

Relatório dos Projetos Concluídos 2008



ISSN 0101- 6245
Versão Eletrônica
Dezembro, 2008

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Suínos e Aves
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos 129

Relatório dos Projetos Concluídos 2008

*Teresinha Marisa Bertol
Arlei Coldebella*
Editores

Embrapa Suínos e Aves
Concórdia, SC
2008

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Suínos e Aves

Rodovia BR 153 - KM 110

89.700-000, Concórdia-SC

Caixa Postal 21

Fone: (49) 3441 0400

Fax: (49) 3441 0497

<http://www.cnpsa.embrapa.br>

sac@cnpsa.embrapa.br

Comitê de Publicações da Embrapa Suínos e Aves

Presidente: Cícero J. Monticelli

Secretário-Executivo: Tânia M.B. Celant

Membros: Teresinha M. Bertol

Jean C.P.V.B. Souza

Gerson N. Scheuermann

Airton Kunz

Valéria M. N. Abreu

Suplente: Arlei Coldebella

Coordenação editorial: Tânia M.B. Celant

Revisão técnica: Dirceu L. Zanotto, Gerson N. Scheuermann, Gilberto S.

Schmidt, Helenice Mazzuco, Jalusa D. Kich, Jean C.P.V.B.

Souza, Jonas I. dos Santos Filho, Liana Brentano, Paulo A.

Esteves, Paulo S. Rosa, Virgínia S. Silva

Normalização bibliográfica: Irene Z.P. Camera

Editoração eletrônica: Vivian Fracasso

Foto(s) da capa: Airton Kunz

1ª edição

Versão eletrônica (2008)

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 Suínos e Aves

Relatório dos projetos concluídos em 2008 / editado por Teresinha Marisa Bertol e Arlei Coldebella. – Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2008.

98p.; 21cm. (Documentos/Embrapa Suínos e Aves, ISSN 01016245; 129).

1. Instituição de pesquisa (Embrapa Suínos e Aves), - Relatório.
I. Bertol, Teresinha Marisa. II. Coldebella, Arlei. III. Série.

CDD 630.72

Autores

Angela Maria Fiorentini

Bióloga, D.Sc. em ciência dos alimentos, professora da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul Departamento de Biologia e Química, Santa Rosa, RS, afiore@unijui.edu.br

Arlei Coldebella

Médico Veterinário, D.Sc. em ciência animal e pastagens, pesquisador da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, arlei@cnpsa.embrapa.br

Dirceu João Duarte Talamini

Engenheiro Agrônomo, Ph.D. em sócio-economia, pesquisador da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, talamini@cnpsa.embrapa.br

Doralice Pedroso de Paiva

Médica Veterinária, Ph.D. em medicina veterinária – parasitologia veterinária, pesquisadora aposentada da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, dppaiva@datacenter.psi.br

Ernani Sebastião Sant'Anna

Farmacêutico e Bioquímico Tecnologia de Alimentos, D.Sc. em ciência dos alimentos, professor da Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Florianópolis, SC.

Fátima Regina Ferreira Jaenisch

Médica Veterinária, M.Sc. em patologia de aves, pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, fatima@cnpsa.embrapa.br

Franco Müller Martins

Engenheiro Agrícola, M.Sc. em sócio-economia, pesquisador da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, franco@cnpsa.embrapa.br

Iara Maria Trevisol

Médica Veterinária, M.Sc. em ciências veterinárias, pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, iara@cnpsa.embrapa.br

Janice Reis Ciacci Zanella

Médica Veterinária, Ph.D. em virologia, pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, janice@cnpsa.embrapa.br

Jonas Irineu dos Santos Filho

Engenheiro Agrônomo, D.Sc. em economia e administração rural, pesquisador da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, jonas@cnpsa.embrapa.br

Liana Brentano

Médica Veterinária, Ph.D. em virologia, pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, liana@cnpsa.embrapa.br

Maristela Cortez Sawitzki

Bióloga, D.Sc. em ciência dos alimentos,
professora da Universidade Estadual do Rio Grande
do Sul, Ibirubá, RS, maristelacsw@hotmail.com

Martha Mayumi Higarashi

Química, D.Sc. em gestão ambiental, pesquisadora
da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC,
martha@cnpsa.embrapa.br

Nelson Morés

Médico Veterinário, M.Sc. em patologia animal,
pesquisador da Embrapa Suínos e Aves,
Concórdia, SC, mores@cnpsa.embrapa.br

Paulo Augusto Esteves

Biólogo, D.Sc. em virologia, pesquisador da
Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC,
pesteves@cnpsa.embrapa.br

Paulo Giovanni de Abreu

Engenheiro Agrícola, D.Sc. em construções rurais
e ambiência, pesquisador da Embrapa Suínos e
Aves, Concórdia, SC, pabreu@cnpsa.embrapa.br

Rejane Schaefer

Médica Veterinária, D.Sc. em ciências veterinárias,
pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves,
Concórdia, SC, rejane@cnpsa.embrapa.br

Teresinha Marisa Bertol

Zootecnista, Ph.D. em zootecnia, pesquisadora da
Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC,
tbertol@cnpsa.embrapa.br

Valéria Maria Nascimento Abreu

Zootecnista, D.Sc. em produção e manejo,
pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves,
Concórdia, SC, valeria@cnpesa.embrapa.br

Virgínia Santiago Silva

Médica Veterinária, D.Sc. em epidemiologia,
pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves,
Concórdia, SC, vica@cnpesa.embrapa.br

Apresentação

Esta publicação visa relatar os principais resultados de projetos de pesquisa da Embrapa Suínos e Aves, finalizados nos anos de 2006 e 2007. O objetivo desta publicação é prestar contas das nossas ações de pesquisa e de construir uma memória técnica desta Unidade.

No caso específico desta publicação, serão apresentados resultados de oito projetos, os quais atendem demandas do setor produtivo em diversas áreas: sanidade, manejo, sócio-economia e tecnologia dos alimentos.

Os resultados obtidos neste projeto demonstram o comprometimento desta instituição com o desenvolvimento sustentável dos agronegócios de suínos e aves. Para além dos fatores produtivos, os projetos aqui relatados, enfocam questões de políticas públicas, agregação de valor, defesa sanitária e aberturas de novos mercados.

Assim, estes projetos corroboram para a diminuição do custo de produção e consequente aumento da competitividade nacional na produção de suínos e frangos, melhoria da qualidade sanitária dos plantéis de suínos nacionais, criando maior possibilidade de inserção da produção nacional no mercado internacional e viabilizam a criação de insumos para a agregação de valor na produção familiar e industrial de salames. Ainda, estes projetos produziram subsídios importantes para a formulação de políticas públicas para a produção de aves com vistas a aumentar a competitividade da produção nacional.

Teresinha M. Bertol
Editora

Sumário

Capítulo 1 - Isolamento e caracterização molecular do vírus de influenza suína.....	11
Capítulo 2 - Clonagem, expressão de antígenos recombinantes do vírus da Doença de Aujeszky dos suínos: desenvolvimento e validação de teste de diagnóstico diferencial para monitoria em área livre.....	21
Capítulo 3 - Estudos da patogenicidade do circovírus suíno tipo 2 (PCV2) em suínos e do papel do macho suíno na disseminação viral dentro do plantel.....	29
Capítulo 4 - Cortina amarela e azul, programas de luz quase contínuo e intermitente, na produção de frangos de corte..	37
Capítulo 5 - Avaliação da casca de arroz e palhada de soja na decomposição de carcaça de frangos de corte e qualidade dos compostos orgânicos resultantes.....	45
Capítulo 6 - Avaliação de sistemas de ventilação e materiais de cama na produção de frangos de corte.....	55
Capítulo 7 - Competitividade e efeitos de políticas públicas sobre o desempenho da cadeia produtiva da avicultura de corte no sul do Brasil.....	65
Capítulo 8 - Desenvolvimento de cultivos iniciadores para o processamento de embutidos cárneos artesanais.....	77

Capítulo 1

Isolamento e caracterização
molecular do vírus de
Influenza Suína

Rejane Schaefer
Iara Maria Trevisol

Introdução

O vírus influenza é um dos agentes infecciosos envolvidos em surtos de doença respiratória aguda em suínos, atuando como agente primário de lesões no aparelho respiratório e também como responsável pelo agravamento de quadros respiratórios pela co-infecção com outros agentes infecciosos. Em suínos, a doença é considerada endêmica e os animais são considerados portadores dos subtipos A/H1N1, A/H3N2 e A/H1N2 (Brown, 2000; Olsen, 2002). Os vírus influenza são geralmente espécie-específicos. Todavia, existe a possibilidade de transmissão de vírus de uma espécie a outra. A partir disto, e devido a possibilidade de troca de segmentos gênicos entre vírus originários de diferentes espécies animais, podem surgir novos vírus contendo diferentes combinações de genes (Ito & Kawaoka, 2000). Os suínos, ao contrário das aves e humanos, foram identificados como a única espécie que contém receptores celulares tanto para vírus de origem aviária como humana (Brown, 2000; Ito & Kawaoka, 2000) e são suscetíveis à infecção com todos os subtipos de vírus aviário até hoje testados (H1-H13; Kida et al., 1994). Desta forma, os suínos participariam do ciclo de influenza como hospedeiros intermediários, importantes para a transmissão do vírus de aves a humanos. Segundo Ninomiya et al. (2002), os suínos podem infectar-se naturalmente com outros subtipos do vírus influenza (H4, H5 e H9), aumentando o risco de interação destas amostras com aquelas de origem humana e, conseqüentemente, aumentando o risco de surgimento de novas amostras virais patogênicas para humanos. Portanto, o estabelecimento de um sistema de monitoramento das infecções causadas pelo vírus influenza em suínos, ainda inexistentes no Brasil, é importante uma vez que o suíno funcionaria como um sentinela para epidemias de influenza em humanos e aves e também como modelo para a investigação do vírus influenza. O monitoramento das populações suínas visando a identificação de vírus influenza "tipo aviário" faz parte de um plano mundial preconizado pela Organização Mundial de Saúde (WHO) e pela Organização Mundial de Sanidade Animal (OIE) para o combate

às infecções causadas pelo vírus Influenza em humanos e animais domésticos.

Objetivos

Os objetivos do projeto foram:

- a) Investigar a ocorrência do vírus influenza em plantéis de suínos localizados na região oeste do estado de Santa Catarina, a qual concentra 27,46% da população de suínos do Sul do Brasil.
- b) Realizar o isolamento e a caracterização molecular do vírus influenza em suínos, através da análise de diferentes genes virais.
- c) Determinar as origens filogenéticas dos vírus isolados.

Resultados e discussão

Durante os anos de 2005 e 2006 foram coletadas duzentas e oitenta e uma (281) amostras de secreção nasal de suínos oriundos de 29 criações comerciais no Sul do Brasil, com e sem histórico de ocorrência de problemas respiratórios. As amostras coletadas foram inoculadas em ovos embrionados de galinhas SPF, de 9-11 dias de incubação. Após 4 passagens virais, os fluidos alantóides dos ovos inoculados foram coletados e submetidos à reação de hemaglutinação (HA) utilizando hemácias de galinhas. Quarenta e quatro (44) amostras foram consideradas positivas pelo teste de HA e duzentas e trinta e sete (237) foram consideradas negativas. Entretanto, quando foram utilizadas no teste hemácias de perus, mais três (3) amostras foram consideradas positivas, totalizando quarenta e sete (47) amostras hemaglutinantes. Segundo Rogers et al. (1983), os eritrócitos de perus apresentam, predominantemente, receptores sialo-oligossacarídeos terminados por ácido N-acetilsialíco ligado a galactose por ligação -2,6 (NeuAc2,6Gal), reconhecidos como receptores de células preferenciais para a ligação dos vírus influenza de origem de suínos, sendo portanto, importantes na identificação de vírus encontrados nesta espécie.

Como uma alternativa ao isolamento viral em ovos embrionados foi padronizado o isolamento em células da linhagem MDCK, consideradas permissíveis aos vírus influenza. Estudos realizados por Erickson et al. (1999), em um pequeno número de amostras (10), sugerem que o isolamento do vírus de influenza suína poderia ser otimizado em células da linhagem MDCK. Entretanto, segundo Clavijo et al. (2002), o isolamento do vírus influenza em ovos embrionados seria a opção de escolha para a detecção viral. No presente trabalho, o vírus controle positivo (H1N1) foi inoculado em células MDCK e, após 24 horas de cultivo, o RNA viral foi extraído das células infectadas (Fig 1). Este método apresentou como vantagem um menor período de tempo para a obtenção dos vírus, quando comparado com o isolamento viral padrão em ovos embrionados onde são necessárias, pelo menos, três passagens para a multiplicação viral, o que leva em torno de 3 semanas. Entretanto, estes resultados dizem respeito a uma amostra de vírus possivelmente já adaptada a ovos embrionados. Este trabalho não avaliou o isolamento de amostras de campo do vírus influenza em células.

Posteriormente, as amostras que apresentaram positividade no teste de HA foram analisadas por PCR. Para isto, foi otimizada uma reação de PCR que amplifica uma sequência do gene da matriz (M) do vírus influenza. A PCR/M amplifica um fragmento do genoma de vírus isolados de diferentes espécies animais (aves, suínos e humanos), permitindo o monitoramento desta infecção em outras espécies (Fouchier et al., 2000). Após a análise das amostras de campo com a PCR/M foram identificadas 3 amostras que apresentaram bandas fracas, após a eletroforese em gel de agarose, com tamanho compatível com a amplificação de um fragmento do gene M (244pb) do vírus influenza (Fig 2). Entretanto, não foi possível recuperar DNA suficiente para a reação de sequenciamento. Desta forma, com o objetivo de identificar nas amostras coletadas de suínos outros vírus que poderiam causar infecção nesta espécie, foi realizado o teste de RAPD (Random amplified polymorphic DNA; Amersham Biosciences) a partir do cDNA

das amostras consideradas positivas pelo teste de HA. O teste de RAPD é uma técnica utilizada para detectar polimorfismos genômicos utilizando para isto um único primer oligonucleotídeo curto e de sequência arbitrária em uma reação de PCR. A reação de PCR é realizada em condições de baixa estringência de forma a gerar um arranjo reprodutível de produtos sequência-específicos que são analisados por eletroforese. Os produtos da PCR, após passarem por um processo de purificação, podem ser analisados através do seqüenciamento de DNA. Entretanto, após ser realizada a reação de RAPD, somente foram verificados fragmentos de DNA na amostra controle positivo do teste (DNA de *E. coli*) e bandas fracas quando utilizou-se cDNA da amostra controle positiva (H1N1). Neste caso, não foi possível detectar sequências do vírus de influenza e nem de outros vírus que infectam suínos.

