

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

SUELLEN MARIA COSTA DA SILVA

**HISTOPATOLOGIA E MORFOMETRIA DO FÍGADO DE OVINOS
ALIMENTADOS COM PALMA FORRAGEIRA RESISTENTE À
COCHONILHA DO CARMIM**

RECIFE

2017

SUELLEN MARIA COSTA DA SILVA

**HISTOPATOLOGIA E MORFOMETRIA DO FÍGADO DE OVINOS
ALIMENTADOS COM PALMA FORRAGEIRA RESISTENTE À
COCHONILHA DO CARMIM**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de Ruminantes, para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ângela Maria Viera Batista
Coorientador: Prof. Dr. Valdemiro Amaro da Silva Júnior
Prof. Dr. Francisco Fernando Ramos de Carvalho

RECIFE

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

S586h Silva, Suellen Maria Costa da.
Histopatologia e morfometria do fígado de ovinos alimentados
com palma forrageira resistente à cochonilha do carmim / Suellen
Maria Costa da Silva. – 2017.
37 f. : il.

Orientadora: Ângela Maria Vieira Batista
Coorientador: Valdemiro Amaro da Silva Júnior
Francisco Fernando Ramos de Carvalho
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de
Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Recife, BR
-PE, 2017.
Inclui referências.

1. Patologia 2. Consumo 3. Ácido cianídrico 4. Lesões
5. Fosfatase alcalina I. Batista, Ângela Maria Vieira, orient.
II. Silva Júnior, Valdemiro Amaro da, coorient. III. Carvalho,
Francisco Fernando Ramos de, coorient. IV. Título

CDD 636

SUELLEN MARIA COSTA DA SILVA

Histopatologia e morfometria do fígado de ovinos alimentados com palma forrageira
resistente à cochonilha do carmim

Dissertação defendida e aprovada pela Comissão Examinadora em 21 de fevereiro de
2017

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Ângela Maria Vieira Batista

Prof.^a Ângela Maria Vieira Batista, D.Sc.
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Departamento de Zootecnia/DZ

Comissão Examinadora:

Prof.^a Adriana Guim, D.Sc.
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Departamento de Zootecnia/DZ

Prof. Pierre Castro Soares, D.Sc.
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Departamento de Medicina Veterinária/DMV

RECIFE – PE
FEVEREIRO 2017

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

SUELLEN MARIA COSTA DA SILVA - filha de Djalma Henrique da Silva Filho e Maria de Fátima Costa da Silva (*in memoria*), nasceu no dia 05 de maio de 1990, na cidade do Recife, Pernambuco. Coursou o ensino fundamental completo na Escola Almirante Tamandaré, Tamandaré, Pernambuco, concluindo em 2004. Estudou o Ensino Médio na Escola Estadual Professor Joaquim Augusto de Noronha Filho, Barreiros, Pernambuco, concluindo o mesmo em 2007. Em agosto de 2009 ingressou no curso de Bacharelado em Zootecnia pela Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns. Durante a graduação foi monitora das disciplinas de Matemática I e Fisiologia dos Animais Domésticos I. Participou da criação e andamento de projetos de extensão na área da Zootecnia para levar conhecimento a produtores rurais da região, trabalhando, também, com pesquisa na área de nutrição de ruminantes. Concluiu a graduação em agosto de 2014. Em fevereiro de 2015 iniciou o mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia pela Universidade Federal Rural de Pernambuco na área de Nutrição de Ruminantes com auxílio de bolsa da CAPES. Em 21 de fevereiro de 2017 defendeu a dissertação de Mestrado.

Não é sobre ter todas as pessoas do mundo pra si
É sobre saber que em algum lugar alguém zela por ti
É sobre cantar e poder escutar mais do que a própria voz
É sobre dançar na chuva de vida que cai sobre nós
É saber se sentir infinito num universo tão vasto e bonito é saber sonhar
Então fazer valer a pena cada verso daquele poema sobre acreditar.
Não é sobre chegar no topo do mundo e saber que venceu
É sobre escalar e sentir que o caminho te fortaleceu
É sobre ser abrigo e também ter morada em outros corações
E assim ter amigos contigo em todas as situações
A gente não pode ter tudo, qual seria a graça do mundo se fosse assim?
Por isso eu prefiro sorrisos e os presentes que a vida trouxe pra perto de mim.
Não é sobre tudo que o seu dinheiro é capaz de comprar
E sim sobre cada momento, sorriso a se compartilhar
Também não é sobre correr contra o tempo pra ter sempre mais
Porque quando menos se espera a vida já ficou pra trás
Segura teu filho no colo, sorria e abraça os teus pais enquanto estão aqui
Que a vida é trem bala, parceiro e a gente é só passageiro prestes a partir.

Música: *Trem-bala de Ana vilela*, 2016.

Dedico esta conquista.

A minha mãe **Fátima**, mesmo tão longe sempre está perto de mim, por sua criação e por tudo o que ela representa em minha vida.

Ao meu pai **Djalma** por toda a ajuda e incentivo prestado.

Aos meus tios e padrinhos **Wânia Maria** e **João Bosco**
sem vocês eu não poderia ir lugar algum,

Aos meus avós **Lindalva** e **Cláudio**, agradeço por serem meus avós, por estarem
sempre comigo e se preocupando comigo,

A minha irmã **Isabela Cristina** e primos **Manuela**, **Gabriela**, **Marília** e **Pedro** por
todo carinho e ajuda prestados durante essa caminhada.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, meu abrigo nas horas de tormenta e a luz que surgiu quando tudo parecia perdido.

A minha mãe Fátima (in memoria), obrigada, não existem palavras para descrever o que sinto pela senhora, TODOS DIAS eu sinto a sua falta e jamais teria chegado até aqui sem sua força.

Aos meus tios por terem aberto as portas da sua casa para que eu entrasse, as portas do coração para me amarem e o abraço de afago cedido sem pedir nada em troca, principalmente à minha tia Wânia, por todo amor dedicado quando eu pensei que não sobreviveria sem a pessoa mais importante da minha vida, minha aceitou como filha e eu a ela como mãe, obrigada.

A minha irmã Isabela, a quem eu amo incondicionalmente!

Aos meus melhores amigos Angélica Valsoní (Angel), Socorro Moraes (help) e Harryson por tudo que já fizeram por mim, por me ouvirem reclamar e chorar (não pela obrigação, mas por pura amizade) que continuemos juntos não somente como amigos mais principalmente como irmãos que tanto nos consideramos.

A minha orientadora, professora Ângela Batista, obrigada por dividir seu vasto conhecimento comigo durante esses dois anos de mestrado.

Agradeço ao meu coorientador, professor Valdemiro (Júnior), por toda a ajuda prestada a mim para a conclusão desse trabalho.

Ao meu coorientador professor Francisco por toda a paciência e simpatia, pela compra dos animais e de tudo o mais que precisamos durante o experimento.

A todos os professores da graduação e pós-graduação da UFRPE, que tive o privilégio de tê-los na história da minha vida e por cada ensinamento que eles compartilharam comigo.

Agradeço ao Daurivane Rodrigues, obrigada pela amizade, carinho e por dividir o experimento comigo.

A Ludmilly e seu filhinho Bernardo (minizootecnista) pela ajuda e alegria prestadas durante o início do experimento.

Agradeço a Rafaela Pimentel, Aildson Ferreira, Tomás Guilherme e a turma da graduação da disciplina de bromatologia da UFRPE durante o experimento, a ajuda de

vocês foi indescritível, agradeço também a Anidene Christina que veio nos ajudar nas preparações para o abate, obrigada!!

A equipe do professor Júnior, nas pessoas da Fabiana Félix, Giselle Woolley, Simone Regina, Alluanan Adelson, Luiz André e Jéssica Santana da pós-graduação da Medicina Veterinária/Biociência por tudo o que me ensinaram no laboratório, pelas nossas conversas, risos e todo carinho dedicado, “encontrei amigos mais chegados que irmãos”.

A todos os amigos e colegas do departamento de Zootecnia (DZ): Daniel, Juliana Ferreira, Liliane Palhares, Karen Abreu, João Vitor, Ana Barros, Arturene, Bismarck, Ana Gabriela, Francisco, Marina, Luiz, Thaís, Rayane, Talita Almeida, Kelly Cristina, Felipe, Ximena, citei algumas pessoas que foram fundamentais na hora das coletas e durante toda a execução do experimento e abate, mais todos da equipe da professora Adriana Guim, Professor Francisco e Professor Marcelo (a galera da firma) se eu esqueci alguém me perdoem, muita gente me ajudou durante o experimento e eu só tenho a agradecer.

Agradeço também ao pessoal do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Veterinário da UFRPE na pessoa do Cleyton, que realizou as análises do sangue coletado, MUITO, MUITO OBRIGADA!

Agradeço também aos funcionários do DZ e DMV (departamento de medicina veterinária) pela ajuda e serviços prestados.

Agradeço a Universidade Federal Rural de Pernambuco pela oportunidade de obter uma graduação e um mestrado, agradeço também a CAPES pela concessão da bolsa durante esses anos de mestrado. Muito obrigada!

