Eventos Técnicos & Científicos

e-ISSN 2966-0858

Abril, 2025

OBJETIVOS DE
DESENVOLVIMENTO
SUSTENTÁVEL

Anais

XXX Workshop de Iniciação Científica da Embrapa Gado de Leite

06 de novembro de 2024
Juiz de Fora, MG

Embrapa

Gado de Leite

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Gado de Leite
Ministério da Agricultura e Pecuária*

e-ISSN 2966-0858

Eventos Técnicos & Científicos

4

Abril, 2025

Anais

XXX Workshop de Iniciação Científica da Embrapa Gado de Leite PIBIC/Fapemig

06 de novembro de 2024
Juiz de Fora, MG

Embrapa Gado de Leite

Rua Eugênio do Nascimento, 610 - Bairro Dom Bosco
36038-330 Juiz de Fora, MG
Fone: (32) 3311-7405
<https://www.embrapa.br/gado-de-leite>
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações

Presidente

Jorge Fernando Pereira

Secretário-executivo

Carlos Renato Tavares de Castro

Membros

*Cláudio Antônio Versiani Paiva**Deise Ferreira Xavier**Edna Froeder Arcuri**Fausto de Souza Sobrinho**Fernando César Ferraz Lopes**Francisco José da Silva Ledo**Frank Ângelo Tomita Bruneli**Heloisa Carneiro**Jackson Silva e Oliveira**Juarez Campolina Machado**Leovegildo Lopes de Matos**Luiz Ricardo da Costa**Márcia Cristina de Azevedo Prata**Marta Fonseca Martins**Pérsio Sandir D'Oliveira**Rui da Silva Verneque**Virgínia de Souza Columbiano**William Fernandes Bernardo*

Edição executiva

Leônidas Paixão Passos, Carlos Renato Tavares de Castro, Rosângela Lacerda de Castro

Revisão de texto

Carlos Renato Tavares de Castro

Normalização bibliográfica

Rosângela Lacerda de Castro

Tratamento das ilustrações

Luiz Ricardo da Costa

Diagramação

Luiz Ricardo da Costa

Projeto gráfico

Luiz Ricardo da Costa

Publicação digital: PDF

Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Gado de Leite

Workshop de Iniciação Científica da Embrapa Gado de Leite - PIBIC/Fapemig (30. : 2024 : Juiz de Fora, MG).

Anais do XXX Workshop de Iniciação Científica da Embrapa Gado de Leite - PIBIC/Fapemig 2024, Juiz de Fora, 06 de novembro de 2024. — Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2025.

PDF (67 p.) : il. color. - (Eventos Técnicos & Científicos / Embrapa Gado de Leite, e-ISSN 2966-0858 ; 4).

1. Iniciação científica. 2. Pesquisa científica. 3. Comunicação científica. 4. Evento. I. Passos, Leônidas Paixão. II. Título. II. Série.

CDD (21. ed.) 636.2082

Comissão Organizadora

Coordenação

Leônidas Paixão Passos
Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG

Membros

Carla Christine Lange
Carlos Renato Tavares de Castro
Cristiano Amancio Vieira Borges
Clara Slade Oliveira
Jorge Fernando Pereira
Kenny Beatriz Siqueira
Leticia Caldas Mendonça
Nuriane Santos Montezano
Warley Stefany Nunes
Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG

Mariana Paes da Fonseca
Júlio César José da Silva
Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG

Equipe de apoio

Alessandra Rocha Martins
Dulcinéa Aparecida Machado
Leonardo Mariano Gravina Fonseca
Pricila Estevão
Rubens Antônio Neiva
William Fernandes Bernardo
Yasmin Schaefer de Oliveira (menor aprendiz)
Tamyres Helena de Oliveira (menor aprendiz)
Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG

Comitê técnico-científico

Leônidas Paixão Passos - Editor científico
Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG

Avaliadores internos

Edna Froeder Arcuri
José Luiz Bellini Leite
Wadson Sebastião Duarte Rocha
Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG

Avaliador externo

Mariana Paes da Fonseca
Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG

Apresentação

O Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (Pibic), destina-se ao desenvolvimento do pensamento científico e iniciação à pesquisa de estudantes de graduação do ensino superior, contribuindo assim para a formação científica no âmbito das diferentes atividades profissionais.

A Embrapa Gado de Leite, tem participado de forma ativa e tradicional na realização do PIBIC, em observância aos fundamentos estabelecidos pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig), congregando os bolsistas, pesquisadores e demais convidados em workshops anuais, permitindo avaliar o estado da arte do programa e realizar discussões objetivas para o delineamento de ações futuras rumo ao avanço da iniciação científica.

O presente documento reúne os trabalhos apresentados no XXX Workshop de Iniciação Científica da Embrapa Gado de Leite, realizado em 6 de novembro de 2024. Foram apresentados 13 trabalhos, incluindo duas apresentações de estagiários de iniciação científica de outros programas conduzidos pela Unidade e uma apresentação, a convite, de bolsista Fapemig em treinamento de pós-doutorado. Estiveram reunidos 62 participantes, representando oito instituições. Estes números reforçam sucesso do PIBIC Fapemig na Embrapa Gado de Leite ao longo dos anos. O elevado nível das apresentações e das discussões também atesta o ganho qualitativo do programa.

Expressamos nossos agradecimentos à Fapemig pela oportunidade em podermos contribuir para o desenvolvimento de futuras gerações de profissionais em pesquisa e desenvolvimento para o progresso do agronegócio do leite.

Manifestamos também nossos agradecimentos à Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF) por sua atuação nas comissões de organização e de avaliação do evento.

Denis Teixeira da Rocha

Chefe-Geral da Embrapa Gado de Leite

Sumário

Segundo ciclo de seleção do capim setária para tolerância conjunta à seca e ao encharcamento	8
Resposta do capim setária a doses crescentes de níquel	12
Equilíbrio nutricional de cálcio e magnésio em capim-elefante cultivado <i>in vitro</i>	17
Potencial de produção de biogás e biometano a partir da biomassa energética de genótipos de capim-elefante	21
Efeito do armazenamento sobre o poder germinativo de sementes de genótipos de capim setária (<i>Setaria sphacelata</i>)	27
Avaliação de genótipos de capim-elefante sob pastejo	32
Análise da avidéz de anticorpos contra SARS-CoV-2 em soro e colostro hiperimune	37
Sobrevivência <i>in vitro</i> de nematoides entomopatogênicos em formulação associada a extrato glicólico de eucalipto para uso no controle biológico do carrapato bovino	41
Síntese e estabilização de nanopartículas de ouro associadas a um peptídeo e preparadas pela β -glucana como agente redutor	47
Série temporal de dados NDVI/MODIS para monitoramento da vegetação por sensoriamento remoto	51
Papel do ácido trans-vacênico e do ácido linoleico conjugado na maturação <i>in vitro</i> e seus impactos no desenvolvimento e qualidade de embriões bovinos <i>in vitro</i>	56
Produção de biomassa de genótipos de capim-elefante em diferentes frequências de corte	60
A renda é um determinante no consumo de leite no mundo?	63

Segundo ciclo de seleção do capim setária para tolerância conjunta à seca e ao encharcamento

Yara Beatriz Moreira⁽¹⁾, Laura Penido Mazzoco⁽²⁾, Julieta de Jesus da Silveira Castor⁽³⁾, Antônio Vander Pereira⁽⁴⁾, Juarez Campolina Machado⁽⁴⁾ e Leônidas Paixão Passos⁽⁴⁾

⁽¹⁾Bolsista (Pibic/Fapemig), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Estagiária, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽³⁾ Analista, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, ⁽⁴⁾Pesquisador, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, e-mail: yarabeatriz.engenharia@gmail.com.

Resumo — O presente trabalho relata a etapa inicial do segundo ciclo de seleção do capim setária para tolerância conjunta à seca e ao encharcamento, em uma população segregante, a partir da imposição de ambos os estresses em dois conjuntos distintos de plantas. Após 140 dias de estresse contínuo em condições ambientais controladas, as plantas receberam uma poda de padronização e o material colhido foi avaliado quanto aos pesos fresco e seco, e aos teores de clorofila (SPAD). Os resultados confirmaram a boa adaptabilidade da espécie a ambos os tipos de estresses e a presença de variabilidade entre genótipos da população. A tolerância ao encharcamento teve maior destaque, permitindo a seleção de um número maior de indivíduos. As plantas selecionadas serão submetidas à segunda fase desse ciclo de seleção, na qual os desafios serão invertidos, ou seja, as plantas que foram selecionadas sob encharcamento receberão tratamento de seca, e as plantas que estiveram sob seleção para tolerância à seca receberão desafio de encharcamento.

Termos para indexação: *Setaria sphacelata*, melhoramento genético, estresse abiótico.

Second Selection cycle of setaria grass for achieving joint tolerance to drought and waterlogging

Abstract — This study reports the initial stage of the 2nd cycle of selection of setaria grass for joint tolerance to drought and waterlogging in a segregating population, based on the imposition of both stresses on two distinct sets of plants. After 140 days of continuous stress under controlled environmental conditions, the plants received a standardization pruning, and the harvested material was evaluated for fresh and dry weights, and SPAD chlorophyll content. The results confirm the good adaptability of the species to both types of stresses and the presence of variability among genotypes in the population. Waterlogging tolerance was more prominent, allowing the selection of a larger number of individuals. The selected plants will be submitted to the second phase of this selection cycle, in which the challenges will be reversed, that is, the plants that were selected under waterlogging will receive a drought treatment, and the plants that were selected for drought tolerance will receive a waterlogging challenge.

Index terms: *Setaria sphacelata*, abiotic stress, genetic improvement.

Introdução

O capim setária é cultivado em diversos países, por suas várias características forrageiras, apresentando alto potencial de produção de matéria seca de boa qualidade e grande capacidade de adaptação a diferentes estresses ambientais, como períodos de seca, encharcamento dos solos e baixas temperaturas (Pereira; Pereira, 2019).

Esta forrageira apresenta ampla variabilidade genética no germoplasma para adaptação ambiental, possibilitando a seleção de populações com tolerância ao encharcamento e de

populações com tolerância à seca, além disso, segundo Moreira et al. (2024a), apresenta tolerância mais manifesta ao desafio por encharcamento.

Este trabalho relata o segundo ciclo do processo seletivo, o qual foi conduzido na população selecionada no primeiro ciclo do processo (Moreira et al., 2023, 2024a, 2024b). A estratégia foi submeter um conjunto de plantas ao desafio por seca e realizar a seleção fenotípica, seguido de um desafio por encharcamento, para a seleção final, e submeter outro conjunto de plantas ao mesmo processo, porém em sequência invertida da imposição das duas modalidades de estresse visando atingir a uniformização e o equilíbrio gênico. O estudo também descreve os indicadores fisiológicos usados para monitorar o potencial de crescimento das plantas selecionadas.

As recomendações do presente trabalho contribuem para o alcance dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) de números 2 e 8 (Fome Zero e Agricultura Sustentável; e Trabalho Decente e Crescimento Econômico), contidos na Agenda 2030, proposta pela Organização das Nações Unidas, com foco nas metas 2.3 (Produtividade de pequenos produtores) e 8.2 (Produtividade – Diversificação, modernização tecnológica e inovação), uma vez que objetiva disponibilizar, sem oneração por insumos adicionais, uma população de importante gramínea forrageira com adaptabilidade aos regimes extremos de seca e de inundações que têm ocorrido com as recentes mudanças climáticas.

Material e métodos

Sementes da população de capim setária, selecionadas no primeiro ciclo do processo de melhoramento genético para tolerância conjunta à seca e ao encharcamento, foram equitativamente separadas em dois conjuntos e germinadas em vermiculita. As plantas resultantes foram cultivadas em vermiculita por 28 dias, com suprimento pleno de solução nutritiva de Hoagland em ½ força.

Posteriormente, um conjunto foi exposto ao estresse por encharcamento (cultivo em vermiculita, com inundação permanente de solução nutritiva até a altura de 1 cm acima da superfície do substrato) e outro ao estresse por seca (cultivo em vermiculita, com déficit hídrico induzido por adição de adição de 145 g.L⁻¹ de PEG 6000 à solução nutritiva). A testemunha consistiu de plantas, selecionadas no primeiro ciclo do processo de melhoramento genético, cultivadas em vermiculita com suprimento de solução nutritiva, sem imposição de qualquer estresse.

Depois de um período de 140 dias de crescimento contínuo selecionaram-se as plantas com maior crescimento vegetativo de cada parcela experimental com base em critérios visuais e fisiológicos, que foram avaliadas e colhidas para posterior processamento. As análises incluíram peso fresco e seco, teor de clorofila.

O experimento foi conduzido em câmara ambiental Biotronette Mark III (LAB-LINE Instruments, TX, EUA), regulada para 26 °C, 60% U.R., 16h de fotoperíodo e 200 mol s⁻¹ m² de radiação fotossinteticamente ativa (PAR), a qual foi medida com sensor quântico LI-190SA e medidor quântico LI-189 (LI-COR Biosciences, St Louis, MO, EUA).

A solução nutritiva (Passos, 1996) consistiu de 1,5 mM Ca(NO₃)₂, 1 mM K₂HPO₄, 1 mM KH₂PO₄, 1 mM MgSO₄, 0,5 mM NH₄NO₃, e micronutrientes (0,32 μM CuSO₄, 60,65 μM H₃BO₃, 0,52 μM MoO₃, 11,37 μM MnCl₂, e 1,15 μM ZnSO₄.7H₂O). FeEDTA foi adicionado em quantidade suficiente para liberar 89,5 mM Fe. A solução foi trocada periodicamente e o pH ajustado sempre que necessário usando-se medidor Metrohm, modelo 827 (Metrohm, Herisau, Suíça).

A abordagem seguiu o delineamento inteiramente ao acaso, considerando três tratamentos e seis repetições.

Resultados e discussão

Os resultados encontram-se sumariados na Tabela 1. Verifica-se que no tratamento encharcamento obteve-se o maior peso seco e peso fresco e o número de plantas também foi maior do que no tratamento submetido à seca.

Tabela 1. Indicadores fisiológicos e nutricionais do capim-setária em população selecionada para tolerância à seca e ao encharcamento em população recombinante não submetida a estresse.

Tratamento	Soma do peso fresco (g)	Soma do peso seco (g)	Clorofila (SPAD)	Média da altura (cm)	Número de plantas
Seca	1,77	1,09	12,51	53,33	52
Encharcamento	3,39	1,16	21,65	40,54	99
Testemunha	0,41	0,20	5,91	22,71	18

Na Figura 1 observa-se à direita a morte de folhas jovens e na Figura 2 observa-se o capim setária após o corte de uniformização.

Fotos: Yara Beatriz Moreira

Figura 1. Aspecto visual do capim setária submetido ao tratamento encharcamento, testemunha e seca respectivamente.

Foto: Yara Beatriz Moreira

Figura 2. Capim setária após colheita da primeira rodada do segundo Ciclo.

Conclusões

Neste segundo ciclo, assim como no primeiro ciclo de seleção, o capim setária apresentou plasticidade fisiológica e ultra estrutural para rápida adaptação tanto à seca quanto ao encharcamento, em resposta à inversão desses desafios. Comparativamente, o capim setária se desenvolve com maior destaque quando submetido ao encharcamento, em comparação ao desafio por seca, propiciando a seleção de um número maior de indivíduos.

As plantas selecionadas serão submetidas à segunda fase desse ciclo de seleção, na qual os desafios serão invertidos, ou seja, as plantas que estiveram sob encharcamento receberão tratamento de seca, e aquelas que estiveram sob déficit hídrico receberão tratamento de encharcamento.

Agradecimentos

À Fapemig (RED-00056-23 e APQ-03630-23) e aos funcionários Sebastião Evaristo e Mario Baesso pelo apoio durante o período de estudos e treinamento.

Referências

- MOREIRA, Y. B.; CASTOR, J. de J. da S.; PEREIRA, A. V.; PASSOS, L. P. Determinação da área foliar do capim setária e sua relação com a absorção de nitrogênio em condições de seca e encharcamento. In: CONGRESSO ONLINE NACIONAL DE QUÍMICA, 5., 2023. **Anais...** São Paulo: [Sociedade Brasileira de Química], 2023. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1156148/1/Determinacao-da-area-foliar-do-capim-setaria-e-sua-relacao-com-a-absorcao-de-nitrogenio.pdf>. Acesso em: 22 set. 2024.
- MOREIRA, Y. B.; CASTOR, J. de J. da S.; PEREIRA, A. V.; MACHADO, J. C.; BORGES, C. A. V.; PASSOS, L. P. Aplicativos e programas de processamento de imagem como ferramentas para a determinação da área foliar em capim setária. In: WORKSHOP DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA GADO DE LEITE, 27., 2023, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2024a. p. 22-41. (Embrapa Gado de Leite. Eventos Técnicos & Científicos, 2). Pibic/CNPq. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1163585/1/Aplicativos-e-programas-de-processamento-de-imagem.pdf>. Acesso em: 22 set. 2024.
- MOREIRA, Y. B.; CASTOR, J. de J. da S.; PEREIRA, A. V.; MACHADO, J. C.; PASSOS, L. P. Melhoria do capim setária para tolerância conjunta ao encharcamento e à seca: caracterização das populações selecionadas em 1o ciclo. In: WORKSHOP DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA GADO DE LEITE, 28., 2023, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2024b. p. 46-51. (Embrapa Gado de Leite. Eventos Técnicos & Científicos, 1). Pibic/Fapemig. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1163628/1/Melhoramento-do-capim-setaria.pdf>. Acesso em: 22 set. 2024
- PASSOS, L. P. Solução nutritiva de Hoagland. In: PASSOS, L. P. **Métodos analíticos e laboratoriais em fisiologia vegetal**. Coronel Pacheco: Embrapa Gado de Leite, 1996. p. 101-105.
- PEREIRA, L. M.; PEREIRA, A. V. Germinação de sementes de genótipos de *Setaria sphacelata*. In: WORKSHOP DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA GADO DE LEITE, 24., 2019, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2019. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1112052/1/07Germinacaodesementesdegenotipos.pdf>. Acesso em: 22 set. 2024.

Resposta do capim setária a doses crescentes de níquel

Laura Penido Mazzoco⁽¹⁾, Yara Beatriz Moreira⁽²⁾, Julieta de Jesus da Silveira Castor⁽³⁾, Antonio Vander Pereira⁽⁴⁾, Juarez Campolina Machado⁽⁴⁾ e Leônidas Paixão Passos⁽⁴⁾

⁽¹⁾Estagiária, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Bolsista (Pibic/Fapemig), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽³⁾Analista, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, ⁽⁴⁾Pesquisador, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. e-mail: laurapmazzoco@hotmail.com

Resumo- O níquel é um micronutriente essencial para as plantas superiores, favorecendo o crescimento e processos fisiológicos, tais como a assimilação de nitrogênio, atividades enzimáticas e relações hídricas, além de agir no controle de doenças limitantes à produção. Visto que a maioria dos estudos tem abordado sua toxicidade, existem poucos relatos referentes à sua essencialidade, e, nesse contexto, seus efeitos sobre gramíneas forrageiras tropicais ainda não foram investigados. Assim, o objetivo do presente estudo foi verificar a resposta do capim setária a doses crescentes de níquel adicionado à solução nutritiva (respectivamente, 0, 5, 10 e 15 mg NiSO₄/L). Após quatro meses de cultivo em ambiente controlado, não foram detectados efeitos sobre os pesos fresco e seco da parte aérea, teor foliar de clorofila e número de plantas. Considerando que a espécie é perene, novas abordagens são necessárias para a obtenção de resultados mais conclusivos, tais como retardamento da aplicação de níquel após a germinação, redução do número de plantas por parcela experimental, aumento da duração do experimento, possibilitando mais de uma colheita, e avaliação da composição mineralógica dos tecidos vegetais e do substrato de crescimento.

Termos para indexação: *Setaria sphacelata*, essencialidade, indicadores fisiológicos, nutrição mineral.

Response of setaria grass to increasing doses of nickel

Abstract- Nickel is an essential micronutrient for higher plants, favoring growth and physiological processes, such as nitrogen assimilation, enzymatic activities and water relations, in addition to acting in the control of diseases that limit production. Since most studies have addressed its toxicity, there are few reports regarding its essentiality, and, in this context, its effects on tropical forage grasses remain to be investigated. Thus, the objective of the present study was to verify the response of setaria grass to increasing doses of nickel added to the nutrient solution (respectively, 0, 5, 10 and 15 mg NiSO₄/L). After a four-month-long growing period under controlled environment, no effects were detected on fresh and dry weights of the aerial part, leaf chlorophyll content and number of plants. Considering that the species is perennial, new approaches are necessary to obtain more conclusive results, such as delaying the application of nickel after germination, reducing the number of plants per experimental plot, increasing the duration of the experiment allowing more than one harvest, and evaluating the mineralogical composition of the plant tissues and growth substrate.

Index terms: *Setaria sphacelata*, essentiality, mineral nutrition, physiological indicators.

Introdução

O níquel (Ni) é reconhecido como micronutriente essencial para as plantas superiores (Brown et al., 1987), contudo sendo requerido em concentrações infinitesimais. Sua ocorrência em níveis elevados não é incomum, causando toxidez na fauna e na flora, motivando numerosos estudos de biorremediação (Begum et al., 2022). Várias espécies de uso agrônomico apresentam respostas positivas à fertilização com Ni, e sintomas de sua deficiência são raramente relatados (López; Magnitskiy, 2011). Além disso, de acordo com Wood e Reilly (2007), a melhoria na nutrição com Ni é um meio de proteger vários cultivos de determinadas doenças que limitam a produção. Nesse particular, o Ni tem sido utilizado em nanopartículas para o controle do cretamento e estria bacterianos da folha em arroz (Abdallah et al., 2023).

O Ni tem grande importância no crescimento vegetal, fazendo parte do metabolismo do nitrogênio e, dependendo de sua concentração e de condições ambientais, favorecendo outros processos, tais como atividade enzimática, respiração e balanço hídrico (Kamboj et al., 2018; Kastori et al., 2022). Há dados muito limitados sobre a absorção de Ni em plantas cultivadas, pois a maioria dos estudos tem sido conduzida focando o problema de sua toxicidade em vez de sua deficiência. As gramíneas forrageiras tropicais, dentre elas o capim setária, ainda não foram estudadas quanto à sua resposta ao Ni, e o preenchimento dessa lacuna pode impactar positivamente seu manejo e produtividade.

O objetivo deste estudo foi avaliar a resposta do capim setária cultivado em vermiculita a doses crescentes de Ni na solução nutritiva.

As recomendações deste trabalho contribuem para o alcance dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) de números 2 e 8 (Fome Zero e Agricultura Sustentável; e Trabalho Decente e Crescimento Econômico), contidos na Agenda 2030, proposta pela Organização das Nações Unidas, com foco nas metas 2.3 (Produtividade de pequenos produtores) e 8.2 (Produtividade – Diversificação, modernização tecnológica e inovação), visto que a melhoria do balanço nutricional do capim setária permitirá ganhos em produtividade na produção forrageira, portanto com a perspectiva de contribuir para a sustentabilidade agrícola e para o crescimento econômico.