Muito embora não tenha sido possível isolar nenhuma amostra do vírus influenza em suínos, é sabido que o vírus circula nesta espécie. Em um trabalho prévio, desenvolvido pela Embrapa Suínos e Aves, o qual analisou amostras de soro de suínos coletadas entre os anos de 1996 e 1999 foi identificada a presença de anticorpos contra os subtipos H1N1 (em 2,2% dos soros testados) e H3N2 (em 16,7% dos soros testados; Brentano et al., 2002), subtipos prevalentes em suínos, nos quais a infecção é considerada endêmica. A prevalência desta infecção em suínos poderá ser muito baixa de acordo com as características de sazonalidade da doença, que pode ser maior no inverno, o que determina uma possível variabilidade na ocorrência da doença e número provável de isolamentos do vírus.

Esta dificuldade em isolar amostras do vírus influenza em suínos pode ocorrer em virtude da presença de imunidade prévia ao vírus em suínos, o que faz com que o mesmo circule sem evidências de sintomatologia clínica. Nestes casos, o vírus funcionaria como porta de entrada para outras infecções respiratórias em suínos. Também, o sucesso do isolamento viral é determinado pela oportunidade ou não de detectar e

coletar em tempo o material de animais ainda em fase aguda da doença. O sucesso na detecção do vírus é maior quando as amostras são coletadas na fase inicial da infecção, durante o período febril, nos primeiros sete dias de doença (Easterday et al., 1999). Após isto, e em virtude da ocorrência de infecção secundária com outros agentes virais ou bacterianos, as oportunidades de isolar o vírus são menores.

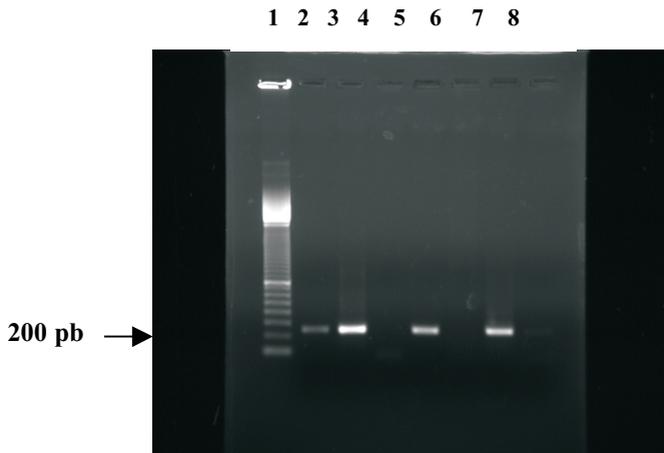


Fig 1. PCR/ M (H1N1; extração viral a partir de fluido alantóide de ovos e a partir do SN de células MDCK; 24 e 48 horas de cultivo). L1: Marcador de peso molecular de 100pb; L2. Líq. alantóide; L3. SN/MDCK 48hs; L4. SN/MDCK (extração dupla); L5. Líq. alantóide (extração dupla); L6. SN/MDCK 48hs (extração dupla); L7. SN/MDCK 24hs; L8. Controle negativo.

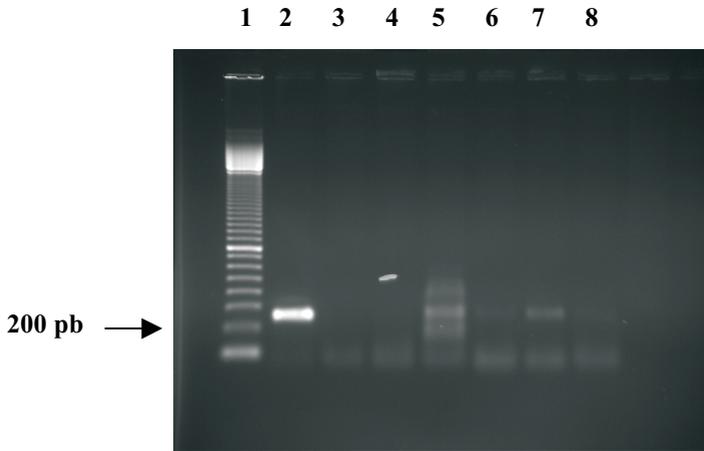


Fig 2. PCR/ M (H1N1). L1: Marcador de peso molecular de 100pb; L2: controle positivo, amostra H1N1; L3: amostra 36; L4: amostra 37; L5: amostra 45; L6: amostra: 74; L7: amostra 76 e L8: controle negativo.

Considerações finais

- A dificuldade encontrada no isolamento do SIV em suínos no presente trabalho não exclui a presença do mesmo nos rebanhos suínos no Sul do Brasil, uma vez que a avaliação sorológica dos rebanhos indicou a circulação do vírus influenza na população suína, mas com baixa prevalência.
- Mais estudos serão necessários para a confirmação dos resultados encontrados com a PCR/M em 3 das amostras analisadas.
- A identificação e o monitoramento de quais subtipos virais são predominantes na população suína somente será possível com a intensificação da vigilância da infecção na população suína e avaliação de material colhido de suínos com sintomas da infecção.

Referências

- BRENTANO, L.; CIACCI-ZANELLA, J. R.; MORES, N.; PIFFER, I. A. Levantamento soroepidemiológico para Coronavírus Respiratório e da Gastroenterite Transmissível e dos Vírus de Influenza H3N2 e H1N1 em rebanhos suínos no Brasil. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2002. 6 p. (Embrapa Suínos e Aves. Comunicado Técnico, 306).
- BROWN, I. H. The epidemiology and evolution of influenza viruses in pigs. *Veterinary Microbiology*, v. 74, p. 29-46, 2000.
- CLAVIJO, A.; TRESNAN, D. B.; JOLIE, R.; ZHOU, E -M. Comparison of embryonated chickens eggs with MDCK cell culture for the isolation of influenza swine virus. *Canadian Journal of Veterinary Research*, v.66, p. 117-121, 2002.
- EASTERDAY, B. C., VAN REETH, K. Swine influenza In: STRAW, B. E.; D'ALLAIRE, S.; MENGELING, W. L.; TAYLOR, D. J. (Ed). *Diseases of Swine*. 8.ed. Ames: Iowa State University Press, 1999. p. 277-290.

FOUCHIER, R. A. M.; BESTEBROER, T. M.; HERFST, S.; VAN DER KEMP, L.; RIMMELZWAAN, G. F.; OSTERHAUS, A. D. M. E. Detection of influenza A viruses from different species by PCR amplification of conserved sequences in the matrix gene. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 38, p. 4096-4101, 2000.

ITO, T., KAWAOKA, Y. Host range barrier of influenza A virus. *Veterinary Microbiology*, v.74, p.71-75, 2000.

KIDA, H.; ITO, T.; YASUDA, J.; SHIMIZU, Y.; ITAKURA, C.; SHORTRIDGE K. F.; KAWAOKA, Y.; WEBSTER, R. C. Potential for transmission of avian influenza virus to pigs. *Journal of General Virology*, v.75, p. 2183-2188, 1994.

NINOMIYA, A.; TAKADA, A.; OKAZAKI, K.; SHORTRIDGE, K. F.; KIDA, H. Seroepidemiological evidence of H4, H5, and H9 influenza A virus transmission to pigs in southeastern China. *Veterinary Microbiology*, v.88, p. 107-114, 2002.

OLSEN, C. W. The emergence of novel swine influenza viruses in North America. *Virus Research*, v.85, p. 199-210, 2002.

ROGERS, G. N.; PAULSON, J. C.; DANIELS, R. S.; SKEHEL, J. J.; WILSON, I. A.; WILEY, D. C. Single amino acid substitutions in influenza haemagglutinin change receptor binding specificity. *Nature*, v.304, p. 76-78, 1983.

Agradecimentos: às agroindústrias da região (Seara Alimentos e SADIA) que permitiram a coleta de animais das integrações sob sua responsabilidade. Este trabalho foi realizado com o apoio técnico laboratorial de Tania P. Klein e Magda Mulinari.

Capítulo 2

Clonagem, expressão de antígenos recombinantes do vírus da Doença de Aujeszky dos suínos: desenvolvimento e validação de teste de diagnóstico diferencial para monitoria em área livre

Janice Reis Ciacci Zanella
Nelson Morés
Rejane Schaefer
Paulo Augusto Esteves
Liana Brentano

Introdução

O vírus da doença de Aujeszky (VDA) causa uma infecção em suínos de elevado impacto econômico para os mercados interno e externo. A doença ocorre em suínos no Brasil desde a década de 80, quando se tornou endêmica em estados produtores como Santa Catarina. O VDA é um vírus alfa herpesvírus envelopado com genoma DNA de fita dupla e linear. O genoma do VDA codifica 11 glicoproteínas, as quais são o maior alvo do sistema imune do hospedeiro em resposta à infecção. A glicoproteína E ou gE é uma proteína não essencial para replicação viral e a deleção do gene da gE é muito utilizada para a produção de vacinas com marcadores. Para o controle da DA é utilizada uma vacina deletada para a gE (glicoproteína E) viral. Assim, anticorpos de suínos vacinados podem ser detectados pelo teste de ELISA diferencial.

Um programa de erradicação iniciado em 2001, financiado por parceria da indústria, associação de produtores, governos e EMBRAPA, eliminou a DA de rebanhos suínos de SC. Todavia, para manter SC e o Brasil livres da DA, existe grande demanda para testes de diagnóstico baratos, seguros (sem partícula viral infecciosa) e de preferência, com tecnologia nacional. A efetivação do diagnóstico laboratorial dessa virose através da importação de reagentes é economicamente inviável e o desenvolvimento de insumos visa auxiliar programas de erradicação do VDA.

Objetivos

O objetivo final deste projeto foi viabilizar o desenvolvimento e validação de testes laboratoriais específicos e nacionais para auxiliar no prosseguimento do programa de erradicação e controle da Doença de Aujeszky em suínos no Estado de SC, visando sua aplicação em outros estados brasileiros. Desta forma, o projeto previu o desenvolvimento de insumos e testes de diagnóstico visando auxiliar nos programas de

erradicação do VDA. O insumo desenvolvido foi a proteína recombinante do VDA (gE) para desenvolvimento de teste de ELISA nacional de menor custo.

Resultados e discussão

Com o objetivo de clonar e expressar proteína viral do VDA, a sequência do gene da gE foi amplificada, e a gE clonada e expressada no sistema de expressão em baculovírus. A sequência completa do gene da gE do VDA foi amplificada por PCR, usando primers aneladores contendo os sítios para EcoRI e BamHI. O produto de 1771 pb da sequência completa da gE do VDA foi clonado no vetor pGem[®]-T Easy e subclonado no plasmídeo de expressão pFastBac[™]1. O DNA recombinante pFastBac-gE_VDA foi usado para a transposição sítio-específica no baculovírus recombinante (bacmid). Após seleção por antibióticos e cor, as colônias com o recombinante bacmid_pFastBac-gE_VDA foram selecionadas e a presença do gene da gE foi confirmada por PCR. O DNA recombinante viral, bacmid_pFastBac-gE_VDA, foi usado para cotransfecção de células de inseto *Trichoplusia ni* (Fig. 1) e, aos cinco dias pós-infecção, a presença do recombinante e a proteína gE foi determinada por PCR, por SDS-PAGE e Western blotting (Fig. 2), respectivamente.

Tecnologias geradas

O baculovírus_gE_VDA recombinante expressa uma proteína que poderá ser usada para produção de antígenos ou de anticorpos monoclonais no desenvolvimento de teste de diagnóstico mais sensível, seguro e específico para a DA.



Fig. 1. Fotografia ao microscópio invertido de células BTI-Tn-5B1-4 infectadas com vírus recombinante bacmid-pFastBac.gE.VDA. Observa-se ECP no núcleo celular sem a formação de poliedros.

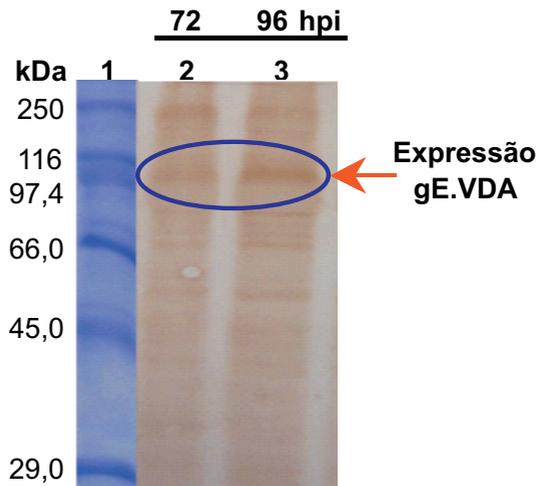


Fig. 2. Análise por "Western blotting" do extrato celular da produção de

Considerações finais

A tecnologia "Teste de Elisa Diferencial do Vírus da Doença Aujeszky" foi revisada e caracterizada para ser incluída junto à Embrapa Transferência de Tecnologia no Programa de Incubação de Empresas da Embrapa – PROETA. Mas, dentro das cinco tecnologias, foram selecionadas apenas três, sendo que o teste não foi contemplado. Em reunião de apresentação de resultados dos Núcleos Temáticos foi sugerido a inclusão dessa tecnologia para ser desenvolvida, patenteada, produzida e transferida para laboratórios de diagnóstico de instituições governamentais ou privadas, através de empresas de inovação interessadas.

Esse projeto gerou vários indicadores como seis artigos em revista indexada, seis trabalhos completo em anais de congresso; três resumos em congresso científico e 10 publicações técnicas, totalizando 25 publicações. Gerou também indicadores de divulgação do resultado de alcance individual (seis bolsas e/ou estágios), dois de alcance grupal (cursos e seminários) e 23 de alcance massivo, como a elaboração programa para o MAPA (Instrução Normativa N° 8 de 2007), três Congressos internacionais, quatro mesas redondas em congressos, duas entrevistas, três textos jornais/revistas e oito palestras. Esse projeto também teve duas premiações principais:

- Prêmio Nacional de Equipes Categoria Criatividade da Embrapa com o Projeto de Pesquisa: Clonagem, expressão de antígenos recombinantes do vírus da doença de Aujeszky dos suínos: desenvolvimento e validação de teste de diagnóstico diferencial para monitoria em área livre. Ano 2006.
- Melhor Trabalho Científico na Área de Sanidade (AMPLIFICAÇÃO DO GENE DA GLICOPROTEÍNA E (GE) DO VÍRUS DA DOENÇA DE AUJESZKY PARA GERAÇÃO DE INSUMOS PARA PROGRAMA DE ERRADICAÇÃO), Congresso PorkWorld 2006.