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 – - Fotomicrografia do parênquima hepático de ovinos alimentados com palma forrageira resistente à cochonilha do carmim	23
Figura 2 – Fotomicrografia do parênquima hepático de ovinos alimentados com palma forrageira resistente à cochonilha do carmim apresentando a tríade hepática constituída de veia, artéria e ducto biliar	24
Figura 3 – Fotomicrografia do parênquima hepático de ovinos alimentados com três variedades de palma resistente à cochonilha do carmim sem deposição de fibras colágenas.....	27
Figura 4 – Fotomicrografia do parênquima hepático de ovinos alimentados com três variedades de palma resistente à cochonilha do carmim apresentando a tríade hepática constituída de veia, artéria e ducto biliar	28
Figura 5 - Fotomicrografia do parênquima hepático de ovinos alimentados com palma forrageira resistente à cochonilha do carmim apresentando glicogênio apenas nos hepatócitos nucleados.....	29
Figura 6 – Fotomicrografia de parênquima hepático de ovino, apresentando a tríade hepática constituída de veia, artéria e ducto biliar	30

LISTA DE TABELAS

Página

Tabela 1 – Composição química dos ingredientes, expressa em g/kg de matéria seca.	16
Tabela 2 – Proporção dos ingredientes nas dietas experimentais	17
Tabela 3 – Composição químico-bromatológica das dietas experimentais expressa em g/kg de matéria seca	18
Tabela 4 – Valores médios do peso corporal ao abate (PC), peso do fígado, consumo de matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, fibra em detergente neutro (FDN) e nutrientes digestíveis totais (NDT) por ovinos, em função da dieta experimental	21
Tabela 5 – Lesões histopatológicas do parênquima de ovinos alimentados com diferentes tratamentos	22
Tabela 6 – Densidade volumétrica dos constituintes hepáticos de ovinos alimentados com diferentes tratamentos	22
Tabela 7 – Perfil bioquímico do soro sanguíneo de ovinos alimentados com palma forrageira resistente à cochonilha do carmim.....	25

SUMÁRIO

1 RESUMO	12
2 ABSTRACT	13
3 INTRODUÇÃO	14
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	16
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
6 CONCLUSÃO	31
7 REFERÊNCIAS	32

1 RESUMO

Objetivou-se avaliar através de estudos histológicos e morfométricos, o fígado de ovinos alimentados com variedades de palma forrageira. O experimento foi realizado no setor de caprinos e ovinos do departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, foram utilizados 40 ovinos, machos, sem padrão racial definido, inteiros, com peso corporal médio de $21,01 \pm 2,01$ kg e média de idade de 6 meses. O uso dos animais foi aprovado pelo comitê de ética para utilização de animais com a Licença de nº 053/2015. Foram distribuídos em Delineamento Inteiramente Casualizado com 4 tratamentos e 10 repetições, foram alojados em baias individuais, providas de comedouros e bebedouros individuais. Os tratamentos experimentais consistiram de uma dieta base, composta por Feno de Capim Elefante em substituição parcial por palma forrageira Miúda, Orelha de Elefante Mexicana e IPA-Sertânia. Para os estudos ao microscópio de luz, os fragmentos foram processados para inclusão em parafina, os cortes histológicos de 5 μ m de espessura foram corados em método de coloração padrão (HE) e dois corantes especiais, PAS e Tricrômico de Gomori. Para a morfometria do parênquima hepático, foi contabilizado um total de 4000 pontos por animal e transformados em densidade relativa (%). Dois genótipos de palma apresentaram ácido cianídrico em sua composição. Os consumos de MS, MO, PB, FDN, NDT, o peso do fígado, o peso corporal ao abate, a enzima fosfatase alcalina, a glicose e o colesterol foram maiores nos animais que receberam palma forrageira. Todos os tratamentos apresentaram necrose de coagulação e congestão da tríade portal, e OEM e IPA foram diferentes para ducto biliar. Conclui-se que o uso de palma forrageira na alimentação de ovinos até 70 dias de confinamento não causa danos aparentes ao fígado dos animais, a presença de HCN causa necrose de coagulação pericentro lobular e congestão da tríade portal hepática.

Palavras chave: Patologia. Consumo. Ácido cianídrico. Lesões. Fosfatase alcalina.

2 ABSTRACT

The aim of this study is to evaluate the liver of sheep fed with forage palm varieties through histological and morphometric evaluations. The experiment was carried out in the Goats and Sheep Sector of the Department of Animal Science of the Federal Rural University of Pernambuco. It was used 40 male sheep with no defined racial pattern, mean body weight of 21.01 ± 2.01 kg and average age of 6 months. The use of the animals was approved by the Committee for Ethics in Animal Experiments (CEUA) (license number: 053/2015). They were distributed in a completely randomized design with 4 treatments and 10 replications, housed in individual stalls equipped with individual feeders and drinking fountains. The experimental treatments were a base diet, composed of elephant grass hay in a partial replacement by small spineless cactus, Orelha of elefante mexicana and IPA-Sertânia. For light microscopy studies, the fragments were processed for inclusion in paraffin, 5 μ m thick histological sections were stained in standard staining (HE) and two special stains, PAS and Gomori trichrome. For the hepatic parenchyma morphometry, the relative density (%) was calculated by a total of 4000 points on the histological preparations, per animal. Two palm genotypes had hydrocyanic acid in their composition. Consumption of DM, OM, PB, NDF, NDT, liver weight, body weight at slaughter, alkaline phosphatase enzyme, glucose and cholesterol were higher in animals fed on forage palm. All treatments showed coagulation necrosis and portal triad congestion, and OEM and IPA were different for bile duct. It can be concluded that the use of forage palm in the feed of sheep up to 70 days of confinement does not cause apparent damages to the liver of the animals, the presence of HCN causes coagulation necrosis of lobular pericenter and congestion of the hepatic portal triad.

Key words: pathology.; consumption; Hydrocyanic acid; injuries; alkaline phosphatase.

3 INTRODUÇÃO

A palma é utilizada na alimentação humana e animal, na indústria de cosméticos e na medicina. Em ratos Wistar, a adição de palma forrageira na dieta diminui o colesterol e em humanos seus frutos exercem função antioxidante, além de reduzir o colesterol (AGRA 2014; AKACHA et al., 2015; KANG et al., 2015; LIMA et al., 2016; JIMÉNEZ-AGUILAR et al., 2015; SANTOS et al., 2016; SANTOS et al., 2016a; SOUZA, 2012).

A palma forrageira, independente do gênero, é rica em Carboidratos Não Fibrosos (CNF) $49,50 \pm 0,83$ % e Carbohidratos Totais (CT) $80,7 \pm 2,87$ %, possui baixos teores de Proteína Bruta (PB) $5,44 \pm 0,84$ % e Matéria Seca (MS) $9,77 \pm 2,39$ %. O teor de P é da ordem de $0,20 \pm 0,015$ %, Na $0,05 \pm 0,01$ %, Ca $4,91 \pm 0,35$ %, K $0,20 \pm 0,015$ % e Mg $1,55 \pm 0,28$ (BATISTA et al., 2003; BISPO et al., 2007; SANTOS et al., 2009; WANDERLEY et al., 2012; BATISTA et al., 2013; CORDOVA-TORRES et al., 2015).

Considerada um alimento energético, a palma influencia diretamente o metabolismo energético dos órgãos viscerais como intestino e fígado. Segundo Haas (2014) e Johnson et. al., (1990), o fígado utiliza parte do consumo de energia de todo o organismo, de forma que, a massa do fígado e seu metabolismo são influenciados pela carga de trabalho, sendo diferenciada entre as espécies animais.

A palma também possui componentes antinutricionais como o oxalato, que pode variar de 0,006 a 2,10 mg/kg de MS (ARAÚJO, 2009; BATISTA et al., 2009; BATISTA et al., 2013; VIEIRA et al., 2008). O oxalato está presente em algumas plantas na forma de íon oxálico ($C_2O_4^-$) ou ácido oxálico (HC_2O_4). O primeiro na forma de oxalato de sódio solúvel ou o oxalato insolúvel de cálcio e magnésio, e o segundo como oxalato de potássio (JAMES, 1972).

Segundo Rahman et al. (2010), Rahman; Kawamura (2011) e Das et al. (2010) estudando a espécie *Pennisetum purpureum*, a adubação, o clima e a condição genética também podem interferir nos teores de oxalato na forragem. Fungos como *Aspergillus niger* e *A. Flavus* também são capazes de produzir grandes quantidades de oxalato em fenos úmidos e silagens (JAMES, 1972).

O oxalato também interfere no metabolismo de energia celular, mas, as principais lesões do seu excesso são verificadas nos rins. Neste sentido, podem resultar em obstrução de túbulos renais e de glomérulos. Embora o oxalato também seja produzido no fígado,

seu excesso é resultado de um fígado hiperoxalúrico tipo I, doença em que o fígado produz pouca Glioxilato Amino Transferase (GAT) o que impede a metabolização do oxalato e glicolato (WILLAMS; SMITH JR, 1968; DANPURE; JENNINGS, 1986; KNIGHT; WALTER, 2002; NISHIJIMA et al., 2003).

Também foi encontrado recentemente na palma miúda a presença de ácido cianídrico (HCN), na concentração de 50,8 mg/kg de MS (SILVA et. al., 2015). A ingestão do HCN compromete a fosforilação oxidativa da mitocôndria e, ao interferir no ciclo tricarboxílico, inibe a ação de enzimas como citocromo-oxidase $\alpha 3$ impedindo a transferência de elétrons. O HCN possui afinidade para se ligar ao ferro (Fe^{+3}), diminuindo assim a disponibilidade para os eritrócitos e como consequência, diminui o oxigênio circulante, levando a hipóxia tissular (AMORIM, 2007).