Material e métodos

O plantio foi realizado com semeadura do capim setária em recipientes plásticos de 250 mL contendo vermiculita. Decorridos 16 dias da germinação foi realizado um desbaste para ficarem 25 plantas por vaso, e em seguida foram aplicados os seguintes tratamentos: 0, 5, 10 ou 15 mg NiSO₄ (H₂O)₆/L de solução nutritiva de Hoagland em ½ força (Passos, 1996), fornecidos a cada duas semanas por irrigação na vermiculita. Cada miligrama de sulfato de níquel propiciou 223,3477 µg Ni²⁺.

Após 121 dias de crescimento contínuo, o teor de clorofila foi medido em folhas intactas (Medidor SPAD-502, Konica-Minolta, NJ, EUA), o número de plantas sobreviventes por parcela foi anotado e, em seguida, a parte aérea das plantas foi colhida na altura de 10 cm e as amostras pesadas para obtenção dos pesos fresco e seco (balança analítica SHI-AUW-220D, TECNAL, Piracicaba, SP). Para a obtenção do peso seco, as amostras

foram secadas a 65 °C por 72h em forno THELCO 130DM (Precision Scientific, Chicago, IL, EUA). Em seguida as mesmas foram moídas (moinho analítico A11B, IKA, Wilmington, NC, EUA) para análises posteriores.

O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (níveis de sulfato de níquel hexahidratado), nove repetições e 25 plantas por parcela. Os dados foram submetidos à análise de variância (Minitab, versão demo, State College, PA, EUA).

A Figura 1 apresenta os aspectos do experimento aos 121 dias de condução e após a colheita.

Foto: Laura Pennido Mazzoco

Figura 1. Aspecto do experimento antes e após a colheita.

Resultados e discussão

A análise estatística não revelou diferenças significativas entre tratamentos em todas as variáveis estudadas. A Figura 2 mostra os gráficos *boxplot* das respostas verificadas para pesos fresco e seco da parte aérea, teor foliar de clorofila e número de plantas. Apesar da dispersão relativamente expressiva dos dados, os intervalos de confiança situaram-se dentro do limite probabilístico e houve uma tendência de redução nos pesos fresco e seco com a aplicação de 10 mg de NiSO₄. Nas condições do presente experimento, não foi detectado qualquer favorecimento da aplicação de Ni no desenvolvimento do capim setária. Por outro lado, efeitos de toxicidade também não foram verificados.

O número de plantas sofreu redução em todos os tratamentos, indicando a necessidade de medidas adicionais de padronização no crescimento inicial, tais como a redução do número de plantas por parcela e aumento no período de equilíbrio pós-germinação, antes da aplicação dos tratamentos.

Os níveis de Ni estudados situam-se na amplitude relatada na literatura (Khan et al., 1999). Todavia, para estudos mais conclusivos, tendo em vista que a espécie é perene, são necessários maiores tempos de exposição contínua ao Ni, conforme conduzido por Brown et al. (1987).

Figura 2. Gráficos *boxplot* da resposta do capim setária a doses crescentes de Ni. (A) Peso fresco da parte aérea; (B) Peso seco da parte aérea; (C) Teor foliar de clorofila; (D) Número de plantas.

A ausência de efeitos dos níveis de Ni pode também estar associada a relações iônicas no conjunto de nutrientes essenciais. No cultivo em solução nutritiva, o Ni inibe a translocação de cobre (Cu) e ferro (Fe) em cevada (Rahman et al., 2005) e promove a absorção de zinco (Zn) em milho (Sabir et al., 2011). Portanto, a análise da composição mineral do capim setária exposto à presença de Ni deve ser incluída em avaliações futuras para a definição da relevância do Ni para a nutrição dessa espécie.

Conclusões

As doses de Ni não afetaram significativamente o desenvolvimento do capim setária nas condições do presente estudo. Ajustes metodológicos, tais como retardar a aplicação de Ni após a germinação e reduzir o número de plantas por parcela experimental poderão produzir diferentes resultados. Além disso, em vista da natureza perene da espécie, sugere-se avaliações por maior extensão de tempo e a determinação da composição mineral dos tecidos vegetais e do substrato de crescimento para buscar interações iônicas relevantes para a otimização da aplicação de Ni.

Agradecimentos

À Fapemig (RED-00056-23 e APQ-03630-23) e aos funcionários Sebastião Evaristo e Mario Baesso pelo apoio durante o período de estudos e treinamento.

Referências

- ABDALLAH, Y.; NEHELA, Y.; OGUNYEMI, S. O.; IJAZ, M.; AHMED, T.; ELASHMONY, R.; ALKHALIFAH, D. H. M.; HOZZEIN, W. N.; XU, L.; YAN, C.; CHEN, J.; LI, B. Bio-functionalized nickel-silica nanoparticles suppress bacterial leaf blight disease in rice (*Oryza sativa* L.). **Frontiers in Plant Science**, v. 14, 1216782, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1216782>.
- BEGUM, W.; RAI, S.; BANERJEE, S.; BHATTACHARJEE, S.; MONDAL, H. M.; BHATTARAI, A.; SAHA, B. A comprehensive review on the sources, essentiality and toxicological profile of nickel. **RSC Advances**, v. 12, n. 15, p. 9139-9153, 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.1039/d2ra00378c>.
- BROWN, P. H.; WELCH, R. M.; CARY, E. E. Nickel: a micronutrient essential for higher plants. **Plant Physiology**, v. 85, n. 3, p. 801-803, 1987. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.85.3.801>.
- KAMBOJ, N.; MALIK, R. S.; DHANKER, P.; KUMAR, A. Importance of nickel in crops. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 7, n. 3, p. 3470-3475, 2018.
- KASTORI, R. R.; PUTNOK-DELIĆ, M. I.; MAKSIMOVIĆ, I. V. Functions of nickel in higher plants: a review. **Acta Agriculturae Serbica**, v. 27, n. 53, p. 89-101, 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.5937/AASer2253089K>.
- KHAN, N. K.; WATANABE, M.; WATANABE, Y. Effect of different concentrations of urea with or without nickel addition on spinach (*Spinacia oleracea* E.) grown under hydroponic culture. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 45, n. 3, p. 569-575, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1080/00380768.1999.10415820>.
- LÓPEZ, M. A.; MAGNITSKIY, S. Nickel: the last of the essential micronutrients. **Agronomia Colombiana**, v. 29, n. 1, p. 49-56, 2011.
- PASSOS, L. P. Solução nutritiva de Hoagland. In: PASSOS, L. P. **Métodos analíticos e laboratoriais em fisiologia vegetal**. Coronel Pacheco: Embrapa Gado de Leite, 1996. p. 101-105.
- RAHMAN, H.; SABREEN, S.; ALAM, S.; KAWAI, S. Effects of nickel on growth and composition of metal micronutrients in barley plants grown in nutrient solution. **Journal of Plant Nutrition**, v. 28, n. 3, p. 393-404, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1081/PLN-200049149>.
- SABIR, M.; GHAFOOR, A.; REHMAN, M. Z. U.; AHAMAD, H. R.; AZIZ, T. Growth and metal ionic composition of *Zea mays* as affected by nickel supplementation in the nutrient solution. **International Journal of Agriculture & Biology**, v. 13, n. 2, p. 186-190, 2011.
- WOOD, B.; REILLY, C. Interaction of nickel and plant disease. In: DATNOFF, L. E.; ELMER, W. H.; HUBER, D. M. (ed.). **Mineral nutrition and plant disease**. Minneapolis: American Phytopathological Society Press, 2007. p. 217-247.

Equilíbrio nutricional de cálcio e magnésio em capim-elefante cultivado *in vitro*

Ana Paula Pereira da Silva⁽¹⁾, Leônidas Paixão Passos⁽²⁾, Julieta de Jesus da Silveira⁽³⁾, Yara Beatriz Moreira⁽⁴⁾, Francisco José da Silva Léo⁽²⁾ e Júlio César José da Silva⁽⁵⁾

⁽¹⁾Estagiária, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Pesquisador, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽³⁾Analista, Embrapa Gado de Leite. ⁽⁴⁾Bolsista (Pibic/Fapemig), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽⁵⁾Professor, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG. e-mail: 13727848618@estudante.ufjf.br

Resumo — A indústria de produção de leite no Brasil, com mais de 4 milhões de trabalhadores em 99% dos municípios, enfrenta desafios sazonais, como o vazio forrageiro entre abril e setembro. O capim-elefante (*Cenchrus purpureus*) destaca-se como uma importante fonte forrageira, mas desafios como a acidez do solo e a toxicidade por alumínio demandam soluções. A Embrapa Gado de Leite tem buscado melhorar geneticamente o capim-elefante, mas custos e frequência da calagem comprometem a eficácia. O presente estudo propõe investigar o equilíbrio nutricional de Ca e Mg em condições controladas usando micropropagação e cultivo *in vitro*, visando otimizar o manejo do capim-elefante em solos ácidos para impulsionar a sustentabilidade e produtividade da indústria leiteira brasileira. O estudo mostrou que a presença ou ausência de Ca e Mg teve efeitos significativos no desenvolvimento das plântulas, evidenciando a complexidade das interações entre esses elementos essenciais. A presença de carvão ativado promoveu o crescimento saudável das plântulas, enquanto a falta de Mg e Ca resultou em deformidades e mortalidade das folhas. A combinação da supressão de Ca e Mg resultou em desenvolvimento excepcional das raízes e folhas, destacando a interação complexa entre esses nutrientes. Estes resultados enfatizam a importância do acurado equilíbrio nutricional no cultivo de plantas, evitando deficiências e excessos de nutrientes. Além disso, ressaltam a necessidade de compreender as interações entre diferentes nutrientes para otimizar o crescimento e a saúde das plantas.

Termos para indexação: *Cenchrus purpureus*, cultura de tecidos, nutrição mineral.

The nutritional balance of calcium and magnesium in elephant grass cultivated *in vitro*

Abstract — The dairy production industry in Brazil, with over 4 million workers in 99% of municipalities, faces seasonal challenges such as forage scarcity between April and September. *Cenchrus purpureus* stands out as a forage source, but challenges like soil acidity and aluminum toxicity demand solutions. Embrapa Dairy Cattle has been seeking to genetically improve elephant grass, but costs and lime application frequency compromise effectiveness. This study proposes investigating the Ca and Mg nutritional balance under controlled conditions using micropropagation and *in vitro* cultivation, aiming to optimize elephant grass management in acidic soils to boost sustainability and productivity of the Brazilian dairy industry. The study showed that the presence or absence of Ca and Mg had notable effects on seedling development, highlighting the complexity of interactions among these essential elements. The presence of charcoal promoted healthy seedling growth, while Mg and Ca deficiency resulted in leaf deformities and mortality. Surprisingly, the combined suppression of Ca and Mg led to exceptional root and leaf development, underscoring the intricate interaction between these nutrients. These results emphasize

the importance of careful nutritional balance in plant cultivation, avoiding deficiencies and excesses of nutrients. Furthermore, they underscore the need to understand interactions among different nutrients to optimize plant growth and health.

Index terms: *Cenchrus purpureus*, mineral nutrition, tissue culture.

Introdução

A indústria de produção de leite no Brasil envolve mais de 4 milhões de trabalhadores e está presente em 99% dos municípios. Em 2022, a produção de leite foi de 34,6 bilhões de litros, gerando R\$80 bilhões em valor (IBGE, 2023). A alimentação do gado via pastagens é essencial, mas enfrenta o desafio da sazonalidade, resultando no "vazio forrageiro", um período entre abril e setembro em que há escassez de biomassa verde e baixa qualidade nutritiva, impactando negativamente a produtividade e a economia, especialmente dos pequenos produtores (Sbrissia et al., 2017).

O capim-elefante (*Cenchrus purpureus*) destaca-se como uma forrageira eficiente, com alta produtividade e valor nutritivo, sendo amplamente utilizado em sistemas de produção de leite e carne no Brasil. Embrapa Gado de Leite conduz um programa de melhoramento genético dessa planta para superar limitações como a acidez do solo e a toxicidade do alumínio, comuns em solos tropicais (Alcântara; Bufarah, 1983).

A mitigação dessas condições é feita por meio da calagem, com calcário dolomítico, mas os custos e a frequência de aplicação dificultam a eficácia. A pesquisa sobre o equilíbrio nutricional de cálcio e magnésio, usando cultivo *in vitro*, pode trazer novas soluções para otimizar o manejo do capim-elefante em solos ácidos (Randhawa et al., 2022).

Material e métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia e Fisiologia Vegetal da Embrapa Gado de Leite. Explantes de meristemas axilares de *Cenchrus purpureus* (genótipo 1810) foram desinfetados e introduzidos (Passos et al., 2008) em meio de cultivo de Murashige Skoog (MS).

Para todos os tratamentos foram solubilizados 30,0g de sacarose em 100mL de água destilada sob agitação magnética. As soluções-estoque foram adicionadas de acordo com as especificações de cada tratamento (Tabela 1 e Tabela 2). Em seguida, 3,5g de ágar foram pesados e transferidos para um funil de Büchner sobre um papel filtro. O ágar foi submetido à adição de água destilada e a bomba a vácuo até completa secagem. Após a lavagem, o ágar foi suspenso em 250 mL de água destilada e levado ao micro-ondas por 3 minutos, com pausas para agitação a cada 1 minuto.

A solução testemunha foi despejada sobre o ágar, seguida pela adição de 0,75g de carvão ativado sob agitação magnética, exceto para o tratamento testemunha sem carvão ativado. Logo, completou-se o volume para 500mL. A distribuição da solução em 20 tubos, identificados, vedados e esterilizados em autoclave por 20 minutos a 110°C. Por fim, os tubos foram rotulados e acondicionados na sala de crescimento e a avaliação foi feita de sete em sete dias.

Tabela 1. Quantidade estabelecida de cada composto para a formação das soluções.

Solução	Composto	Massa (g)
A	Ca(NO ₃) ₂ 4H ₂ O	236,1g
B	KNO ₃	101,1g
C	MgSO ₄ 7H ₂ O	246,4g
D	KH ₂ PO ₄	136,1g
I	CuSO ₄ .5H ₂ OH ₃ BO ₃ MoO ₃	0,08g
	MnCl ₂ 4.H ₂ O	2,86g
	ZnSO ₄ .7.H ₂ O	0,07g
		1,81g
		0,22g
J	FeEDTA	0,30g
F	K ₂ SO ₄	87,2g
H	NH ₄ NO ₃	62,0g

Tabela 2. Especificação da quantidade de solução (mL) e carvão ativado (g) acrescentada.

Tratamento	Sol. A	Sol. B	Sol. C	Sol. D	Sol. E	Sol. F	Sol. G	Sol. H	Carvão(g)
Testemunha com carvão ativado	2,5	2,5	1,0	0,5	0,5	25,0	-	-	0,75
Testemunha sem carvão ativado	2,5	2,5	1,0	0,5	0,5	25,0	-	-	-
Tratamento com Ca	5,0	2,5	1,0	0,5	0,5	25,0	-	-	0,75
Tratamento sem Ca	-	7,5	1,0	0,5	0,5	25,0	-	-	0,75
Tratamento com Mg	2,5	2,5	-	0,5	0,5	25,0	5,0	-	0,75
Tratamento sem Mg	2,5	2,5	2,0	0,5	0,5	25,0	-	-	0,75
Tratamento com Ca e Mg	5,0	2,5	2,0	0,5	0,5	25,0	-	-	0,75
Tratamento sem Ca e Mg	-	2,0	-	0,5	0,5	25,0	25,0	10,0	0,75

Resultados e discussão

O estudo mostrou que, nos tubos sem carvão ativado, o desenvolvimento das raízes foi prejudicado devido à intoxicação por fenóis oxidados, que inibiram a enzima de crescimento e comprometeram a integridade celular, conforme descrito por Epstein e Bloom (2006). A presença do Ca foi fundamental para o desenvolvimento das plântulas, enquanto sua ausência foi detectada em problemas de crescimento e anormalidades, conforme relatado por Epstein e Bloom (2006). A deficiência de Mg também afetou níveis no desenvolvimento foliar, o que confirma a importância do Mg na fotossíntese.

A interação competitiva entre Ca e Mg reduziu a eficiência de absorção quando ambos estavam presentes, resultando em crescimento deficiente, conforme descrito por Malavolta (2006). Surpreendentemente, o tratamento sem Ca e Mg levou a um desenvolvimento saudável, possivelmente devido ao sinergismo de outros nutrientes e impurezas presentes, como sugerido por Malavolta (2006). A presença de N na solução pode ter facilitado a

translocação desses nutrientes, conforme previsto por Passos et al. (2023). A alta disponibilidade de receptores enzimáticos na rizosfera ajudou na avaliação em condições de baixa disponibilidade de nutrientes, conforme descrito por Kerbauy (2008). A hipótese de acúmulo de reservas em tecidos também pode explicar o bom desempenho das plantas nesse tratamento, conforme mencionado por Capellades et al. (1991).

Conclusões

No cultivo *in vitro* de *Cenchrus purpureus* o carvão ativado é essencial. O Ca é importante para o desenvolvimento adequado das plântulas. Da mesma forma, o Mg é primordial para a fotossíntese. Porém, a presença concomitante de Ca e Mg induziu efeitos negativos, enquanto que a ausência de ambos elementos teve efeitos benéficos sobre o desenvolvimentos das plântulas.

Agradecimentos

Ao apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - Brasil. Parte do projeto INCT de Botânica, Processo CNPq 20303009 Fisiologia Vegetal.

À ABCBRH pela disponibilidade dos dados utilizados neste estudo. À Embrapa Gado de Leite pela oportunidade, o que nos proporcionou obter experiência e aprendizado; ao pesquisador Leônidas Paixão Passos pelo acompanhamento, orientação e apoio durante o período de estudos e treinamento.

Referências

- ALCÂNTARA, P. B.; BUFARAH, G. **Plantas forrageiras: gramíneas e leguminosas**. 2. ed. São Paulo: Nobel, 1983. 150 p.
- CAPELLADES, M.; LEMEURE, R.; DEBERGH, P. Effects of sucrose on starch accumulation and rate of photosynthesis in *Rosa* cultured in vitro. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 25, p. 21-26, 1991. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00033908>.
- EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. Nutrição e crescimento. In: EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. 2. ed. Londrina: Planta, 2006. p. 251-286.
- IBGE. **Produção de leite**. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/leite/br>. Acesso em: 4 fev. 2023.
- KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 431 p.
- MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2006. 631 p.
- PASSOS, L. P.; REIS, P. R. C.; LIMA, L. C. R. D. S.; SOUZA SOBRINHO, F. D.; SILVA, J. C. J. D. Comparative effects of ammonium and nitrate ions on growth and uptake of multiple elements of ruzigrass. **Journal of Plant Nutrition**, v. 46, n. 14, p. 3370-3384, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1080/01904167.2023.2205439>.
- PASSOS, L. P.; VIDIGAL, M. C.; FERNANDES, F. S.; KELMER, G. A. R.; SOUZA SOBRINHO, F.; MESQUITA, M. C. Establishment of an in vitro micropropagation protocol for *Brachiaria ruziziensis*. In: ASA-CSSA-SSSA JOINT MEETING, 2008, Houston. **Celebrating the international year of planet earth: proceedings**. Madison: Crop Science Society of America, 2008.
- RANDHAWA, K. S.; CHAUHAN, R.; KUMAR, R. An investigation on the effect of lime addition on UCS of Indian black cotton soil. **Materials Today: Proceedings**, v. 50, n. 5, p. 797-803, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.05.586>.
- SBRISSIA, A. F.; DUCHINI, P. G.; ECHEVERRIA, J. R.; MIGUELOTO, T.; BERNARDON, A.; AMÉRICO, L. F. Produção animal em pastagens cultivadas em regiões de clima temperado da América Latina. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v. 25, n. 1/2, p. 45-58, 2017.

Potencial de produção de biogás e biometano a partir da biomassa energética de genótipos de capim-elefante

Felipe Ferreira Coelho⁽¹⁾, Guilherme Henrique da Silva⁽²⁾, Edgard Henrique Oliveira Dias⁽³⁾, Marcelo Henrique Otenio⁽⁴⁾, Jailton da Costa Carneiro⁽⁴⁾ e Juarez Campolina Machado⁽⁴⁾

Bolsista (Pibic/Fapemig), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Estagiário, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽³⁾ Professor adjunto, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG. ⁽⁴⁾Pesquisador, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora. e-mail: ffelipefc@gmail.com

Resumo — Os impactos ambientais severos decorrentes do uso de combustíveis fósseis evidenciam a urgência na busca por fontes de energia mais sustentáveis. Nesse cenário, a utilização de biomassa vegetal para geração de energia surge como alternativa promissora. O presente estudo tem por objetivo avaliar o potencial de produção de biogás e biometano de genótipos elite do programa de melhoramento de capim-elefante (*Cenchrus purpureus*), uma gramínea perene conhecida por sua alta produtividade. O experimento foi conduzido em laboratório, avaliando dez genótipos de capim-elefante em um ensaio de potencial bioquímico de biogás (PBB) por meio da digestão anaeróbia. Há variabilidade genética entre os genótipos de capim-elefante, evidenciando a importância da escolha do substrato adequado para maximizar a produção de biogás e biometano. Os resultados indicaram que o genótipo T 23.1 se destacou com a maior produção de biogás, atingindo 496,9 L.kgSV⁻¹, com valores de concentração de metano de 65%, além de apresentar a maior produtividade de matéria seca em campo. Conclui-se que o capim-elefante, especialmente o genótipo T 23.1, possui um elevado potencial como biomassa para geração de energia renovável, com destaque para a codigestão anaeróbia com resíduos orgânicos.

Termos para indexação: biodigestão, bioenergia, fermentação, lignocelulose, metanol.

Biogas and biomethane production potential from energetic biomass of elephant grass genotypes

Abstract— The severe environmental impacts resulting from the use of fossil fuels underscore the urgency of seeking more sustainable energy sources. In this context, the utilization of plant biomass for energy generation emerges as a promising alternative. This study aims to evaluate the biogas and biomethane production potential of elite genotypes from the elephant grass (*Cenchrus purpureus*) breeding program, a perennial grass known for its high productivity. The experiment was conducted in the laboratory, assessing ten genotypes of elephant grass in a biochemical biogas potential (BBP) assay through anaerobic digestion. There is genetic variability among elephant grass genotypes, highlighting the importance of choosing the appropriate substrate to maximize biogas and biomethane production. The results indicated that genotype T 23.1 stood out with the highest biogas production, reaching 496.9 L.kgSV⁻¹, with methane concentration values of 65%, in addition to presenting the highest dry matter productivity in the field. It is concluded that elephant grass, especially genotype T 23.1, has a high potential as biomass for renewable energy generation, with emphasis on anaerobic co-digestion with organic residues.

Index terms: biodigestion, bioenergy, fermentation, lignocellulose, methane.

