci. 23, 265-270.
- DE MELO, G.K.A, ÍTAVO, C.C.B.F., SILVA, J.A., MONTEIRO, K.L.S., FACCIN, T.C., PUPIN, R.C., HECKLER, R.F., ÍTAVO, L.C.V., SILVA, P.C.G., LEAL, P.V., LEMOS, R.A.A. 2018. Poisoning by *Brachiaria* spp. in suckling lambs supplemented and unsupplemented in a creep-feeding system. Small Rumin, Res. 158: 30-34.
- DE PAULA, E.F.E., STUPAK, E.C., ZANATTA, C.P., PONCHEKI, J.K., LEAL, P.C., MONTEIRO, A.L.G. 2009. Comportamento ingestivo de ovinos em pastagens: uma revisão. R. Trop. Ci. Agr. Biol. 4 (1) 42-51.
- FACCIN, T.C., RIET-CORREA, F., RODRIGUES, F.S., SANTOS, A.C., MELO, G.K.A., SILVA, J.A., FERREIRA, R., ÍTAVO, C.C.B.F., LEMOS, R.A.A. 2014. Poisoning by *Brachiaria brizantha* in flocks of naïve and experience sheep. Toxicon. 82, 1-8.
- GANZERA, M., BEDIR, E., KHAN, I.A. 2001. Determination of steroidal saponins in *Tribulus terrestris* by reversed phase high-performance liquid chromatography and evaporative light scattering detection. J. Pharm. Sci. 11 (90) 1752-1758.
- GOES, R.H.T.B., MANCIO, A.B., LANA, R.P., VALADARES FILHO, S.C., CECON, P.R., QUEIROZ, A.C., COSTA, R.M. 2003. Avaliação qualitativa da pastagem de capim Tanner-Grass (*Brachiaria arrecta*) por três diferentes métodos de amostragem. Rev. Bras. Zootec. 32 (1) 64-69.
- MC.MENNIMAN, N.P. 1997. Methods of estimating intake of grazing animals. Reunião anual da SBZ. 34, p.133-168.
- MUSTAFA, V., MOSCARDINI, A.R.C., BORGES, J.R.J., RECKZIEGEL, G.C., RIET-CORREA, F., CASTRO, M.B. 2012. Intoxicação natural por *Brachiaria* spp. em ovinos no Brasil Central. Pes. Vet. Bras. 32(12) 1272-1280.
- PORTO, M.R., SATURNINO, K.C., LIMA, E.M.M., LEE, S.T., LEMOS, R.A.A, MARCOLONGO-PEREIRA, C., RIET-CORREA, F., CASTRO, M.B. 2013. Avaliação da exposição solar na intoxicação experimental por *Brachiaria decumbens* em ovinos. Pes.Vet. Bras. 33 (8) 1009-1015.
- PUPIN, R.C., MELO, G.K.A., HECKLER, R.F., FACCIN, T.C., ÍTAVO, C.C.B.F., FERNANDES, C.E., GOMES, D.C., LEMOS, R.A.A. 2016. Identification of lamb flocks susceptible and resistant against *Brachiaria* poisoning. Pes.Vet. Bras. 36 (5) 383-388.

- RIET-CORREA, B., CASTRO, M.B., LEMOS, R.A.A., RIET-CORREA, G., MUSTAFA, V., RIET-CORREA, F. 2011. *Brachiaria* spp. poisoning of ruminants in Brazil. *Pes. Vet. Bras.* 31(3) 183-192.
- WEIR, W.C., TORELL, D.T. 1959. Selective grazing by sheep as shown by a comparison of the chemical composition of range and pasture forage obtained by hand clipping and that collected by esophageal-fistulated sheep. *J. An. Sci.* 18, 641-649.

Tabela 1. Concentrações de protodioscina (%) pelas metodologias pastejo simulado e coleta total em pastagens de *Brachiaria* spp.

Fases	Mês da coleta	Número de internações		Metodologia	
		Casos novos (n = 8)	Recidivas (n=12)	Pastejo seletivo	Coleta total
				Protodioscina (%)	
Cria	Maio/2014			0,42	0,24
	Junho/2014			0,69	0,75
	#Julho/2014			0,68	0,24
Recria	#Agosto/2014	5		1,61	1,14
	#Setembro/2014	2	4	1,81	0,94
	#Outubro/2014	1	1	1,27	0,89
	#Novembro/2014		6	1,15	0,67
Terminação	Dezembro/2014			0,79	0,90
	Janeiro/2015			0,68	0,74
	Fevereiro/2015		1	1,10	1,22
	Média			1,020	0,7773
	DP			0,448	0,328

*Teste: PS=TOTAL vs PS≠TOTAL é significativo em 0,3447; Teste não significativo pelo teste de Mann-Whitney (P>0,05).

#Teste: PS=TOTAL vs PS≠TOTAL é significativo em 0,0002; Teste significativo pelo teste de Mann-Whitney (P<0,05).

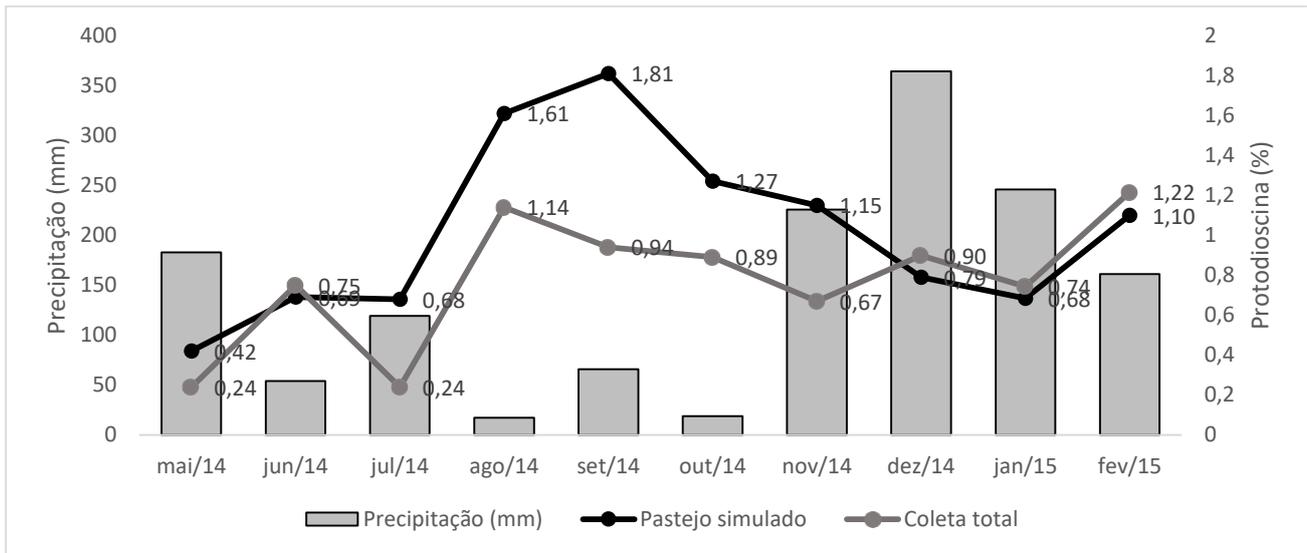


Figura 1. Determinação das concentrações de protodioscina (%MS) em pastagens de *Brachiaria* spp. de maio de 2014 a fevereiro de 2015 em amostras obtidas por pastejo simulado e coleta total.