Referências

DAMBROS, R.M.F.; RIBEIRO, B.M.; AGUIAR, R.W. de S.; SCHAEFER, R.; ESTEVES, A.; PERECMANIS, S.; SIMON, N.L.; SILVA, N.C.; COLDEBELLA, M.; ZANELLA, J.R.C. Cloning and expression of Aujeszky's disease virus glycoprotein E (gE) in baculovirus system. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 38, p.494-499, 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº8 DE 3 DE ABRIL DE 2007. NORMAS PARA O CONTROLE E A ERRADICAÇÃO DA DOENÇA DE AUJESZKY (DA) EM SUÍDEOS. Publicado no Diário Oficial da União de 10/04/2007, Seção 1, Página 1.

Capítulo 3

Estudos da patogenicidade
do circovírus suíno tipo 2
(PCV2) em suínos e do papel
do macho suíno na
disseminação viral dentro do
plantel

Janice Reis Ciacci Zanella
Nelson Morés
Paulo Augusto Esteves

Introdução

A circovirose suína é um conjunto de síndromes causada pela infecção do circovírus suíno tipo 2 (PCV2). A doença tem grande importância econômica e é atualmente a mais pesquisada da suinocultura mundial. A principal manifestação da circovirose suína a Síndrome Multissistêmica do Definhamento do Suíno (SMDS). Contudo, o PCV2 tem sido relacionado também com outras síndromes e doenças, como a Síndrome da Dermatite e Nefropatia Suína (SDNS), doença do complexo respiratório suíno, falhas reprodutivas com presença de natimortos, mumificação fetal e abortos, enterite granulomatosa, epidermite exsudativa, linfadenite necrotizante e tremor congênito.

Objetivos

O objetivo deste trabalho foi estudar a importância da infecção do PCV2 no sistema reprodutor masculino, seu tropismo, a disseminação viral via sêmen e capacidade infectiva do PCV2 no sêmen para fêmeas suínas e suas leitgadas.

Resultados e Discussão

Para estudar o tropismo do PCV2 nos órgãos dos cachaços, propôs-se a implantação de metodologias de diagnóstico específicas, como a imunohistoquímica (IHQ) e hibridização in situ (HIS). Estas técnicas foram desenvolvidas e implantadas a partir de material positivo por histopatologia e nested-PCR (reação da polimerase em cadeia – interna) para circovirose suína, provenientes de diagnósticos de casos de campo e inoculações experimentais realizadas anteriormente. Testou-se por nested-PCR 503 amostras de sêmen de 11 centrais de colheita de sêmen e 1 granja (monta natural) e obteve-se 53 amostras positivas. Posteriormente, machos de centrais de inseminação positivos para PCV2 no sêmen (por nested-PCR ou PCR em tempo real) foram

necropsiados ou enviados ao abate e sêmen e órgãos foram coletados. Fragmentos de órgãos do sistema reprodutivo de machos suínos positivos para DNA de PCV2 por nested-PCR em órgãos e sêmen foram processados para análise histológica, IHQ ou HIS. Análises de IHQ ou HIS puderam detectar células positivas nos rins (células do epitélio renal tubular), linfonodo mesentérico, inguinal, e tonsilas (histiócitos), testículos (macrófagos intersticiais) e órgãos reprodutivos acessórios como próstata (células intersticiais), glândula bulbo-uretral (macrófagos) e epidídimo (células epiteliais). Ainda não está claro qual o mecanismo que o PCV2 utiliza para se manter persistente nas células dos órgãos reprodutivos dos machos suínos. A técnica de TUNEL foi empregada para descartar a hipótese de apoptose (morte celular programada) nas células do sistema imune ou outras células, que poderiam ser causadas pelo PCV2, objetivando assim se manter e replicar nesses tecidos. Devido ao fraco sinal de positividade, tanto por IHQ, HIS ou PCR tempo real, a quantidade de PCV2 nessas células é mínima, indicando uma baixa carga viral nesses tecidos. Avaliações de morfologia e motilidade espermática do sêmen colhido aos 21 e 1 dia anteriores à necropsia destes machos positivos para PCV2, também foram realizadas. Não foi encontrada uma relação entre a presença do PCV2 e as alterações de morfologia espermáticas.

Para estudar a epidemiologia da doença, suínos machos, filhos de mães negativas para PCV2 com pai positivo e de mãe e pai negativos para PCV2 foram acompanhados clinicamente, e ao atingirem a maturidade sexual foram realizadas coletas de sêmen e de sangue para avaliação por nested-PCR. Após isto, os animais foram eutanasiados e procedida a coleta de diversos órgãos para análise por histopatologia, nested-PCR, ISH, IHQ e TUNEL, para análises de morfologia, patogenia, tropismo viral e duração da persistência viral. Ao avaliar as amostras por nested-PCR, vários tecidos foram positivos em 10 dos 12 suínos, sendo mais prevalentes linfonodos, medula óssea e baço. Ao avaliar as mesmas amostras por IHQ, várias foram positivas em 8 dos 12 suínos, sendo as mais prevalentes linfonodos, tonsila e glândula bulbouretral. No geral,

os resultados obtidos nas diferentes amostras nos 3 testes (ICQ, nested-PCR e IHQ) corroboraram entre si. Assim, estes resultados evidenciam que a transmissão do PCV2 pelo sêmen para as fêmeas e para a leitegada pode ocorrer e também representam um potencial risco de infecção para rebanhos negativos.

Tecnologias geradas

Durante a execução desse projeto e para a obtenção de resultados várias metodologias foram geradas, dentre elas a padronização da imunohistoquímica (IHQ) uma metodologia de hibridização in situ (HIS) para detecção de DNA intracelular e uma metodologia de detecção de apoptose através de fragmentação do DNA intra-celular (TUNEL). Também foi gerada uma prática/processo agropecuário cujo título é: Protocolo de teste para circovírus suíno tipo 2 (PCV2) e qualidade morfológica do sêmen de cachos de centrais de inseminação artificial (CIA).

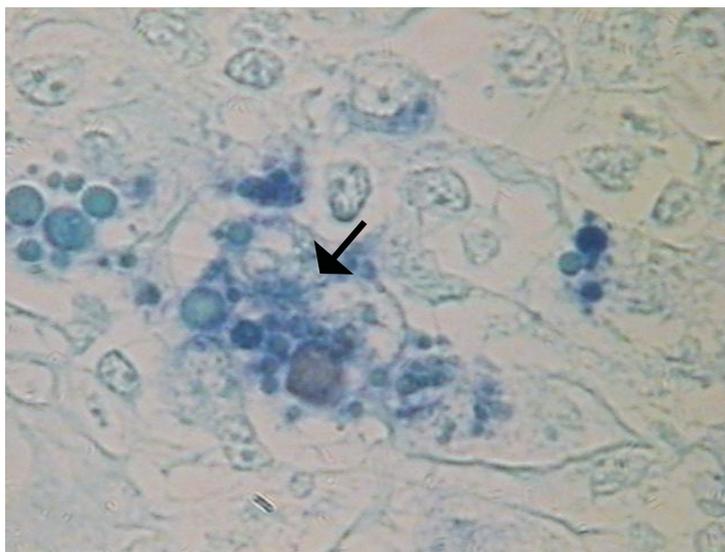


Fig. 1. Detecção de DNA de PCV2 por ISH em linfócitos de suínos com circovirose suína. No detalhe corpúsculos de inclusão viral.

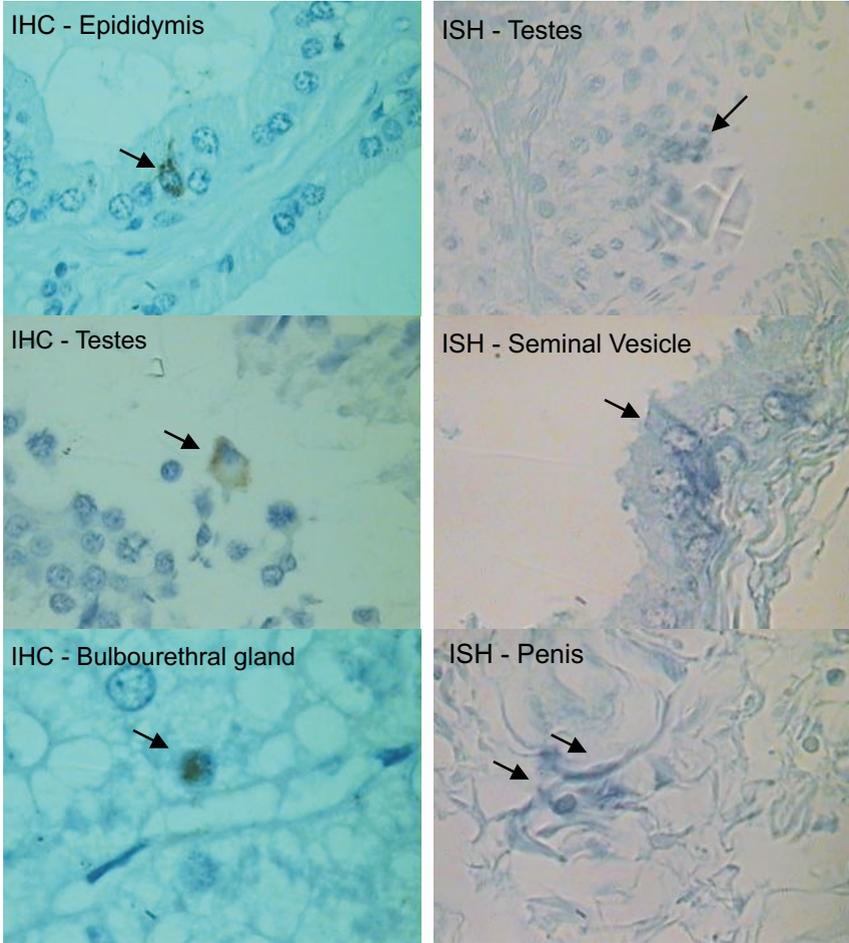


Fig. 2. Detecção de antígenos (imunohistoquímica - IHC) e DNA (hibridização in situ -ISH) de PCV2 em células de cachos naturalmente infectados por PCV2. O teste de IHC detectou células positivas nos testículos (macrófagos intersiticiais) e em glândulas acessórias do aparelho reprodutor como próstata (células intersticiais), glândula bulbouretral (macrófagos) e epididimo (células epiteliais). Resultados semelhantes foram encontrados por ISH.

Considerações finais

Esse projeto gerou vários indicadores, como seis artigos em revista indexada, 15 trabalhos completos em anais de congresso; um capítulo de livro e quatro publicações técnicas, totalizando 26 publicações. Gerou também indicadores de divulgação do resultado de alcance individual (13 bolsas e/ou estágios), oito de alcance grupal (cursos e seminários) e 27 de alcance massivo como sete Congressos internacionais, cinco mesas redondas em congressos, três textos em jornais/revistas e 13 palestras.

Referências

GAVA D.; ZANELLA E. L.; MORÉS N.; CIACCI-ZANELLA J. R. Transmission of Porcine Circovirus 2 (PCV2) by semen and viral distribution in the different piglet tissues. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.28, p.70-76, 2008.

ZANELLA, J. R. C. Porcine circovirus type 2 infection: research, economical impact, clinical and epidemiological presentation in Brazilian swine herds. In: ALMEIDA, M. R. de; MORAES, M. P.; PATARROYO, S. J. H.; VIDIGAL, P. M. P.; BORÉN, A. *Biotecnologia e saúde animal*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2007. p.252-269.

Capítulo 4

Cortina amarela e azul,
programas de luz quase
contínuo e intermitente, na
produção de frangos de
corte

Paulo Giovanni de Abreu
Valéria Maria Nascimento Abreu
Arlei Coldebella
Fátima Regina Ferreira Jaenisch
Doralice Pedroso de Paiva
Jonas Irineu dos Santos Filho

Introdução

A finalidade do programa de luz para frango de corte é regular o consumo de alimento pelas aves. Sua utilização, em frangos de corte, deve ser bem planejada de maneira a não comprometer a curva de crescimento normal das aves e não elevar a mortalidade tendo como consequência o comprometimento da conversão alimentar. A importância dessa prática aumenta na época de verão, quando as aves devem ter estímulo para se alimentar no período da noite, horário de temperatura mais amena. A manipulação do fotoperíodo na avicultura é uma ferramenta muito útil e de baixo custo. Com a compreensão das influências do fotoperíodo em vários aspectos da produção de frangos, um produtor hábil pode selecionar entre uma variedade de programas de luz e escolher o que irá otimizar a combinação das características de produção que forneça o maior retorno. De acordo com Fussel et al. (2003), fatores tais como genética, práticas de manejo, densidade nutricional e consumo de ração devem ser levados em conta para se definir um programa de luz para frangos de corte. Indica esse autor, ainda, como fatores a serem considerados a época do ano e a latitude onde os aviários se encontram, por interferirem com a duração do dia durante o ano. Mas, para Rutz & Bermudez (2004), independente do tipo de aviário, os princípios e os objetivos básicos dos programas de luz para frangos de corte são os mesmos para aviários de ambiente controlado e aberto. Na criação de frangos de corte, diversos esquemas de luz contínua e intermitente, em diferentes intensidades, tem sido propostos, com o objetivo de propiciar condições ambientais satisfatórias para se obter animais com maior ganho de peso, melhor conversão alimentar, qualidade de carcaça superior e livre de alterações metabólicas (Rutz et al., 2000).

Além dos programas de luz, as cortinas também são fundamentais para a criação de frangos de corte. Elas devem ser instaladas nas laterais, pelo lado de fora, para evitar penetração de sol, chuva e controlar a ventilação no interior do aviário. Para que se obtenha um lote sadio e

vigoroso é fundamental fazer manejo adequado das cortinas o dia todo. As cortinas são um componente importante para manutenção do microclima do aviário, que é dependente da idade da ave e estação do ano. Outro ponto que vêm chamando a atenção na avicultura industrial é a utilização de cortina amarela ou azul. Deve-se salientar, que pouca informação científica se tem a respeito dessa prática, onde as recomendações baseadas em suposições dos efeitos benéficos do uso dessas cortinas sobre o desempenho das aves são realizadas de maneira empírica.