Introdução

O Brasil apresenta 49,1% de participação de fontes renováveis em sua matriz energética, índice superior à média global de 14,7% (Empresa de Pesquisa Energética,

2024). As biomassas vegetais desempenham um papel central, respondendo por 18% da geração de energia no país e contribuindo para a redução da dependência de combustíveis fósseis. O uso dessas fontes está em expansão, especialmente em países com grandes indústrias agropecuárias, representando um fator de segurança energética que contribui para o atendimento da demanda de energia em áreas de difícil acesso (Freitas et al., 2022). Estudos têm sido realizados para investigar os benefícios da bioenergia, utilizando energia proveniente da biomassa animal e lignocelulósica, com o objetivo de tornar a conversão energética mais rentável e sustentável (Song et al., 2023). As biomassas vegetais podem ser utilizadas para a geração de energia a partir da digestão anaeróbia, processo no qual os substratos são degradados pela ação de microrganismos, produzindo biogás.

O capim-elefante (*Cenchrus purpureus*) é uma espécie promissora para utilização como biomassa para a geração de energia, particularmente, em função da alta produtividade, que é um fator crucial para assegurar o fornecimento constante de matéria-prima, atendendo de forma eficiente à demanda energética (Marafon et al., 2023). Além disso, apresenta caráter perene, boa adaptação aos diferentes tipos de clima e solo brasileiros, capacidade de rebrota e persistência, possibilitando que permaneça vários anos produzindo biomassa de qualidade (Marafon et al., 2023). Além disso, essa gramínea pode ser ensilada, para armazenamento e conservação das propriedades químicas, tornando possível atender à alimentação animal e à produção energética e proporcionando aproveitamento integral e diversificado da planta, o que aumenta a viabilidade econômica de sua exploração.

A codigestão de diferentes substratos aumenta a produção de biogás e a concentração de metano. A combinação de diferentes substratos equilibra os níveis de carbono e nitrogênio, otimiza o consumo por microrganismos e melhora a eficiência do processo (Karki et al., 2021). Além disso, a codigestão supera as limitações da monodigestão, promovendo um sistema mais eficiente. O presente trabalho tem como objetivo avaliar o potencial de produção de biogás e biometano de genótipos elite do programa de melhoramento de capim-elefante (*Cenchrus purpureus*) da Embrapa.

Os resultados desse trabalho vão ao encontro dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) contidos na Agenda 2030, proposta pela Organização das Nações Unidas, da qual o Brasil é signatário, sobretudo nos seguintes objetivos específicos: ODS 2: Fome Zero e Agricultura Sustentável e ODS 7: Energia Acessível e Limpa.

Material e métodos

O experimento foi conduzido no Campo Experimental José Henrique Bruschi, propriedade da Embrapa Gado de Leite, localizado em Coronel Pacheco, MG, (21°33'22" de latitude sul, 43°06'15" de longitude oeste e 410 m de altitude). Foram avaliados oito genótipos elite do programa de melhoramento de capim-elefante da Embrapa com características de destaque para a produção de bioenergia: T 12.9, T HE10, T 23.1, T 47.1, T 25.11, T 41.2, T 44.1, PCEC e duas cultivares testemunhas, BRS Coronel e BRS Capiaçú. As amostras foram coletadas 105 dias após o plantio, cortadas a uma altura de aproximadamente de 15 cm do solo. O delineamento experimental foi de blocos casualizados com três repetições, sendo cada parcela composta por quatro linhas de 6,0 m de comprimento, com espaçamento de 1,0 m entre as linhas.

A determinação dos teores de açúcares solúveis (°Brix) foi realizada utilizando um refratômetro digital. As amostras foram picadas em um picador forrageiro, resultando em partículas de aproximadamente 2 cm. Subamostras foram pesadas e secas em estufa a 65 °C por 72 horas. Após a secagem, foi feita nova pesagem para determinar o teor

de matéria seca (% MS) e a produtividade de matéria seca (PMS) (Silva; Queiroz, 2006). As amostras secas foram moídas em moinho tipo Willey com peneira MESH 32 (0,50 mm) e enviadas ao Laboratório de Análise de Alimentos da Embrapa Gado de Leite para caracterização físico-química. As análises incluíram Sólidos Totais (ST), Sólidos Voláteis (SV), Sólidos Fixos (SF), conforme Lipps et al. (2022), além de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e teor de lignina (LIG) pelo método de Van Soest adaptado (Silva; Queiroz, 2006). O teor de proteína bruta (PB) foi determinado pelo método de Kjeldahl (Galvani; Gaertner, 2006), e os teores de celulose (CEL) e hemicelulose (HCEL) foram calculados com base nas diferenças entre FDA e LIG, e entre FDN e FDA, respectivamente.

O resultado do teste de potencial bioquímico de biogás (PBB) foi expresso em $L.kgSV^{-1}$, obtido a partir da produção de biogás acumulada da amostra, descontando-se a produção referente ao inóculo (branco), dividida pela massa de sólidos voláteis de substrato adicionada (Verein Deutscher Ingenieure, 2016). O ensaio de PBB foi realizado em reatores anaeróbios de escala laboratorial, em batelada, sob condições controladas de temperatura (37 °C) e agitação (100 rpm). O equipamento *Nautilus* (Anaero Technology) apresenta um banho-maria, onde são dispostos até 15 frascos com as amostras, e um agitador mecânico. O inóculo utilizado nos ensaios foi composto por dejetos de bovinos diluídos em água de lavagem dos currais do CEJHB, o qual foi aclimatado e enriquecido por 14 dias (Steinmetz et al., 2016). Para o ensaio de PBB, amostras de capim-elefante moído e homogeneizado foram preparadas em triplicata, sendo misturadas a 200 g de inóculo. Também foram preparados brancos, contendo apenas inóculo. Cada ensaio experimental durou 21 dias. Amostras de biogás de cada um dos frascos reatores foram coletadas aos 7, 14 e 21 dias de ensaio para análise de cromatografia e determinação das concentrações de metano. Os resultados da produção de biogás obtidos, assim como os dados das análises de caracterização físico-química da biomassa, foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e as médias foram comparadas pelo teste de Scott & Knott a 5% de significância.

Resultados e discussão

Os resultados de caracterização físico-química da biomassa dos dez genótipos de capim-elefante estão apresentados na Tabela 1. O valor de PMS variou de 29,5 a 41,1 $t.ha^{-1}.ano^{-1}$, com destaque para o genótipo T 23.1, que obteve o resultado mais elevado. Esses valores estão de acordo com a literatura, que indica que o capim-elefante pode produzir até 50 $t.ha^{-1}.ano^{-1}$ de matéria seca (Marafon et al., 2023), e ratificam a espécie como destaque em termos de produção de biomassa, com produtividade acima de outras espécies, como o sorgo (25 a 40 $t.ha^{-1}.ano^{-1}$), o eucalipto (15 a 20 $t.ha^{-1}.ano^{-1}$) e o bagaço de cana-de-açúcar (15 a 20 $t.ha^{-1}.ano^{-1}$). O genótipo T 23.1 apresentou maior valor de MS e seu teor de lignina ficou abaixo de 10%. A MS e a lignina afetam negativamente a degradabilidade da biomassa, pois plantas com altos teores desses componentes têm células mais difíceis de serem decompostas. O genótipo T_HE10 apresentou as maiores concentrações de MS e lignina, diferenciando-se significativamente em relação aos demais. A concentração de cinzas (CZ) está negativamente correlacionada aos processos fermentativos e à produção de biogás, pois representa a fração de sólidos da biomassa que não se volatiliza (Verein Deutscher Ingenieure, 2016).

Tabela 1. Caracterização físico-química dos genótipos de capim-elefante.

Genótipo	PMS (t.ha ⁻¹ .ano ⁻¹)	MS (%)	CZ (%)	PB (%)	Brix (°Bx)	CEL (%)	HCEL (%)	LIG (%)
T_12.9	32,6 b	22,7 c	6,0 ^{ns}	5,7 a	5,0 a	39,2 ^{ns}	29,0 a	7,5 b
T_HE10	36,6 a	27,0 a	5,1	4,4 b	5,9 a	41,7	27,2 b	10,5 a
T_23.1	41,1 a	20,7 c	5,4	6,4 a	6,1 a	38,9	26,5 b	7,8 b
T_47.1	38,9 a	23,7 c	6,2	4,4 b	6,2 a	39,7	26,6 b	8,4 b
T_25.11	37,1 a	22,7 c	5,6	5,8 a	6,2 a	40,3	26,5 b	7,6 b
T_41.2	33,8 b	23,0 c	5,2	4,9 b	6,1 a	38,0	26,5 b	7,3 b
T_44.1	30,1 b	23,7 c	7,1	7,1 a	6,5 a	36,6	28,4 a	6,9 b
PCEC	37,6 a	24,7 b	6,3	6,3 a	6,2 a	37,8	31,2 a	6,7 b
BRS Coronel	29,5 b	22,0 c	7,7	6,6 a	6,6 a	39,5	27,2 b	6,9 b
BRS Capiáçu	35,7 a	24,3 b	6,5	4,7 b	6,4 a	39,2	28,6 a	7,6 b

Médias seguidas pela mesma letra formam o mesmo grupo pelo teste de Scott & Knott a 5% de probabilidade. PMS = Produtividade de matéria seca; MS = Matéria seca; CZ = Cinzas; PB = Proteína bruta; CEL = Celulose; HCEL = Hemicelulose; LIG = Lignina. ns = não significativa.

O genótipo T 23.1, obteve destaque para potencial bioquímico de biogás e produtividade de matéria seca (Tabela 2). O potencial de produção de biogás, considerando a produção de matéria seca (PBBPMS), foi estimado em 17.973,5 m³.ha⁻¹.ano⁻¹ para o genótipo T 23.1, evidenciando sua boa capacidade de gerar biogás.

Tabela 2. Caracterização físico-química dos genótipos de capim-elefante.

Genótipo	PBB (L.kgSV ⁻¹)	PBBPMS (m ³ .ha ⁻¹ .ano ⁻¹)
T_12.9	361,5 a	10.312,6 b
T_HE10	278,6 c	9.021,6 b
T_23.1	496,9 a	17.973,5 a
T_47.1	206,6 d	7.036,2 c
T_25.11	139,6 d	4.566,6 d
T_41.2	325,4 b	9.795,0 b
T_44.1	198,3 d	5.178,1 d
PCEC	328,6 b	10.840,3 b
BRS Coronel	285,9 c	7.281,2 c
BRS Capiáçu	243,6 c	7.615,6 c

Médias seguidas pela mesma letra formam o mesmo grupo pelo teste de Scott & Knott a 5% de probabilidade. PBB = Potencial bioquímico de biogás; PBBPMS = Potencial bioquímico de biogás considerando PMS; PMS = produção de matéria seca.

A Figura 1 apresenta o PBB dos genótipos avaliados ao longo do ensaio, bem como os resultados de concentração de metano (CH₄) nas amostras coletadas aos 7, 14 e 21 dias do experimento (Figura 1.a). Os genótipos T 23.1 e T 12.9 se destacaram, alcançando valores de concentração de metano de 65% no 21º dia (Figura 1.b), além de serem os que alcançaram os maiores resultados de PBB.

Figura 1. Potencial bioquímico de biogás (PBB) para cada genótipo de capim-elefante ao longo dos dias de experimento.

Figura 2. Teores de metano (%) aos 7, 14 e aos 21 dias de experimento.

Conclusões

A avaliação do capim-elefante como substrato para produção de biogás demonstrou resultados promissores. O genótipo T 23.1 destacou-se significativamente em relação aos demais, com PBB de 496,9 L.kgSV⁻¹ e PBBPMS estimado de 17.973,5 m³.ha⁻¹.ano⁻¹, com

concentrações de metano de 65%. Sugere-se que pesquisas futuras explorem a codigestão anaeróbia do genótipo T 23.1 com outros substratos de interesse, com o objetivo de identificar as melhores estratégias de uso e sua aplicação em escalas maiores.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), e aos órgãos de fomento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig).

Referências

- EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA. **Balanco Energético Nacional 2024**: ano base 2023. Rio de Janeiro, 2024. Disponível em: <https://www.epe.gov.br/pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/balanco-energetico-nacional-2024>. Acesso em: 22 set. 2024.
- FREITAS, F. F.; FURTADO, A. C.; PIÑAS, J. A. V.; VENTURINI, O. J.; BARROS, R. M.; LORA, E. E. S. Holistic Life Cycle Assessment of a biogas-based electricity generation plant in a pig farm considering co-digestion and an additive. **Energy**, v. 261, pt. B, 125340, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.energy.2022.125340>.
- GALVANI, F.; GAERTNER, E. **Adequação da metodologia Kjeldahl para determinação de nitrogênio total e proteína bruta**. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2006. 9 p. (Embrapa Pantanal. Circular Técnica, 63). Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/812198>. Acesso em: 22 set. 2024.
- KARKI, R.; CHUENHART, W.; SURENDRA, K. C.; SHRESTHA, S.; RASKIN, L.; SUNG, S.; HASHIMOTO, A.; KHANAL, S. K. Anaerobic co-digestion: Current status and perspectives. **Bioresource Technology**, v. 330, 125001, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125001>.
- LIPPS, W. C.; BRAUN-HOWLAND, E. B.; BAXTER, T. E. (ed.). **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 24th ed. Washington: American Public Health Association; Denver: American Water Works Association; Alexandria: Water Environment Federation, 2022.
- MARAFON, A. C.; MACHADO, J. C.; CAMARA, T. M. M.; SILVA, S. R. da; ADANIYA, R. K. Variedades elite de capim-elefante com alto rendimento de biomassa no semiárido de Alagoas, Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROMETEOROLOGIA, 22., 2023, Natal. **A agrometeorologia e a agropecuária: adaptação às mudanças climáticas**. Anais... Serra Talhada: Sociedade Brasileira de Agrometeorologia, 2023. p. 1393-1400.
- SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. de. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3. ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2006. 235 p.
- SONG, Y.; PEI, L.; CHEN, G.; MU, L.; YAN, B.; LI, H.; ZHOU, T. Recent advancements in strategies to improve anaerobic digestion of perennial energy grasses for enhanced methane production. **Science of the Total Environment**, v. 861, 160552, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.160552>
- STEINMETZ, R. L. R.; MEZZARI, M. P.; SILVA, M. L. B. da; KUNZ, H.; AMARAL, A. C. do; TÁPPARO, D. C.; SOARES, H. M. Enrichment and acclimation of an anaerobic mesophilic microorganism's inoculum for standardization of BMP assays. **Bioresource Technology**, v. 219, p. 21-28, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.07.031>.
- VEREIN DEUTSCHER INGENIEURE. **VDI 4630 - Fermentation of organic materials**: characterization of the substrate, sampling collection of material data and fermentation tests. Düsseldorf, Germany, 2016.

Efeito do armazenamento sobre o poder germinativo de sementes de genótipos de capim setária (*Setaria sphacelata*)

Maiara Souza de Oliveira Magela⁽¹⁾, Antonio Vander Pereira⁽²⁾ e Juarez Campolina Machado⁽²⁾

⁽¹⁾Bolsista (Pibic/Fapemig), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Pesquisador, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG.
e-mail: maiara010souza@gmail.com

Resumo — O capim setária (*Setaria sphacelata*) é uma forrageira tropical amplamente reconhecida por sua alta produtividade, valor nutritivo e capacidade de adaptação a diferentes tipos de solo e clima. A qualidade das sementes é fundamental para o sucesso do estabelecimento das pastagens de capim setária, sendo que a presença de dormência nas sementes e as condições de armazenagem podem afetar o poder germinativo. O presente estudo teve o objetivo de avaliar o poder germinativo de sementes de dez populações de capim setária, após a colheita e depois de cinco meses de armazenamento. O experimento foi conduzido em estufa BOD com temperatura de 30 °C e fotoperíodo de doze horas. Utilizou-se o delineamento de blocos ao acaso, no esquema fatorial, com três repetições de cem sementes por gerbox. Observaram-se diferenças significativas entre genótipos nas duas épocas de avaliação, sendo que a maioria dos genótipos apresentou maior germinação de sementes logo após a colheita. Ao contrário das demais, a população Top 1 aumentou a taxa de germinação de sementes após o período de armazenamento, possivelmente em decorrência da quebra de dormência.

Termos para indexação: conservação de sementes, dormência, viabilidade, germinação, variabilidade genética.

Effect of storage on the germinative capacity of seeds of setaria grass genotypes (*Setaria sphacelata*)

Abstract — *Setaria* grass (*Setaria sphacelata*) is a tropical forage widely recognized for its high productivity, nutritional value and ability to adapt to different types of soil and climate. Seed quality is essential for the successful establishment of *setaria* grass pastures, and the presence of seed dormancy and storage conditions can affect germination power. The study aimed to evaluate the germination power of seeds from ten *setaria* grass populations after harvest and after five months of storage. The experiment was conducted in a BOD greenhouse at 30 °C and a 12-hour photoperiod. A randomized block design was used in a factorial scheme, with three replicates of one hundred seeds per gerbox. Significant differences were observed between genotypes in the two evaluation periods, with most genotypes showing greater seed germination soon after harvest. Unlike the others, the Top 1 population increased the seed germination rate after the storage period, possibly due to the breaking of dormancy.

Index terms: seed conservation, dormancy, viability, germination, genetic variability.

Introdução

O capim setária (*Setaria sphacelata*) é uma forrageira tropical amplamente reconhecida por sua alta produtividade e valor nutritivo, desempenhando papel crucial na alimentação de ruminantes em sistemas de pastoreio. De acordo com Jank et al. (2007), essa gramínea se destaca pela capacidade de adaptação a diferentes tipos de solo e clima, além de apresentar resistência a pragas e doenças. Essas características fazem do capim setária

uma alternativa preferencial para a formação de pastagens em condições de solos úmidos nas regiões tropicais e subtropicais.

A qualidade das sementes é fundamental para o sucesso do estabelecimento das pastagens, influenciando diretamente o vigor e a produtividade das plantas. Fatores como época de semeadura, adubação, controle de pragas e doenças, e período de colheita influenciam diretamente a quantidade e qualidade das sementes (Hacker; Cuany, 1997). Além disso, o armazenamento adequado é crucial para preservar a viabilidade e o vigor das sementes por longos períodos, assegurando sua utilização em programas de melhoramento genético e na implantação de pastagens.

As condições de armazenamento, incluindo tempo, umidade, temperatura e ventilação, têm um impacto significativo sobre a viabilidade e vigor das sementes, refletindo diretamente no sucesso do estabelecimento das pastagens. De acordo com Ferreira et al. (2021) a umidade e a temperatura são fatores críticos que influenciam a longevidade das sementes, mesmo em condições controladas, a viabilidade das sementes pode ser comprometida ao longo do tempo, demandando práticas adequadas para maximizar sua durabilidade e desempenho.

A germinação das sementes é um processo complexo influenciado por diversos fatores, tanto internos (genéticos) quanto externos (ambientais). Fatores internos, como a variabilidade genética entre os genótipos, a maturidade fisiológica das sementes e a presença de dormência, podem afetar significativamente a capacidade germinativa (Lamont; Pausas, 2023). Fatores externos, como temperatura, umidade, luz e condições de armazenamento, também exercem um papel crucial nesse processo (Lamont; Pausas, 2023).

Segundo Lamont e Pausas (2023), diversos mecanismos podem promover a quebra da dormência, incluindo o tempo e as condições de armazenamento. Ferreira et al. (2021) observaram que sementes armazenadas em ambientes frescos e secos mantêm maior viabilidade e menor dormência em comparação com aquelas conservadas em condições adversas.

A seleção de variedades com alta taxa de germinação e menor dormência pode aumentar a eficiência na implantação de pastagens. Assim, a identificação de fontes de variabilidade genética para a germinação pode ser valiosa em programas de melhoramento visando o desenvolvimento de novas variedades com características desejáveis.

Considerando a importância do capim setária na produção animal e os desafios relacionados à produção e conservação de suas sementes, este estudo tem como objetivo avaliar o efeito do armazenamento sobre o poder germinativo das sementes de diferentes genótipos de capim setária e identificar fontes de variabilidade genética para programas de melhoramento dessa importante forrageira.

Os resultados desse trabalho vão ao encontro dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) contidos na Agenda 2030, proposta pela Organização das Nações Unidas, da qual o Brasil é signatário, sobretudo nos seguintes objetivos específicos: ODS 2: Fome Zero e Agricultura Sustentável; ODS 7: Trabalho Decente e Crescimento Econômico.

Material e métodos

Foi avaliada a germinação de sementes de dez genótipos (populações) de capim setária plantados em áreas isoladas no Campo Experimental José Henrique Bruschi, propriedade

da Embrapa Gado de Leite, localizado em Coronel Pacheco, MG, (21°33'22" de latitude sul, 43°06'15" de longitude oeste e 410 m de altitude). O poder germinativo das sementes foi avaliado logo após a colheita e secagem e depois de cinco meses de conservação em câmara fria, mantidas a 10 °C.

As dez populações foram representadas por acessos do banco de germoplasma e populações sob melhoramento (Tabela 1).

Tabela 1. Populações do Programa de Melhoramento de capim setária da Embrapa.

Identificação dos Tratamentos			
1	Acesso 66	6	População Azulada
2	Acesso 34	7	População Ipanema
3	Acesso 60	8	População Top 1
4	Acesso 69	9	População Qualidade
5	Acesso 51	10	População tolerante a Seca

Teste de germinação: Foi realizado com três repetições de 100 sementes por tratamento. Todas as sementes foram testadas quanto a presença de cariopse por meio de leve pressão manual. Foram semeadas em papel toalha colocado em caixas tipo gerbox, umedecidos com água, e mantidos em germinador (estufa BOD) com temperatura diurna de 30 °C e noturna de 25 °C, com fotoperíodo de 12 horas. As contagens das sementes germinadas foram realizadas a cada dois dias durante 20 dias após a semeadura ou até cessar a germinação de sêmenes. Foram consideradas germinadas as sementes que produziram plântulas normais (Brasil, 2009). Em cada avaliação as sementes germinadas foram descartadas. O teste foi repetido nas mesmas condições após cinco meses de armazenamento das sementes em câmara fria.

O delineamento experimental foi em esquema fatorial com dez tratamentos, duas épocas de avaliação e três repetições de 100 sementes cada.

Resultados e discussão

Nas Tabelas 2 e 3 são apresentados os resultados da análise de variância e do teste de médias, sendo observadas diferenças significativas entre épocas, genótipos e interação época x genótipos.

Tabela 2. Análise de variância do poder germinativo de sementes de dez genótipos de capim-setária em duas épocas de avaliação.

FV	GL	QM	F
Épocas	1	693,60	49,018**
Genótipos	9	274,44	19,395**
Épocas x Genótipos	9	211,56	14,951**
Resíduo	40	14,15	
Total	59	5633,6	
CV %	29,39		

Tabela 3. Caracterização físico-química dos genótipos de capim-elefante.