Além disso, o HCN está associado ao aparecimento de bócio em animais e humanos. Segundo Galindo (2015) e Lopes (2001), o HCN é reduzido a tiocianato e cianeto. O tiocianato tem sua composição muito parecida com a molécula de iodo e por isso interfere na captação deste pela tireoide. Como uma tentativa de produzir os hormônios T3 e T4 e conseguir captar o iodo, as células da tireoide aumentam de tamanho devido ao alto estímulo do Hormônio Estimulador da Tireoide (TSH).

Em pequenas quantidades administradas constantemente, o HCN pode diminuir a coagulação sanguínea, provocar lesões cardíacas e a musculatura apresentar coloração escura. É possível também de ocorrer congestão pulmonar, renal e hepática, sendo a necrose de hepatócitos a principal lesão encontrada, em função da baixa oxigenação do tecido hepático (AMORIM et. al., 2005; AMORIM et al., 2006).

Essas lesões podem ser melhor investigadas, através do uso de ferramentas como a morfometria e histologia. Segundo Peres-Neto (1995), a morfometria é uma ferramenta que nos possibilita estudar, a forma e sua relação com a massa do órgão; e a histologia investiga lesões.

Portanto, objetivou-se, avaliar através de estudos histológicos e morfométricos, o fígado de ovinos alimentados com variedades de palma forrageira resistente à cochonilha do carmim.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Setor de Caprinos e Ovinos do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) localizada em Recife-PE. Foram utilizados 40 ovinos, machos, com idade média de 8 meses, sem padrão racial definido, inteiros, com peso corporal inicial médio de $21,01 \pm 2,01$ kg.

O presente experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética de Uso de Animais - CEUA da Universidade Federal Rural de Pernambuco, sob Registro de Licença nº 053/2015 - CEUA/UFRPE em conformidade com os princípios básicos para pesquisa com animais.

Os animais foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado que consistia de 4 tratamentos e 10 repetições; distribuídos em baias individuais suspensas e ripadas na altura de 1,20 m, com área de $1,5 \text{ m}^2$, providas de comedouros e bebedouros individuais.

Os tratamentos consistiram de uma dieta composta por feno de capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum), fubá de milho, farelo de soja, ureia, sulfato de amônio, fosfato bicálcico e mistura mineral comercial, calculadas segundo o Nutrients Requirements of Small Ruminants - NRC (2007). As dietas testes consistiram na substituição parcial do feno de capim elefante por palma forrageira miúda, orelha de elefante mexicana (OEM) ou IPA-Sertânia (Tabela 1 e Tabela 2).

Tabela 1 - Composição química dos ingredientes, expressa em g/kg de matéria seca.

Itens	Ingredientes					
	Feno de Capim Elefante	Palma Miúda	Palma IPA-Sertânia	Palma OEM	Farelo de Soja	Fubá de Milho
	(g/kg de MS)					
Matéria seca	931,10	118,00	144,30	117,30	899,90	885,50
Matéria orgânica	888,60	890,10	893,60	889,30	913,50	985,70
Matéria mineral	111,40	109,90	106,40	110,70	86,50	14,30
Proteína bruta	57,30	56,90	57,50	59,70	533,80	86,10
Extrato etéreo	20,90	25,90	28,20	30,70	18,10	49,30
Fibra em detergente neutro	767,60	289,10	291,90	285,80	232,50	175,20
Fibra em detergente neutro _{cp}	724,60	259,10	252,90	243,20	148,20	156,80
Fibra em detergente ácido	469,00	142,10	109,60	125,50	24,90	82,00
Hemicelulose	265,60	117,00	143,40	117,80	66,20	131,90
Carboidratos totais	810,50	807,20	807,90	798,90	361,60	850,40
Carboidratos não fibrosos	75,90	548,20	555,00	555,70	213,40	693,50
Ácido cianídrico (mg/kg MS)	-	-	57,62	53,47	-	-
Oxalatos totais (mg/kg MS)	0,97	1,78	2,08	2,58	1,41	0,92

Tabela 2 - Proporção dos ingredientes nas dietas experimentais.

Ingredientes	Tratamentos			
	Feno de Capim Elefante	Palma Miúda	Palma IPA-Sertânia	Palma OEM
	(% da MS)			
Feno de capim elefante	709,90	250,30	263,10	232,10
Palma IPA-Sertânia	0,00	540,00	0,00	0,00
Palma miúda	0,00	0,00	516,50	0,00
Palma orelha de elefante Mexicana	0,00	0,00	0,00	573,30
Farelo de soja	145,00	190,80	200,50	177,00
Fubá de milho	128,50	0,00	0,00	0,00
Ureia	6,20	5,60	4,40	0,00
Sal mineral ovinofós ¹	8,60	9,50	10,00	8,80
Fosfato bicálcico	1,40	3,30	5,00	7,90
Sulfato de amônio	0,50	0,50	0,50	0,90
Total	1000	1000	1000	1000

Nota – ¹Níveis de garantia assegurados pelo fabricante Ovinofós®: cálcio 120 g; fósforo 87 g; sódio 147 g; enxofre 18 g; cobre 0,59 g; cobalto 0,04 g; cromo 0,020 g; ferro 1,8 g; iodo 0,08 g; manganês 1,3 g; selênio 0,015 g; zinco 3,8 g; flúor máximo 0,87 g; Solubilidade do Fósforo (P) em ácido cítrico a 2% é 95% (min.).

O feno de capim elefante foi produzido no Campus da Universidade Federal da Paraíba localizada no município de São João do Cariri – PB. A palma forrageira foi obtida na Fazenda Várzea Grande localizada no município de Pesqueira-PE e os demais ingredientes foram comprados no comércio local.

O experimento teve duração de 92 dias, sendo 21 para adaptação às instalações e ao manejo e 71 dias para avaliação das dietas experimentais e coletas. Os animais foram vermifugados e vacinados, a ração foi fornecida duas vezes ao dia na forma de mistura completa e a água fornecida *ad libitum*.

Durante o período experimental, amostras de alimentos foram coletadas para obtenção da composição química. As sobras eram pesadas diariamente pela manhã para monitoramento do consumo e cálculo da oferta seguinte, permitindo-se sobras de alimentos da ordem de 15% do total ofertado. Duas vezes na semana, 10% das sobras eram coletadas para as análises.

As amostras de sobras e alimentos foram pré-secas e todo o material foi moído em moinho de faca tipo Willey®, com peneira de crivos de 1 e 2 mm para realização das análises de matéria seca (MS) (AOAC, 1995/ 930.15), matéria mineral (MM), matéria orgânica (MO) (AOAC, 1990/ 942.05), proteína bruta (PB) (AOAC, 1995/ 954.01) e

extrato etéreo, determinado por extração a quente em éter de petróleo no Gerhardt Soxtherm 2000® pelo método de Randall descrito por Detmann (2012).

A análise de ácido cianídrico (HCN) nos alimentos foi realizada pelo método de Ades e Hernandez (1986) adaptada por Silva (2015a). Para a análise de oxalato nos alimentos, utilizou-se a metodologia proposta por Moir (1953). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram determinados segundo metodologia proposta por Van Soest et al. (1991), adaptada por Mertens (2002) e a correção das cinzas na FDN (FDN_{cp}) foi realizada segundo AOAC (1990/ 942.05).

Os carboidratos totais (CHT) do feno, da palma forrageira, do resíduo e das dietas foram calculados utilizando-se a equação: $CHT = 100 - (PB + EE + MM)$.

Os nutrientes digestíveis totais (NDT) das dietas foram calculados de acordo com Weiss (1999), como: $NDT = \%PBD + 2,25 \times \%EED + \%CNFD + \%FDND$, em que: PBD = proteína bruta digestível; EED = extrato etéreo digestível; CNFD = carboidratos não fibrosos digestíveis e FDND = fibra em detergente neutro digestível.

Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados através da fórmula: $CNF (\%) = 100 - (PB + FDN_{cp} + EE + MM)$ (Tabela 3).

Tabela 3 - Composição químico-bromatológica das dietas experimentais expressa em g/kg de matéria seca.

Itens	Tratamentos			
	Feno de Capim Elefante	Palma Miúda	Palma IPA-Sertânia	Palma OEM
	(g/kg de MS)			
Matéria seca	919,76	199,94	236,23	184,70
Matéria orgânica	860,86	877,06	879,25	878,13
Proteína bruta	135,95	157,83	160,15	136,85
Extrato etéreo	249,30	259,00	271,40	287,00
Fibra em detergente neutro _{cp}	559,80	339,09	334,55	318,32
Carboidratos não fibrosos	162,43	386,34	392,99	409,45
Nutrientes digestíveis totais	409,87	593,74	603,76	546,28
Ácido cianídrico (mg/kg MS)	-	-	31,01	31,25
Oxalatos totais (mg/kg MS)	1,01	1,46	1,63	1,96

No 70º dia de fornecimento das dietas experimentais foram coletadas amostras de sangue através de punção da veia jugular, quatro horas após a alimentação matinal. Utilizou-se tubos coletores de sangue Vacuette® com gel e sem anticoagulante. As amostras foram acondicionadas imediatamente em recipiente de isopor contendo gelo.

O sangue foi centrifugado a 3000 rpm por 10 minutos segundo metodologia utilizada por Leal et al. (2009), e enviados ao laboratório de análises clínicas do hospital veterinário. Determinaram-se a atividade enzimática da alanina aminotransferase, aspartato amino transferase, gama-glutamyltransferase e fosfatase alcalina; e as concentrações de albumina, beta hidroxibutirato, ureia, colesterol e glicose pelo analisador automático (Labmax[®]), utilizando-se kits comerciais Labteste[®].