Outra fonte de preocupação na criação de aves é a presença de insetos. Os insetos do gênero *Alphitobius diaperinus* podem se tornar um problema na produção intensiva de frangos de corte. A reutilização da cama dos aviários, fornecendo abrigo e alimento, permite a multiplicação desses insetos podendo atingir níveis de incômodo. Além de potenciais vetores de patógenos e parasitos (Arends, 1987; Arends, 1991), tanto dentro da criação, quanto para as propriedades vizinhas, também podem interferir no desenvolvimento das aves, quando ingeridos em grandes quantidades. A luz tem efeito sobre os insetos, podendo ser um fator limitante da população e um regulador da atividade. Assim a atividade diária é regulada pelo fotoperíodo e a reação de atração ou repelência depende dos diferentes comprimentos de onda da luz monocromática (Silveira Neto et al., 1976). Os insetos podem apresentar comportamentos distintos diante de uma cor policromática e uma luz monocromática.

Por fim, a análise econômica é fundamental para se definir o programa de luz a ser utilizado pela empresa. Fatores como peso vivo, consumo de ração, viabilidade das aves, consumo de energia elétrica são fundamentais para essa análise.

Objetivos

- avaliar o consumo de energia elétrica e o desempenho produtivo;
- avaliar o rendimento da carcaça, suas partes e gordura abdominal;
- avaliar o conforto térmico;
- avaliar o nível de iluminação nos aviários;
- avaliar a evolução da população de cascudinhos nos aviários;
- realizar a análise bioeconômica dos sistemas.

Metodologia

O experimento foi conduzido na Embrapa Suínos e Aves, sendo criados seis lotes consecutivos, em quatro aviários para frangos de 12 m x 10 m, divididos internamente em quatro boxes, com 200 aves cada. A cama foi reutilizada, sendo que o primeiro lote recebeu cama nova e para os seguintes a cama foi repostada somente nos círculos de proteção. Para a iluminação foram utilizadas lâmpadas incandescentes com intensidade de 60 watts. Os tratamentos foram dois tipos de cortina (amarela e azul) e dois programas de iluminação (quase contínuo – 23L: 1E e Intermitente – 16L: 2E : 1L :2E :1L : 2E). Onde E = escuro e L = luz. Foram utilizados no total 19.200 machos da linhagem Ross, distribuídos em quatro repetições, em esquema fatorial 6x2x2 (lotes, programas de luz, cortinas). As variáveis estudadas foram: peso vivo, ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar aos 21, 35 e 42 dias de idade das aves, mortalidade, presença de lesão no coxim plantar, rendimento de carcaça e suas partes ao abate. Também foram avaliadas: a Temperatura do Ar, o Índice de Temperatura de Globo e Umidade (ITGU), a Carga Térmica Radiante (CTR), a Umidade Relativa do AR, o nível de iluminação, o consumo de energia elétrica e a evolução da população de cascudinhos. Foi realizada a avaliação econômica dos sistemas por meio do cálculo do custo de produção.

Conclusões

Em geral, a luz quase contínua e cortina amarela, apresentaram melhores resultados de desempenho para lotes de verão e outono, enquanto que para os lotes de primavera e verão os melhores resultados foram obtidos quando se utilizou o programa de luz intermitente com a cortina amarela.

O programa de luz quase contínuo propiciou aumento na mortalidade e no consumo de energia elétrica. O programa de luz intermitente proporcionou melhor rendimento de coxa e sobrecoxa. O programa de luz e a cor da cortina não interferiram na deposição de gordura abdominal e nem no aparecimento de calos de peito e coxim plantar.

Os melhores resultados para o conforto térmico das aves foram encontrados ao se utilizar o programa de luz contínuo e a cortina amarela. A reutilização da cama aumenta o número de cascudinhos, independente dos dois tipos de cortina utilizado.

A maior presença de cascudinhos ocorreu nos aviários com cortina de cor azul e com programa de luz intermitente. Os resultados indicam a necessidade de se testar o efeito das cortinas sem a interferência dos diferentes programas de luz, considerando-se os horários de maior movimentação dos insetos.

A análise econômica mostrou a viabilidade de se usar um sistema misto, com programa de luz intermitente no inverno e primavera e o quase contínuo no verão e outono, ambos com cortina amarela.

Recomendação

Com a análise de todos os fatores envolvidos no estudo, recomenda-se a utilização da cortina amarela e programa de luz misto, intermitente (inverno e primavera) e quase contínuo (verão e outono).

Referências

ARENDS, J. J. Control, management of the litter beetle. *Poultry Digest*, v.46, p. 172-176, 1987.

ARENDS, J. J. External parasites and poultry pests. In: CALNEK, B. W. *Diseases of poultry*. 9. ed. Ames: Iowa State University Press, 1991. p. 703-730.

FUSSEL, L. W.; DIPLOMATE, M. A. M.; ROSSI, A. Lighting programs and Cobb 500 broiler performance. *Technical Focus*, v.1, p. 1-4, 2003.

RUTZ, F.; ROLL, V. F. B.; XAVIER E. G. Manejo de luz para frangos e reprodutoras. In: CONFÊRENCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2000, Campinas, SP. Anais. Campinas: FACTA, 2000. p. 213 - 240

RUTZ, F.; BERMUDEZ, V. L. Fundamentos de um programa de luz para frangos de corte. In: MENDES, A. A.; NAAS, I. A.; MACARI, M. *Produção de frangos de corte*. Campinas: FACTA, 2004, cap. 10, p.157-168.

SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O.; BARLIN, D.; VILLA NOVA, N. A. *Manual de ecologia dos insetos*. Piracicaba, CERES, 1976. 419p

Capítulo 5

Avaliação da casca de arroz
e palhada de soja na
decomposição de carcaças
de frangos de corte e
qualidade dos compostos
orgânicos resultantes

Paulo Giovanni de Abreu
Doralice Pedroso de Paiva
Valéria Maria Nascimento Abreu
Arlei Coldebella

Introdução

Assuntos como reciclagem de materiais, educação ambiental, preservação das matas e qualidade da água são atualmente tema central de vários questionamentos, estudos e debates. Os resíduos orgânicos destacam-se nesse contexto, uma vez que seu destino final inadequado faz com que eles se tornem fonte poluidora, principalmente pela sua disposição no ambiente, e na maioria dos casos, sem prévio tratamento.

Várias atividades humanas são responsáveis pela produção desse rejeito, dentre elas, domiciliares, industriais e agropecuárias. A criação de aves de corte é uma dessas fontes de resíduos orgânicos. Na atividade avícola, um dos resíduos que merece destaque é o das carcaças de aves mortas, cujo volume aumentou consideravelmente em função da expansão do setor e da concentração de aves em um mesmo local (Dai Pra & Maronezi, 2005). Assim, a inserção das questões ambientais na avicultura deve ser feita o quanto antes, a fim de evitar prejuízos ambientais, sociais e econômicos maiores, comprometendo o desenvolvimento das atuais e das novas regiões produtoras (Palhares, 2005).

A mortalidade natural de um ciclo de produção de frangos de corte está em torno de 3% a 5% (Valente et al., 2007). Por isso, a importância de se dar um destino correto a essas carcaças. O destino adequado dos resíduos da produção avícola é um desafio para os produtores. As carcaças das aves que morrem durante o período de criação precisam ser manejadas de forma a impedir maus odores e a criação de moscas. Uma das alternativas para se resolver esse problema considerada econômica e ambientalmente aceitável, é a compostagem (McSafley et al., 1992), um processo natural de decomposição da matéria orgânica realizada por bactérias e fungos que transformam as carcaças em um produto útil, o composto. Portanto, a compostagem é uma forma eficiente de dispor adequadamente, no ambiente, a mortalidade diária que ocorre em galpões de frango de corte, com a vantagem de ser uma

tecnologia de baixo custo, promovendo a reciclagem dos nutrientes contidos nas carcaças, eliminando agentes patogênicos e garantindo a biossegurança necessária para a atividade (Costa et al., 2006). Possibilita ainda a diminuição do volume da matéria orgânica e a sua reutilização na forma de adubo rico em nutrientes.

Para a compostagem de aves pode-se usar como material aerador e fonte de carbono a maioria dos substratos de cama de aviários. Esses substratos têm uma relação carbono nitrogênio próxima à ideal para compostagem (em torno de 30:1) e a cama pode servir como substrato para compostagem de carcaças, quando se adiciona umidade suficiente para ativá-la, produzindo, ao final, um produto que pode ser utilizado como adubo (Rynk, 1992). A mistura inicial para compostagem deve ter uma relação C:N entre 13:1 e 15:1 (McSafley et al., 1992), sendo aceitáveis relações C:N entre 15:1 e 35:1, com umidade entre 40% e 60%. O Ministério da Agricultura (Brasil, 2005) indica o valor final de 18 para a relação C/N ao estabelecer as especificações dos fertilizantes orgânicos (Brasil, 2005). A escolha do substrato para cama, em geral um resíduo vegetal e, posteriormente, a sua destinação para compostagem, vai depender da disponibilidade e do custo do resíduo na região.

Objetivos

- Avaliar o desempenho da casca de arroz e da palhada de soja como substratos para compostagem de carcaça de frangos de corte, observando a degradação dos dois substratos e das carcaças;
- Avaliar a qualidade dos compostos orgânicos obtidos de substratos de casca de arroz e palhada de soja após a decomposição de carcaças de aves.

Metodologia

O experimento foi executado no Campo Experimental de Suruvi, da Embrapa Suínos e Aves, em Concórdia/SC, sendo utilizada uma composteira com seis câmaras, cada uma com medidas internas de 0,80 m de largura, 1,20 m de profundidade e 1,50 m de altura de parede. As câmaras foram construídas com piso em alvenaria de concreto e paredes de madeira, com cobertura de telhas de amianto. Foram testados dois tipos de substrato para compostagem, palhada de soja e casca arroz. Iniciou-se com substratos novos, que foram reutilizados, por quatro lotes. Ao final de cada lote foram colocadas, em cada câmara, 10 aves recém abatidas, num total de 60 aves por lote. Para a montagem de cada câmara, as 10 aves foram pesadas. Após foi calculada a quantidade de água a ser agregada, equivalendo a 30% do peso das aves. A pilha de compostagem foi montada sobre uma camada de 30 cm do substrato novo alojando-se, no início, cinco carcaças em uma camada e as outras cinco em uma segunda camada, cobertas por nova camada de 20 cm do mesmo substrato. Após um período de compostagem de 15 dias, foi feito o tombamento da pilha e a pesagem dos resíduos das carcaças e do substrato, em separado. Em seguida foi realizada a remontagem e agregação de água, em quantidade correspondente a 30% do peso do total dos resíduos das carcaças. Aos 30 dias do início da compostagem foi feita a segunda pesagem dos resíduos e do substrato, separadamente, sendo montada nova pilha com o mesmo substrato e os resíduos remanescentes sendo divididos em duas camadas, deixando-se compostar por mais 15 dias. O procedimento foi repetido por quatro vezes reutilizando-se o mesmo substrato, formando, a partir do segundo lote, três camadas de carcaças, sendo a inferior com os resíduos remanescentes do lote anterior e, as outras duas, cada uma com cinco aves recém abatidas. A variável "Decomposição da Carcaça" foi obtida por meio da relação entre a diferença do peso inicial e o peso final, dividido pelo peso inicial multiplicado por 100. A variável "Decomposição do Substrato", da mesma forma, foi obtida por meio da relação do peso final e inicial do substrato. Para a pesagem desses resíduos foi utilizada Balança

eletrônica, modelo 2124-C5, com capacidade para 100 kg e o material de carcaça foi acondicionado em sacos de plástico grosso de 20 kg de capacidade e para o substrato, bolsas de rafia de 60 kg de capacidade. Ao final de cada período de 30 dias de compostagem foram coletadas amostras de cada câmara para análise dos níveis de matéria seca: cinzas, fósforo total (P), matéria seca, cobre (Cu), zinco (Zn), manganês (Mn), ferro (Fe), nitrogênio total (N), pH; cálcio (Ca), magnésio (Mg), potássio (K) e Carbono orgânico.

Resultados e discussão

A variável "decomposição do substrato" apresentou valores superiores a 100 porque foi agregado aos substratos e parte do material das carcaças decompostas, acréscimo de água e do processo natural de humificação sofrido pelo próprio substrato, embora o mesmo estivesse se decompondo, que foi observado, por meio da alteração da forma e da cor das partículas dos substratos. Na avaliação visual do produto final da compostagem, observou-se maior decomposição da palhada de soja, com presença de maior número de cascudinhos (*Alphitobius diaperinus*) e outros insetos decompositores.

Os produtos obtidos com a compostagem de carcaças usando os dois substratos testados podem ser classificados, conforme a IN 23 (Brasil, 2005) como "fertilizante orgânico composto", classe "D", pois há restrição de uso do produto final (IN 23 – Restrição de uso: uso proibido no cultivo de hortaliças e para aplicação em pastagens e capineiras). No entanto, atendem às exigências estabelecidas pela referida IN 23, no que se refere aos níveis mínimos de N, C orgânico e umidade. Porém, quanto à relação C/N, considerada como um indicador do nível de maturidade do processo (Reis et al., 2004 citado por Dai Pra & Maronezi, 2005), somente o composto com palhada de soja apresentou níveis desejáveis no terceiro (17,75) e quarto (13,29) lotes. O composto com casca de arroz necessitaria ser submetido a uma compostagem secundária para reduzir essa relação e atender àquela IN

(C/N máxima de 18) ou, ser utilizado para compostagem de novas carcaças até atingir a CN adequada. Quanto ao pH, ambos substratos apresentaram valores variados durante o período experimental e não atingiram os níveis exigidos pela IN23 (pH 6,0) ao final do quarto lote.

Considerações finais

A palhada de soja apresentou maior percentual de decomposição das carcaças no final do quarto período de compostagem que a casca de arroz.

A palhada de soja é uma alternativa para substrato de compostagem de carcaças de aves, atingindo os níveis de C/N exigidos pela legislação com três reutilizações. A casca de arroz também é uma alternativa na compostagem de carcaças de aves e pode ser reutilizada por mais vezes.

Agradecimentos: À Unifrango Agroindustrial de Alimentos Ltda., pelo fornecimento da casca de arroz. Ao Sr. Arcenio João Lunkes Linha Luciano – Peritiba) pelo fornecimento da palhada de soja.

Referências

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 23, de 29 de abril de 2008. Disponível em:

<http://www.min-agricultura.pt/servlet/page?_pageid=171,173&_dad=extcnt&_schema=PORTAL30&706_PROT_TEM...>. Acesso em: 26 nov. 2007.

COSTA, M. S. S. de M.; COSTA, L. A. de M.; PELÁ, A.; SILVA, C. J. da; DECARLI, L. D; MATTER, U. F. Desempenho de quatro sistemas para compostagem de carcaça de aves. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v.10, p. 692-698, 2006.

DAI PRA, M. A.; MARONEZI, C. Compostagem de carcaças de aves.