Genótipos		Época 1		Época 2	
1	Acesso 66	11,00	c	8,33	b
2	Acesso 34	5,00	c	3,33	b
3	Acesso 60	7,00	c	5,00	b
4	Acesso 69	11,33	c	6,00	b
5	Acesso 51	6,67	c	6,33	b
6	População Azulada	38,00	a	12,33	b
7	População Ipanema	27,67	b	6,00	b
8	População Top 1	9,33	c	25,33	a
9	População Qualidade	21,67	b	10,00	b
10	População Tolerante a Seca	24,33	b	11,33	b

Médias seguidas por letras iguais, nas colunas, pertencem ao mesmo grupo, pelo teste Scott Knott ($P > 0,05$).

Observou-se que o genótipo 6 (População Azulada) apresentou a maior taxa de germinação (38%) logo após a colheita e secagem (Época 1), sendo seguida pelos genótipos 7 (27,67%), 10 (24,33%) e 9 (21,67%). Após cinco meses de conservação em câmara fria, o genótipo 8 (População Top 1) apresentou a maior quantidade de sementes germinadas (25,33%), diferindo dos demais genótipos.

Observou-se efeito significativo da interação épocas x genótipos, sendo que os genótipos 6 e 8, que apresentaram as maiores taxas de germinação nas épocas 1 e 2, respectivamente, apresentaram respostas opostas ao armazenamento das sementes. Enquanto o genótipo 6 apresentou queda na taxa de germinação, a população 8 apresentou aumento significativo da germinação após o armazenamento por cinco meses em câmara fria.

Uma possível explicação para perda do poder germinativo da maioria das populações pode estar ligada às condições inadequadas de armazenamento (Ferreira et al., 2021). Para a população 8, uma possível causa do aumento da germinação após cinco meses de armazenamento seria a perda de dormência das sementes desse genótipo causada pelo tempo de conservação em condições de frio e baixa umidade (Carmona; Martins, 2010).

Conclusões

Os genótipos apresentaram diferenças em relação ao poder germinativo das sementes, nas duas épocas avaliadas.

A maioria dos genótipos apresentou maior germinação na época 1, revelando a existência de possíveis problemas na conservação das sementes.

O genótipo 8 aumentou a germinação após o período de armazenamento em câmara fria, possivelmente em decorrência da quebra de dormência das sementes.

Agradecimentos

A Fapemig pela concessão de bolsa de iniciação científica, à Embrapa Gado de Leite pela oportunidade que nos proporcionou obter experiência e aprendizado e ao pesquisador Antônio Vander Pereira pelo acompanhamento, orientação e apoio.

Referências

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF, 2009. 395 p.

CARMONA, R.; MARTINS, C. R. Dormência e armazenabilidade de sementes de capim-gordura. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 4, p. 71-79, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-31222010000400008>.

FERREIRA, R. A.; OLIVEIRA, A. A. D.; SILVA, V. N. D.; PEREIRA, A. A. S.; BERNARDES, M. M.; BICALHO, E. M. Watching the days go by: aging during sunflower seed storage under distinct oxygen availability. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 45, e017921, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/1413-7054202145017921>.

HACKER, J. B.; CUANY, R. L. Genetic variation in seed production and its components in four cultivars of the pasture grass *Setaria sphacelata*. **Euphytica**, v. 93, p. 271-282, 1997. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1002932432121>.

LAMONT, B. B.; PAUSAS, J. G. Seed dormancy revisited: dormancy-release pathways and environmental interactions. **Functional Ecology**, v. 37, n. 4, p. 1106-1125, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1111/1365-2435.14269>.

JANK, L.; QUESENBERRY, K. H.; SOLLENBERGER, L. E.; WOFFORD, D. S.; LYRENE, P. M. Selection of morphological traits to improve forage characteristics of *Setaria sphacelata* grown in Florida. **New Zeal and Journal of Agricultural Research**, v. 50, n. 1, p. 73-83, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1080/00288230709510284>.

Avaliação de genótipos de capim-elefante sob pastejo

Tomáz Curityba Chave de Souza⁽¹⁾, Carlos Augusto de Miranda Gomide⁽²⁾, Laura Eliza Fontes Paiva⁽¹⁾, Domingos Sávio Campos Paciullo⁽²⁾, Francisco José da Silva Ledo⁽²⁾, Pablo Gonçalves de Paula⁽³⁾, Rafael Bolina da Silva⁽⁴⁾ e Carlos Renato Tavares de Castro⁽²⁾

⁽¹⁾Bolsista (Pibic/Fapemig), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Pesquisador, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽³⁾Bolsista (Pibic/CNPq), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽⁴⁾Bolsista (BDCTI I Fapemig), Juiz de Fora, MG. e-mail: tomazcurityba@hotmail.com

Resumo — O capim-elefante tem grande potencial para produção de forragem, possuindo alto valor nutricional. No entanto, cultivares convencionais são altas e difíceis de manejar sob pastejo. Atualmente, apenas a cultivar BRS Kurumi está disponível para uso sob pastejo. Novos genótipos estão sendo selecionados para aumentar a produção, tolerância ao período seco, etc. O objetivo deste estudo foi avaliar, sob pastejo, características estruturais e produtivas de dois genótipos anões selecionados (C1810 e P2022) em comparação ao controle (BRS Kurumi). Cada genótipo foi avaliado sob duas alturas de resíduo pós-pastejo, 30 e 40 cm para BRS Kurumi e P2022, e 35 e 45 cm para C1810, em esquema fatorial 3 x 2. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com três repetições. Os piquetes, medindo 64 m², foram pastejados por 3-4 vacas secas Holandês/Gir. O método de pastejo foi o de “*mob grazing*” e os animais ocupavam os piquetes por cerca de três horas. O pastejo ocorreu sempre que a altura média do dossel atingiu o dobro da altura recomendada para o resíduo. Durante a primavera-verão de 2023/2024 foram avaliados: intervalo de pastejo, número de ciclos de pastejo, massa de forragem colhida acima do resíduo, taxa de acúmulo de forragem, relação folha-colmo e acúmulo total de forragem. Os dados médios foram analisados pelo pacote estatístico SISVAR, com as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey a 10% de significância. O genótipo C1810 e BRS Kurumi apresentaram menor intervalo médio entre pastejos (23 dias) em relação ao P2022 (29,5 dias). Como consequência, houve mais ciclos de pastejo para o genótipo C1810 e BRS Kurumi (cinco ciclos) em relação ao P2022 (3 ciclos). Menores resíduos resultaram em menor período de descanso dos piquetes (24,3 x 26,3 dias). A relação folha-colmo e a porcentagem de folhas na forragem não variaram entre os genótipos e os resíduos avaliados, com valores médios de 13,6 e 87,5%, respectivamente. A massa de forragem colhida por ciclo (kg/ha de matéria seca - MS) não variou com as alturas dos resíduos, mas foi maior para o genótipo C1810 (3.900 kg/ha) em relação ao BRS Kurumi (3.104 kg/ha) e P2022 (3.052 kg/ha). Como resultado, observou-se maior taxa de acúmulo de forragem (kg/ha/dia MS) para C1810 (166,4 kg/ha/dia), com BRS Kurumi em posição intermediária (135,1 kg/ha/dia) e P2022 com o menor valor (103,8 kg/ha/dia). Da mesma forma, o acúmulo de forragem no período foi maior para C1810 (19,5 t/ha MS), intermediário para BRS Kurumi (15,5 t/ha MS) e menor para P2022 (9,2 t/ha MS), mas não variou com as alturas dos resíduos. O genótipo C1810 tem alto potencial para produção de forragem durante a estação chuvosa. Alturas menores de resíduos resultaram em períodos de descanso mais curtos.

Termos para indexação: *Cenchrus purpureus*, massa de forragem, relação folha-colmo, período de descanso, taxa de acúmulo de forragem.

Evaluation of elephant grass genotypes under grazing

Abstract — Elephant grass has great potential for producing forage with high nutritional value. However, conventional cultivars are tall and difficult to manage under grazing. Currently only the cultivar BRS Kurumi is available for use under grazing. New genotypes are being selected to increase production, tolerance to the dry period, etc. The objective of this study was to evaluate, under grazing, structural and productive traits of two selected

dwarf genotypes (C1810 and P2022) in comparison to the control (BRS Kurumi). Each genotype was evaluated under two post-grazing residue heights, 30 and 40 cm for BRS Kurumi and P2022 and 35 and 45 cm for C1810, in a 3 x 2 factorial scheme. The experimental design was randomized blocks with three repetitions. The paddocks, measuring 64 m², were grazed by 3-4 Holstein-Gyr dry cows. The grazing method was mob grazing with occupation lasting around 3 hours. Grazing took place when the average canopy height reached twice the recommended residue height. During the spring-summer of 2023/2024 were evaluated: grazing interval, number of grazing cycles, mass of forage harvested above the residue, forage accumulation rate, leaf-stem ratio and total forage accumulation. The average data were analyzed using the SISVAR statistical package, with the treatment averages compared using the Tukey test at 10%. The genotype C1810 and BRS Kurumi presented a shorter average interval between grazing (23 days) compared to P2022 (29.5 days). As a consequence, there were more grazing cycles for the genotype C1810 and BRS Kurumi (5 cycles) compared to P2022 (3 cycles). Lower residues resulted in a shorter interval between grazing (24.3 x 26.3 days). The leaf-stem ratio and the percentage of leaves in the forage did not vary between the genotypes and the residues evaluated, with average values of 13.6 and 87.5%, respectively. The harvest forage mass per cycle (kg ha⁻¹ of DM) did not vary with residue heights, but was greater for the genotype C1810 (3,900) in relation to BRS Kurumi (3,104) and P2022 (3,052). As a result, a higher forage accumulation rate (kg ha⁻¹ day⁻¹ DM) was observed for C1810 (166.4), with BRS Kurumi in an intermediate position (135.1) and P2022 with the lowest value (103.8). Likewise, forage accumulation in the period was highest for C1810 (19.5 t ha⁻¹ DM), intermediate for BRS Kurumi (15.5 t ha⁻¹ DM) and lowest for P2022 (9.2 t ha⁻¹ DM), but did not vary with the residue heights. The C1810 genotype has high potential for forage production during the rainy season. Lower residue heights resulted in shorter grazing intervals.

Index terms: *Cenchrus purpureus*, forage accumulation rate, forage mass, leaf-stem ratio, rest period.

Introdução

O capim-elefante (*Cenchrus purpureus*) tem grande potencial para produção de forragem com alto valor nutricional (Silva et al., 2021). No entanto, cultivares convencionais são altas e difíceis de manejar sob pastejo. Atualmente, apenas a cultivar BRS Kurumi está disponível para uso sob pastejo. Em 2023, a área total plantada com a BRS Kurumi foi estimada em 10,91 mil hectares (Rocha et al., 2023). Porém há necessidade do desenvolvimento de novas cultivares com o intuito de atender às demandas dos diferentes sistemas de produção brasileiros. Novos genótipos estão sendo selecionados para aumentar a produção, tolerância aos estresses bióticos e abióticos.

O conhecimento da dinâmica de crescimento de novos genótipos sob pastejo é fundamental para o lançamento de uma nova cultivar, para evitar erros que possam levar à degradação da pastagem, prejudicar o consumo animal e à subutilização do potencial genético da cultivar (Pereira et al., 2021).

A avaliação de características estruturais e produtivas é fundamental para entender o crescimento das plantas em resposta a fatores de crescimento e ao pastejo (Costa et al., 2021). Com base nesse entendimento, é possível estabelecer metas de manejo que proporcionem forragem em quantidade e qualidade para os animais, sem prejuízos à rebrotação, ao consumo animal e à persistência dos novos genótipos. Embora a dinâmica de crescimento seja controlada geneticamente, fatores como o pastejo e a altura de desfolhação podem interferir na estrutura e produção da planta forrageira. Portanto, o

objetivo deste estudo foi avaliar, sob pastejo, características estruturais e produtivas de dois genótipos anões selecionados (C1810 e P2022) em comparação à testemunha, a cultivar BRS Kurumi.

Os resultados desse trabalho vão ao encontro dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) contidos na Agenda 2030, proposta pela Organização das Nações Unidas, da qual o Brasil é signatário, sobretudo nos seguintes objetivos específicos: ODS 1: Erradicação da pobreza; ODS 2: Fome Zero e Agricultura Sustentável.

Material e métodos

O experimento foi conduzido no Campo Experimental José Henrique Bruschi, propriedade da Embrapa Gado de Leite, localizado em Coronel Pacheco, MG, (21°33'22" de latitude sul, 43°06'15" de longitude oeste e 410 m de altitude). O solo da área experimental é classificado como Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico, de textura argilosa (Santos et al., 2018).

O ensaio foi instalado em esquema fatorial 3 x 2, sendo duas alturas de resíduo pós-pastejo, 30 e 40 cm para BRS Kurumi e P2022 e 35 e 45 cm para C1810, em delineamento de blocos casualizados com três repetições, em piquetes medindo 64 m². As alturas de resíduo foram determinadas com base nas alturas encontradas para estes genótipos em estudo conduzido anteriormente em parcelas (Silva, 2024). O intervalo entre pastejos de cada piquete correspondeu ao alcance da altura média correspondente ao dobro da altura de resíduo pré-determinada, ou seja, 60 e 80 cm para a BRS Kurumi e P2022, e 70 e 90 cm para o C1810. As avaliações da altura média dos piquetes foram feitas em cinco pontos com régua graduada em centímetros.

O plantio, em sulcos, ocorreu por meio de mudas (colmos) transplantadas para o campo em 31/01/2023. O espaçamento de plantio foi de 50 cm entre linhas. No momento do plantio foi realizada a adubação fosfatada (superfosfato simples), no fundo do sulco, com o equivalente a 100 kg/ha de P₂O₅. No dia 16/03/23 foi feita adubação de cobertura com o equivalente a 40 kg/ha de N e K₂O por meio da fórmula 20-00-20 (N-P-K). Em 20/10/23 foi feito corte de condicionamento de cada piquete na sua respectiva altura de resíduo para início das avaliações da estação chuvosa 2023/2024 que se estenderam até abril de 2024. Após o corte de condicionamento das alturas de resíduo, e após cada pastejo subsequente, as adubações de cobertura ocorreram com a aplicação de N e K₂O em dose equivalente a 50 kg/ha por meio da fórmula 20-05-20 (N-P-K).

Os piquetes, foram pastejados por três vacas secas Holandês-Gir. O método de pastejo foi o de "*mob grazing*" (Allen et al., 2011) com duração da ocupação dos piquetes de cerca de três horas.

Durante a primavera-verão de 2023/2024 foram avaliados: intervalo de pastejo, massa de forragem colhida acima do resíduo, taxa de acúmulo de forragem, relação folha-colmo e acúmulo total de forragem.

Os dados médios foram analisados pelo pacote estatístico SISVAR, com as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey (genótipos) ou teste F (resíduos) a 10% de significância.

Resultados e discussão

O intervalo entre pastejos variou conforme o genótipo e a altura de resíduo avaliados. Maior intervalo foi observado para o genótipo P2022 (29,5 dias) revelando sua menor velocidade de rebrotação. O genótipo C1810 mostrou rápida capacidade de rebrotação

(23 dias), apresentando intervalo entre pastejo semelhante a BRS Kurumi (23,5 dias). Sob manejo de lotação rotacionada, intervalos entre pastejos mais curtos favorecem a qualidade da forragem, a estrutura do dossel e representam menor número de piquetes (Gomide et al., 2022). As alturas de resíduo tiveram menor efeito sobre o intervalo entre pastejos, mas observou-se que o maior resíduo resultou em dois dias a mais de rebrotação para atingimento da condição de pastejo (26,3 x 24,3 dias).

A massa de forragem colhida acima do resíduo por ciclo de pastejo variou entre os genótipos. Maior massa foi colhida nos piquetes do genótipo C1810, em relação à BRS Kurumi e P2022, que não diferiram entre si (Figura 1). As alturas de resíduo não influenciaram essa variável com valor médio de 3.352 kg/ha de MS. Este resultado mostra o grande potencial do genótipo C1810 para uso em sistemas intensivos de produção animal.

Figura 1. Massa de forragem colhida por ciclo de pastejo conforme os genótipos avaliados (Valores acompanhados por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey a 10% de probabilidade).

A alta massa de forragem produzida associada ao menor intervalo entre pastejo resultou em maior taxa de acúmulo de forragem (TAF) para o genótipo C1810 (Figura 2A), ficando a testemunha BRS Kurumi em posição intermediária e o genótipo P2022 com menor valor.

Como consequência das variáveis apresentadas acima, o acúmulo de forragem ao longo da estação chuvosa (Figura 2B) também mostrou a superioridade do genótipo C1810. O menor acúmulo de forragem do genótipo P2022 pode ser um limitante para seu futuro lançamento como cultivar. Obviamente que as avaliações são ainda parciais e a tolerância à seca é também um importante aspecto a ser avaliado (Pereira et al., 2021).

As alturas de resíduo não afetaram a TAF e o acúmulo de forragem, com média de 135 kg/ha/dia e 14,7 t/ha, respectivamente.

Figura 2. (A) Taxa de acúmulo de forragem (TAF); (B) Acúmulo de forragem dos genótipos avaliados no período chuvoso. (Valores acompanhados por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey a 10% de probabilidade).

Referências

- ALLEN, V. G.; BATELLO, C.; BERRETTA, E. J.; HODGSON, J.; KOTHMANN, M.; LI, X.; MCIVOR, J.; MILNE, J.; MORRIS, C.; PEETERS, A.; SANDERSON, M. An international terminology for grazing lands and grazing animals. **Grass and Forage Science**, v. 66, n. 1, p. 2-28, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.2010.00780.x>.
- COSTA, C. M.; DIFANTE, G. S.; COSTA, A. B. G.; GURGEL, A. L. C.; FERREIRA JUNIOR, M. A.; SANTOS, G. T. Grazing intensity as a management strategy in tropical grasses for beef cattle production: a meta-analysis. **Animal**, v. 15, n. 4, 100192, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.animal.2021.100192>.
- GOMIDE, C. A. de M.; JANK, L.; PACIULLO, D. S. C.; MARTUSCELLO, J. A.; EUCLIDES, V. P. B. A espécie *Panicum maximum* e a nova pecuária brasileira. In: SANTOS, M. V. F. dos; NEIVA, J. N. M. (ed.). **Culturas forrageiras no Brasil: uso e perspectivas**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2022. p. 89-119.
- PEREIRA, A. V.; AUAD, A. M.; BRIGHENTI, A. M.; MITTELMANN, A.; GOMIDE, C. A. de M.; MARTINS, C. E.; PACIULLO, D. S. C.; LEDO, F. J. da S.; OLIVEIRA, J. S. e; LEITE, J. L. B.; MACHADO, J. C.; MATOS, L. L. de; MORENZ, M. J. F.; ANDRADE, P. J. M.; BENDER, S. E.; ROCHA, W. S. D. da. **BRS Capiaçú e BRS Kurumi: cultivo e uso**. Brasília, DF: Embrapa, 2021. 115 p.
- ROCHA, D. T. da; BARROS, I. de; DINIZ, F. H.; REICHERT, L. J.; ANDRADE, P. J. M.; OLIVERIA, S. J. de M.; BENDER, S. E.; SILVA, W. C. da; MOREIRA, P.; MITTELMANN, A. **Relatório de avaliação dos impactos econômicos, sociais e ambientais de tecnologias geradas pela Embrapa: Capim-elefante cultivar BRS Kurumi**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado; Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2023. 34 p. Disponível em: https://bs.sede.embrapa.br/2023/relatorios/conjunto_gadodeleite-climatemperado_capimkurumi.pdf. Acesso em: 13 set. 2024.
- SANTOS, H. G. dos; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C. dos; OLIVEIRA, V. A. de; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A. de; ARAUJO FILHO, J. C. de; OLIVEIRA, J. B. de; CUNHA, T. J. F. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 5. ed. rev. e ampl. Brasília, DF: Embrapa, 2018.
- SILVA, P. H. F.; SALES, T. B.; LEMOS, M. F.; SILVA, M. da C.; RIBEIRO, R. E. P. Tall and short-sized elephant grass genotypes: morphophysiological aspects cut-and-carry, and grazing management. **Ciência Rural**, v. 51, n. 9, e20200848, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20200848>.
- SILVA, R. B. da. **Desempenho agrônomo e valor nutritivo de genótipos de capim-elefante de porte baixo sob duas alturas de desfolhação**. 2024. 74 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2024.

Análise da avidéz de anticorpos contra SARS-CoV-2 em soro e colostro hiperimmune

Paola Eduarda de Almeida Souza⁽¹⁾, Ana Paula Almeida Bastos⁽²⁾, Carlos Roberto Prudêncio⁽³⁾, Emanuelle Baldo Gaspar⁽⁴⁾, Wanessa Araújo de Carvalho⁽⁴⁾

⁽¹⁾Bolsista (Pibic/Fapemig), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Pesquisadora, Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC. ⁽³⁾ Pesquisador, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP. ⁽⁴⁾Pesquisadoras, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. E-mail: paola.souza@estudante.ufjf.br

Resumo – Anticorpos neutralizantes são moléculas capazes de bloquear a entrada de vírus e toxinas em células hospedeiras. Essas estruturas são secretadas no colostro bovino e podem ser usadas para tratamento e prevenção da COVID19, entretanto, ainda não há estudos que demonstrem a avidéz e eficácia desses anticorpos. O objetivo deste trabalho foi verificar o índice de avidéz dos anticorpos produzidos em soro e colostro de vacas imunizadas com a proteína RBD recombinante do vírus SARS-CoV-2 associada a diferentes adjuvantes ou encapsuladas em um nanossistema imunomodulador. Para isto, foi feito um ensaio ELISA modificado, com adição de ureia, um agente caotrópico, a fim de verificar a afinidade funcional entre o antígeno RBD e anticorpos neutralizantes. Animais imunizados com o nanossistema imunomodulador apresentaram IgG de alta avidéz em comparação aos outros grupos, tanto em soro quanto colostro. Para verificar a eficácia do uso desses anticorpos serão necessários, futuramente, estudos em modelo murino susceptível a COVID-19 a fim de avaliar a eficácia de uso nutracêutico de colostro hiperimmune e imunoglobulinas purificadas na proteção contra a doença.

Termos para indexação: anticorpos neutralizantes, colostro bovino, COVID-19, índice de avidéz.

Analysis of avidity of antibodies against SARS-CoV-2 in serum and hyperimmune colostrum

Abstract – Neutralizing antibodies are molecules capable of blocking the entry of viruses and toxins into host cells. These structures are secreted in bovine colostrum and can be used to treat and prevent COVID19. However, there are still no studies that demonstrate the avidity and efficacy of these antibodies. The objective of this study was to verify the avidity index of antibodies produced in serum and colostrum of cows immunized with the recombinant RBD protein of the SARS-CoV-2 virus associated with different adjuvants or encapsulated in an immunomodulatory nanosystem. For this purpose, a modified ELISA assay was performed, with the addition of urea, a chaotropic agent, in order to verify the functional affinity between the RBD antigen and neutralizing antibodies. Animals immunized with the immunomodulatory nanosystem presented high avidity IgG compared to the other groups, both in serum and colostrum. To verify the efficacy of the use of these antibodies, future studies will be necessary in a murine model susceptible to COVID-19 in order to evaluate the efficacy of the nutraceutical use of hyperimmune colostrum and purified immunoglobulins in protecting against the disease.