O abate ocorreu no 92º dia, com a utilização de pistola de dardo cativo por cartucho de explosão para insensibilização dos animais, seguido de sangria, esfolagem e evisceração. O fígado foi retirado, pesado e seccionado em fragmentos de até 2 cm³ de espessura, os quais foram fixados em solução de formalina tamponada a 10% com pH de 7,4. As amostras foram acondicionadas em recipientes previamente identificados (BEHMER et al., 2003).

Os fragmentos do fígado foram desidratados em soluções crescentes de álcool para inclusão em parafina, os cortes histológicos foram de 5 µm de espessura em micrótomo rotativo, corados em hematoxilina-eosina e analisados morfológicamente em microscópio (Leica ICC 50[®], Brasil). Preparação de lâminas histológicas também foram submetidas às colorações especiais: PAS (Ácido Periódico de Schiff - Glicogênio) e Tricrômico de Gomori (Fibras colágenas) segundo metodologia descrita por Behmer et al. (2003).

Após preparação das lâminas histológicas, os cortes histológicos do parênquima hepático foram avaliados qualitativamente em microscópio Olympus[®] BX41, sendo atribuídos escores: 0=ausente, 1=leve, 2=moderada e 3=intenso para as lesões. As micrografias foram capturadas com o auxílio do programa LAZ EZ[®] 1.7.0 (2009) com o auxílio do microscópio Leica ICC50[®] acoplado ao computador para avaliações quantitativas.

Os dados morfométricos do parênquima hepático foram obtidos usando contagem de pontos por alocação sistemática de grátula, contendo 441 pontos de intersecção sobre a imagem, em aumento de 400x. Dez campos foram contabilizados aleatoriamente, totalizando 4000 pontos para cada animal e transformados em densidade relativa (%).

As estruturas hepáticas contabilizadas foram: hepatócitos necróticos (sem núcleo), mononucleado (um núcleo) e binucleado (dois núcleos), veia, artéria, ducto biliar, células de Kupffer e sinusóide utilizando-se de um contador de células manual, Digitimer[®]

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado e a análise de variância foi realizada por meio do programa estatístico SAS[®] 9.1 (2004) pela função Proc GLM. Os dados obtidos foram expressos através da estatística descritiva de tendência de centralidade e dispersão (média e erro padrão). O teste de médias utilizado foi o Dunnett a 5% de probabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As dietas contendo palma forrageira influenciaram positivamente o consumo de matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta e energia pelos ovinos (Tabela 4). Em consequência, os animais que receberam essas dietas estavam mais pesados ao final dos 70 dias de confinamento (Tabela 4).

Os pesos do fígado dos animais que receberam as dietas com palma forrageira, independentemente do genótipo da palma, foram mais altos do que o dos animais que receberam a dieta controle (Tabela 4).

Tabela 4 - Valores médios do peso corporal ao abate (PC), peso do fígado, consumo de matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, fibra em detergente neutro (FDN) e nutrientes digestíveis totais (NDT) por ovinos, em função da dieta experimental.

Parâmetros	Tratamentos				P
	Feno de Capim Elefante	Palma Miúda	Palma IPA-Sertânia	Palma Orelha de Elefante Mexicana	
	Consumo (g)				
Matéria seca	686,20±44,40	1093,20±58,80*	1153,70 ± 51,70*	1055,10±37,50*	0,5877
Matéria orgânica	582,50±38,40	960,10±51,20*	1015,50 ±45,40*	927,00±32,90*	0,5850
Proteína bruta	109,60±6,00	184,00±9,90*	196,20 ± 7,60*	148,40 ± 5,30*	0,2935
FDN	362,40±25,40	334,30±18,50	350,70 ± 14,90	314,20 ± 10,30	0,0687
NDT	280,50±18,50	649,80±37,20*	699,40±41,80*	577,70 ± 28,50*	0,5243
	Pesos				
Peso corporal (kg)	24,40 ± 2,80	33,40 ± 3,80*	33,90 ± 3,24*	32,60 ± 1,04*	<0,001
Fígado (g)	324,00 ± 57,1	600,00±93,20*	586,00 ± 137,70*	533,70±77,60*	<0,001
Fígado (g/PC ^{0,75})	29,40 ± 3,50	43,10 ± 3,10*	41,50 ± 8,40*	39,10 ± 5,60*	<0,001

Fonte – A autora, 2017.

Nota - Médias seguidas de (*) diferem estaticamente pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

O fígado é o órgão central do metabolismo de energia e de proteína. Os nutrientes são absorvidos, transportados ao fígado, onde são metabolizados e/ou transportados para outros tecidos. Os animais que receberam as dietas contendo palma forrageira, independentemente do genótipo, ingeriram mais energia e proteína do que os animais que receberam a dieta controle (Tabela 4). Portanto, maior aporte de nutrientes e de energia resultaram em hipertrofia desse órgão.

De maneira geral, os hepatócitos apresentaram hipertrofia discreta nos tratamentos controle, miúda e IPA, enquanto que o tratamento OEM apresentou hipertrofia moderada (Tabela 5). A presença de hepatócitos necróticos, mono e binucleados não diferiram nos tratamentos com palma em relação ao controle (Tabela 6). Contudo, vale ressaltar que há

uma forte tendência há uma menor proporção do espaço sinusóide ($p < 0,5044$) devido a crescente hiperplasia apresentada pelos hepatócitos.

Tabela 5 - Lesões histopatológicas do parênquima de ovinos alimentados com diferentes tratamentos.

Lesões patológicas	Tratamentos			
	Feno de C. Elefante	Palma Miúda	Palma IPA-Sertânia	Palma Orelha de Elefante Mexicana
	Intensidade			
Hipertrofia de hepatócitos	+	+	+	++
Congestão da tríade portal hepática	++	+++	++	+
Hepatite focal crônica	+	+	+	-
Atrofia do cordão de hepatócitos	+	+	+	+
Estreitamento dos capilares sinusóides	+	++	+	-
Necrose de coagulação pericentro lobular	++	+++	+++	+++
Dilatação dos capilares sinusóides	-	+	+	+
Esteatose	-	+	+	-

Fonte – A autora, 2017.

Nota - + lesão discreta, ++ lesão moderada, +++ lesão intensa, - ausente

Tabela 6 - Densidade volumétrica dos constituintes hepáticos de ovinos alimentados com diferentes tratamentos.

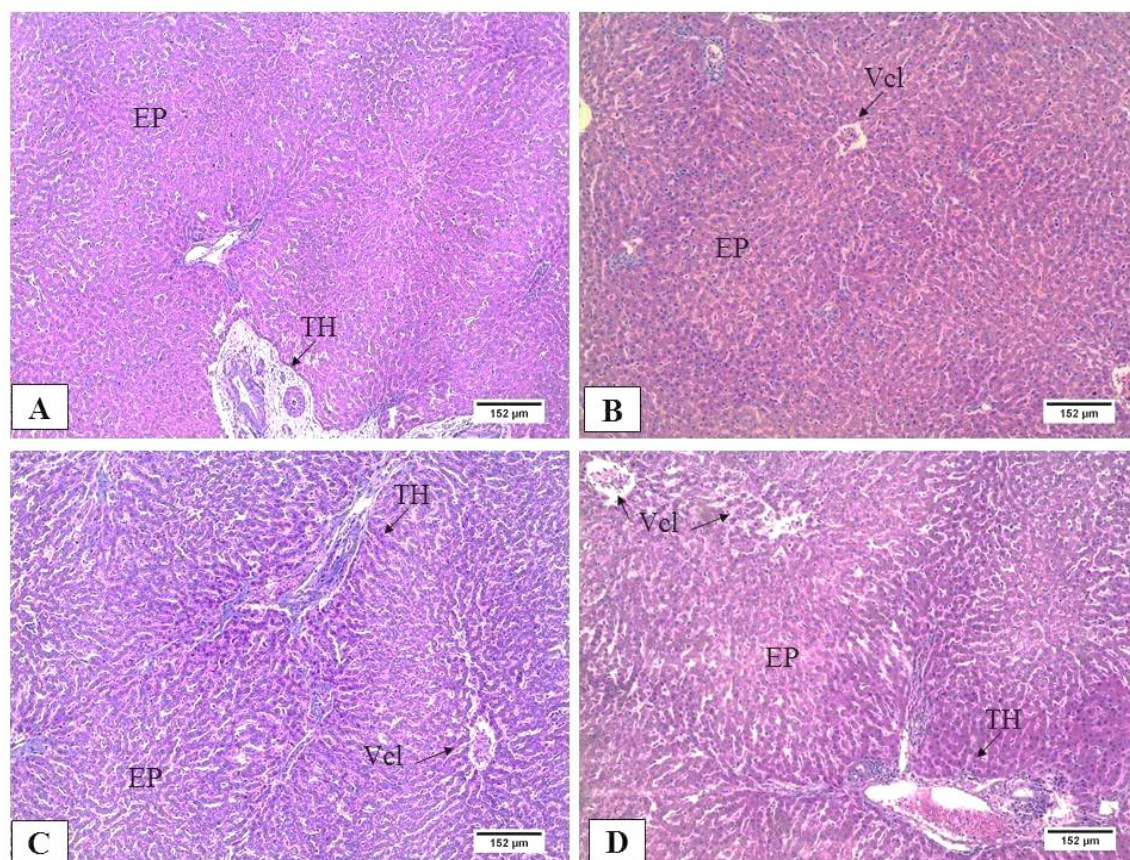
Lesões	Feno de C. Elefante	Palma Miúda	Palma IPA-Sertânia	Palma Orelha de Elefante Mexicana	P
Porcentagem					
Hepatócito necrótico	29,47 ± 2,83	39,51 ± 5,12	34,31 ± 3,51	28,49 ± 2,19	0,1508
Hepatócito nucleado	50,68 ± 2,77	39,76 ± 5,79	42,16 ± 4,67	54,31 ± 2,12	0,0674
Hepatócito binucleado	0,32 ± 0,09	0,23 ± 0,04	0,20 ± 0,05	0,36 ± 0,10	0,4196
Sinusóide	13,42 ± 1,72	14,23 ± 3,21	15,51 ± 2,42	10,38 ± 1,69	0,5044
Artéria	0,29 ± 0,12	0,20 ± 0,04	0,73 ± 0,33	0,29 ± 0,08	0,2099
Veia	2,47 ± 0,40	3,47 ± 0,38	3,28 ± 0,63	3,25 ± 0,54	0,4929
Ducto biliar	0,23 ± 0,06	0,26 ± 0,05	0,61 ± 0,17*	0,58 ± 0,12*	0,0391
Células de Kupffer	3,13 ± 0,67	2,36 ± 0,41	3,24 ± 0,52	2,34 ± 0,50	0,4936

Fonte – A autora, 2017.