Informe Técnico Biovet, v.3, n. 22, p. 1-3, 2005. Disponível em:

<www.ufpel.tche.br/xvivic/cd/pdf/CA/CA_02088.pdf>. Acesso em: 03 abr. 2008.

MACSAFLEY, L.M.; DUPOLDT, C.; GETER, F. Agricultural waste

management system component design. In: KRIDER, J. N.; RICKMAN,

J.D. Agricultural waste management field handbook. U. S. Department

of Agriculture, Soil Conservation Service, 1992. Cap. 10, p. 1-85 (210-AWMFH, 4/92).

PALHARES, J. C. P. Novo desafio para avicultura: a inserção das questões ambientais nos modelos produtivos brasileiros. *Avicultura Industrial*, v.96, n.9, p. 14 – 20, 2005.

VALENTE, B. S.; CORREA, E. K. ; BRUM JR., B. S. ; MANZKE, N. E. ; JAHNKE, D. S. ; CABRERA, B. R. ; ORTIZ, T. S. ; FAROFA, T. S. ; CORREA, O. O. ; ALMEIDA, G. R. ; REIS, J. ; XAVIER, E. G
Comportamento da temperatura da biomassa durante o processo de compostagem de carcaças avícolas. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 16.; ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO, 9., 2007, Pelotas, RS. Anais. Pelotas, RS: UFPel, 2007.

RYNK, R. (Ed). *On farm composting handbook*. Ithaca: Northeast Regional Agricultural Engineering Service, 1992. 186p. (Cooperative Extension. NRAES, 54).

Capítulo 6

Avaliação de sistemas de ventilação e materiais de cama na produção de frangos de corte

Paulo Giovanni de Abreu
Valéria Maria Nascimento Abreu
Doralice Pedroso de Paiva
Arlei Coldebella
Fátima Regina Ferreira Jaenisch
Virgínia Santiago Silva
Martha Mayumi Higarashi

Introdução

A produtividade ideal corresponde à maximização da parcela de energia para o crescimento de forma a manter a ave vivendo dentro de sua temperatura efetiva, ou seja, aquela que realmente está incidindo na ave, sem nenhum desperdício de energia, seja para compensar o frio ou o calor. São diversas as formas de se atingir as temperaturas de conforto dentro de um aviário e uma delas é a ventilação. Normalmente as condições naturais de ventilação não se encontram dentro das exigências requeridas pelas aves, necessitando de adequação dos sistemas de ventilação para proporcionar conforto térmico ambiental. A ventilação artificial é utilizada sempre que as condições naturais de ventilação não proporcionam adequada movimentação do ar ou abaixamento de temperatura. Ela é realizada por equipamentos especiais como exaustores e ventiladores. Controlando-se convenientemente a entrada de calor no aviário, bem como facilitando a saída do calor produzido, a ventilação passa a ser uma complementação dos requisitos de conforto. A quantidade de ar, que o sistema de ventilação deve introduzir ou retirar do aviário, depende das condições meteorológicas e internas do aviário e da idade das aves (Abreu & Abreu, 2000). A ventilação permite alterações e controle da pureza do ar, eliminando amônia, CO₂ e outros gases nocivos, excesso de umidade e odores, possibilitando também, dentro de certos limites, controlar a temperatura e a umidade do ar nos aviários. Entretanto, os sistemas de ventilação normalmente utilizados produzem uma distribuição de ar deficiente dentro das instalações, levando à estratificação ao longo dos aviários em relação à mortalidade e desempenho de aves. Atualmente, os ventiladores são fixos e as modificações nos mesmos, como os oscilantes, ainda não foram testadas, portanto, não se encontrando dados na literatura.

Por outro lado, nesse processo de criação de aves, a cama nunca foi objeto de grandes estudos ou assunto prioritário para as empresas produtoras. Com a crescente escassez de materiais de boa qualidade, maior atenção começa a ser dada ao correto manejo de cama, sua

reutilização e a busca de novos materiais. A avicultura apresenta a tendência de utilizar materiais alternativos para cama. Como materiais alternativos, são considerados todos os materiais à exceção da maravalha. Essa tendência vem aumentando devido às possíveis restrições ao número de reutilizações e disponibilidade da maravalha, concomitante ao aumento da produção avícola nacional. Nesse contexto, é promissora a utilização de resíduos da produção agrícola como material para cama de aviário.

A cama de aviário é um nicho favorável à multiplicação de diversos microrganismos, destacando-se as enterobactérias originárias da excreta dos frangos, incluindo patógenos aviários e zoonóticos, o que justifica a preocupação sanitária com seu uso e destino final.

Considerando-se que materiais alternativos de cama e fatores físicos, podem influenciar a manutenção e multiplicação destes agentes, esse tipo de estudo é fundamental quando se pretende introduzir essa prática na avicultura.

Também, a cama utilizada nos aviários, visando o conforto das aves, torna-se um ambiente propício à criação dos besouros, por fornecer abrigo e alimento (fezes, sobras de ração, carcaças) e à manutenção de parasitos e outros agentes patogênicos pelos seus níveis de matéria orgânica. Os insetos adultos de *Alphitobius diaperinus*, ou cascudinhos, são considerados como um dos problemas da produção intensiva de frangos de corte e de perus. Multiplicando-se na cama, os besouros tornam-se vetores potenciais de patógenos e parasitos, tanto dentro da criação, quanto para as propriedades vizinhas.

Com a proibição do uso de camas de frango na alimentação de ruminantes desde 2001 (Brasil, 2001), praticamente 100% desse material vem sendo empregado em solos como fonte de nutrientes para diversas culturas. Entretanto, recentemente o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento estabeleceu as definições, normas e padrões para a produção de fertilizantes orgânicos (Brasil, 2005), em virtude do grande crescimento do mercado de alimentos orgânicos. Assim, para

que um composto resultante do processamento de resíduos agropecuários possa ser considerado um fertilizante orgânico de valor comercial, este deverá atender às especificações legais estabelecidas.

Objetivos

- Avaliar o desempenho, a mortalidade e incidência de lesões no coxim plantar em frangos de corte criados em dois sistemas de ventilação (fixo e oscilante) e dois materiais de cama (palhada de soja e casca de arroz).
- Avaliar as condições térmicas ambientais em aviários com dois sistemas de ventilação (fixo e oscilante) e dois materiais de cama (palhada de soja e casca de arroz).
- Avaliar a carga de enterobactérias nas camas (palhada de soja e casca de arroz).
- Avaliar a qualidade das camas de resíduos agrícolas (palhada de soja e casca de arroz) e o efeito da sua reutilização sobre a população de cascudinhos e parasitos intestinais.
- Determinar a composição físico-químico de dois materiais de cama (casca de arroz e palha de soja) após a passagem de 3 lotes e verificar a possibilidade de enquadramento destes como fertilizantes orgânicos simples, agregando maior valor a este resíduo da produção.

Metodologia

O experimento foi realizado no Campo Experimental de Suruvi, da Embrapa Suínos e Aves, em Concórdia/SC, de 04/05 a 30/11/2006, em quatro aviários de 12 m x 10 m para frangos de corte, divididos internamente em 4 boxes/aviário (total de 16 boxes), com 200 aves/boxe, num total de 3.200 aves/lote, sendo acompanhados 4 lotes de 42 dias e intervalos entre lotes de 15 dias (vazio sanitário).

Os tratamentos testados foram dois sistemas de ventilação (fixo e oscilante) com abrangência de 10 m de distância e dois tipos de material de cama (palhada de soja e casca de arroz). A casca de arroz e o sistema de ventilação com ventilador fixo foram considerados padrão por serem comumente utilizados na avicultura de corte. Os ventiladores foram acionados por termostato quando a temperatura ambiente atingia 25°C e foram adaptados com potenciômetro e regulador de velocidade para o tamanho do aviário. As variáveis estudadas foram: nas aves - peso vivo, ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar, aos 21, 35 e 42 dias de idade das aves, mortalidade e presença de lesão no coxim plantar; nos aviários: Temperatura do ar, Índice de Temperatura de Globo e Umidade (ITGU), Carga Térmica Radiante (CTR) e Umidade Relativa do Ar; nos materiais para cama: temperatura da cama, a evolução da população de cascudinhos, o número de oocistos de *Eimeria*, a carga de enterobactérias e a determinação: pH, carbono orgânico (CO), matéria seca, fósforo total (P), nitrogênio total (N), potássio (K), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn) na cama.

Conclusões

Sobre os sistemas de ventilação

A ventilação proporcionada por ventiladores fixos e oscilantes comportou-se igualmente não interferindo sobre as variáveis de desempenho, mortalidade, lesões no coxim plantar, qualidade e carga de enterobactérias da cama. No entanto, as duas formas de ventilação foram suficientes para amenizar as condições térmicas internas do aviário em relação ao ambiente externo.

Sobre os materiais de cama (palhada de soja e casca de arroz)

A utilização da casca de arroz como material para cama de frangos de corte promove melhor desempenho produtivo que a palhada de soja em todas as idades estudadas.

A cama de palhada de soja foi responsável pelo aparecimento de alta porcentagem de lesão no coxim plantar em relação a cama de casca de arroz. Os materiais alternativos precisam ser mais estudados e aprimorados quanto ao seu uso e reutilização por vários lotes, como cama de aviários, visando a diminuição desses tipos de lesões.

A Umidade Relativa do Ar foi maior quando se utilizou a casca de arroz como material para cama.

A cama de palhada de soja e de casca de arroz e os dois tipos de ventilação comportaram-se de forma similares. A radiação solar influenciou diretamente na temperatura da cama. Os valores de temperatura de cama obtidos no período da tarde colaboraram para o estresse das aves.

A palhada de soja pode ser utilizada como cama de aviário para criação de frangos de corte por até 4 lotes. Com esse mesmo número de lotes a casca de arroz ainda permanece reutilizável enquanto a palhada de soja apresenta-se degradada, em franco estado de humificação.

Os cascudinhos se desenvolveram em maior número na cama de palhada de soja e a casca de arroz apresentou 18,78 vezes mais chance de contaminação por oocistos de *Eimeria* spp. quando submetida a ventilação oscilante quando comparada à palhada de soja. As camas de frango utilizadas por 3 lotes, em média, se enquadram às exigências mínimas legais para serem comercializadas como fertilizantes orgânicos simples, independente do tipo de material utilizado como substrato.

Apesar de não ter sido aplicado nenhum método de tratamento nas camas, entre lotes, houve redução de enterobactérias em camas reutilizadas do primeiro ao quarto lote de frangos nos dias de alojamento, após o período de vazio das camas (dia 0).

Agradecimentos: à Fundação de Apoio a Pesquisa de Santa Catarina - FAPESC, pelo apoio financeiro. À Roster pelo fornecimento dos ventiladores. À Unifrango Agroindustrial de Alimentos Ltda. pelo fornecimento da casca de arroz. Ao Sr. Arcenio João Lunkes - Linha Luciano – Peritiba, pelo fornecimento da palhada de soja.

Referências

ABREU, P. G. de; ABREU, V. M. N. Ventilação na avicultura de corte. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2000. 50p. (Embrapa Suínos e Aves. Documentos, 63)

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 23, de 31 de agosto de 2005. Disponível em:
<<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=19493>>. Acesso em 26 ago. 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.15, de 17 de julho de 2001. Disponível em:
<<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=3587>>. Acesso em 26 ago. 2008.

Capítulo 7

Competitividade e efeitos de políticas públicas sobre o desempenho da cadeia produtiva da avicultura de corte no sul do Brasil

Dirceu João Duarte Talamini
Franco Müller Martins

Introdução

A cadeia produtiva da avicultura de corte, além de fonte de renda e divisas para o país, é importante na geração de empregos formais e na sustentação da produção familiar, em especial na região Sul do Brasil. A produção ocorre em pequenas propriedades, com menos de 100 hectares, onde encontram-se mais de 80% dos rebanhos, sendo importante para a geração de renda desses estabelecimentos. Estudo do BNDES constatou o grande efeito multiplicador das cadeias produtivas das carnes no Brasil, revelando que cada unidade de emprego direto no abate e processamento tinha um poder multiplicativo de 18,75 no emprego, considerando os efeitos indiretos e renda. Em 2006, partindo-se do número de empregos formais ligados ao abate e processamento de suínos e aves, que era de 241.878 postos, estima-se um total de 4,5 milhões de pessoas empregadas nestas atividades.

A contribuição econômica da cadeia do frango em 2007, estimada a partir do valor bruto no varejo dos produtos obtidos a partir da ave considerando os valores de dezembro, foi superior a 40 bilhões de reais. Ainda esta atividade é a maior consumidora de milho - 34% do consumo nacional - e de parte expressiva do farelo de soja, mobilizando também os setores de transporte, processamento, indústria química, biológica, entre outros.

A avicultura tem crescido em importância no segmento exportador brasileiro sendo que em 2007 suas exportações totalizaram U\$ 4,6 bilhões ou R\$ 9,3 bilhões (valores de dezembro de 2007) representando 2,88% do total das exportações; 8,82% das exportações do agronegócio e 11,55% do saldo na balança comercial. A competitividade das cadeias produtivas da agropecuária resulta do processo de produção utilizado, do preço dos fatores de produção e das receitas obtidas dos produtos. O Governo exerce papel decisivo, via políticas que afetam o nível e estabilidade dos preços dos produtos e insumos, via investimentos públicos que influem nas receitas e custos da agropecuária e na alocação de fundos de pesquisa para a geração de

tecnologia para a solução dos problemas das cadeias produtivas. Ao reconhecer a importância do ambiente econômico, sustentado por políticas públicas, no desempenho do agronegócio, o projeto propõe mensurar as ineficiências relativas da cadeia agroindustrial da avicultura de corte do Sul do Brasil, avaliando as distorções de preços e demais deficiências ao longo da cadeia com a aplicação da Matriz de Análise de Políticas.

Objetivos

Os objetivos do projeto foram os de determinar os custos e margens de comercialização nas diferentes etapas do processo de produção, avaliar a capacidade competitiva da cadeia da avicultura de corte da região Sul e mensurar o impacto na cadeia das distorções de preços causadas por políticas públicas.

Material e Métodos

A pesquisa foi realizada na Cooperativa Central Oeste Catarinense – Coopercentral ou Cooperativa Aurora - indústria de grande porte inserida no agricluster do Oeste de Santa Catarina, região descrita por Santos Filho et al. (1998). A Coopercentral atua no mercado nacional e internacional sendo composta por 16 cooperativas singulares e emprega 9 mil colaboradores. Dedicase à produção de suínos, frango, leite, cítricos e ao reflorestamento. No negócio frangos, exerce a coordenação técnica e econômica ao longo de toda a cadeia. A indústria de abate e processamento conta com 1.300 empregados e processa acima de 90 milhões de aves/ano, 89% dos frangos vendidos in natura e 11% industrializados. A produção do frango vivo é realizada no sistema de parceria com 1.267 avicultores associados às cooperativas singulares. Os dados provieram dos registros da cooperativa e se referem a todos esses integrados e seguiram procedimento de Canever et al. (1997) e Martins et al. (2005).