Index terms: avidity index, bovine colostrum, COVID-19, neutralizing antibodies.

Introdução

A COVID-19 caracteriza-se como uma grave emergência de saúde pública global que

ainda causa muitos danos à população devido a um quadro multissistêmico com sintomas debilitantes, denominado COVID Longa (Turner et al., 2023). Dessa forma, alternativas de combate a essa enfermidade são necessárias e o colostro bovino hiperimune apresenta-se como uma ferramenta promissora (Duman; Karav, 2023). Estudos anteriores da equipe de pesquisa em imunologia da Embrapa Gado de Leite demonstraram que vacas imunizadas com a proteína Spike (domínio RBD) do SARS-CoV-2 produziram anticorpos neutralizantes (Souza et al., 2024). Para que esses anticorpos sejam validados para tratamento de COVID-19 é mandatório verificar sua avidéz, que representa a estabilidade de ligação entre antígeno e anticorpo, inclusive de anticorpos IgG1, que são essenciais para controle da doença (Moura et al., 2021). Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o índice de avidéz dos anticorpos neutralizantes obtidos em soro, no momento do parto, e no colostro de vacas imunizadas com diferentes formulações contendo a proteína Spike (domínio RBD) do SARS-CoV-2 em adjuvantes comerciais (QuilA® e Alumen Inject®) ou encapsulada em um nanossistema imunomodulador biocompatível com direcionamento ativo para fagócitos (NIBDAF; em fase de patenteamento).

As informações contidas nesse documento contribuem para o alcance dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), contidos na Agenda 2030, proposta pela Organização das Nações Unidas (ONU), especificamente para o ODS 3 - Saúde de qualidade: Assegurar uma vida saudável e promover o bem-estar para todos, em todas as idades.

Material e métodos

Em estudo anterior, foram coletados soro e colostro de vacas imunizadas, no terço final da gestação, com proteína Spike (domínio RBD) recombinante do vírus SARS-CoV-2 diluídas nos adjuvantes comerciais QuilA® e Alumen Inject® ou encapsuladas em NIBDAF (Souza et al., 2024). As coletas de soro foram feitas antes de cada imunização e no parto juntamente com o colostro. Para avaliar a produção de anticorpos anti-Spike (RBD) em soro e colostro foram feitas padronizações de ELISA, conforme tabela 1.

Tabela 1. Condições ideais para a realização do ensaio ELISA obtidas a partir de padronização.

Soro e colostro									
Sub-classes	Antígeno	Incubação	Bloqueio	Incubação	Diluição	Incubação	Diluição anticorpos de detecção	Incubação	Revelação
IgG	2µg/mL	Overnigth 4°C	PBS Tween + leite em pó desnatado 5%	2 horas	1/200	1 hora a 37°C	1/20.000	1 hora a 37°C	Dicloridrato de o-fenilenodiamina (OPD)
IgG1	2µg/mL	Overnigth 4°C	PBS Tween + leite em pó desnatado 5%	2 horas	1/200	1 hora a 37°C	1/20.000	1 hora a 37°C	Dicloridrato de o-fenilenodiamina (OPD)
IgG2	2µg/mL	Overnigth 4°C	PBS Tween + leite em pó desnatado 5%	2 horas	1/200	1 hora a 37°C	1/20.000	1 hora a 37°C	Dicloridrato de o-fenilenodiamina (OPD)

Para avaliar o índice de avidéz dos anticorpos produzidos, foi utilizado um ensaio de ELISA modificado, conforme descrito por Björkman et al. (1999), que adiciona um agente caotrópico capaz de provocar dissociação entre o antígeno e anticorpo de baixa avidéz, provocando uma alteração na densidade ótica (DO; 492 nm). Em resumo, foram utilizadas as condições citadas na Tabela 1 e, após a incubação com soro ou colostro, foi adicionada

uma etapa de incubação ureia (Sigma-Aldrich®, 6M), por 5 minutos, em temperatura ambiente. Tanto o ensaio modificado com ureia quanto o não modificado foram desenvolvidos ao mesmo tempo na placa, evitando variações entremostra e interplacas. Após as lavagens com PBS Tween 0,05% e adição do anticorpo anti-IgG bovino marcado com peroxidase, a reação foi revelada com dicloridrato de o-fenilenodiamina (OPD). O percentual de índice de avidéz foi calculado com base no título de anticorpos obtidos conforme a fórmula:

$$\text{Índice de Avidéz (\%)} = \frac{\text{Título de anticorpos com Ureia}}{\text{Título de anticorpos sem Ureia}} \times 100$$

As médias dos índices de avidéz foram calculadas individualmente para cada grupo e associadas ao desvio padrão para a obtenção dos cálculos estatísticos por meio dos Testes Sidak e Tukey para análise de significância dos dados.

Resultados e discussão

Os resultados demonstraram que vacas imunizadas com NIBDAF produzem anticorpos da classe IgG com alta avidéz em soro ($P < 0,01$; Figura 1A). Em relação a IgG2, os níveis apresentados por vacas imunizadas com NIBDAF são equivalentes ao Alumen® e relativamente superiores a QuilA® em soro ($P < 0,01$; Figura 1C). Vale ressaltar que os anticorpos da subclasse IgG1 apresentam altos índices de avidéz em soro com relação ao colostro em todos os grupos ($P < 0,05$ e $P < 0,001$; Figura 1B).

Figura 1. Índice de Avidéz em soro e colostro de vacas imunizadas com a proteína Spike (domínio RBD) recombinante do vírus SARS-CoV2 associada a adjuvantes ou encapsuladas em NIBDAF. Em Y: Índice de avidéz. Asteriscos refletem diferenças significativas nos testes de Tukey e Sidak (* $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ e *** $P < 0,001$).

Em ensaios anteriores demonstramos maior taxa de inibição viral em colostro de grupos imunizados com QuilA® (96%), Alumen® (91%) e NIBDAF (66%) em comparação ao soro (Souza et al., 2024), no entanto, a avidéz dos anticorpos neutralizantes demonstrou que a formulação RBD+NIBDAF induz anticorpos de alta afinidade funcional em comparação aos outros dois adjuvantes. Gaspar e Gaspari (2021) identificaram boa correlação entre o ensaio de avidéz ELISA e a neutralização viral para COVID19 em amostras de soro de camundongo imunizado. Uma vez que testamos a neutralização viral com soro e colostro contendo todas as subclasses de anticorpos, espera-se que, nesse ensaio, em que são avaliadas a avidéz por subclasses distintas, possam haver resultados não correlacionados diretamente com a neutralização, que também pode ser realizada por outros isotipos de anticorpos como IgM e IgA. Vale destacar que o NIBDAF demonstrou ser eficiente em induzir anticorpos de alta avidéz. Para refinamento dos resultados, o teste será ampliado para verificar a maturação de afinidade das imunoglobulinas ao longo das imunizações utilizando soros animais que se encontram armazenados. É importante salientar a predominância da subclasse IgG1 em

resposta à infecção por SARS-CoV-2 e outros vírus, inclusive em quadros leves e que não evoluem para óbito (Moura et al., 2021), produzida com alta avidéz em soro e colostro. Nos próximos passos, a eficácia do colostro hiperimune deve ser testada como nutracêutico e biofármaco em modelos murinos transgênicos para ACE2 humana (Sun et al., 2020). Essa etapa será crucial para validar a utilização dos anticorpos neutralizantes e do colostro em possíveis produtos farmacêuticos e nutracêuticos para humanos.

Conclusões

Vacas produzem anticorpos neutralizantes de alta afinidade, em soro e colostro, frente à imunização de vacas com antígeno de SARS-CoV-2 em formulação QuilA®, Alumen® e NIBDAF. O nanossistema NIBDAF apresentou efetividade individual em produzir anticorpos de alta afinidade funcional e pode compor uma alternativa promissora para nanovacinas bovinas.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa Científica de Minas Gerais (FAPEMIG, APQ-00659-21), à Embrapa Gado de Leite e ao Laboratório Multiusuário de Bioeficiência e Sustentabilidade da Pecuária (LMBS) pelo apoio na condução de experimentos e ao Instituto Adolfo Lutz pela parceria de pesquisa, produção e purificação de antígenos.

Referências

- BJÖRKMAN, C.; NÄSLUND, K.; STENLUND, S.; MALEY, S. W.; BUXTON, D.; UGGLA, A. An IgG avidity ELISA to discriminate between recent and chronic *Neospora caninum* infection. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 11, n. 1, p. 41-44, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1177/104063879901100106>.
- DUMAN, H.; KARAV, S. Bovine colostrum and its potential contributions for treatment and prevention of COVID-19. **Frontiers in Immunology**, v. 14, 1214514, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1214514>.
- GASPAR, E. B.; GASPARI, E. Avidity assay to test functionality of anti-SARS-Cov-2 antibodies. **Vaccine**, v. 39, n. 10, p. 1473-1475, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.02.003>.
- MOURA, A. D.; COSTA, H. H. M.; CORREA, V. A.; LIMA, A. K. S.; LINDOSO, J. A. L.; GASPARI, E.; HONG, M. A.; CUNHA JÚNIOR, J. P.; PRUDÊNCIO, C. R. Assessment of avidity related to IgG subclasses in SARS-CoV-2 Brazilian infected patients. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, article 17642, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95045-z>.
- SOUZA, P. E. A.; MOREIRA, L. S.; CARVALHO, C. V.; HONÓRIO, N. T.; BASTOS, A.; SILVA, L. P.; PRUDÊNCIO, C. R.; DOMINGUES, R.; GASPAR, E. B.; FRANCO, A. L.; FAZA, D. R. L. R.; BRANDÃO, H. M.; DIAVÃO, J.; SILVA, A. S.; CAMPOS, M. M.; CARVALHO, W. A. Desenvolvimento de estratégias inovadoras de imunização para viabilizar o uso de vacas como biofábricas de anticorpos neutralizantes produzidos a partir do colostro para tratamento e prevenção de doenças pandêmicas. In: WORKSHOP DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA GADO DE LEITE, 28., 2023, Juiz de Fora. **Anais**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2024. p. 31-35. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/doc/1163616/1/Workshop-de-Iniciacao-Cientifica-da-Embrapa-Gado-De-Leite-Pibic-Fapemig.pdf>. Acesso em: 13 set. 2024.
- SUN, S. H.; CHEN, Q.; YANG, G.; WANG, Y. X.; HUANG, X. Y.; LIU, S. S.; ZHANG, N. N.; LI, X. F.; XIONG, R.; GUO, Y.; DENG, Y. Q.; HUANG, W. J.; LIU, Q.; LIU, Q. M.; SHEN, Y. L.; ZHOU, Y.; YANG, X.; ZHAO, T. Y.; FRAN, C. F.; ZHOU, Y. S.; QIN, C. F.; WANG, Y. C. A mouse model of SARS-CoV-2 infection and pathogenesis. **Cell host & microbe**, v. 28, n. 1, p. 124-133, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.05.020>.
- TURNER, S.; KHAN, M. A.; PUTRINO D.; WOODCOCK, A.; KELL D. B.; PRETORIUS E. Long COVID: pathophysiological factors and abnormalities of coagulation. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 34, n. 6, p. 321-344, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tem.2023.03.002>.

Sobrevivência *in vitro* de nematoides entomopatogênicos em formulação associada a extrato glicólico de eucalipto para uso no controle biológico do carrapato bovino

Letícia dos Santos Moreira⁽¹⁾, Diego Rodrigues Melo⁽²⁾, Melissa Carvalho Machado de Couto Chambarelli⁽³⁾, Ana Caroline Ferreira de Souza⁽⁴⁾, Alessandra Ésther de Mendonça⁽⁵⁾, Ralph Maturano Pinheiro⁽⁵⁾, Caio Márcio de Oliveira Monteiro⁽⁶⁾, Paola Eduarda de Almeida Souza⁽¹⁾, Wanessa Araújo Carvalho⁽⁷⁾, Márcia Cristina de Azevedo Prata⁽⁷⁾

⁽¹⁾Bolsista (Pibic/Fapemig), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Professor, Prefeitura de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG. ⁽³⁾Professora Adjunta, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. ⁽⁴⁾Bolsista (Capes), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽⁵⁾Professor Adjunto, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG. ⁽⁶⁾Professor Adjunto, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO. ⁽⁷⁾Pesquisadoras, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. E-mail: le.santos@estudante.ujf.br

Resumo — O carrapato bovino é dos principais obstáculos ao desenvolvimento da pecuária. Nematoides entomopatogênicos (NEPs) são promissoras alternativas para seu controle. Para evitar ação deletéria de fatores abióticos sobre NEPs foi desenvolvida formulação protetora, demandando aprimoramento para efeito satisfatório. Uma possibilidade seria associação a extratos vegetais, desde que tais compostos possam exercer ação sem prejudicar sobrevivência de NEPs. Logo, o objetivo deste estudo foi avaliar compatibilidade de NEPs HP88 e LPP30 em formulação associados a extrato glicólico de eucalipto, a partir do monitoramento da sobrevivência. Cada estirpe de NEPs em formulação foi adicionada a extrato glicólico de eucalipto 5, 10 e 15%, avaliando-se a sobrevivência diariamente. A associação com extrato glicólico de eucalipto 5% possibilitou maior sobrevivência para HP88 e LPP30. NEPs LPP30 em formulação associados a extrato glicólico de eucalipto 5% apresentaram valores estatisticamente semelhantes de sobrevivência por maior tempo de exposição (576h) quando comparado a HP88 (408h), ambos estatisticamente equivalentes aos controles. Embora ambas as estirpes tenham demonstrado desempenho satisfatório, a associação LPP30 em formulação com extrato glicólico de eucalipto 5% se apresenta como alternativa mais promissora em pesquisas futuras para controle do carrapato, por proporcionar sobrevivência inalterada por mais tempo.

Termos para indexação: *Eucalyptus globulus*, *Heterorhabditis* spp, HP88, LPP30.

***In vitro* survival of entomopathogenic nematodes in formulation associated with glycolic extract of eucalyptus for use in the biological control of the cattle tick**

Abstract — Cattle tick is one of the main obstacles in livestock farming. Entomopathogenic nematodes (EPNs) are promising control alternatives. To avoid the deleterious effects of abiotic factors on EPNs, a protective formulation was developed, requiring improvement for satisfactory results. One possibility would be the combination with plant extracts, provided that such compounds can act without harming the survival of EPNs. Therefore, the aim of this study was to evaluate the compatibility of the EPN strains HP88 and LPP30 in a formulation associated with a glycolic eucalyptus extract, based on survival monitoring. Each EPN strain in the formulation was added to eucalyptus at 5%, 10%, and 15%, and survival was assessed daily. The combination with 5% eucalyptus allowed better survival for HP88 and LPP30. LPP30 in the formulation associated with 5% eucalyptus showed statistically similar survival values for a longer exposure time (576h) compared to HP88 (408h), both statistically equivalent to the controls. Although both strains demonstrated satisfactory performance, the combination of LPP30 in the formulation with 5% eucalyptus

appears to be a more promising alternative for future research on tick control, as it provides unaltered survival for a longer period.

Index terms: *Eucalyptus globulus*, *Heterorhabditis* spp, HP88, LPP30.

Introdução

Dentre os principais obstáculos enfrentados pelos pecuaristas na criação de bovinos destaca-se o carrapato *Rhiphicephalus microplus*, com impacto negativo, em aspectos financeiros e de bem-estar animal, estimado em US\$ 3,24 bilhões de dólares/ano no Brasil (Grisi et al., 2014). A principal forma de controle consiste no método químico. Contudo, a utilização de produtos químicos de maneira indiscriminada favorece a seleção de carrapatos resistentes aos princípios ativos utilizados nas formulações, também podendo resultar em resíduos nos alimentos (carne e leite), o que leva a pressões da sociedade por alternativas mais sustentáveis. Dessa forma, é fundamental o desenvolvimento de métodos alternativos para o controle dos carrapatos. A partir dessa necessidade, a Embrapa Gado de Leite iniciou uma linha de pesquisa em que atua desde os anos 2000, utilizando nematoides entomopatogênicos (NEPs) como potenciais controladores biológicos, com inúmeros avanços *in vitro* (Monteiro et al., 2024). Entretanto, ao serem conduzidos experimentos *in vivo*, os resultados apresentados foram insatisfatórios, devido à ação de fatores abióticos, como dessecação, que prejudicaram a sobrevivência e a infectividade dos NEPs. A fim de solucionar o problema, Mendonça et al. (2019) elaboraram uma formulação para proteger os NEPs dos fatores abióticos. Ao ser testada *in vivo*, a formulação com NEPs apresentou resultados significativos, porém ainda não satisfatórios. Uma solução seria a agregação de outros tipos de agentes protetores, como extratos vegetais (Melo et al., 2024; Monteiro et al., 2024). É importante destacar, no entanto, que de nada adianta se o agente a ser associado, mesmo sendo eficiente no controle do carrapato, exerça algum tipo de ação prejudicial à sobrevivência dos NEPs em formulação. Desse modo, o presente estudo teve por objetivo avaliar a compatibilidade entre os NEPs *Heterorhabditis bacteriophora* isolado HP88 e *Heterorhabditis indica* LPP30 em formulação protetora e diferentes concentrações de extrato glicólico de eucalipto no tocante à sobrevivência dos NEPs.

As informações contidas nesse documento contribuem para o alcance dos seguintes Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), contidos na Agenda 2030, proposta pela Organização das Nações Unidas (ONU): ODS 2 - Erradicação da fome: Acabar com a fome, alcançar a segurança alimentar e melhoria da nutrição e promover a agricultura sustentável; ODS 3 - Saúde de qualidade: Assegurar uma vida saudável e promover o bem-estar para todos, em todas as idades; ODS 6 - Água limpa e saneamento: Garantir disponibilidade e manejo sustentável da água e saneamento para todos; ODS 8 – Empregos dignos e crescimento econômico: Promover o crescimento econômico sustentado, inclusivo e sustentável, emprego pleno e produtivo, e trabalho decente para todos.

Material e métodos

Os dois isolados de NEPs, *H. bacteriophora* HP88 e *H. indica* LPP30, cedidos pela UFRRJ, foram cultivados no Laboratório de Parasitologia da Embrapa Gado de Leite, usando os preceitos de Kaya e Stock (1997) (SISGEN AB410AB e SISBIO 46662). O extrato glicólico (EG) de *Eucalyptus globulus* Labill foi obtido no comércio (Bianquímica, lote 2542). A formulação protetora foi sintetizada conforme Mendonça et al. (2019). No laboratório foram desenvolvidas as diluições do EG para obtenção das três concentrações necessárias

(5%, 10% e 15%). A formulação protetora associada ao EG foi incorporada à solução de NEPs (2.000 NEPs/mL) na proporção 1:1, de modo que a solução final (NEPs em formulação protetora + extrato glicólico de eucalipto 5%, 10% ou 15%) possuía a concentração de 1.000 NEPs/mL (Melo et al., 2024), além de dois grupos controle (NEPs em água; NEPs apenas em formulação), acondicionados em câmara climatizada (16 ± 1 °C e $80 \pm 10\%$ de umidade relativa). Para cada avaliação foram retiradas dez alíquotas de 10 μ L, transferidas para lâmina de microscopia, sendo contados NEPs vivos e mortos. Nos primeiros cinco dias as avaliações foram efetuadas a cada 24h, no período seguinte as avaliações ocorreram em intervalos de três dias e subsequentemente o procedimento foi repetido a cada sete dias até a morte de todos os NEPs ou quando houvesse três avaliações com sobrevivências iguais. A taxa de sobrevivência foi calculada pela divisão do número de NEPs vivos pelo seu total e posterior multiplicação por 100. Foi realizado o mesmo procedimento para os NEPs HP88 e LPP30. Os resultados, expressos em porcentagem, foram transformados em $\sqrt{\text{arcseno } x}$. Após conversão dos dados, estes foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-wilk, seguido de ANOVA e Tukey ($p < 0,05$) para amostragens de distribuição normal. Em caso de distribuição não normal, foi realizada a transformação de dados (recíproca ou log). Persistindo tal condição, por meio do software BioEstat 5.0, foram aplicados os testes não paramétricos de Kruskal-Wallis e Student-Newman-Keuls ($p < 0,05$), para avaliar a ação de cada associação de NEPs em formulação protetora com EG eucalipto sobre a sobrevivência.

Resultados e discussão

Verificando-se a Tabela 1, percebe-se que a associação do EG de eucalipto nas concentrações 5, 10 e 15% à formulação protetora com NEPs não foi deletéria a HP88 em formulação nas primeiras 240h (10 dias) de contato, com taxa de sobrevivência acima de 90% nas três concentrações do EG, estatisticamente semelhantes aos controles, com percentuais a partir de 92% ($p > 0,05$). Analisando separadamente os tratamentos com concentrações diferentes de EG ao longo do tempo, verificam-se valores estatisticamente semelhantes até 408h (17 dias) nas associações com EG eucalipto 5 e 10%, e até 240h (10 dias) na associação a 15%, todos também estatisticamente semelhantes aos controles, relacionados às respectivas faixas de tempo ($p > 0,05$). Tendo em vista a utilização das informações do presente estudo para a realização de pesquisas futuras, assim como demonstrado em Melo et al. (2024) no estudo utilizando NEPs em formulação associados ao óleo essencial de alecrim, a combinação utilizando o EG eucalipto a 5% seria a mais viável economicamente, uma vez que proporciona a maior porcentagem de sobrevivência por tempo de exposição, utilizando a menor quantidade do produto, consequentemente contribuindo para custo reduzido, menor impacto ambiental e pressão de seleção reduzida. Os dados da Tabela 2 demonstram que o acréscimo do EG de eucalipto a 5, 10 e 15% à formulação protetora com *H. indica* LPP30 não alterou significativamente a sobrevivência dos NEPs em até 48h (2 dias), apresentando taxa acima de 90% nas três concentrações do EG, estatisticamente equivalentes aos controles, que se expressaram a partir de 99,5% ($p > 0,05$).

Tabela 1. Taxa de sobrevivência (%) de *Heterorhabditis bacteriophora* HP88 após diferentes tempos de incorporação nas formulações contendo agente gelificante carboximetilcelulose sódica 0,23% (CMC) e extrato glicólico de eucalipto a 16 ± 1 °C e $80 \pm 10\%$ de umidade relativa. Média $\pm$ desvio padrão.