Nota – Valores representam médias ± erro padrão. Asteriscos (*) na mesma linha diferem estatisticamente pelo teste Dunnett ($p < 0,05$).

A densidade volumétrica média para ducto biliar foi diferente do controle apenas nos tratamentos IPA e OEM (Tabela 6). Segundo Ford et al. (1974) lesões no fígado, mais especificamente no ducto biliar hepático, como obstrução e colestase, aumentam a atividade sérica de GGT. Neste trabalho, a principal lesão relacionado ao aumento da GGT, foi a necrose de coagulação pericentro lobular (Figura 1) e congestão de tríade portal hepática (Figura 2), variando de moderada a intensa nos tratamentos com palma quando comparado ao grupo controle (Tabela 5).

Figura 1 - Fotomicrografia de parênquima hepático de ovinos alimentados com palma forrageira resistente à cochonilha do carmim.



Fonte - A autora, 2017.

Nota:

Legenda – Espaço Porta (EP), Triáde Hepática (TH) e Veia centro lobular (Vcl).

A – Tratamento controle apresentando aspecto normal.

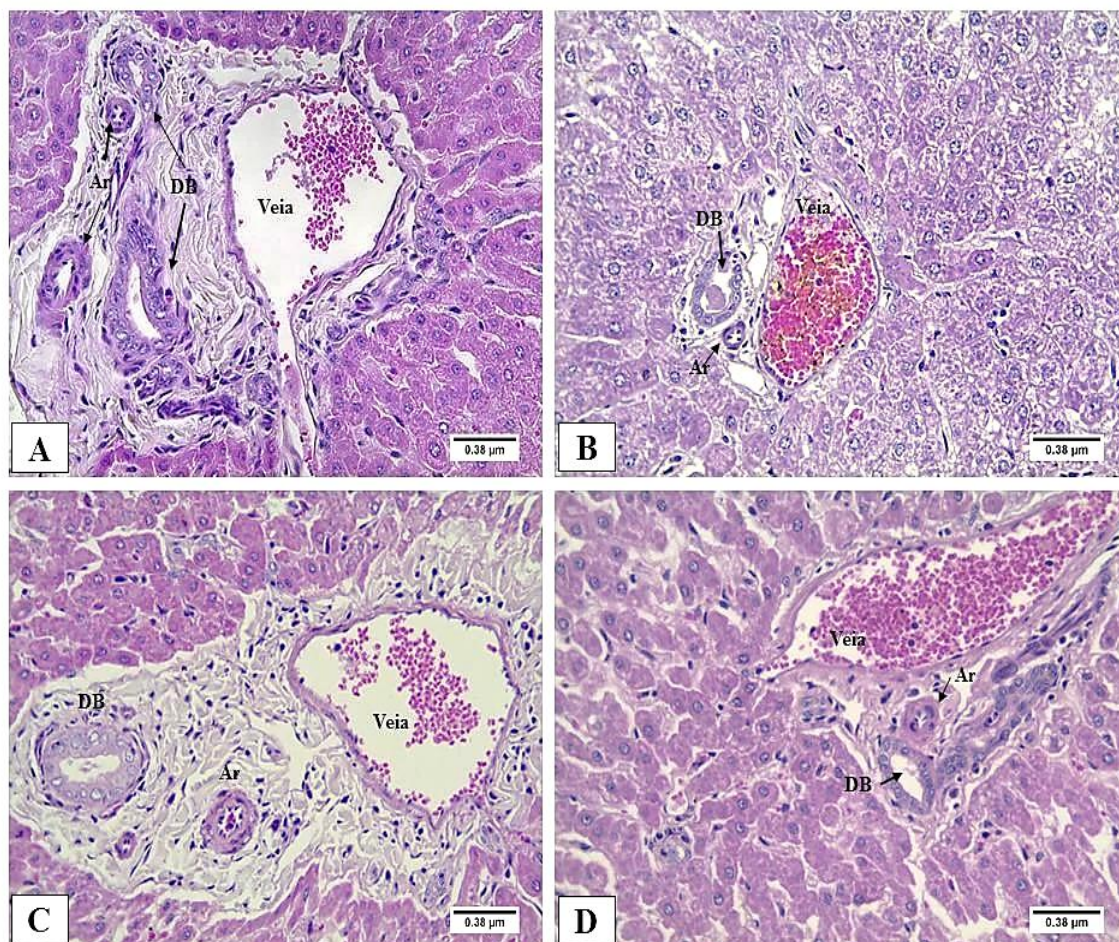
B – Tratamento com palma miúda apresentando hipertrofia dos hepatócitos.

C – Tratamento com palma IPA-Sertânia apresentando necrose de coagulação pericentrolobular.

D – Tratamento com palma Orelha de Elefante Mexicana (OEM) apresentando necrose de coagulação.

Coloração hematoxilina-eosina (HE). Aumento 10X.

Figura 2 - Fotomicrografia do parênquima hepático de ovinos alimentados com palma forrageira resistente à cochonilha do carmim apresentando a tríade hepática constituída de veia, artéria e ducto biliar.



Fonte - A autora, 2017.

Nota:

Legenda – Ducto biliar (DB), artéria (Ar) e Veia.

A – Tratamento controle apresentando congestão no espaço porta.

B – Tratamento com palma miúda apresentando obstrução do ducto biliar e veia hepática.

C – Tratamento com palma IPA-Sertânia. Notar obstrução do ducto biliar e hipertrofia de artéria.

D – Tratamento com palma Orelha de Elefante Mexicana (OEM) apresentando obstrução do ducto biliar, hipertrofia de artéria.

Coloração hematoxilina-eosina (HE). Aumento 40X.

Segundo Koeppen e Stanton (2009), lesões como necrose de hepatócitos liberam a ALT e ASP. Embora, a presença de lesões de congestão da tríade portal hepática e necrose de coagulação pericentro lobular, os valores para ALT e ASP não diferiram estaticamente, com valores médios dentro da variação considerada normal por Kaneko (2008) de 30 ± 4 U/L e $60-280$ (307 ± 43) U/L, respectivamente (Tabela 5 e 7). Assim como albumina, que também está dentro dos valores considerados normais por Kaneko (2008) ($26-42$ g/L).

Contudo, uma metaloenzima que está diretamente correlacionada com as lesões citadas é a FA, sendo encontrada no intestino, ossos, rins e no fígado. Neste último, é encontrada em concentrações mais elevadas. Em nível sérico, altas concentrações da FA parecem estar associadas às alterações hepáticas como colangite ou obstrução extra-hepática do ducto biliar, cirrose biliar e necrose de hepatócitos (KANEKO, 2008).

A atividade sérica da FA nos tratamentos com palma (Tabela 7) foram superiores quando comparados ao controle, sendo a variação do valor considerado normal para a espécie ovina de 68-387 (178 ± 102) U/L (KANEKO, 2008).

Tabela 7 - Perfil bioquímico do soro sanguíneo de ovinos alimentados com palma forrageira resistente à cochonilha do carmim.

Parâmetros	Tratamentos				P
	Feno de C. Elefante	Palma Miúda	Palma IPA-Sertânia	Palma OEM	
ALT (U/L)	22,20±8,05	22,09±8,36	20,59±5,98	25,19±2,83	0,5596
ASP (U/L)	119,20±22,35	134,50±14,94	142,00±46,79	135,70±14,42	0,3560
GGT (U/L)	44,53±7,97	50,96±5,28	57,00±16,44	54,10±7,01	0,0682
FA (U/L)	146,40±58,76	519,30±183,3*	563,70±244,20*	561,60±151,3*	<0,001
Ureia (mmol/L)	10,37±1,37	5,47±4,90*	4,72±1,00*	4,46±0,99*	<0,0001
β-OH (mmol/L)	0,44±0,14	0,71±0,13*	0,63±0,33	0,77±0,18*	0,0130
Albumina (g/L)	25,50±3,30	27,20±1,60	27,70±2,40	26,10±2,00	0,2044
Glicose (mg/dL)	50,07±5,00	67,33±17,63*	78,73±5,74*	73,62±7,59*	<0,001
Colesterol (mg/dL)	56,63±6,72	45,97±3,20*	49,65±5,61*	46,86±4,71*	0,001

Fonte – A autora, 2017.

Notas - Valores representam médias ± erro padrão. Asteriscos (*) na mesma linha diferem estatisticamente pelo teste Dunnett ($p < 0,05$).