No sistema de produção em parceria, a integradora fornece aos produtores os insumos básicos, como pintos de um dia, rações, produtos veterinários, bem como a assistência técnica, transporte, logística da produção e comercialização do produto. O produtor entra com o aviário, cama do frango, trabalho, água e eletricidade.

O método utilizado para mensurar as ineficiências relativas e as distorções de preços ao longo da cadeia agroindustrial da avicultura de corte do Sul do Brasil foi o da Matriz de Análise de Políticas, sistema de dupla entrada que contabiliza receitas, custos de insumos e de fatores de produção e o lucro de diferentes sistemas e regiões descrito em Vieira et al. (2001), Talamini et al. (2006a e b) e Martins et al. (2007). As distorções foram identificadas através de fatores de conversão (FC's) entre os preços e incidências tributárias vigentes na cadeia produtiva e os preços resultantes da eliminação ou redução a níveis que poderiam torná-la mais competitiva.

Resultados

O estudo comparou os custos atuais da cadeia com um cenário que considerou a redução dos custos do diesel, mão-de-obra, energia elétrica, milho, farelo e óleo de soja. Constatou-se que a tributação chega a 28% no diesel, 36% na energia elétrica e que 47% do que é pago aos empregados são encargos que não revertem em benefícios para os mesmos (seriam "quase-impostos"). A partir dos valores totais da tributação e da sua decomposição, foram simulados valores menores, compatíveis com o que ocorre em outros países produtores. Para o diesel e energia elétrica foram tirados os valores do PIS, COFINS e CIDE e reduzidas as alíquotas de ICMS para valores similares aos do Rio Grande do Sul, que são os menores do país. Para os encargos sociais, foram retirados os percentuais do décimo terceiro salário, 7,5% do INSS da contribuição ao Sebrae, além de 0,5% do FGTS das reposições do governo Collor. Parte do milho e do farelo de soja usados na avicultura e importada do Paraguai, tendo a incidência do PIS e

COFINS e esses impostos também foram retirados. Os valores das reduções estão resumidos nas Tabelas 1 e 2 abaixo.

Tabela 1. Redução do custo do milho e derivados da soja.

	Milho	Farelo de Soja	Óleo de Soja
Média de preços pagos (R\$/t)	272,12	538,00	1.055,00
Custo da importação direta (R\$/t)*	224,77	431,12	793,36
Redução de custos	17%	20%	25%

*Fonte: Talamini (2009).

Tabela 2. Redução do custo do diesel, energia elétrica e mão de obra.

	Diesel*	Energia elétrica	Encargos sociais
Impostos Atuais	28,0%	36,0%	47,0%
Impostos Reduzidos	11,0%	15,0%	28,0%
Redução de Custos	13,0%	16,0%	13,0%

*Fonte: Talamini (2009).

Estabelecidas essas alterações, sem modificar os outros custos da "situação atual", obteve-se os resultados do Cenário apresentados nas Tabelas 3 e 4 abaixo.

Tabela 3. MAP no Cenário sem e com redução de custos.

	Receitas	Insumos comprados	Terra, trabalho e capital	Lucros
Situação atual	A	B	C	D
	28500,00	1791,34	325,28	733,37
Redução de custos dos itens mais importantes	E	F	G	H
	2877,64	1634,38	237,49	1005,76
Diferença	I	J	K	L
	(27,64)	156,96	87,79	(272,39)

Tabela 4. Indicadores de desempenho da cadeia.

Valor Adicionado na Cadeia (R\$/ton) (A-B)	1.058,66
Participação do Valor Adicionado nas Receitas ((A-B)/A)	37,15%
Lucro da Cadeia como um Todo (R\$/ton) (A-B-C)	733,37
Participação do Lucro na Receita (D/A)	25,73%
Participação dos Fatores na Receita (C/A)	11,41%
Participação dos Fatores no Valor Adicionado (C/(A-B))	30,73%
Lucro da cadeia com Redução de Custos (R\$/ton) (E-F-G)	1.005,76
Pesos dos Custos Adicionais nas Receitas (R\$/ton) (I-J-K)	272,39
Participação dos Custos Adicionais nas Receitas ((I-J-K)/A)	9,56%
Peso dos Custos Adicionais (1-((A-B)/(E-F)))	14,85%
Diferença ente Lucro com Redução de Custos e Lucro Atual ((H-D)/H)	27,08%
Nível de Penalização da Cadeia (L/E)	9,47%

Os indicadores do cenário com redução de custos em relação aos da "situação atual" (A; B; C e D), mostram que a desoneração considerada proporcionaria um lucro de R\$ 1.005,76 por tonelada. Um dos resultados importantes da pesquisa é de que os itens desonerados têm grande peso na lucratividade e competitividade da cadeia, indicando que a atenção deve se voltar à redução dos mesmos. Pode-se observar também que o efeito das políticas públicas sobre os custos é de R\$ 272,39 por tonelada, o que significa que da perda total de rentabilidade ocasionada pelas políticas públicas 81% se concentram em diesel, energia elétrica, encargos sociais, milho, soja e impostos como o de renda e Funrural. Percebe-se que a redução do efeito das políticas públicas sobre certos custos essenciais já seria um grande avanço para melhorar os resultados da cadeia. O peso dos custos adicionais sobre o valor adicionado corresponde a 14,8%; ou seja, os custos selecionados, sozinhos, geram um "imposto implícito" apenas 3,7% menor que o gerado por todos os custos. Além disso, a desoneração considerada elevaria os lucros em 27,08 %, enquanto uma desoneração total elevaria em 31,4%; sendo uma diferença pequena para justificar reduções de custos em outros itens, além dos escolhidos.

As políticas públicas que afetam os custos trabalhados incidem sobre a cadeia uma tributação de 9,5%.

Conclusão

A cadeia do frango apresentou resultados favoráveis quanto a competitividade e rentabilidade, mas sofre uma série de distorções causadas por políticas públicas. Cientes da dificuldade de uma desoneração total desses efeitos, demonstrou-se que a redução de certos custos (mão-de-obra, óleo diesel, milho, derivados de soja e energia elétrica), seria suficiente para melhorar os indicadores de eficiência da cadeia. Isto sugere a adoção de medidas de racionalização dos processos internos de forma a poupar esses insumos nos custos da cadeia. Na questão dos gastos em óleo diesel, melhorias no "balanço energético" ou na "matriz energética" da cadeia são essenciais. A economia de energia elétrica pode ser feita com alguma forma de "co-geração". Quanto ao milho e derivados da soja, a solução é a importação direta livre e desgravada no regime de drawback. Mas as soluções finais devem ser buscadas dentro da cadeia, empresa por empresa, caso a caso. Uma implicação importante destes resultados para a aplicação da MAP na prática é que os cálculos e levantamentos de informação de todos os demandam tempo, apresentam um baixo benefício/custo e é irrealista, pois não se pode fazer ajustes com os FC's de todos os insumos. Além disso, extrair todos os impostos, principalmente o Imposto de Renda Pessoa Jurídica, e também irrealista. O imposto de renda possui baixo efeito alocativo e forte impacto distributivo. Se bem administrado, só tributa a renda adicional, decorrente de ganhos no mercado, não interferindo nas decisões de produção e de uso dos insumos. Quando os tributos são gastos de forma a beneficiar as classes de renda mais baixas, com programas sociais adequados, eles têm efeito distributivo favorável. Os impostos sobre os insumos – diesel, milho, farelo de soja, energia elétrica – têm fortes efeitos alocativos e desestimulam o uso de fatores de produção que são críticos para a produtividade. Assim, é recomendável

concentrar-se nos itens de maior impacto para oferecer à cadeia condutas exeqüíveis de racionalização de custos.

Referências

CANEVER, M. D.; TALAMINI, D. J.; CAMPOS, A. C.; SANTOS FILHO, J. I. dos. A cadeia produtiva do frango de corte no Brasil e na Argentina. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 1997. 150 p. (Embrapa Suínos e Aves. Documentos, 45)

MARTINS, F. M.; TALAMINI, D. J. D.; NOVAES, M. Coeficientes técnicos e custos agregados na cadeia produtiva do frango no Oeste de Santa Catarina. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2007. 50p. (Embrapa Suínos e Aves. Documentos, 121).

SANTOS FILHO, J. I. dos.; SANTOS, N. A.; CANEVER, M. D.; SOUZA, L.. F. O cluster suinícola do Oeste de Santa Catarina. In: HADDAD, P. R. (Org.) A Competitividade do agronegócio e o desenvolvimento regional do Brasil – estudo de clusters. Brasília, DF: CNPq, 1998. p.125 - 180.

TALAMINI, D. J.; MARTINS, F. M.; OLIVEIRA, A. J. Costs of an integrated broiler chain in a small farmers cooperative in Santa Catarina State, Brazil. In: EUROPEAN POULTRY CONFERENCE, 12., 2006, Verona, Italy. Proceedings. Verona: [s.n.], 2006a. 1 CD-ROM.

TALAMINI, D. J. D.; LOPES, M. R.; MARTINS, F. M.; OLIVEIRA, A. J.; LIMA FILHO, J. R. de.; BARCELOS, F. C. Custos da cadeia produtiva do frango: parceria entre cooperativa e pequenos produtores familiares no Estado de Santa Catarina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ECONOMIA E SOCIOLOGIA RURAL, 44., 2006, Fortaleza. Anais. Fortaleza: SOBER / BNB, 2006b. p. 339.

VIEIRA, R. C. M. T.; TEIXEIRA FILHO, A. R.; OLIVEIRA, A. J.; LOPES, M. R. (Ed.) Cadeias produtivas no Brasil. Brasília, DF: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2001. 469 p.

Capítulo 8

Desenvolvimento de cultivos
iniciadores para o
processamento de embutidos
cárneos artesanais

Teresinha Marisa Bertol
Ernani Sebastião Sant'Anna
Angela Maria Fiorentini
Maristela Cortez Sawitzki

Introdução

A ciência de agregar valor ao produto é uma das contribuições que colonizadores italianos e alemães trouxeram para a região Sul do Brasil e até hoje permanece a cultura de processamento de alimentos de forma artesanal. Esta produção ainda é realizada de forma empírica, o que resulta em baixa produtividade e risco à saúde do consumidor, uma vez que não existe controle do processo fermentativo.

Desde a antigüidade, o uso de microrganismos em alimentos é praticado pelo homem, mesmo que de uma forma empírica, com o objetivo de conferir ao alimento propriedades sensoriais desejáveis e aumentar o tempo de conservação. Atualmente, a indústria de alimentos utiliza determinados grupos de microrganismos selecionados, com características bioquímicas específicas. Estes microrganismos são denominados de cultivos iniciadores ou culturas starter.

Os componentes mais importantes dos cultivos iniciadores, em produtos cárneos crus, são as bactérias ácido lácticas e as Micrococcaceae, mas também fazem parte de cultivos iniciadores os mofos e leveduras (Hans, 1994). Muitas pesquisas têm demonstrado que a presença de uma microbiota na fermentação de produtos cárneos crus curados é muito importante. De acordo com Smith & Palumbo (1983), a maior função das bactérias lácticas é produzir ácido láctico rapidamente, a partir de açúcar (usualmente glucose) adicionado à massa do produto fermentado, diminuindo o pH do mesmo. Esta capacidade de redução do pH garante o efeito protetor contra microrganismos patogênicos (*Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum* e *Listeria monocytogenes*), aumentando a segurança do produto (Terra, 1998 e Andrighetto et al, 2001). Já as bactérias do grupo Micrococcaceae podem reduzir nitrato e nitrito, também influenciando na qualidade do produto. Estes processos são responsáveis por conferir a cor vermelha característica, e provocar o desdobramento e transformação de proteínas, lipídios e carboidratos, garantindo aroma e sabor característico dos embutidos maturados (Pardi et al., 1996).

Nos últimos anos têm sido realizadas muitas pesquisas referentes a compostos aromáticos isolados de embutidos fermentados. Berdagué et al. (1993) demonstraram que embutidos produzidos com diferentes culturas iniciadoras pertencentes à família Micrococcaceae têm diferentes padrões aromáticos, indicando que eles resultariam em embutidos com diferente perfil sensorial. Além disso, em pesquisa desenvolvida por Tjener et al. (2003), onde foram investigados o crescimento e a produção de aromas em embutidos fermentados com culturas de *Pediococcus pentosaceus* e *Staphylococcus xylosum*, foi demonstrada a formação de compostos desejáveis para o sabor dos embutidos maturados. Portanto, a natureza das culturas starter tem uma grande influência na composição volátil e nas características sensoriais contribuindo para o sabor e aroma de embutidos curados (Berdagué, et al., 1993).

Na produção de produtos tradicionais fermentados é importante utilizar culturas iniciadoras provenientes de cepas isoladas de produtos locais, os quais são bem adaptados ao produto específico e à tecnologia específica de produção e assim contribuem para a produção das características sensoriais tradicionais do produto.

Objetivos

O objetivo deste projeto foi desenvolver cultivos iniciadores para a produção de embutidos cárneos, a partir da microbiota isolada de embutidos cárneos artesanais provenientes da Região Noroeste do Rio Grande do Sul, visando a segurança e a qualidade do produto.

Plano de Ação: Identificação molecular de bactérias e obtenção de cultivos iniciadores (bactéria lácticas e nitrato redutoras)

Pesquisador responsável: Ernani Sebastião Sant'Anna

Responsáveis por atividades: Angela Maria Fiorentini e Maristela Cortez
Sawitzki

Introdução

A identificação da microflora proveniente de lingüiças utilizando-se somente métodos fenotípicos é insuficiente para a caracterização de um microorganismo, pois não é precisa (Blaiotta et al, 2003), devido a uma interpretação ambígua do perfil colorimétrico resultante dos testes bioquímicos (Quere et al, 1997). Por esta razão, métodos moleculares, tais como RAPD-PCR (randomly amplified polymorphic DNA) (Rossi et al., 2001; Martín et al., 2005), PCR espécie-específica (Aymerich et al., 2003; Morot-Bizot et al., 2003; Rantsiou et al., 2005) ou PCR multiplex (Morot-Bizot et al., 2003) têm sido cada vez mais utilizados nos procedimentos de caracterização molecular. Muitos métodos de caracterização tem também sido utilizados para caracterizar os estafilococcus, tais como gel de eletroforese em campo pulsado (PFGE) (Snopkova et al., 1994), gradiente desnaturante em gel de eletroforese (DGGE) de fragmentos do gene 16S RNAr (Cocolin, et al., 2001; Rantsiou, et al., 2005) e amplificação da região intergênica 16S-23S (Rossi et al., 2001; Blaiotta et al., 2003).