Tempo de exposição (horas)	Tratamentos				
	Controle água destilada	Controle FP	FP + EGE 5%	FP + EGE 10%	FP + EGE 15%
24	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aab} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0
48	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	94,1 ^{Aa} $\pm$ 20,5	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	95,5 ^{Aa} $\pm$ 29,6	90,6 ^{Aa} $\pm$ 22,6
72	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	93,6 ^{Aa} $\pm$ 21,0	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	99,4 ^{Aa} $\pm$ 24,3	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0
96	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	92,0 ^{Aa} $\pm$ 17,9	98,1 ^{Aa} $\pm$ 22,2	94,8 ^{Aa} $\pm$ 26,6	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0
120	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	96,5 ^{Aa} $\pm$ 13,3	98,3 ^{Aa} $\pm$ 26,5	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0
192	92,0 ^{Aa} $\pm$ 23,4	100,0 ^{Aab} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0
240	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Abc} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aab} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0
408	93,5 ^{Aa} $\pm$ 14,8	100,0 ^{Aac} $\pm$ 0,0	87,1 ^{Aa} $\pm$ 18,2	91,7 ^{Aa} $\pm$ 31,5	43,3 ^{Bb} $\pm$ 19,2
576	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aac} $\pm$ 0,0	37,4 ^{Bbc} $\pm$ 15,0	42,7 ^{Bb} $\pm$ 8,9	12,1 ^{Cb} $\pm$ 7,5
744	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aac} $\pm$ 0,0	31,8 ^{Bbc} $\pm$ 12,4	39,6 ^{Bb} $\pm$ 20,8	0,0 ^{Cb} $\pm$ 0,0
912	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Abc} $\pm$ 0,0	20,6 ^{Bc} $\pm$ 11,4	9,5 ^{Bb} $\pm$ 9,6	
1080	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aac} $\pm$ 0,0	4,8 ^{Bc} $\pm$ 7,3	0,0 ^{Bb} $\pm$ 0,0	
1248	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Abc} $\pm$ 0,0	0,0 ^{Bc} $\pm$ 0,0		

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística ($p < 0,05$) entre as médias em uma determinada linha, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística ($p < 0,05$) entre as médias em cada coluna.

Tabela 2. Taxa de sobrevivência (%) de *Heterorhabditis bacteriophora* isolado LPP30 após diferentes tempos de incorporação nas formulações contendo agente gelificante carboximetilcelulose sódica 0,25% (CMC) e extrato glicólico de eucalipto a 16 ± 1 °C e $80 \pm 10\%$ de umidade relativa. Média $\pm$ desvio padrão.

Tempo de exposição (horas)	Tratamentos				
	Controle água destilada	Controle FP	FP + EGE 5%	FP + EGE 10%	FP + EGE 15%
24	100,0 ^{Aab} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	99,4 ^{Aa} $\pm$ 14,4	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	90,5 ^{AabC} $\pm$ 13,1
48	99,5 ^{Aabc} $\pm$ 8,9	100,0 ^{Aab} $\pm$ 0,0	96,3 ^{Aab} $\pm$ 13,3	92,1 ^{Aab} $\pm$ 11,2	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0
72	97,7 ^{ABa} $\pm$ 6,5	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	88,3 ^{Cab} $\pm$ 15,2	93,0 ^{BCab} $\pm$ 12,3	94,8 ^{BCab} $\pm$ 8,1
96	95,2 ^{ABabc} $\pm$ 7,9	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	87,7 ^{Cab} $\pm$ 11,3	89,5 ^{BCab} $\pm$ 13,1	97,7 ^{ACa} $\pm$ 11,7
120	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	96,3 ^{ABa} $\pm$ 11,3	95,3 ^{ABab} $\pm$ 7,3	89,7 ^{BCab} $\pm$ 14,4	71,5 ^{Ccd} $\pm$ 13,0
192	92,6 ^{ABabcd} $\pm$ 18,1	98,2 ^{Aab} $\pm$ 17,3	99,5 ^{Aa} $\pm$ 11,9	94,7 ^{ABab} $\pm$ 11,6	76,8 ^{Bbd} $\pm$ 12,2
240	85,0 ^{ABcgh} $\pm$ 9,7	95,9 ^{Aab} $\pm$ 14,8	89,5 ^{Aab} $\pm$ 14,6	85,8 ^{ABab} $\pm$ 11,8	69,6 ^{Bd} $\pm$ 13,1
408	90,5 ^{ABbfh} $\pm$ 10,5	100,0 ^{Aab} $\pm$ 0,0	89,6 ^{ABab} $\pm$ 15,7	78,9 ^{Bbc} $\pm$ 9,3	53,6 ^{Cde} $\pm$ 10,1
576	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	100,0 ^{Aa} $\pm$ 0,0	97,2 ^{ABab} $\pm$ 9,4	77,9 ^{Bbc} $\pm$ 14,2	33,9 ^{Ce} $\pm$ 10,5
744	95,0 ^{Aaf} $\pm$ 11,3	98,3 ^{Aab} $\pm$ 16,0	79,1 ^{Abc} $\pm$ 9,8	22,4 ^{Bcd} $\pm$ 8,5	0,0 ^{Be} $\pm$ 0,0
912	96,2 ^{Aaf} $\pm$ 8,9	97,4 ^{Aab} $\pm$ 14,3	61,4 ^{Bcd} $\pm$ 15,6	13,4 ^{Cd} $\pm$ 6,6	
1080	89,6 ^{Acfn} $\pm$ 12,7	84,4 ^{Abc} $\pm$ 13,4	57,2 ^{Bcde} $\pm$ 18,2	3,8 ^{Cd} $\pm$ 5,3	

Continua...

Continuação.

Tempo de exposição (horas)	Tratamentos				
	Controle água destilada	Controle FP	FP + EGE 5%	FP + EGE 10%	FP + EGE 15%
1248	69,7 ^{Aeg} ± 12,2	72,8 ^{Ac} ± 19,4	47,5 ^{Bde} ± 9,6	0,0 ^{Cd} ± 0,0	
1416	81,3 ^{Adfgi} ± 14,3	68,2 ^{ABcd} ± 19,5	55,2 ^{Bce} ± 18,0		
1584	58,2 ^{Aei} ± 15,7	51,2 ^{ABcd} ± 18,0	35,6 ^{Bde} ± 13,8		
1752	45,3 ^{Ae} ± 17,7	29,8 ^{Bd} ± 11,5	29,7 ^{Be} ± 7,7		
1920	76,8 ^{Aehi} ± 12,1	57,1 ^{Bcd} ± 13,0	35,8 ^{Cde} ± 9,6		
2088	58,5 ± 16,3	25,2 ± 12,5	17,2 ± 9,7		
2256	56,3 ± 16,3	55,1 ± 10,5	38,7 ± 11,6		
2424	55,3 ± 18,0	22,1 ± 12,7	25,7 ± 10,1		
2592	44,8 ± 15,9	15,4 ± 11,9	17,2 ± 10,2		
2760	66,4 ± 22,5	31,1 ± 18,9	8,9 ± 7,7		

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística ($p < 0,05$) entre as médias em uma determinada linha, enquanto letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística ($p < 0,05$) entre as médias em cada coluna.

Ao avaliar isoladamente os tratamentos ao longo do tempo, as associações com EG eucalipto a 5 e 10% proporcionaram índices estatisticamente semelhantes de sobrevivência de NEPs até 576h (24 dias) e 240h (10 dias), respectivamente, enquanto a solução a 15%, até 96h (4 dias), todos estatisticamente equivalentes aos controles em seus respectivos tempos ($p > 0,05$). Por meio dos dados do presente estudo, conclui-se que, à semelhança do ocorrido com HP88, a associação dos NEPs LPP30 em formulação protetora com EG eucalipto 5% seria a escolha mais adequada. Analisando os dados das Tabelas 1 e 2 para comparação entre estirpes, no tratamento com EG eucalipto 5%, percebe-se que LPP30 sofreu redução significativa na sobrevivência somente a partir de 744h, enquanto HP88 teve sobrevivência reduzida a partir de 576h. Uma vez que são necessárias 48 a 72h de exposição para ação eficaz de NEPs *Heterorhabditis* sp. sobre o carrapato bovino *in vitro* (Monteiro et al., 2012), considera-se que ambas as estirpes em associação com EG eucalipto 5% demonstraram desempenho satisfatório. Contudo, ao se considerar a influência deletéria dos fatores abióticos a campo, a ação protetora das associações sobre os NEPs torna-se ainda mais importante. Portanto, a associação LPP30 em formulação com EG eucalipto 5% apresenta-se como a alternativa mais promissora a ser avaliada em pesquisas futuras para o controle de *R. microplus*, por proporcionar sobrevivência inalterada de NEPs por maior tempo.

Conclusões

As associações de NEPs HP88 e LPP30 em formulação protetora com extrato glicólico de eucalipto a 5% não exercem efeito deletério na sobrevivência de NEPs por períodos prolongados.

A associação LPP30 em formulação protetora com EG de eucalipto 5% constitui a alternativa mais promissora em pesquisas futuras para controle do carrapato bovino, por proporcionar sobrevivência inalterada de NEPs por maior tempo.

Referências

- GRISI, L.; LEITE, R. C.; MARTINS, J. R. de S.; BARROS, A. T. M. de; ANDREOTTI, R.; CANÇADO, P. H. D.; LEON, A. A. P.; PEREIRA, J. B.; VILLELA, H. S. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, n. 2, p. 150-156, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612014042>.
- KAYA, H. K.; STOCK, P. S. Techniques in insect nematology. In: LACEY, L. A. (ed.). **Manual of techniques in insect pathology**. London: Academic Press, 1997. p. 281-324. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-432555-5.X5000-3>.
- MENDONÇA, A. E. de; MOREIRA, R. G.; AMARAL, M. da P. H. do; MONTEIRO, C. M. de O.; MELLO, V. de; VILELA, F. M. P.; HOMEM, F. C. M.; FURLONG, J.; DOLINSKI, C.; PRATA, M. C. de A.; CHAGAS, E. F. das. Entomopathogenic nematodes in pharmaceutical formulations for *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) control: in vitro evaluation of compatibility, thermotolerance, and efficiency. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 10, n. 4, p. 781-786, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.03.012>.
- MELO, D. R.; MENDONÇA, A. E. de; JAEGER, L. H.; MOREIRA, L. dos S.; PINHEIRO, R. M.; CHAMBARELLI, M. C. M. do C.; SOUZA, A. C. F. de; MONTEIRO, C. M. de O.; PRATA, M. C. de A. Formulação contendo nematoides entomopatogênicos (NEPs) associados a óleo essencial de alecrim para controle do carrapato dos bovinos. In: CONGRESSO NACIONAL DE AGRONOMIA ON-LINE, 1., 2024. **Resumos**. Teresina: Wissen, 2024. p. 205.
- MONTEIRO, C. M. de O.; PRATA, M. C. de A.; FAZA, A.; BATISTA, E. S. de P.; DOLINSKI, C.; FURLONG, J. Heterorhabditis bacteriophora (*Rhabditida: Heterorhabditidae*) HP88 for biological control of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae): the effect of different exposure times of engorged females to the nematodes. **Veterinary Parasitology**, v. 185, n. 2/4, p. 364-367, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.10.007>.
- MONTEIRO, C.; FERNANDES, E. K. K.; GOLO, P. S.; PERINOTTO, W. M. de S.; PRATA, M. C. de A.; BITTENCOURT, V. R. E. P. Controle biológico de carrapatos com ênfase na utilização de fungos e nematoides entomopatogênicos. In: BARROS-BATTESTI, D. M.; MACHADO, R. Z.; ANDRÉ, M. R. **Ectoparasitofauna brasileira de importância veterinária: acarofauna de importância veterinária: parasitiformes - Ixodida, parte II**. Jaboticabal: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2024. v. 3, p. 351-402.

Síntese e estabilização de nanopartículas de ouro associadas a um peptídeo e preparadas pela β -glucana como agente redutor

Gabriela Cristina Mendonça Calisto⁽¹⁾, Rafael Marques⁽²⁾, Humberto de Mello Brandão⁽³⁾, Michelle Daiane de Almeida Loures⁽⁴⁾, Marcelo Porto Bemquerer⁽³⁾

⁽¹⁾Bolsista (Pibic/Fapemig), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Estagiário, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽³⁾Pesquisador, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽⁴⁾Analista, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. E-mail: gabikalisto@gmail.com

Resumo — As nanopartículas de ouro funcionalizadas com peptídeos são comumente sintetizadas devido à estabilidade físico-química dos peptídeos e à facilidade de obtenção pela síntese em fase sólida. O peptídeo escolhido para funcionalização das nanopartículas tem a seguinte sequência de resíduos de aminoácido: H-CVNITKQHTVTTTT-NH₂, no qual o resíduo de cisteína (C) faz a ligação do peptídeo ao ouro metálico e o resíduo de histidina (H) é o sítio principal de ligação de íons Cu²⁺. Ademais, este estudo busca promover a biossíntese de nanopartículas de ouro (AuNPs) usando β -glucana com o objetivo de investigar o processo de estabilização coloidal das nanoestruturas metálicas. As β -glucanas atuam como redutores e estabilizadores que induzem a formação de AuNPs na superfície externa da própria β -glucana. As nanopartículas de ouro obtidas e modificadas com as biomoléculas foram caracterizadas em todas as fases em relação ao raio hidrodinâmico, potencial zeta e índice de polidispersão em equipamento Zetasizer, por meio de medidas de espalhamento dinâmico de luz.

Termos para indexação: nanoestruturas, biossensores, cobre, automontagem.

Synthesis and stabilization of a gold nanoparticle bound to a peptide and prepared by β -glucan as a reducing agent

Abstract — Peptide-functionalized gold nanoparticles are commonly synthesized due to the ability of peptides to control amino acid sequence variation, physical-chemical stability, synthetic accessibility, and easy manipulation. The peptide chosen for functionalization of the nanoparticles has the following sequence of amino acid residues: H-CVNITKQHTVTTTT-NH₂, in which the cysteine residue (C) binds the peptide to metallic gold and the histidine residue (H) is the main binding site for Cu²⁺ metal ions. Furthermore, this study aims to promote the biosynthesis of gold nanoparticles (AuNPs) using β -glucan as a strategy for enhancing their colloidal stability. β -glucans act as reductants and stabilizers that induce the formation of AuNPs on the external surface of β -glucan itself. The gold nanoparticles obtained were characterized in all steps by measuring the hydrodynamic radius, zeta potential and polydispersity index and in Zetasizer equipment, through dynamic light scattering measurements.

Index terms: biosensors, copper, nanostructures, self-assembly.

Introdução

A poluição por metais tóxicos é uma contaminação abrangente sendo difícil eliminá-la devido à sua característica persistente na cadeia alimentar, resultando na transmissão e enriquecimento de metais pesados, colocando em risco a saúde humana. O avanço da nanotecnologia abre novas oportunidades para a aplicação de nanomateriais em ensaios bioquímicos devido às características estruturais e fotofísicas únicas das nanopartículas. Dentre estas aplicações estão os biossensores para íons metálicos que se valem da

especificidade de ligação das biomoléculas. As nanopartículas de ouro (Turkevich et al., 1951) podem ser funcionalizadas com peptídeo diretamente por meio da ligação de resíduos de cisteína à superfície metálica ou pela modificação do peptídeo com a inserção de um espaçador com grupo sulfidril (Egorova et al., 2020). A ligação de peptídeos a íons metálicos apresenta aspectos de especificidade e seletividade que a torna uma estratégia valiosa de aplicações biotecnológicas, como a construção de biossensores (Lévy et al., 2004). Devido ao tamanho pequeno, da ordem de 5 a 200 nm, as nanopartículas de ouro (AuNPs) modificadas com peptídeos possuem uma grande área superficial, mas tendem a aglomerar-se e a perderem as suas propriedades únicas relacionadas ao tamanho, forma e distância interparticular (Daniel; Astruc, 2004). Os biossensores baseados em nanopartículas metálicas foram amplamente desenvolvidos para quantificar moléculas em soluções homogêneas, detectando mudança de cor entre estados de dispersão e de agregação das nanopartículas após a ligação ao analito (Slocik et al., 2008). Assim, sondas baseadas em nanopartículas de ouro podem ser projetadas para detectar íons metálicos colorimetricamente em concentrações baixas. Entretanto, é desejável um método para o desenvolvimento de uma síntese verde que estabilize efetivamente as nanopartículas de ouro, diminuindo a citotoxicidade e o impacto ambiental dos agentes redutores clássicos como o boridreto de sódio. Carboidratos como a β -glucana podem ser utilizados como agentes redutores de Au^+ a $\text{Au}(0)$, pois a cadeia principal da molécula contém grupamentos cetais e hemicetais com capacidade redutora. Portanto, as β -glucanas servem como agentes redutores e estabilizadores que induzem a formação de AuNPs na superfície externa da própria β -glucana (Xuewei, 2013) Este trabalho buscou modificar as soluções de nanopartículas de ouro preparadas com peptídeos e sintetizar as nanoestruturas (AuNPs) utilizando β -glucana; os objetivos foram: 1. Conduzir a síntese de nanopartículas de ouro por via aquosa utilizando-se o boridreto de sódio como agente redutor; 2. Modificar as nanopartículas com um peptídeo com capacidade de ligação a Cu^{2+} por automontagem, que é um método extremamente versátil e de custo relativamente baixo; 3. Fazer ensaios preliminares da utilização da β -glucana como agente redutor verde para a obtenção das nanoestruturas metálicas.

Os resultados desse trabalho vão ao encontro dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) contidos na Agenda 2030, proposta pela Organização das Nações Unidas, da qual o Brasil é signatário, sobretudo no seguinte objetivo específico: ODS 15 - Vida Sobre a Terra: Proteger, recuperar e promover o uso sustentável dos ecossistemas terrestres, gerir de forma sustentável as florestas, combater a desertificação, deter e reverter a degradação da terra e deter a perda de biodiversidade.

Material e métodos

A preparação das soluções coloidais de nanopartículas de ouro (AuNP), desenvolvida no Laboratório de Inovação em Nanobiotecnologia e Materiais Avançados para a Pecuária (LINMAP) da Embrapa Gado de Leite, foi conduzida com base em reações de oxido-redução, utilizando o boridreto de sódio como agente redutor e estabilizante (Deraedt et al., 2014; Xiaomin et al., 2022). Foi dissolvido 1,5 mg de ácido cloroáurico (HAuCl_4) na concentração de $4,4 \times 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ em 30 mL de água ultrapura Milli-Q, que foi mantida sob agitação constante por 20 minutos em temperatura ambiente. Após a agitação por 20 minutos, 1 mL de uma solução de boridreto de sódio (1,5 mg de NaBH_4 , $\text{MM} = 37,83 \text{ g/mol}$, $3,96 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$), foi adicionado rapidamente sobre a solução áurica, obtendo-se uma coloração avermelhada instantaneamente. A solução foi submetida à diálise, utilizando-se uma membrana com diâmetro médio de 34 mm, MWCO 3,5 kDa, durante dois dias. Para a ligação ao Cu^{2+} a membrana contendo as AuNPs ficou submersa em uma solução de

cloreto de cobre ($1,0 \times 10^{-3}$ mol/L; 160 mg) realizando-se a troca de água por três a quatro vezes. Este mesmo procedimento foi repetido com a substituição do CuCl_2 pelo MgCl_2 ($1,0 \times 10^{-3}$ mol/L) para verificar se ocorreria uma ligação seletiva do Cu^{2+} . Posteriormente, o pH da solução coloidal foi variado utilizando-se uma solução de NaOH (1,0 mol/L), ajustando-se o pH de 4 para 10, quando foi possível observar a mudança da cor avermelhada para um azul escuro. Em seguida, foi preparado 1 mL de uma solução aquosa do peptídeo a $1,25 \times 10^{-3}$ mol/L (H-CVNITKQHTVTTTT-NH₂, MM= 1547,0 g/mol, 20 mg) e aplicou-se uma alíquota de 20 μL na suspensão de AuNP que ficou em agitação por dez minutos. Para a utilização da β -glucana como agente redutor, 0,1 g do polissacarídeo foi adicionado em 30 mL de água Milli-Q e a solução foi mantida sob agitação constante durante 24 horas. Em seguida, a solução foi centrifugada por dez minutos e retirou-se o sobrenadante. O precipitado foi ressolubilizado em 30 mL de água Milli-Q e teve seu pH ajustado para 10. Subsequentemente, a solução foi aquecida até ebulição e foram adicionados 500 μL de solução de ácido cloroáurico. Observou-se a mudança de coloração da solução durante 10-15 minutos.

Resultados e discussão

O índice de polidispersão (PDI), potencial zeta (PZ) e o tamanho das nanoestruturas de ouro (raio hidrodinâmico) foram obtidos por espalhamento dinâmico de luz (DLS) a 25 °C. Como mostrado na Tabela 1, ocorreu aumento progressivo do raio hidrodinâmico das AuNPs funcionalizadas com peptídeo e em solução de cloreto de cobre quando comparadas com as AuNPs obtidas originalmente com NaBH_4 . Este efeito é justificado pelo acoplamento do peptídeo, que possui carga líquida positiva mesmo em pH 10. As nanopartículas sintetizadas com boridreto de sódio possuem estabilidade coloidal, pouca ou nenhuma agregação, apresentando valor médio de carga superficial de -36,4 mV. O valor de PZ diminuiu após a interação com o peptídeo devido à presença de cargas no grupo amino na cadeia lateral de lisina (K) e no grupamento histidina (H) da estrutura peptídica (Xiaomin et al., 2022). Para neutralizar parcialmente estas cargas, a ligação do peptídeo foi conduzida em pH 10, o que foi insuficiente para impedir a agregação das nanoestruturas. Os índices de polidispersividade são considerados aceitáveis, mostrando uniformidade na distribuição dos tamanhos, com valores de PDI de 0,2 a 0,4 para todas as nanoestruturas (Casanova, 2010). Apesar da carga negativa da nanoestrutura ter sido menor que -25 mV, o que indicaria a estabilidade coloidal, as AuNPs em solução de CuCl_2 agregaram durante a diálise, perdendo a coloração e apresentando um corpo de fundo. As AuNPs em solução de MgCl_2 mudaram de cor, passando de avermelhado para roxo escuro durante a diálise, apresentando maior estabilidade a despeito da carga superficial reduzida, -10,1 mV. As AuNPs preparadas pela β -glucana adquiriram uma coloração levemente avermelhada, apresentando estabilidade e uniformidade na distribuição dos tamanhos. Entretanto, a dimensão está fora da escala nanométrica.

Tabela 1. Índice de polidispersão (PDI), raio hidrodinâmico e potencial zeta das nanopartículas de ouro. Um valor representativo de medição é mostrado juntamente com o seu PDI.

Nanopartículas	PDI	Potencial zeta(mV)	Raio hidrodinâmico
AuNP com NaBH_4	0,271	-36,4	55,0
AuNP com peptídeo	0,238	-14,1	159,8
AuNP em Cu^{2+}	0,398	-15,5	95,4
AuNP em Mg^{2+}	0,402	-10,1	116,4
AuNP com β -glucana	0,392	-11,5	3610

Conclusões

Concluiu-se que foi possível a síntese das nanoestruturas de ouro preparadas com peptídeos por meio de técnicas simples, controlando o tamanho e forma. A estabilidade da dispersão coloidal depende de outras técnicas que favoreçam a detecção do analito íon Cu^{2+} . Mais análises precisam ser conduzidas para otimizar a solubilidade da β -glucana, a fim de alcançar melhores resultados.