- Alanina Aminotransferase (ALT), Aspartato Aminotransferase (ASP), Gama-Glutamil Transferase (GGT), Fosfatase Alcalina (FA), Beta Hidroxibutirato (β-OH).

As concentrações séricas da ureia foram menores nos tratamentos com palma em relação ao controle que estava acima dos valores considerado normal por Kaneko (2008) que varia de 2,86-7,14 mmol/L. A concentração sérica de ureia depende principalmente do aporte de proteína e de energia ao animal, pois a relação energia: proteína da dieta influencia a concentração de amônia no rúmen, bem como a ureia resultante do metabolismo proteico dos tecidos do animal. Avaliando a correlação entre consumo de proteína e energia, expresso em g PB/g NDT, e concentração sérica de ureia verificou-se coeficiente de correlação de Pearson de 0,8374 e $P < 0,0001$.

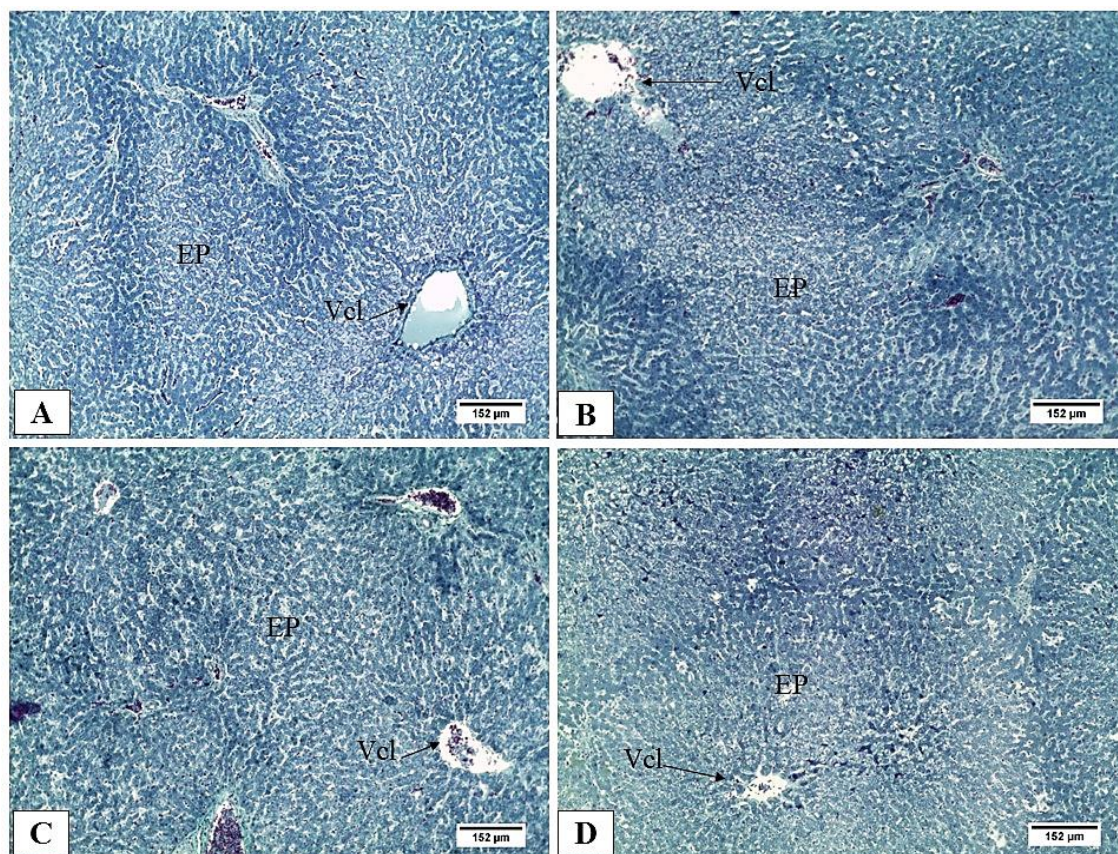
O mesmo ocorreu para os valores de β-OH, que nos tratamentos com palma, tiveram valores maiores, em que o considerado normal é de $0,55 \pm 0,04$ mmol/L (KANEKO, 2008). Os níveis séricos da glicose nos tratamentos com palma apresentaram valores

maiores em relação ao tratamento controle, mas todos os valores estão dentro do preconizado por Kaneko (2008) que é de 50,09-80,00 ($68,47 \pm 6,00$) mg/dL.

O β -OH e a glicose nos ruminantes são usados como indicadores de produção de energia. A glicose não é um bom indicador energético devido a mudanças nutricionais, condição metabólica do animal (gestação e lactação) e casos de stress que tornam sua mensuração duvidosa, enquanto que o β -OH torna-se um indicador mais confiável devido ao uso de corpos cetônicos pelos ruminantes para produção de energia (GONZÁLEZ et al., 2000 e KOZLOSKI, 2011).

A deposição de fibras colágenas, e consequente fibrilogênese, decorrente de lesão hepática não observada nos grupos experimentais (Figuras 3 e 4). A ativação da fibrilogênese hepática decorre de processos inflamatórios crônicos com ativação das células de Ito por interleucina-1 produzida por macrófagos ativados (TSOCHATZIS et al., 2014). Nos grupos experimentais, a densidade volumétrica de hepatócitos necróticos provavelmente não influenciou no aparecimento de reações inflamatórias no parênquima hepático. Contudo, em alguns animais foi possível constatar uma discreta hepatite periportal crônica (Figura 4 A e B).

Figura 3 - Fotomicrografia do parênquima hepático de ovinos alimentados com três variedades de palma resistente à cochonilha do carmim sem deposição de fibras colágenas.



Fonte - A autora, 2017.

Nota: Legenda – Espaço porta (EP) e Veia centro lobular (Vcl).

A – Tratamento controle. Notar ausência de deposição de fibras colágenas

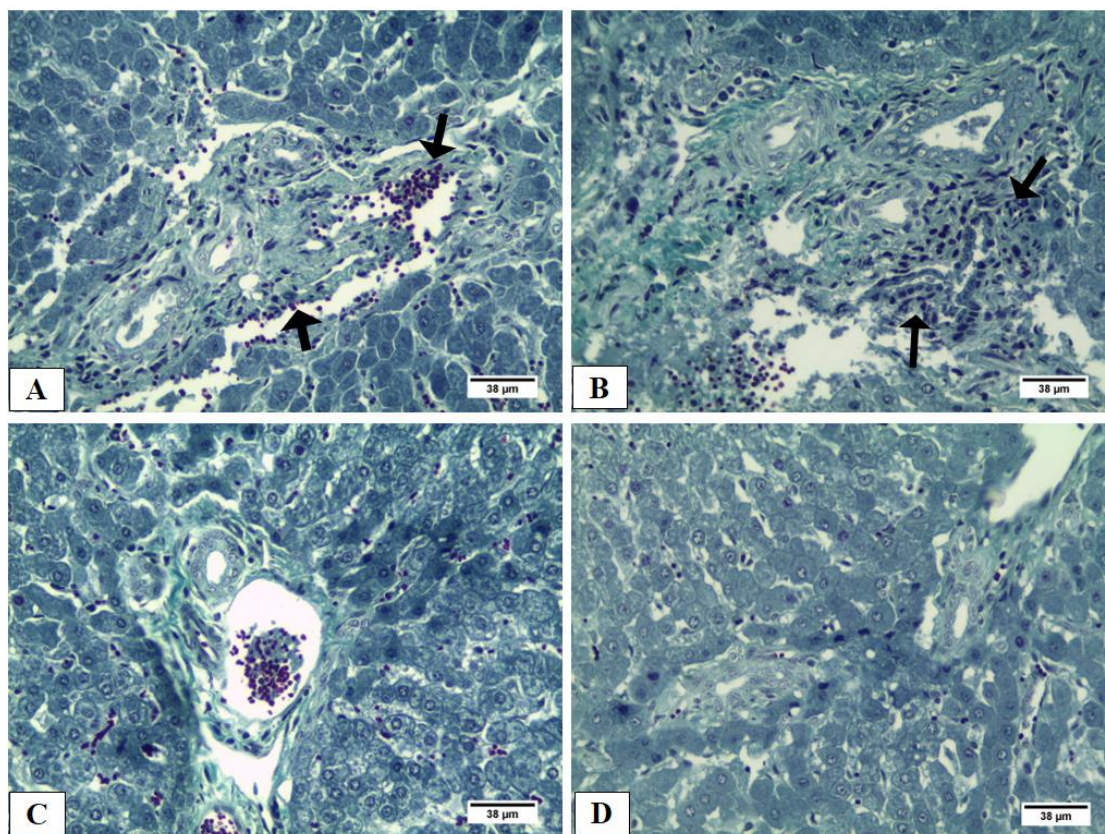
B – Tratamento com palma miúda. Notar ausência de deposição de fibras colágenas

C – Tratamento com palma IPA-Sertânia. Notar obstrução do ducto biliar e hipertrofia de artéria. Notar ausência de deposição de fibras colágenas

D – Tratamento com palma Orelha de Elefante Mexicana (OEM). Notar ausência de deposição de fibras colágenas

Coloração – Tricrômico de Gomori. Aumento 10X.

Figura 4 - Fotomicrografia do parênquima hepático de ovinos alimentados com três variedades de palma resistente à cochonilha do carmim apresentando a tríade hepática constituída de veia, artéria e ducto biliar.



Fonte - A autora, 2017.