Objetivos

O objetivo deste plano de ação foi isolar e caracterizar cepas de *Lactobacillus plantarum* e de *Staphylococcus xylosus* provenientes de lingüiças artesanais produzidas na Região Sul do Brasil por meio de

métodos moleculares e fenotípicos, bem como caracterizar seu potencial tecnológico para uso como cultivos iniciadores em salames fermentados.

Resultados e Discussão

Caracterização fenotípica, identificação molecular e propriedades tecnológicas de *L. plantarum*

No presente estudo, entre 168 cepas de bactérias lácticas isoladas, 127 (75,6%) foram caracterizadas como bactérias ácidos lácticas homofermentativas, gram-positivas e catalase negativas. Entre estas, foram selecionados 10 isolados ao acaso e submetidos à caracterização fenotípica e PCR espécie-específica.

Todas as 10 amostras selecionadas cresceram em pH 3,9 e 9,6 e a 37°C em agar MRS. Quatro cepas (AL2, AP3, AD3 and AM2) cresceram em agar MRS suplementado com 7% de NaCl e uma cepa (C5) cresceu em agar MRS suplementado com 10% de NaCl. Todas as cepas cresceram em agar MRS a 8°C, mas somente três isolados (C5, AN3 and AM2) cresceram em 45°C. A habilidade das cepas de crescer em pH 3,9 é um fator importante, porque a principal alteração causada pelas bactérias ácido lácticas em um produto maturado é a redução do pH pela secreção de ácido láctico (Geisen et al., 1992).

Tolerância ao NaCl é outro fator importante na definição de uma cultura iniciadora para produtos fermentados (Rovira et al., 1997). Cepas sensíveis ao NaCl podem ter seu crescimento paralisado quando a concentração de NaCl torna-se muito alta (Ammor et al., 2005).

A interpretação dos perfis de fermentação foi facilitada pelo uso da base de dados API-WEB (BioMérieux) através da percentagem de identificação (% id), que é uma estimativa do perfil da cultura correspondente ao perfil relativo e classe taxonômica de culturas

inscritas na base de dados. Os resultados da caracterização fenotípica sugerem que a cultura referência de *L. plantarum* e as culturas AJ2, AD3, AN3 e AM2 podem ser classificadas como *L. plantarum* com uma % id = 96,7, a cultura AL2 como *L. plantarum* com % id = 72 e como *L. pentosus* com % id = 27,3; as culturas AF5, C5 e AP3 como *Pediococcus pentosaceus* com identificação 96,5%, a cultura R2 como *L. pentosus* com % id = 89,4 e como *L. plantarum* com % id = 10,4. Uma cultura (AB4) apresentou caracterização fenotípica duvidosa.

Foram conduzidas análises de PCR espécie-específica com primers para *L. plantarum* para os 10 isolados. Utilizando-se os iniciadores 16/Lpl ou LbP11/LbP12 para amplificação dos fragmentos de DNA, a cultura *L. plantarum* ATCC 8014 e as sete culturas isoladas (AJ2, AL2, R2, AF5, AD3, AN3 e AM2) foram caracterizadas como *L. plantarum*, pois foram amplificadas e apresentaram um produto de PCR de 250 pb. Não foram observadas amplificações de fragmentos de DNA das culturas AB4, AP3 e C5 utilizando-se os iniciadores 16/Lpl e também os iniciadores Lbp11/Lbp12. Considerando-se os resultados da caracterização fenotípica e da caracterização molecular, entende-se que as culturas AB4, AP3 e C5 não se caracterizam como culturas *L. plantarum*. Não foram observadas amplificações do DNA de qualquer dos isolados quando utilizados os iniciadores 16/Lpe, os quais são específicos para *L. pentosus*.

As sete culturas caracterizadas como *L. plantarum* no estudo fenotípico e molecular foram também avaliadas quanto a sua capacidade de crescimento, estabilidade no armazenamento, capacidade para produção de D – ou L – ácido láctico, atividade nitrato redutase e atividade antagonística. Todas as culturas produziram a forma racêmica DL-ácido láctico, em média 67,23% do isômero L e 32,76% do isômero D. Nenhuma das culturas avaliadas apresentou atividade nitrato redutase. Todas as culturas apresentaram estabilidade no armazenamento a -20°C e todas exibiram atividade antagonística

contra *L. monocytogenes* NTC 098630. Quatro culturas inibiram o crescimento de *S. aureus* ATCC 12598 e *S. xylosum* ATCC 29971, três culturas inibiram o crescimento de uma linhagem de *S. xylosum* isolada, mas nenhuma cultura inibiu a cultura padrão de *E. coli* ATCC 25922.

Caracterização fenotípica, identificação molecular e propriedades tecnológicas de *S. xylosum*

De um total de 175 cepas Micrococcaceae isoladas de salames naturalmente fermentados, 89 (50,8%) foram catalase-positivas e coagulase negativas. Destas, 25 linhagens foram escolhidas aleatoriamente e submetidas ao sistema API-STAPH para caracterização fenotípica. Vinte e uma (84,0%) das 25 linhagens foram identificadas como *Staphylococcus* spp, uma (4,0%) foi identificada como *Kocuria varians* e três (12,0%) apresentaram perfil duvidoso. Em relação às linhagens identificadas como *Staphylococcus*, *S. xylosum* foi a espécie dominante (42,8 %), seguida pela *S. saprophyticus* (28,5%), *S. lentus* (19,0%), *S. epidermidis* (4,7%) e *S. warneri* (4,7%).

A maior parte das cepas identificadas como *S. xylosum* apresentou as características típicas da espécie, tais como capacidade para redução de nitrato (88,8%), produção de acetoina (77,7%) e produção de ácido a partir de xilose (77,7%) e manose (88,8%), mas não a partir de rafinose (11,1%).

A primeira regra para seleção de cepas utilizando-se culturas iniciadoras é a capacidade para reduzir nitrato, por causa de sua influência na formação da cor (Garcia-Verona et al., 2000), mas a produção de acetoina e a atividade da urease também devem ser consideradas. No presente estudo, as linhagens identificadas como *S. xylosum* apresentaram características desejáveis de acordo com Drosinos et al. (2007): atividades de nitrato redutase e urease e produção de acetoina. De acordo com Smith & Palumbo (1983), a tolerância ao NaCl e NaNO₂ e a capacidade para crescimento entre 27°C e 43°C também são importantes características. As linhagens testadas no presente estudo

apresentaram atividades catalase positiva e coagulase negativa, crescimento em 15°C e 45°C, em diferentes concentrações de NaCl (10% e 15%) e em diferentes pHs (5,0 e 5,5) em caldo BHI.

As linhagens não apresentaram alterações no crescimento em substrato sólido (agar BHI) sob diferentes concentrações de NaCl, mostrando tolerância a uma concentração de 3% deste sal. A maior parte das cepas também toleraram a concentração de 200 ppm de NaNO₂, o qual não influenciou seu crescimento. Também não houve prejuízo ao seu crescimento quando NaCl e NaNO₂ foram utilizados simultaneamente, demonstrando tolerância apropriada.

Para conduzir a caracterização molecular das linhagens de *S. xylosum*, foram selecionadas nove linhagens de *S. xylosum* e uma linhagem de *S. epidermidis*, as quais foram submetidas a análise de PCR espécie-específico. Nove das 10 linhagens apresentaram o fragmento esperado quando os primers TstaG422/Tstag765 foram usados, confirmando que as culturas isoladas pertenciam ao gênero *Staphylococcus*.

Somente duas linhagens (AD1 e AD5) confirmaram pertencer a espécie *S. xylosum*, uma vez que estas foram as únicas em que observou-se o produto esperado de PCR de 539 pb. As outras linhagens não apresentaram qualquer fragmento, sugerindo que elas pertencem a outra espécie de *Staphylococcus*.

As duas linhagens que foram confirmadas como *S. xylosum* na caracterização fenotípica e molecular foram também avaliadas quanto a sua estabilidade no armazenamento, produção de enterotoxinas e atividade antagonística. Estas linhagens apresentaram crescimento significativo em caldo BHI e boa estabilidade ao processo de liofilização e conservação depois de 1 mês ou 6 meses de armazenamento a -20°C. Além disto, não foram encontradas enterotoxinas estafilocócicas nestas linhagens. Por último, estas duas linhagens não exibiram atividade antimicrobiana contra os seguintes microrganismos: *L. monocytogenes* NCTC 098630, *E. coli* ATCC 25922, *S. Aureus* ATCC

12598, *L. plantarum* ATCC 8014 e uma linhagem isolada de *L. plantarum*.

Conclusões

Os resultados deste trabalho demonstram a importância dos métodos moleculares para identificação dos isolados ao nível de espécie, pois permitiram uma identificação precisa das linhagens de *L. plantarum* e *S. xylosum*. A presença destas espécies entre a flora indígena das lingüiças fermentadas produzidas na Região Sul do Brasil indica uma boa capacidade de adaptação neste tipo de produto.

As cinco linhagens (AJ2, AL2, AD3, AN3 e AM2) isoladas de lingüiças artesanais e identificadas como *L. plantarum* apresentam potencial para serem utilizadas como cultivos iniciadores para salames fermentados. As mais promissoras para uso simples são a AL2, AD3 e AM2, por serem tolerantes ao sal. Porém, a AJ2, R2 e AM2 apresentam melhor potencial para uso em associação com *S. xylosum* devido a ausência de atividade antagonística contra esta espécie.

As duas linhagens (AD1 e U5) isoladas de lingüiças artesanais e identificadas como *S. xylosum*, demonstraram atividades nitrato redutase e catalase, crescimento satisfatório na presença de NaCl e NaNO₂, habilidade para reduzir nitritos, ausência de atividade antagonística em relação a bactérias ácido lácticas e ausência de produção de enterotoxinas, sendo recomendadas como cultivos iniciadores simples ou associados com bactérias lácticas, para utilização na produção de salames fermentados.

Plano de Ação: Caracterização microbiológica, físico-química e sensorial de salames processados com fermentos cárneos

Pesquisador responsável: Teresinha Marisa Bertol

Responsáveis por atividades: Angela Maria Fiorentini e Maristela Cortez Sawitzki

Introdução

A inoculação da massa de salame com cultivos iniciadores selecionados por suas propriedades tecnológicas promove a segurança e a qualidade do produto. Em uma mistura de microrganismos, as bactérias ácido lácticas tem a função de promover a estabilidade microbiana e de imprimir propriedades tecnológicas desejáveis no produto final em razão da produção dos ácidos láctico e acético e a conseqüente queda do pH (Drosinos et al., 2007). Por outro lado, algumas linhagens de *Staphylococcus coagulase-negativo*, como *S. xylosus* e *S. carnosus*, podem ser utilizados para promover o sabor dos produtos cárneos fermentados (Berdagué et al., 1993). Estes tem a função principal de promover a redução dos nitratos e interferir na lipólise e proteólise, influenciando assim a cor e o flavor do produto.

Do estudo prévio em que fez-se a caracterização fenotípica e a identificação molecular de linhagens de *S. xylosus* e de *L. plantarum* isoladas da microbiota de embutidos fermentados naturalmente, bem como para avaliação de suas propriedades tecnológicas, foram selecionadas as linhagens *S. xylosus* U5 e *L. plantarum* AJ2. Estas linhagens foram selecionadas em virtude do seu potencial tecnológico para uso como cultivo iniciador em embutidos fermentados.

Objetivos

O objetivo deste plano de ação foi investigar o efeito dos cultivos iniciadores *S. xylosus* U5 e *L. plantarum* AJ2 sobre as características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais do salame tipo Milano.

Resultados e Discussão

Efeito do *S. xylosus*

No grupo inoculado com *S. xylosus*, as contagens de cocos Gram positivo, catalase positivo-Staphylococcus Coagulase-negativo (SCN) mostraram considerável crescimento durante a maturação, de 7,60 log UFC.g-1 na contagem inicial, até valores de 9,84 log UFC.g-1 após 14 dias. No grupo não inoculado (controle) esses microrganismos foram encontrados em concentrações muito baixas na contagem inicial, e depois de 14 dias alcançaram valores de 6,95 log UFC.g-1.

Coliformes totais e termotolerantes (< 3 NMP) foram semelhantes em ambos os grupos. Entretanto, nas amostras inoculadas com *S. xylosus*, o número destes microrganismos diminuiu nitidamente e, depois de 7 dias de maturação, nenhuma célula viável de coliformes totais e termotolerantes foi detectado. Por outro lado, no controle, coliformes totais e termotolerantes estiveram presentes após o 7º dia, e só não foram detectáveis depois de 21 dias de maturação, estando ausentes no produto final. Bolores e leveduras não apresentaram nenhuma função significativa nos embutidos, estiveram presentes a níveis máximos de cerca de 2,77 log UFC.g-1 e, na maioria dos casos, não foram detectados.

Ambos os grupos estavam livres de *Salmonella* e *Listeria* após a formulação, como também de *Clostridium sulfito redutores* (< 1) e *Staphylococcus coagulase positivo* (< 2) durante a maturação e no produto final.

Durante a maturação, o pH não variou entre os grupos inoculado e não inoculado, provavelmente por causa das baixas contagens de bactérias ácido lácticas e do reduzido efeito das linhagens de *Staphylococcus* no desenvolvimento do pH nos embutidos. Inicialmente, o pH de ambos os grupos estava em torno de 5,6 e, então, após 7 dias de maturação, diminuiu para 5,2. Foi observado um leve aumento do pH no produto final, com valores ao redor de 5,3. Isto poderia ser atribuído à produção de amônia e outros compostos tais como peptídeos, aminoácidos, aldeídos, aminas e ácidos graxos livres oriundos da atividade proteolítica (Mauriello et al., 2004).

A atividade de água (aw) e umidade mostraram uma diminuição constante durante a maturação, enquanto que proteína, gordura, cinza, NaCl, Na e Fe aumentaram o teor durante a maturação em consequência da desidratação ocorrida no produto.