Agradecimentos

Ao apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig). À Embrapa Gado de Leite pela oportunidade da bolsa recebida do Programa Pibic, o que nos proporcionou obter experiência e aprendizado e ao pesquisador Marcelo Porto Bemquerer pelo acompanhamento, orientação e apoio durante o período de estudos e treinamento.

Referências

- CASANOVA, M. C. R. **Síntese, caracterização e estudo da estabilidade de nanopartículas metálicas estabilizadas com polieletrólitos e tióis**. 2010. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.
- DANIEL, M.-C.; ASTRUC, D. Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology. **Chemical Reviews**, v. 104, n. 1, p. 293-346, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1021/cr030698+>.
- DERAEDT, C.; SALMON, L.; GATARD, S.; CIGANDA, R.; HERNANDEZ, R.; RUIZ, J.; ASTRUC, D. Sodium borohydride stabilizes very active gold nanoparticle catalysts. **Chemical Communications**, v. 50, n. 91, p. 14194-14196, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1039/c4cc05946h>.
- EGOROVA, E. A.; VAN RIJT, M. M. J.; SOMMERDIJK, N.; GOORIS, G. S.; BOUWSTRA, J. A.; BOYLE, A. L.; KROS, A. One peptide for them all: gold nanoparticles of different sizes are stabilized by a common peptide amphiphile. **ACS Nano**, v. 14, n. 5, p. 5874-5886, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsnano.0c01021>.
- LÉVY, R.; THANH, N. T. K.; DOTY, R. C.; HUSSAIN, I.; NICHOLS, R. J.; SCHIFFRIN, D. J.; BRUST, M.; FERNIG, D. G. Rational and combinatorial design of peptide capping ligands for gold nanoparticles. **Journal of the American Chemical Society**, v. 126, n. 32, p. 10076-10084, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1021/ja0487269>.
- SLOCIK, J. M.; ZABINSKI JR., J. S.; PHILLIPS, D. M.; NAIK, R. R. Colorimetric response of peptide-functionalized gold nanoparticles to metal ions. **Small**, v. 4, n. 5, p. 548-551, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1002/smll.200700920>.
- TURKEVICH, J.; STEVENSON, P. C.; HILLIER, J. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. **Discussions of the Faraday Society**, v. 11, p. 55-75, 1951.
- XIAOMIN, X.; YANG, L.; YUJIE, Y.; WU, J.M.; CAO, M.; LI, S. One-pot synthesis of functional peptide-modified gold nanoparticles for gene delivery. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 640, 128491, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2022.128491>.
- XUEWEI, J.; XIAOJUAN, X.; ZHANG, L. Synthesis and stabilization of gold nanoparticles induced by denaturation and renaturation of triple helical β -glucan in water. **Biomacromolecules**, v. 14, n. 6, p.1787-1794, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1021/bm400182q>.

Série temporal de dados NDVI/MODIS para monitoramento da vegetação por sensoriamento remoto

Isabelle Martins Dias⁽¹⁾, Walter Coelho Pereira de Magalhães Junior⁽²⁾, Ricardo Guimarães Andrade⁽³⁾, Marcos Cicarini Hott⁽³⁾

⁽¹⁾Bolsista (Pibic/Fapemig), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Analista, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, ⁽³⁾ Pesquisador, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. E-mail: dias.isabelle@estudante.ufjf.br

Resumo — O mapeamento em grande escala do estado das pastagens brasileiras é de crucial importância nos dias de hoje. Dados de sensoriamento remoto oferecem uma ferramenta poderosa para monitorar essas áreas de forma contínua. Utilizando soluções geográficas para internet, apresentamos os primeiros resultados em plataformas digitais, como a do GeoInfo da Embrapa. Para isso, realizamos diversas etapas de coleta, tratamento e organização de dados MODIS. O objetivo principal deste trabalho foi reunir uma série histórica de dados NDVI/MODIS (produto MOD13Q1), dados estatísticos a respeito da produção de leite para validação e avaliação do rendimento da produção leiteira, e criar métodos para estimar indicadores de longo prazo que reflitam as condições das pastagens nas regiões de interesse. Uma parte desses dados já está disponível para consulta na plataforma GeoInfo, permitindo avaliar a vegetação dessas áreas.

Termos para indexação: gado de leite, geoprocessamento, índice de vegetação, pastagens.

NDVI/MODIS time series data for vegetation monitoring through remote sensing

Abstract — Large-scale mapping of the condition of Brazilian pastures is crucial today. Remote sensing data provides a powerful tool to continuously monitor these areas. Using geographic web solutions, we were able to present the first results on digital platforms such as Embrapa's GeoInfo. To achieve this, we carried out several stages of data collection, processing, and organization of MODIS data. The main objective of this work was to gather a historical series of NDVI/MODIS data (product MOD13Q1), statistical data on milk production for validation and assessment of milk production yield, and to develop methods to estimate long-term indicators that reflect the conditions of pastures in the regions of interest. A portion of this data is already available for consultation on the GeoInfo platform, allowing for the evaluation of vegetation in these areas.

Index terms: dairy cattle, GIS, vegetation index, pastures.

Introdução

As pastagens ocupam uma grande área agrícola no Brasil, com destaque para o estado de Minas Gerais, onde são principalmente usadas para a bovinocultura, sendo de suma importância socioeconômica a produção de leite. Em 2022, a produção de leite em Minas Gerais foi de cerca de 9,36 bilhões de litros (27,05% da produção nacional de 34,60 bilhões de litros - Figura 1). O NDVI (Índice de Vegetação da Diferença Normalizada) é amplamente utilizado para analisar a condição da vegetação em imagens geradas por sensores remotos, sendo útil para estudos sobre uso do solo, degradação ambiental e produtividade de culturas (Junges et al., 2007; Zanzarini et al., 2013). Pesquisas em sensoriamento remoto buscam relacionar dados de campo sobre vegetação com sua reflectância em sensores de satélite

(Liu, 2006; Ponzoni; Shimabukuro, 2010). A reflectância da vegetação no infravermelho próximo, especialmente adjacente ao comprimento de onda do vermelho, pode indicar o estado de saúde das plantas. O NDVI, que mede a diferença entre a reflectância no infravermelho e no vermelho, varia de -1 a 1 e reflete a quantidade de água no mesófilo foliar, indicando a densidade de folhas saudáveis.

Figura 1. Distribuição da produção leiteira no Brasil em 2022.

No presente trabalho, os quadrantes de imagens NDVI/MODIS do satélite Terra, produto MOD13Q1, processado para 16 dias de levantamento, foram baixados de uma base de dados da série temporal para desenvolvimento metodológico, cujos resultados de análise da vegetação, notadamente de pastagens, foram publicados em sistemas geográficos para internet, GeoInfo, o qual é parte da Infraestrutura de Dados Espaciais (INDE). Assim, as imagens NDVI/MODIS foram processadas visando monitorar o vigor das pastagens, identificar áreas com degradação e otimizar práticas de manejo, além de tratar os dados estatísticos da produção de leite.

As informações contidas nesse documento contribuem para o alcance dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), contidos na Agenda 2030, proposta pela Organização das Nações Unidas (ONU), especificamente para o ODS 15 - Vida Sobre a Terra: Proteger, recuperar e promover o uso sustentável dos ecossistemas terrestres, gerir de forma sustentável as florestas, combater a desertificação, deter e reverter a degradação da terra e deter a perda de biodiversidade.

Material e métodos

Foram realizados downloads da coleção 6 dos produtos MOD13Q1, fornecidos pelo LP DAAC, centro de dados geográficos, ligado ao serviço geológico dos EUA, USGS. Estas imagens, com intervalo de 16 dias entre si e resolução de 250 metros, são disponibilizadas em formato HDF e cobrem áreas limitadas. Foram baixados 19 quadrantes para cada data disponível, numa série de 24 anos de dados, iniciada em 18 de fevereiro de 2000, conforme conversão apresentada na Figura 2.

Figura 2. Parâmetros no software Modis Reprojection Tools.

Posteriormente, as imagens foram processadas por meio do software MRT (Modis Reprojection Tools), gerando arquivo mosaico de formato GeoTIFF para cada data disponível, assim como realizado por Araújo et al. (2021). Para o processamento das imagens no MRT foi selecionada apenas a banda de NDVI com projeção geográfica no Datum WGS84. As informações sobre a produção, rebanho e produtividade leiteira foram obtidas junto ao IBGE (2024), por meio da PPM (Pesquisa Pecuária Municipal), como esforço para localizar variáveis da cadeia láctea e publicação de mapas na plataforma do Centro de Inteligência do Leite (CILEite).

Resultados e discussão

Foram gerados resultados preliminares para a série NDVI/MODIS para a vegetação do Brasil, onde a coloração verde denota a recuperação da vegetação ao longo do tempo e os tons roxos indicam a queda no vigor ou processo de degradação (Figura 3A), além de mapas acerca da produtividade leiteira, produção e rebanho para visualização na internet (Figura 3B), e para a mesorregião da Zona da Mata, especificamente, para derivação de classes de degradação, cujas camadas geográficas foram divulgadas na plataforma GeoInfo (Figura 4A) e no sistema WebGIS desenvolvido (Figura 4B), denotando em torno de 60% de áreas de pastagens com níveis mais elevados de degradação.

Figura 3. (A) Mapa do coeficiente de inclinação da linha de regressão ajustada em cada pixel (Slope). (B) Mapa de produtividade animal em 2022.

Figura 4. (A) Sistemas geográficos para internet, com publicação de resultados preliminares, na plataforma Geoinfo. (B) WebGIS desenvolvido.

Resultados de análises metodológicas com a série NDVI/MODIS serão divulgados na plataforma Geoinfo e WebGIS, a partir dos avanços alcançados. A grande base de dados das imagens para o Brasil está sendo baixada, processada e estruturada, datando de 2000 até o presente. As variáveis leiteiras em base municipal, úteis na localização das áreas de interesse, estão sendo tratadas para a publicação dos mapas relacionados aos dados de 2023, divulgados recentemente pelo IBGE.

Conclusões

Os resultados obtidos no presente trabalho possibilitaram visualizar áreas de pastagens em diferentes estágios de degradação, tendo sido publicados nas plataformas Geoinfor e WebGis Leite, importantes bases de dados disponíveis para consultas por estudiosos desse ramo do conhecimento.

Agradecimentos

À Embrapa pelos recursos disponibilizados para a realização deste estudo e ao apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig) pela bolsa concedida no âmbito do Programa Pibic/Fapemig.

Referências

ARAÚJO, P. C. de; HOTT, M. C.; ANDRADE, R. G.; MAGALHAES JUNIOR, W. C. P. de; CUSTODIO, D. de O.; COSTA, P. R. da. Elaboração de procedimentos metodológicos para monitoramento das condições das pastagens por métricas em sensoriamento remoto. In: PASSOS, L. P. (ed.). **Coletânea de Iniciação Científica da Embrapa Gado de Leite-PIBIC CNPq 2020-2021**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2021. (Embrapa Gado de Leite. Documentos, 262).

CENTRO DE INTELIGÊNCIA DO LEITE. **Leite em mapas**. 2024. Disponível em: <https://www.cileite.com.br/content/leite-mapas>. Acesso em: 2 ago. 2024.

DIAS, I. M.; HOTT, M. C.; ANDRADE, R. G.; MAGALHAES JUNIOR, W. C. P. de. Monitoramento e avaliação da vegetação a partir de série de dados NDVI/MODIS. In: WORKSHOP DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA GADO DE LEITE, 27., 2023. **Anais...** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2024. p. 94-98.

EMBRAPA GADO DE LEITE. **SIG Leite**. Disponível em: https://mapas.cnpm.embrapa.br/apps/sig_leite/#/. Acesso em: 2 ago. 2024.

EMBRAPA. Geoinfo: infraestrutura de dados espaciais da Embrapa. Brasília, DF, 2024. Disponível em: <https://geoinfo.dados.embrapa.br/>. Acesso em: 2 ago. 2024.

IBGE. **PPM - Pesquisa de Pecuária Municipal**. Rio de Janeiro, 2024. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html>. Acesso em: 2 ago. 2024.

JUNGES, A. H.; ALVES, G.; FONTANA, D. C. Estudo indicativo do comportamento do NDVI e EVI em lavouras de cereais de inverno da região norte do Estado do Rio Grande do Sul, através de imagens MODIS. In: Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, 13., 2007, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: INPE, 2007. p. 241-248.

LIU, W. T. H. **Aplicações de sensoriamento remoto**. Campo Grande: Uniderp, 2006.

PONZONI, F. J.; SHIMABUKURO, Y. E. **Sensoriamento remoto no estudo da vegetação**. São José dos Campos: Parêntese, 2010. 127 p.

ZANZARINI, F. V.; PISARRA, T. C. T.; BRANDÃO, F. J. C.; TEIXEIRA, D. D. B. Correlação espacial do índice de vegetação (NDVI) de imagem Landsat/ETM+ com atributos do solo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, n. 6, p. 608-614, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1415-43662013000600006>.

Papel do ácido trans-vacênico e do ácido linoleico conjugado na maturação *in vitro* e seus impactos no desenvolvimento e qualidade de embriões bovinos *in vitro*

Luiza Bastos Guimarães⁽¹⁾, Naiara Zoccal Saraiva⁽³⁾, Alexandre Marcos de Melo⁽¹⁾, Clara Slade Oliveira⁽²⁾, Carolina Capobianco Romano Quintão⁽²⁾

⁽¹⁾Bolsista (Pibic/Fapemig), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Analistas, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽³⁾ Pesquisadora, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. E-mail: luizabgjf@gmail.com

Resumo – Os ácidos graxos insaturados (AGI) desempenham papel crucial na fertilidade bovina, com destaque para o ácido linoleico conjugado cis-9, trans-11 (CLA c9, t11), que melhora a competência oocitária e cuja síntese é mediada pela enzima estearoil-CoA dessaturase 1 (SCD1). Este estudo teve como objetivo investigar a regulação da SCD1 durante a maturação *in vitro* (MIV) de oócitos bovinos, suplementando o meio de cultivo com diferentes concentrações do precursor (ácido trans-vacênico - AV) e do produto (ácido linoleico conjugado - CLA) da SCD1. Foram analisados os efeitos desses ácidos graxos sobre o desenvolvimento, número total de células, atividade mitocondrial e índice apoptótico dos embriões. Observou-se aumento significativo na taxa de embriões ($p < 0,05$) com a concentração de 100 μM de CLA, sem alterações ($p > 0,05$) no número total de blastômeros ou no índice apoptótico entre os grupos. Os grupos suplementados com AV e CLA apresentaram menor acúmulo lipídico ($p < 0,05$) em comparação ao controle (meio base BSA). Em conclusão, a suplementação com precursores e produtos da SCD1 reduziu o acúmulo lipídico, e na concentração de 100 μM , o CLA aumentou a taxa de blastocistos em meio livre de soro fetal bovino, evidenciando potenciais benefícios desse AGI.

Termos para indexação: ácido linoleico conjugado, competência oocitária, estearoil-CoA dessaturase 1, maturação *in vitro*.

Role of trans-vaccenic acid and CLA in IVM and their impacts on bovine embryo development and quality *in vitro*

Abstract – Unsaturated fatty acids (UFAs) play a crucial role in bovine fertility, with special emphasis on conjugated linoleic acid cis-9, trans-11 (CLA c9, t11), which improves oocyte competence and whose synthesis is mediated by the enzyme stearyl-CoA desaturase 1 (SCD1). This study aimed to investigate SCD1 regulation during the *in vitro* maturation (IVM) of bovine oocytes by supplementing the culture medium with different concentrations of the precursor (trans-vaccenic acid - TVA) and the product (conjugated linoleic acid - CLA) of SCD1. The effects of these fatty acids on embryo development, total cell number, mitochondrial activity, and apoptotic index were analyzed. A significant increase in embryo rate ($p < 0.05$) was observed with the 100 μM concentration of CLA, with no changes ($p > 0.05$) in total blastomere number or apoptotic index between groups. The groups supplemented with TVA and CLA showed lower lipid accumulation ($p < 0.05$) compared to the control (BSA-based medium). In conclusion, supplementation with SCD1 precursors and products reduced lipid accumulation, and at 100 μM , CLA increased blastocyst rates in serum-free medium, highlighting potential benefits of this UFA.

Index terms: conjugated linoleic acid, *in vitro* maturation, oocyte competence, stearyl-CoA desaturase 1.

Introdução

O Brasil é um dos líderes na produção de embriões *in vitro*, mas a taxa de desenvolvimento, que varia em média entre 30% e 40%, não progrediu substancialmente desde os anos 1990 (Lonergan et al., 2016; Viana, 2020). Pesquisas recentes buscam otimizar tanto a taxa de desenvolvimento como a qualidade dos embriões produzidos (Choudhary et al., 2016). Fatores como a qualidade dos gametas e condições de cultivo inadequadas ainda limitam o sucesso da produção *in vitro* de embriões (PIVE).

O CLA (c9, t11), sintetizado pela SCD1 a partir do ácido trans-vacênico, tem sido relacionado às melhores taxas de criotolerância embrionária, devido à alteração no perfil lipídico das membranas embrionárias e à redução do acúmulo de gotas lipídicas intracitoplasmáticas (Leão et al., 2015). Com base nisso, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da modulação da atividade da SCD1 no desenvolvimento embrionário, número total de células, atividade mitocondrial e índice apoptótico de embriões bovinos produzidos *in vitro*.

Os resultados desse trabalho vão ao encontro dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) contidos na Agenda 2030, proposta pela Organização das Nações Unidas, da qual o Brasil é signatário, sobretudo no seguinte objetivos específico: ODS 8 - Empregos dignos e crescimento econômico: Promover o crescimento econômico sustentado, inclusivo e sustentável, emprego pleno e produtivo, e trabalho decente para todos.

Material e métodos

Oócitos bovinos foram recuperados de ovários de fêmeas abatidas e transportados para o laboratório em solução salina estéril a 30-35 °C. Folículos de 2 a 7 mm foram aspirados e os oócitos selecionados foram distribuídos nos seguintes grupos: A – controle com 8 mg/mL de albumina sérica bovina (BSA); B – controle com dimetilsulfóxido (DMSO); C e D – 100 e 150 µM de AV, respectivamente; E, F e G – 50, 100 e 150 µM de CLA, respectivamente. Os oócitos foram maturados *in vitro* por 24 horas a 38,5 °C, em 5% de CO₂. Após a MIV, os oócitos foram fecundados, com espermatozóides previamente selecionados, em meio TALP-FIV suplementado. Os zigotos resultantes foram cultivados por sete dias em meio SOF (Synthetic Oviduct Fluid - Fluido ovidutal sintético) modificado com BSA e 1,5% de soro fetal bovino (SFB), sendo mantidos em estufa até o estágio de blastocisto. As taxas de clivagem foram avaliadas 48 horas após a fertilização *in vitro* (FIV), e o desenvolvimento até blastocisto foi verificado no sétimo dia após a FIV (D7). No D7, os blastocistos foram fixados e avaliados quanto ao número total de células (corante 4',6-diamidino-2-phenylindole - DAPI), conteúdo lipídico (Nile Red) (Saraiva et al., 2023) e apoptose (Técnica de TUNEL- Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling). As imagens foram capturadas por microscópio de fluorescência e analisadas pelo software Image J. Os dados foram submetidos à ANOVA one-way e as médias comparadas pelo teste de Tukey, com significância de 5%.

Resultados e discussão

Os resultados de clivagem e desenvolvimento embrionário indicam que em relação ao uso de precursor da enzima SCD1, ácido trans-vacênico, o grupo 150µM foi inferior àquele 100µM em termos de embriões clivados e de blastocistos, sendo que o grupo 100µM possibilitou resultados similares aos obtidos no grupo controle BSA. Quando o meio foi suplementado diretamente com o produto da SCD1 (CLA), foi observado que a maior concentração (150µM) se mostrou prejudicial ao desenvolvimento embrionário, proporcionando taxas

inferiores ($p < 0,05$) tanto na clivagem quanto na produção de blastocistos. Por sua vez, o grupo 100 μ M se mostrou superior ($p < 0,05$) aos demais tratamentos com CLA e grupo controle BSA (Tabela 1).

Tabela 1. Valores referentes às taxas de clivagem e produção de blastocistos (D7) após MIV por 24h em meio base contendo 8 mg/mL de BSA e ácido trans-vacênico (AV) nas concentrações 100 e 150 μ M ou ácido linoleico conjugado (CLA) nas concentrações 50, 100 e 150 μ M.

Grupos	Embriões clivados n(%)	Embriões clivados n(%)
Controle BSA	97/131 (74,0) ^a	42/181 (23,2) ^{bc}
Controle DMSO	92/125 (73,6) ^a	43/125 (34,4) ^a
100 μ M AV	101/130 (77,7) ^a	36/130 (27,7) ^{ab}
150 μ M AV	78/128 (60,9) ^b	21/128 (16,4) ^c
50 μ M CLA	84/116 (72,4) ^a	22/116 (19,0) ^{bc}
100 μ M CLA	76/102 (74,5) ^a	37/102 (36,3) ^a
150 μ M CLA	41/126 (32,5) ^c	3/126 (2,4) ^d

a,b,c Valores com sobrescritos diferentes entre linhas dentro de uma mesma coluna diferem entre si ($p < 0,05$, Qui-quadrado). Os percentuais de clivados e de blastocistos foram calculados pelo número total de oócitos.

Não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os grupos avaliados em relação ao número total de blastômeros (Figura 1A) e ao índice apoptótico (Figura 1B). Em relação ao acúmulo lipídico, observou-se que todos os grupos tratados com AV e CLA mostraram níveis inferiores ($p < 0,05$) de área lipídica em comparação ao controle BSA (Figura 1C).

Figura 1. (A) Número blastômeros totais; (B) índice apoptótico (n° células apoptóticas/ n° células totais; %); (C) Níveis de lipídios de blastocistos bovinos produzidos após maturação in vitro nos tratamentos com ácido graxo trans-vacênico (AV) nas concentrações de 100 e 150 μ M ou ácido graxo linoleico conjugado cis 9, trans 11 (CLA) nas concentrações de 50 e 100 μ M. BSA – grupo controle sem SFB; DMSO – diluidor dos AGs. As colunas do gráfico correspondem às médias e as barras correspondem ao erro padrão de cada grupo experimental.

Conclusões

A suplementação do meio MIV com precursores e produtos da enzima SCD1 promoveu redução do acúmulo lipídico nos embriões produzidos, sendo que a concentração de 100 μ M de CLA, inclusive, permitiu maior taxa de desenvolvimento embrionário em meio livre de SFB, o que sinaliza para um potencial benéfico desse AGI na etapa inicial da PIVE.

Agradecimentos

À Embrapa Gado de Leite e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig), pela oportunidade da bolsa recebida do Programa Pibic e pelo financiamento do projeto (APQ 02041-22).