Nota:

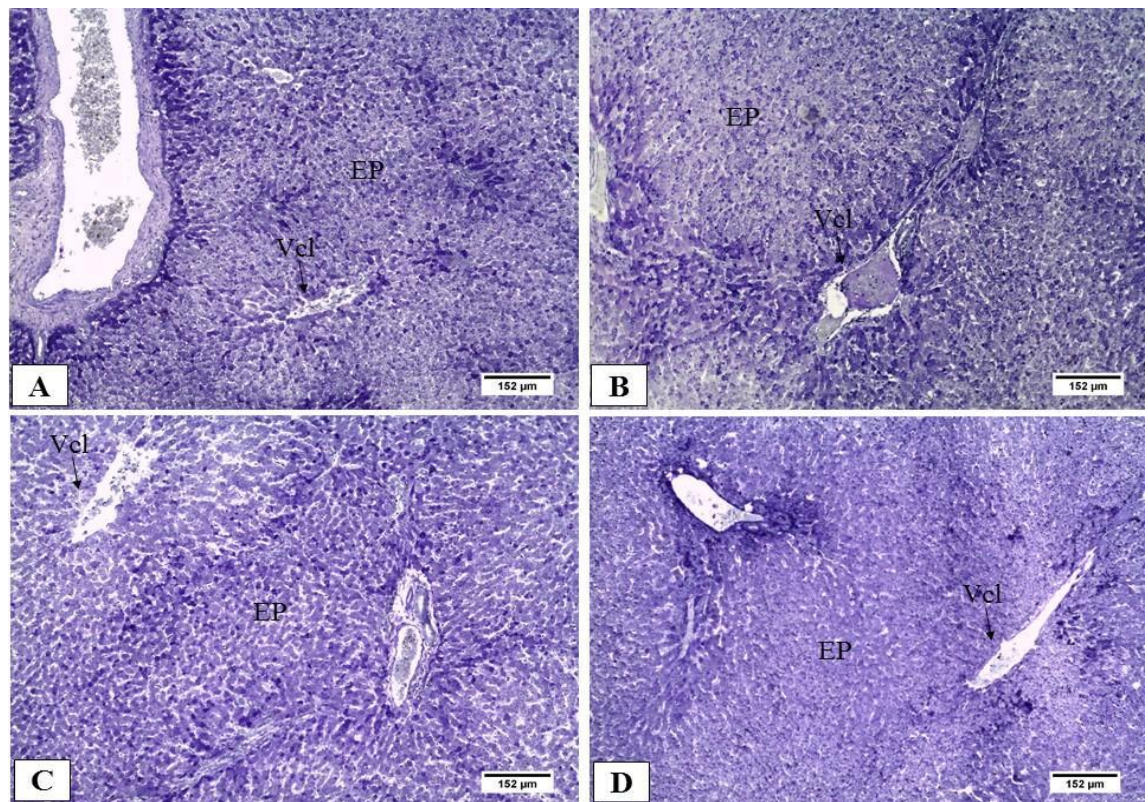
- A – Tratamento controle. Notar setas (↑) indicando discreta hepatite periportal crônica.
 - B – Tratamento com palma miúda. Notar setas (↑) indicando discreta hepatite periportal crônica.
 - C – Tratamento com palma IPA-Sertânia. Observar ausência de lesão de hepatite periportal crônica
 - D – Tratamento com palma Orelha de Elefante Mexicana (OEM). Observar ausência de lesão de hepatite periportal crônica
- Coloração – Tricrômico de Gomori. Aumento 40X.

Nas palmas OEM e IPA foi encontrado ácido cianídrico (HCN) (Tabela 1), porém, os animais não apresentaram sinais clínicos de intoxicação aguda por HCN. Mas, em todos os animais foram encontrados necrose de coagulação pericentro lobular (Tabela 5) e (Figura 1), e os animais que receberam palma forrageira demonstraram de forma intensa.

Devido à necrose de coagulação descrita nos hepatócitos pericentro lobulares e mediozonais não se constatou, presença de glicogênio (PAS-Acido Periódico de Schiff) nestas células. Contudo, hepatócitos periportais foram positivos para glicogênio citoplasmático (Figuras 5 e 6). Provavelmente, a morte dos hepatócitos decorreu da falta

de oxigenação causada pelo HCN, que possui afinidade com o Fe^{3+} diminuindo a disponibilidade deste para ligação com oxigênio nos eritrócitos e assim, diminuindo a tensão desse gás nos hepatócitos da área pericentro lobular (AMORIM et al., 2006; RUFINO, 2014).

Figura 5 - Fotomicrografia do parênquima hepático de ovinos alimentados com palma forrageira resistente à cochonilha do carmim apresentando glicogênio apenas nos hepatócitos nucleados.



Fonte - A autora, 2017.

Nota: Legenda – Veia centro lobular (Vcl) e Espaço Porta (EP)

A – Tratamento controle.

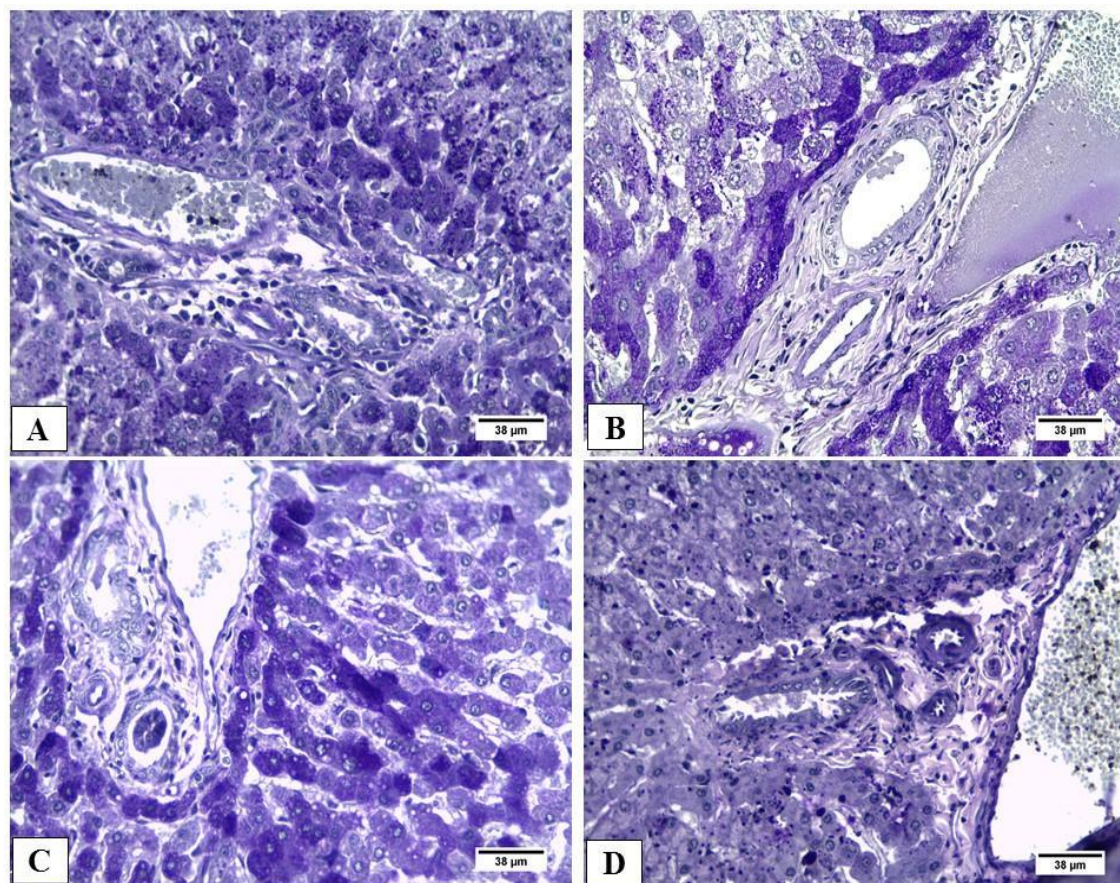
B – Tratamento com palma miúda.

C – Tratamento com palma IPA-Sertânia.

D – Tratamento com palma Orelha de Elefante Mexicana (OEM).

Coloração – Ácido Periódico de Schiff (PAS). Aumento 10X.

Figura 6 - Fotomicrografia de parênquima hepático de ovino, apresentando a tríade hepática constituída de veia, artéria e ducto biliar.



Fonte - A autora, 2017.

Nota:

- A – Tratamento controle.
 - B – Tratamento com palma miúda.
 - C – Tratamento com palma IPA-Sertânia.
 - D – Tratamento com palma Orelha de Elefante Mexicana (OEM).
- Coloração – Ácido Periódico de Schiff (PAS). Aumento 40X.

Não foram encontrados na literatura científica relatos de alterações histopatológicas em fígado de diferentes espécies de animais submetidos ao tratamento com palma. Contudo os achados histopatológicos encontrados no presente estudo são os mesmos encontrados para as tabelas 5 e 6 descritos para outras plantas cianogênicas em caprinos (AMORIM et al., 2005), em bovinos (MAGALHÃES et al., 2013) e em ratos (RUFINO, 2014).

6 CONCLUSÃO

O uso de palma forrageira resistente à cochonilha do carmim na alimentação de ovinos até 70 dias de confinamento não causou danos aparentes no metabolismo do fígado desses animais. Contudo, devido à presença de HCN e do oxalato, seu uso na alimentação por longo prazo, ou seja, superior a 70 dias precisa ser investigado.

Os dados morfométricos do parênquima hepático demonstraram que, a presença do HCN nas palmas provocou lesões de coagulação pericentro lobular e hiperplasia do ducto biliar, que pode estar associada ao aumento da atividade enzimática da FA e GGT no sangue.