Nitrato e nitrito curam e preservam carnes. O nitrato não apresenta atividade antioxidante, mas torna-se funcional na redução de nitritos (Terra et al., 2004). Assim, durante a preparação, nitrato é reduzido a nitrito, que é o principal ingrediente ativo nessas misturas de sais de cura (Cammack et al., 1999). Nitratos e nitritos diminuíram em concentração durante a fermentação e maturação do salame, sendo que dos 7 aos 28 dias a redução foi mais acentuada ($P < 0,05$) no salame inoculado com *S. xylosum* em relação ao controle. Atribui-se essa diferença ao *S. xylosum*, pois estudos mostraram que esta espécie possui uma boa habilidade para reduzir nitrato a nitrito, pela ação da enzima nitrato redutase (Montel et al., 1996; Talon et al., 1999; Mauriello et al., 2004; Fiorentini et al., 2007).

Durante a maturação foram observados baixos valores de peróxidos no grupo inoculado em relação ao grupo controle, demonstrando a atividade da catalase da linhagem *S. xylosum* U5 (catalase positivo). A oxidação conduz à formação de peróxidos e os mesmos são reduzidos quando estão presentes microrganismos com alta atividade de catalase (Varnan & Sutherland, 1995).

Em ambos os grupos houve um aumento progressivo na produção de ácidos graxos livres com o transcorrer do período de maturação, porém, apenas pequenas diferenças não significativas puderam ser observadas entre os tratamentos ($P > 0,05$). Mesmo considerando que linhagens de *Staphylococcus* são a principal causa da lipólise em embutidos fermentados (Samelis et al., 1993), os valores indicam que a cultura *S. xylosus* U5 não desenvolveu ação significativa nas transformações químicas dos ácidos graxos livres. Mesmo que a linhagem *S. xylosus* U5 tenha apresentado atividade lipolítica (Fiorentini et al., 2007), nas condições do presente estudo pouca atividade foi demonstrada.

Quanto aos parâmetros de cor obtidos no salame, o grupo inoculado mostrou valores mais elevados ($P < 0,05$) de L^* , a^* e b^* em relação ao controle, provavelmente pela ação enzimática da linhagem de *S. xylosus* U5. Esta ação envolve a atividade bacteriana de nitrato redutase que conduz à formação de nitrosomioglobina (Talon et al., 1999).

A avaliação sensorial indicou a preferência para o salame inoculado (72,5%) em relação ao controle. A linhagem *S. xylosus* U5 possui um perfil enzimático comprovado capaz de promover propriedades sensoriais desejáveis no salame, as quais interferem na aceitabilidade do produto.

Efeito do *L. plantarum*

No salame inoculado com *L. plantarum* AJ2, a população de bactérias ácido lácticas aumentou de forma mais acentuada ($P < 0,05$) do que não inoculado (valor médio de $8,54 \pm 0,23$ log UFC.g⁻¹ e $6,52 \pm 0,12$ log UFC.g⁻¹, respectivamente) até o final do processo de maturação. Isto indica que a cultura de *L. plantarum* AJ2 apresentou potencial para se desenvolver no salame tipo Milano. A população natural de bactérias ácido lácticas, próxima a $4,5$ log UFC.g⁻¹ pode ser insuficiente no processo fermentativo, porque, conforme Smith e Palumbo (1983), é

necessária a adição de microrganismos desejáveis em produtos cárneos fermentados, na concentração de 7,0 a 9,0 log UFC.g⁻¹ para inibir os microrganismos indesejáveis e prevenir ou reduzir falhas na fermentação.

Não foi observado potencial risco da presença de microrganismos deteriorantes, patogênicos e/ou toxigênicos em qualquer dos produtos (inoculado e não inoculado).

A composição química aos 42 dias de fermentação e maturação, dos salames inoculados com *L. plantarum* não diferiu ($P > 0,05$) daquela dos salames não inoculados. Porém, o pH decresceu de forma mais acentuada ($P < 0,05$) nos primeiros 7 dias de fermentação e a acidez aos 42 dias foi maior ($P < 0,05$) nos salames inoculados em comparação com o controle (não inoculado). A habilidade das bactérias ácido lácticas, em particular os *Lactobacillus*, para reduzir o pH, previne o desenvolvimento de microrganismos patogênicos e deteriorantes nos produtos cárneos, promovendo a segurança e o maior tempo de armazenagem do produto (Lücke, 1985; Samelis et al., 1993). Um rápido decréscimo do pH para valores próximos de 5,3 é importante para a inibição de *Salmonella* e *S. aureus* em produtos fermentados quando em temperatura próxima de 18°C (Schillinger & Lücke, 1987).

Aos 42 dias de maturação, os níveis de nitratos e nitritos residuais foram mais baixos ($P < 0,05$) e a cor apresentou-se com maior intensidade de brilho e coloração vermelha no salame inoculado com *L. plantarum* em comparação com o controle. Considera-se que as condições de pH no salame inoculado contribuíram para este fato.

O perfil de ácidos graxos livres não foi influenciado pela inoculação com *L. plantarum*. Por outro lado, os valores estimados de peróxido e TBARS aumentaram ($P < 0,05$) em ambos os grupos durante o período de maturação, porém, aos 42 dias de maturação, o salame inoculado apresentou menores valores para estes compostos comparado ao

salame controle. Estes resultados sugerem que a cultura *L. plantarum* AJ2 produziu efeito positivo na estabilidade oxidativa dos lipídios.

Na avaliação sensorial o salame inoculado obteve maior preferência dos provadores (60,71%) do que o salame controle. Esse resultado sugere que a cultura de *L. plantarum* AJ2 promoveu propriedades organolépticas desejáveis no salame.

Os resultados das análises microbiológicas no produto final estão de acordo com a legislação brasileira para os padrões microbiológicos de produtos cárneos maturados (Brasil, 2001). Além disto, a composição química e o conteúdo de nitritos e nitratos residuais no produto acabado (42 dias), estão de acordo com a legislação brasileira - Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de salame tipo Milano (Brasil, 2000).

Conclusões

As linhagens de *S. xylosum* U5 e *L. plantarum* AJ2 apresentaram adequado crescimento durante a fermentação e maturação do salame tipo Milano. Os parâmetros de cor foram superiores e os níveis de nitritos e nitratos residuais foram inferiores nos salames inoculados, sendo estes os produtos preferidos pelos degustadores.

Ambas as linhagens podem ser utilizadas como cultivos iniciadores simples em embutidos fermentados ou, como sugere a ausência de antagonismo entre ambas, em uso combinado.

Referências

AMMOR, S.; RACHMAN, C.; CHAILLOU, S.; PRÉVOST, H.; DOUSSET, X.; ZAGOREC, M.; DUFOUR, E.; CHEVALLIER, I. Phenotypic and genotypic identification of lactic acid bacteria isolated from a small scale facility producing traditional dry sausages. *Food Microbiology*, v.22, p.373-382, 2005.

ANDRIGUETTO, C.; ZAMPESE, L.; LOMBARDI, A. RAPD-PCR characterization of lactobacilli isolated from artisanal meats plants and traditional fermented sausages of Veneto region (Italy). *Letters in Applied Microbiology*, v.33, p. 26-30, 2001.

AYMERICH, T.; MARTÍN, B.; GARRIGA, M.; HUGAS, M. Microbial quality and direct PCR identification of lactic acid bacteria and nonpathogenic staphylococci from artisanal low-acid sausages. *Applied in Environmental Microbiology*, v.69, p.4583-4594, 2003.

BERDAGUÉ, J.L.; MONTEIL, P.; MONTEL, M.C.; TALON, R. Effects of starter cultures on the formation of flavour compounds in dry sausage. *Meat Science*, v.35, n.3, p. 275-287, 1993.

BLAIOTTA, G.; PENNACCHIA, C.; ERCOLINI, D.; MOSCHETTI, G.; VILLANI, F. Combining denaturing gradient gel electrophoresis of 16S rDNAV3 region and 16S-23S rDNA spacer region polymorphism analyses for the identification of staphylococci from Italian fermented sausages. *Systematic Applied Microbiology*, v.26, p.423–433, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA/ Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa Nº 22 de 31 de julho de 2000: Anexo V – Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Salame. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/consultasilegis>>. Acesso em 14 de abril 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde - MS/Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução Nº 12 de 02 de janeiro de 2001 – Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/e-legis>> Acesso em 06 de março de 2007.

BUCKENHÜSKES, H.J. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as starter cultures for various food commodities. *FEMS Microbiology Reviews*, v.12, p. 253-272, 1993.

CAMMACK, R.; JOANNOU, C. L.; CUI, X-Y.; MARTINEZ, C. T.; MARAJ, S. R.; HUGHES, M. N. Nitrite and nitrosyl compounds in food preservation. *Biochimica et Biophysica Acta*, v.1411, p.475-488, 1999.

COCOLIN, L.; MANZANO, M.; AGGIO, D.; CANTONI, C.; COMI, G. A novel polymerase chain reaction (PCR) – denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) for the identification of Micrococcaceae strains involved in meat fermentations. Its application to naturally fermented Italian sausages. *Meat Science*, v.58, p.59–64, 2001.

DROSINOS, E.H.; PARAMITHIOTIS, S.; KOLOVOS, G.; TSIKOURAS, I.; METAXOPOULOS, I. Phenotypic and technological diversity of lactic acid bacteria and staphylococci isolated from traditionally fermented sausages in Southern Greece. *Food Microbiology*, 24: 260-270, 2007.

FIORENTINI, A.M.; SAWITZKI, M.C.; BERTOL, T.M.; BROD, F.C.A.; PELISSER, M.R.; ARISI, A.C.; SANT'ANNA, E.S. Phenotypic and molecular characterization of *Staphylococcus xylosus*: Technological potential for use in fermented sausage. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, (aguardando publicação) v.3, n.52, 2009.

GARCIA-VARONA, M., SANTOS, E.M., JAIME, I., & ROVIRA, J. Characterization of Micrococcaceae isolated from different varieties of chorizo. *International Journal of Food Microbiology*, v.54, p.189-195, 2000.

GEISEN, R.; LÜCKE, F.K.; KRÖCKEL, L. Starter and protective cultures for meat and meat products. *Fleischwirtsch*, v.72, p.894-898, 1992.

HANS, J. S. Microbiologia de los productos cárnicos. In: PRANDL, O.; FISCHER, A.; SCHIMIDTHOFFER, A. *Tecnología e higiene de la carne*. Zaragoza: Acríbia, 1994. p. 641-667.

JESSEN, B. Starter cultures for meat fermentation. In: CAMPBELL, P.; COOK, P.E. *Fermented meats*. London: Blackwell Academic Professional, 1995. p.130-159.

LÜCKE, F.K. Fermented sausages. In: Wood, B.J.B. *Microbiology of Fermented Foods*. London and New York: Elsevier, 1985. p.41-83.

MARTÍN, B.; GARRIGA, M.; HUGAS, M.; BOVER-CID, S.; VECIANA-NOGUÉS, M.T.; AYMERICH, T. Molecular, technological and safety characterization of Gram-positive catalase-positive cocci from slightly fermented sausages. *International Journal of Food Microbiology*, v.107, n.2, p.148-158, 2005.

MAURIELLO, G.; CASABURI, A.; BLAIOTTA, G.; VILLANI, F. Isolation and technological properties of coagulase negative staphylococci from fermented sausages of Southern Italy. *Meat Science*, v.67, p.149–158, 2004.

MONTEL, M.C.; TALON, R.; BERDAGUÉ, J.L.; ROUSSET, S. Biochemical activities of Micrococcaceae and their effects on the aromatic profiles and odours of dry sausages model. *Food Microbiology*, v.13, p.489-499, 1996.

MOROT-BIZOT, S.; TALON, R.; LEROY-SETRIN, S. Development of specific PCR primers for a rapid and accurate identification of *Staphylococcus xylosus*, a species used in food fermentation. *Journal of Microbiological Methods*, v.55, p.279-286, 2003.

PARDI, M.C.; SANTOS, I.F.; SOUZA, E.R.; PARDI, H.S. *Ciência, higiene e tecnologia da carne*. Goiânia:CEGRAF:UFG, 1996. v.2, 1110p.

QUERE, F.; DESCHAMPS, A.; URDACI, M.C. DNA prove and PCR-specific reaction for *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Applied Microbiology*, v.82, p.783-790, 1997.

RANTSIOU, K.; IACUMIN, L.; CANTONI, C.; COMI, G.; COCOLIN, L. Ecology and characterization by molecular methods of *Staphylococcus* species isolated from fresh sausages. *International Journal of Food Microbiology*, v.97, p.277-284, 2005.

ROSSI, F.; TOFALO, R.; TORRIANI, S.; SUZZI, G. Identification by 16S-23S rDNA intergenic region amplification, genotypic and phenotypic clustering of *Staphylococcus xylosus* strains from dry sausages. *Journal of Applied Microbiology*, v.90, p.365–371, 2001.

ROVIRA, A.; NIETO, J.C.; RODRIGUEZ, A.; REGUERA, J.I.;
GONZÁLES, Z. Characterization and selection of lactobacilli isolated
from Spanish fermented sausages. *Microbiology*, v.13, p.201-208,
1997.

SAMELIS, J.; AGGELIS, G.; METAXOPOULOS, J. Lipolytic and
microbial changes during the natural fermentation and ripening of Greek
dry sausages. *Meat Science*, v.35, p.371–385, 1993.

SCHILLINGER, U.; LÜCKE, F.K. Identification of lactobacilli from meat
products. *Food Microbiology*, v.4, p.199-208, 1987.

SMITH, J.L.; PALUMBO, S.A. Use of Starter Cultures in Meats. *Journal
of Food Protection*, v.46, n.11, p.997-1006, 1983.

SNOPKOVA, S.; GÖTZ, F.; DOSKAR, J.; ROSYPAL, S. Pulse-field gel
electrophoresis of the genomic restriction fragments of coagulase-
negative staphylococci. *FEMS Microbiology Letters*, v.124, p.131–140,
1994.

TALON, R.; WALTER, D.; CHARTIER, S.; BARRIERE, C.; MONTEL,
M.C. Effect of nitrate and incubation conditions on the production of
catalase and nitrate reductase by staphylococci. *International Journal of
Food Microbiology*, v.52, p.47-56, 1999.

TERRA, N.N. Apontamentos de tecnologia de carnes. São Leopoldo:
UNISINOS, 1998. 216 p.

TERRA, A.; FRIES, L.; TERRA, N. Particularidades na fabricação do
salame. São Paulo: Varela, 2004, 152 p.

TJENER, K.; STAHNKE, L.H.; ANDERSEN, L.; MARTINUSSEN, J. A
fermented meat model system for studies of microbial aroma formation.
Meat Science, v.66, p.211-218, 2003.

VARNAN, A.; SUTHERLAND, J. Embutidos Fermentados. In: VARNAM, A.H. Carne y productos cárnicos, tecnologia, química e microbiologia. Zaragoza: Acríbia, 1995. p. 307-345.

Embrapa

Suínos e Aves

**Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento**