Referências

CHOUHDARY, K. K.; KAVYA, K. M.; JEROME, A.; SHARMA, R. K. Advances In reproductive biotechnologies. **Veterinary World**, v. 9, n. 4, p. 388-395, 2016. DOI: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2016.388-395>.

LEÃO, B. C. S.; ROCHA-FRIGONI, N. A. S.; CABRAL, E. C.; COELHO, M. B.; FERREIRA, C. R.; EBERLIN, M. N.; ACCORSI, M. F.; NOGUEIRA, É.; MINGOTI, G. Z. Improved embryonic cryosurvival observed after in vitro supplementation with conjugated linoleic acid is related to changes in the membrane lipid profile. **Theriogenology**, v. 84, n. 1, p. 127-136, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.02.023>.

LONERGAN, P.; FORDE, N.; SPENCER, T. The role of progesterone in embryo development in cattle. **Reproduction, Fertility, and Development**, v. 28, n. 1/2, p. 66-74, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1071/rd15326>.

SARAIVA, N. Z.; OLIVEIRA, C. S.; QUINTAO, C. C. R.; CAMARGO, L. S. de A. **Avaliação do acúmulo lipídico em embriões bovinos**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2023. 19 p. (Embrapa Gado de Leite. Documentos, 280). Disponível em: <https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca?b=ad&id=1157254>. Acesso em: 5 set. 2024.

VIANA, J. H. M. 2019 Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals. **Embryo Technology Newsletter**, v. 36, n. 4, p. 8-25, 2020. Disponível em: https://www.iets.org/Portals/0/Documents/Public/Committees/DRC/IETS_Data_Retrieval_Report_2019.pdf. Acesso em: 5 set. 2024.

Produção de biomassa de genótipos de capim-elefante em diferentes frequências de corte

Rafael Agostinho Ferreira⁽¹⁾, Carlos Eugênio Martins⁽²⁾, Antônio Vander Pereira⁽²⁾, Inácio de Barros⁽²⁾, Juarez Campolina Machado⁽²⁾

⁽¹⁾Bolsista (Pibic/Fapemig), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Pesquisador, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG.
E-mail: agostinhorafael@id.uff.br

Resumo — A produção de energia a partir da biomassa de espécies forrageiras vem se tornando uma alternativa aos combustíveis fósseis. O capim-elefante (*Cenchrus purpureus*) é uma espécie que vem se destacando para produção de biomassa energética pela sua elevada produtividade e rusticidade. No presente trabalho, foi avaliada a produção de matéria seca de cinco genótipos de capim-elefante sob três regimes de corte. A produção de matéria seca não foi afetada significativamente nem entre os genótipos e nem pelas diferentes frequências de corte. Assim, recomenda-se uma única colheita anual visando a produção de biomassa para combustão.

Termos para indexação: *Cenchrus purpureus*, bioenergia, manejo cultural.

Biomass yield of elephant grass genotypes on different harvest frequencies

Abstract — Biomass energy from forage species has becoming a promising alternative to fossil fuels. Elephant grass (*Cenchrus purpureus*) is one of alternative that stands out as most suitable due to its high productivity and rusticity. We assessed dry matter production of five elephant grass genotypes under three harvest frequencies. No statistical differences were detected neither between the genotypes nor the cutting frequency, indicating that one harvest a year is an economic option for thermal energy production.

Index terms: *Cenchrus purpureus*, bioenergy, cultural management.

Introdução

Com o aumento da demanda global por fontes de energias sustentáveis, a busca por alternativas aos combustíveis fósseis se intensificou, com foco especial nos recursos renováveis. Dessa forma, espécies vegetais com potencial energético estão emergindo como um importante recurso, apresentando-se como uma opção para mitigar a crise energética e as mudanças climáticas. Entre as diversas espécies com potencial energético, o capim-elefante (*Cenchrus purpureus*) destaca-se por sua alta produtividade, rusticidade e adaptabilidade a diferentes condições edafoclimáticas (Marafon et al., 2017).

Além de fonte de alimento para produção animal, a qual se destaca, a utilização desta gramínea como recurso energético apresenta enorme potencial, seja por meio da combustão direta, bem como pela produção de biocombustíveis. Embora as práticas de manejo visando o uso forrageiro estejam bem estabelecidas, a espécie ainda carece de práticas de manejo adequadas para uso energético, incluindo a definição da frequência de corte e do espaçamento entre linhas (Quesada et al., 2004), assim como a seleção de genótipos superiores.

Em estudo conduzido por Marafon et al. (2019), nas condições do Nordeste brasileiro, foi demonstrado que produção de biomassa fresca dos genótipos de capim-elefante submetidos à frequência de dois cortes anuais (semestrais) é superior à de apenas um corte (anual), no entanto, a produção de biomassa seca não difere entre as duas frequências de corte.

O corte anual do capim-elefante proporciona a obtenção de uma biomassa forrageira com menor teor de cinzas e maior densidade energética quando comparada com a biomassa obtida dos genótipos submetidos ao corte semestral.

Considerando-se a importância do capim-elefante para a produção de energia e a necessidade de otimizar seu cultivo em diferentes condições edafoclimáticas, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito de três frequências de corte em cinco genótipos na produtividade do capim-elefante.

Os resultados desse trabalho vão ao encontro dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) contidos na Agenda 2030, proposta pela Organização das Nações Unidas, da qual o Brasil é signatário, sobretudo nos seguintes objetivos específicos: ODS 2: Fome Zero e Agricultura Sustentável e ODS 7: Energia Acessível e Limpa.

Material e métodos

O experimento foi conduzido no município de Coronel Pacheco, MG, no Campo Experimental José Henrique Bruschi, pertencente à Embrapa Gado de Leite, em área com solo de textura franco argilo-arenosa. Adotou-se o delineamento experimental de blocos casualizados em esquema fatorial com três repetições e parcelas com dimensões de 3,0 x 4,0 m, sendo 1,0 m entre linhas de plantio e 0,5 m entre as plantas na linha. Os tratamentos consistiram-se de cinco genótipos de capim-elefante (BRS Capiáçu, T 12.9, T 33.2, T HE7 e T 55.1) e três frequências de cortes: aos 120, 180 e 360 dias.

A calagem e adubação foram realizadas com base na análise do solo e nas recomendações de Ribeiro et al. (1999), ajustadas às necessidades do capim-elefante. A adubação nitrogenada foi aplicada em dose única de 100 kg ha⁻¹ ano⁻¹ realizada na forma de cobertura. A altura de corte foi fixada em 15 cm.

Para a avaliação da produção de biomassa, amostras da parte aérea das plantas centrais da parcela foram coletadas para determinação do peso fresco e da porcentagem de matéria seca.

Os dados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o modelo linear geral.

Resultados e discussão

O acúmulo de matéria seca dos diferentes genótipos nas diferentes frequências de corte estão apresentados na Figura 1. Para a produção de matéria seca total não houve efeito significativo nem para os genótipos nem para as frequências de corte. Ademais, não houve diferenças significativas entre os clones em melhoramento e a cultivar testemunha, BRS Capiáçu, considerada referência para produção de biomassa energética. Este resultado demonstra o potencial dos clones avaliados para produção de bioenergia pela combustão da biomassa.

A adoção de um corte anual, a cada 360 dias, coaduna com os resultados obtidos por Marafon et al. (2019), que indicam que a produção e a qualidade da biomassa podem ser comprometidas pela maior frequência de cortes, uma vez que há a possibilidade de que o maior tráfego de implementos na colheita venha a gerar impactos negativos sobre o desenvolvimento das plantas. Outro fator importante é o menor custo de produção devido à menor necessidade de uso de maquinário. Além disso, a maior interceptação luminosa, em virtude do incremento na área foliar durante a curva de crescimento das plantas, tem o potencial de promover um melhor desenvolvimento da capineira. Esses fatores favorecem a prática de cortes menos frequentes (Peixoto, 2020).

Figura 1. Matéria seca total (t.ha⁻¹) de cinco genótipos de capim-elefante submetidos a três frequências de corte para a produção de biomassa para bioenergia. As barras representam o desvio padrão.

Conclusões

Um único corte anual é o manejo mais aconselhado para a combustão direta da biomassa, o que garante uma boa disponibilidade de matéria seca e menor gasto com mecanização para a colheita. É importante reforçar que a espécie ainda demanda maior aprimoramento em seu sistema de cultivo, sendo avaliadas outras variáveis que assegurem uma produção sustentável e rendimentos mais elevados.

Os resultados obtidos neste trabalho contribuirão para o desenvolvimento de sistemas de produção mais eficientes e sustentáveis de biomassa energética, atendendo à crescente demanda por fontes de energia renováveis.

Agradecimentos

À Embrapa e aos órgãos de fomento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig).

Referências

- MARAFON, A. C.; MACHADO, J. C.; AMARAL, A. F. C.; GUIMARÃES, V. dos S.; SANTOS, J. P. dos. **Frequência de corte em genótipos de capim-elefante na produção de biomassa para fins energéticos.** Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2019. (Embrapa Tabuleiros Costeiros. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 146).
- MARAFON, A. C.; SANTIAGO, A. D.; MACHADO, J. C.; GUIMARÃES, V. S. **Produção de biomassa em gramíneas tropicais com potencial energético.** Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2017. 19 p. (Embrapa Tabuleiros Costeiros. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 132).
- PEIXOTO, C. P. (org.). **Princípios de fisiologia vegetal: teoria & prática.** Rio de Janeiro: PoD, 2020. 256 p.
- QUESADA, D. M.; BODDEY, R. M.; REIS, V. M.; URQUIAGA, S. **Parâmetros qualitativos de genótipos de capim elefante (*Pennisetum purpureum Schum.*) estudados para a produção de energia através da biomassa.** Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2004. 4 p. (Embrapa Agrobiologia. Circular Técnica, 8).
- RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ V., V. H. (ed.). **Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª aproximação.** Viçosa, MG: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1999. 359 p.

A renda é um determinante no consumo de leite no mundo?

Laura Destro Rodrigues⁽¹⁾, Kennya Beatriz Siqueira⁽²⁾, Gabriela Aparecida Nalon⁽¹⁾, Ygor Martins Guimarães⁽³⁾

⁽¹⁾Bolsista (Pibic/Fapemig), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Pesquisadora, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, ⁽³⁾Estagiário, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. E-mail: laura.d.rodrigues@ufv.br

Resumo — A alimentação reflete diretamente a qualidade de vida e as escolhas dos consumidores. Entre os alimentos mais consumidos globalmente, o leite destaca-se como uma importante fonte de nutrientes, além de apresentar uma ampla gama de derivados. Entretanto, sabe-se que o consumo de leite está sujeito a diversos fatores sociais, econômicos e culturais, entre eles a renda da população. Diante disso, este estudo tem como objetivo investigar a relação entre a renda e o consumo de leite e derivados a nível global. Para isso, foram aplicados os coeficientes de correlação de Pearson e Spearman, associados a uma regressão linear para medir o impacto da renda sobre o consumo de leite. Ao todo, foram coletados dados de consumo e renda, ambos per capita, de 123 países. Os resultados indicaram uma correlação forte e positiva entre renda e consumo de leite. Já a regressão linear mostrou que a renda responde sozinha por 44% da variação do consumo de leite no mundo, sugerindo que o aumento do poder aquisitivo favorece o consumo desses produtos. Esses achados estão de acordo com a literatura, que destaca a renda como um dos fatores mais importantes na definição dos padrões de consumo de leite. Conclui-se que o aumento da renda tem impacto significativo no aumento do consumo de leite e permite maior diversidade alimentar, com implicações para o desenvolvimento de políticas econômicas voltadas para a melhoria da segurança alimentar e desenvolvimento da indústria láctea.

Termos para indexação: lácteos, economia, Produto Interno Bruto, padrões de consumo, demanda.

Is Income a Determinant of Milk Consumption Worldwide?

Abstract—Dietary choices directly influence individuals' quality of life and reflect their personal choices. Milk, as one of the most widely consumed foods globally, serves as a crucial source of nutrition and offers a wide variety of dairy products. It is, however, acknowledged that milk consumption is influenced by several social, economic and cultural factors, including income. The objective of this study was to investigate the relationship between income and the per capita consumption of milk on a global scale. To assess the impact of income on milk consumption, Pearson's and Spearman's correlation coefficients were applied alongside a linear regression analysis. Data on both per capita consumption and income were gathered from 123 countries. The results demonstrated a robust and positive correlation between income and milk consumption. The linear regression demonstrated that income is a significant predictor of milk consumption across the globe, alone accounting for 44% of the variation in milk consumption worldwide. This suggests that increased purchasing power is a major driver of milk and dairy consumption. These findings align with existing literature, which highlights income as a crucial factor in defining milk consumption patterns. In conclusion, income has a substantial impact on increased milk consumption, allowing for greater dietary diversity and, consequently, carrying important implications for the development of economic policies aimed at improving food security and developing the dairy industry.

Index terms: dairy, economy, Gross Domestic Product, consumption patterns, demand.

Introdução

A alimentação é um reflexo da qualidade de vida da população, sendo reconhecida como um direito básico. Entre os alimentos mais consumidos no mundo, o leite é fonte de diversas vitaminas e minerais, além de possuir alto valor proteico, apresentando uma contribuição nutricional significativa e sendo matriz para diversos produtos. Entretanto, apesar de seus benefícios, o consumo de leite e seus derivados está sujeito a mudanças de acordo com características do público consumidor.

Diversos fatores podem influenciar os padrões alimentares das populações ao redor do mundo. Aspectos culturais podem alterar a forma como os alimentos são obtidos, processados, preparados e consumidos, assim como crenças e tradições religiosas. Esses exemplos ilustram como as preferências alimentares se alteram significativamente entre diferentes grupos populacionais e contextos culturais. Mertens et al. (2019) identificaram diferenças geográficas no consumo de alimentos na Europa, reforçando variações no consumo não só entre países, mas também entre regiões, ressaltando como os fatores conjunturais alteram a ingestão de alimentos, relacionando variáveis ligadas à cultura e qualidade de vida da população com sua localização geográfica.

Entre as causas para essa variação encontram-se fatores sociais e econômicos da região, como renda e nível educacional da população. Conforme Jia et al. (2022), fatores econômicos foram os mais significativos nas escolhas alimentares da população de Bangladesh, indicando como a situação econômica pode ser um fator decisivo nas escolhas nutricionais, influenciando não só as quantidades consumidas mas também os grupos alimentares selecionados.

Diante disso, este estudo tem como objetivo analisar o impacto da renda no consumo de leite e derivados no mundo, avaliando a intensidade e direção da relação entre as variáveis.

Material e métodos

Para este estudo, foram utilizados dados de consumo per capita de leite do IFCN (2022), derivados de 123 países. Dados do International Monetary Fund (2024), referentes ao Produto Interno Bruto (PIB) de cada país também foram coletados, mensurados em dólares por habitante ao ano. Ambos os dados são referentes ao ano de 2021.

Para analisar a relação entre o consumo de leite e a renda dos países foi realizada a Correlação de Pearson (r). O método é utilizado para medir a magnitude da interação entre duas variáveis e sua direção, assumindo uma relação linear entre elas. Entretanto, assumindo a possibilidade de uma relação não-linear entre as variáveis, utilizou-se também o coeficiente de correlação de Spearman (ρ), uma medida não-paramétrica e menos suscetível à presença de outliers e distribuições distorcidas.

Os resultados de ambas as correlações variam de -1 a 1, com resultados próximos aos extremos indicando maior correlação entre as variáveis para ambas as análises. A intensidade da correlação foi avaliada seguindo os parâmetros estabelecidos por Bonini Neto e Bonini (2011), que assumem que um coeficiente igual a zero se refere à ausência de correlação, valores entre $0 < r < |0,3|$ como correlação existente porém fraca, $|0,3| \leq r < |0,7|$ indicando uma correlação moderada e $|0,7| \leq r \leq |1|$ evidenciando uma forte associação entre as variáveis. Já a orientação da relação é definida pelo sinal do valor encontrado, com valores negativos indicando uma relação inversamente proporcional entre os conjuntos e valores próximos a 1 indicando uma relação positiva.

Na sequência, foi realizada uma regressão linear simples para avaliar o impacto da renda no consumo de leite no mundo. A regressão é um método estatístico que permite avaliar o quanto uma variável dependente (consumo) pode ser explicada por uma única variável independente (renda) por meio do valor de R^2 . Os valores de R^2 variam de 0 a 1. Quanto mais próximo de 1, maior o percentual da variação em relação à variação total da curva, indicando um modelo mais ajustado e maior influência da variável independente sobre a variável dependente.

Resultados e discussão

Ao todo foram analisados 123 países, totalizando 42 países europeus, 32 asiáticos, 24 africanos, 23 países localizados no continente americano e 2 localizados na Oceania.

Os resultados obtidos para os cálculos de correlação são apresentados na Tabela 1 abaixo.

Tabela 1. Resultado dos coeficientes de correlação de Pearson e Spearman e análise de regressão linear simples.

Coeficiente de correlação	Resultado	Valor
Pearson (r)	0,67	<0,0001
Spearman (p)	0,7	<0,0001
Regressão Linear	Resultado	Valor
R^2	0,4400	-
R^2 ajustado	0,4354	-
Erro padrão para variável independente X (renda)	0,0003	<0,0001

Os coeficientes de correlação encontrados foram de 0,7 para ambos os métodos, indicando uma relação forte e positiva entre o consumo mundial de leite e a renda. Esses resultados estão em concordância com estudos realizados em diferentes países. Siqueira e Guimarães (2021) observaram a influência da renda sobre o consumo de leite e derivados no Brasil, enquanto Can e Can (2022) relataram uma relação semelhante na Turquia, demonstrando que o nível econômico impacta significativamente o consumo de leite.

A regressão linear mostrou que a renda responde sozinha por 44% da variação do consumo de leite no mundo. Embora esse valor seja considerado moderado, o resultado é consistente com a literatura, que aponta a renda como um dos fatores mais importantes, porém não unitário, na determinação do consumo (Ahmad et al., 2023). Guiné et al. (2020) investigaram como a localização geográfica, idade, gênero, nível de escolaridade, satisfação com peso corporal e estilo de vida influenciavam no consumo de diferentes produtos lácteos no Brasil e em Portugal, ressaltando como diversas variáveis podem alterar o consumo de leite e derivados. Já Quang (2019) observou que além de fatores socioeconômicos e geográficos, como renda e escolaridade, aspectos relacionados à qualidade de vida, como a disponibilidade de geladeira para armazenamento, influenciavam o volume de leite consumido por famílias vietnamitas, destacando como outros fatores podem impactar o consumo de lácteos.

Conclusões

Os resultados indicam que a renda está fortemente relacionada com o consumo de leite a nível mundial. O estudo mostra uma correlação forte e positiva entre as variáveis para

ambos os métodos empregados. A regressão linear revelou que, considerando a ampla gama de fatores associados à aquisição e ingestão de leite e derivados, a renda emerge com impacto de 44% na variação do consumo. Isso indica a influência relevante, porém não exclusiva, da renda nas escolhas do consumidor, sendo consistente com estudos prévios conduzidos em diferentes países, reforçando os achados deste estudo.

O impacto direto da renda no consumo de leite indica que à medida que o poder aquisitivo aumenta, há uma tendência de maior aquisição e diversificação de produtos lácteos. Dessa forma, o estudo auxilia diretamente para a formulação de políticas que contribuam para a segurança alimentar da população por meio da melhoria do poder aquisitivo.

Assim, os resultados sugerem que programas de governo que promovam o aumento do poder aquisitivo da população facilitam o acesso aos derivados do leite e permitem maior diversidade alimentar, melhorando a qualidade nutricional da população e auxiliando no desenvolvimento da indústria láctea. Essas políticas públicas focadas no aumento da renda familiar podem influenciar positivamente a segurança alimentar, principalmente em países em desenvolvimento. Este estudo fornece uma visão clara sobre a relação entre renda e consumo de leite e sugere que futuros trabalhos considerem outros fatores socioeconômicos e culturais que podem afetar essa relação para uma compreensão mais completa da dinâmica de consumo alimentar.

Agradecimentos

Ao apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - Brasil (Fapemig). Parte do projeto Observatório do Leite Orgânico: contribuições para o desenvolvimento da cadeia, da inteligência territorial e de subsídios à elaboração de políticas públicas, à Embrapa Gado de Leite pela oportunidade da bolsa recebida do Programa Pibic, que me proporcionou obter experiência e aprendizado, e à doutora e pesquisadora Kenya Beatriz Siqueira pelo acompanhamento, orientação e apoio durante o período de estudos e treinamento.

Referências

- AHMAD, N.; RAHMAN, A. B.; HARUN, S. N. F.; SALLEH, K.; JASMAN, N. Literature review on factors influencing milk consumption behavior among adults. **International Journal of Public Health Research**, v. 13, n. 1, p. 1653-1658, 2023. DOI: <https://doi.org/10.17576/ijphr.1301.2023.05>.
- BONINI NETO, A. B.; BONINI, C. dos S.B. Desenvolvimento de um programa estatístico para análise da correlação de Karl Pearson. **Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas**, v. 5, n. 1, p. 1-11, 2011. DOI: <https://doi.org/10.18011/bioeng2011v5n1p01-11>.
- CAN, H. Y.; CAN, M. F. Factors affecting the individual consumption level of milk and dairy products. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 43, n. 3, p. 943-960, 2022. DOI: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2022v43n3p943>.
- GUINÉ, R. P.; FLORENÇA, S. G.; CARPES, S.; ANJOS, O. Study of the influence of sociodemographic and lifestyle factors on consumption of dairy products: Preliminary study in Portugal and Brazil. **Foods**, v. 9, n. 12, 1775, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods9121775>.
- IFCN. **IFCN Dairy Report 2022**: helping people in the dairy world to make better decisions. Kiel: IFCN Research Network, 2022.
- INTERNATIONAL MONETARY FUND. **World economic outlook**: steady but slow: resilience amid divergence: april 2024. Disponível em: <https://www.imf.org/en/Publications/WEO/Issues/2024/04/16/world-economic-outlook-april-2024>. Acesso em: 12 set. 2024.

JIA, M.; ZHEN, L.; YANG, W.; WANG, S. Changing food consumption pattern and influencing factors in Bangladesh. **Foods**, v. 12, n. 2, 401, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods12020401>.

MERTENS, E.; KUIJSTEN, A.; DOFKOVÁ, M.; MISTURA, L.; D'ADDEZIO, L.; TURRINI, A.; DUBUISSON, C.; FAVRET, S.; HAVARD, S.; TROLLE, E.; VAN'TVERR, P.; GELEIJNSE, J.M. Geographic and socioeconomic diversity of food and nutrient intakes: a comparison of four European countries. **European journal of nutrition**, v. 58, p. 1475-1493, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00394-018-1673-6>.

QUANG, H. V. Factors affecting fresh milk consumption of Vietnamese households. **Livestock Research for Rural Development**, v. 31, n. 3, article 29, 2019.

SIQUEIRA, K. B.; GUIMARÃES, Y. M. O impacto da renda no consumo de lácteos no Brasil. **Indústria de Laticínios**, n. 149, p. 32-34, 2021.

Apoio