O parênquima hepático de animais do grupo controle teve necroses. No entanto, essas lesões foram em menor proporção quando comparadas àquelas dos animais tratados com palma.

7 REFERÊNCIAS

ADES, T. J. J.; HERNÁNDEZ, L. F. Presencia de ácido cianídrico en forrajes cultivados en México. **Agricultura Técnica em México**. v. 12, n. 1, p. 77-90, 1986.

AGRA, T. A. A. **Removedor de esmaltes a base de palma forrageira: uma alternativa econômica, sustentável ecologicamente correta para o semiárido brasileiro**. Monografia. 2014. 51 f. Monografia (Graduação em Química) – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências e Tecnologia, João Pessoa.

AKACHA, A.; et al. Preventive effect of ethanolic extract of cactus (*Opuntia ficus-indica*) cladodes on mathotrexate induced oxidative damage of the small intestine in wistar rats. **Archives of Medicine**. v. 7, n. 6:11, p 1-7, 2015.

AMORIM, S. L.; et al. Intoxicação experimental por *Manihot glaziovii* (Euphorbiaceae) em caprinos, **Pesquisa Veterinária Brasileira** v. 25, n. 3, p. 179-187, jul. /set., 2005.

AMORIM, S. L.; et al., Intoxicação por plantas cianogênicas, **Ciência Animal**, v. 16, n. 1, p. 17-26, 2006.

AMORIM, G. L., **Substituição do milho por casca de soja em dietas à base de palma forrageira (*Nopalea cochenillifera*, Salm Dyck) sobre o rendimento e as características de carcaça de caprinos**. 2007. 40 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento de Zootecnia. Recife.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists, **Official Methods of Analysis**. 15th Edition. Arlington, VA. 1990.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists, **Official Methods of Analysis**. 16th Edition. Arlington, VA. 1995.

ARAÚJO, R. F. S. S. **Avaliação nutricional e função renal de ovinos alimentados com feno de erva-sal (*Atriplex mummularia* L) e farelo de milho em substituição a palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill)**. 2009. 46 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento de Zootecnia, Recife.

BATISTA, A. M. V.; et al. Effects of variety on chemical composition, in situ nutrient disappearance and in vitro gas production of spineless cacti, **Journal Science Food Agriculture**, v. 83, p. 440-445, 2003.

BATISTA, A. M. V.; et. al. Chemical composition and ruminal degradability of spineless cactus grown in northeastern Brazil, **Rangeland ecology & Management**, v. 62, ed. 3, p. 297–301, Maio 2009.

BATISTA, A. M. V.; et al. A palma forrageira na alimentação de ruminantes no semiárido brasileiro, **Anais...** do 2º Simpósio Brasileiro de Produção de Ruminantes, Itapetinga, Bahia, p. 216, dez. 2013.

BEHMER, O. A.; et al. Manual de técnicas para histologia normal e patológica. São Paulo, **EDART**, Universidade de São Paulo, 2th ed., p. 241, 2003.

BISPO, S. V.; et al. Palma forrageira em substituição ao feno de capim-elefante. Efeito sobre consumo, digestibilidade e características de fermentação ruminal em ovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 6, p. 1902-1909, 2007.

CORDOVA-TORRES, A.V.; et al. Nutritional composition, in vitro degradability and gas production of *Opuntia ficus indica* and four other wild cacti species, **Life Science Journal**; v. 12, p. 42-54, 2015.

DANPURE, C. J.; JENNINGS, P. R. Peroxisomal alanine:glyoxylate aminotransferase deficiency in primary hyperoxaluria type I, **Clinical Research Centre**, v. 201, n. 1, May 1986.

DAS, N. G; et. al. Effects of oxalate intake on calcium and phosphorus balance in bulls fed napier silage (*Pennisetum purpureum*), Bang. **Journol Animal Science**, v. 39, n. 1;2, p. 58 – 66, 2010.

DETMANN, E.; et al. **Métodos para análise de alimentos - INCT - Ciência Animal**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2012. p. 214.

FORD, E. J. H. Activity of gamma-glutamyl transpeptidase and other enzymes in the serum of sheep with liver or kidney damage. **Journal of Comparative Pathology**, v. 84, n. 2, p. 231-243, 1974.

Galindo, C. M., **Intoxicação espontânea e experimental por Tifton 68 (*Cynodon nlemfuensis vanderyst*) em bovinos**. 2015. 65 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Lages.

González, F. H. D. **Uso do perfil metabólico no diagnostic de doenças metabólico-nutricionais**. In: GONZÁLES, F. H. D., BARCELLOS, J. O.; OSPINA, H. E.; RIBEIRO, L. A. O. (Eds.) Perfil Metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Porto Alegre, Brasil, 2000.

HAAS, L. S., **Histomorfometria hepática como método para predição de eficiência alimentar em bovinos de corte**. 2014. 37f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Porto Alegre.

JAMES, L, F. Oxalate Toxicosis, **Clinical Toxicology**, Poisonous Plant Research Laboratory, Veterinary Sciences Research Division, ARS, USDA, 1150 East 14th North, Logan, p. 231-243, 1972.

JIMÉNEZ-AGUILAR, D. M.; et al. Phytochemical characterization of prickly pear (*Opuntia* spp.) and of its nutrition and functional properties: a review. **Current Nutrition Food Science**, v. 10, n.1, p. 57-69, 2014.

JOHNSON, D. E.; et al. Changes In Liver And Gastrointestinal Tract Energy Demands In Response To Physiological Workload In Ruminants, **American Institute Of Nutrition**, 1990.

KANG, J.; et al. *Opuntia ficus indica* seed attenuates hepatic steatosis and promotes M2 macrophage polarization in high-fat diet-fed mice, **Nutrition Research**, v. 36, n. 4, p. 369-379, 2016.

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

KNIGHT, A. P.; WALTER, R. G., Plants causing kidney failure. In: A. P. KNIGHT, R. G. WALTER (eds), **A Guide to Plant Poisoning of Animals in North America**, Internet Publisher (<http://www.ivis.org>). Ithaca, NY, p. 367, 2002.

KOZLOSKI, G. V., **Bioquímica dos ruminantes**, 3. Ed. Rev. e Ampl., editor UFSM, p. 216, 2011.

KOEPPEN, B. M., STANTON, B. A., **Berne & Levy: Fisiologia**, 6th ed., Rio de Janeiro, Elsevier, p. 844, 2009.

LAS EZ, Leica Application Suite, version 1.7.0., 2003-2009.

LEAL, C. A. S.; SILVA, D. M. F.; SANTINO, S., et. al., Caracterização genotípica de ovinos das raças Santa Inês e Morada Nova para o marcador microsatélite SSR-GHR, **Anais...XIX Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão (JEPEX) da Universidade Federal Rural de Pernambuco-UFRPE**, 2009.

LOPES, A. M. **Avaliação da dose letal (DI50) oral e efeitos metabólicos da linamarina extraída de mandioca, em ratos**. 2001. 97 f. Tese (Doutorado em Agronomia). - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP, Botucatu.

LIMA, A. K. V. O.; et al., Aceitação do mousse de fruto de palma (*Opuntia ficus-indica*) pelos alunos do curso superior de agroecologia do IFPB, Campus Picuí. **Cadernos de Agroecologia**, v. 10, n. 3, 2016.

MAGALHÃES, R. M. F.; et al.; Plantas tóxicas de interesse pecuário encontradas na região nordeste do Brasil: Uma Revisão. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 7, n. 1, p. 79 – 102, 2013.

MERTENS, D. R., **Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fibre in feed with refluxing beakers or crucibles: collaborative study**. AOAC Int. 85, p.1217-1240. 2002.

MOIR, K. W., The determination of oxalic acid in plants, **Queensland Journal of Agricultural Science**, v. 10, n. 1, p. 1-3, 1953.

NISHIJIMA, S.; et al. Hepatic alanine-glyoxylate aminotransferase activity and oxalate metabolism in vitamin B6 deficient rats. **The Journal of Urology**, v. 169, p. 683–686, Febr 2003.

NRC, **Nutrients Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and new Word Camelids**. 1. ed. Washinton, D.C: National Academic Press, 362p., 2007.

PERES-NETO, P. R.; et al. **Introdução às análises morfométricos, Ecologia Brasiliensis**, v. II, p. 57-89, Rio de Janeiro. 1995. Acessado em<13/03/2017, 17:06><http://www.oecologiaaustralis.org/ojs/index.php/oa/issue/view/2>

RUFINO, M. N., **Sintomatologia clínica, alterações bioquímicas e teciduais observados após administração oral de acetona cianidrina no modelo murinho**, 2014, 59 f. Dissertação (mestrado em biotecnologia) - Universidade Católica de Dom Bosco, Campo Grande.

SAS Institute Inc., **SAS 9.1.3 Help and Documentation**, Cary, NC: SAS Institute Inc., 2000-2004.

SANTOS, K. L. L.; et al. Balanço de macrominerais em caprinos alimentados com palma forrageira e casca de soja. **Revista Brasileira Saúde e Produção Animal**, v. 10, n. 3, p. 546-559, jul/set, 2009.

SANTOS, V. C.; et al.; Comercialização De Canudos Incrementados Com Palma: Inovando Em Feiras Livres Da Paraíba. **Anais...I Seminário Regional De Gestão Ambiental ‘Gestão Ambiental e Sustentabilidade’ - I SEGESTA 21 e 22 de novembro de 2016**. acessado em 15/01/2017 às 12:22h.<http://geades.com.br/index.php/ceades/article/view/27/25>

SANTOS, A. F.; et al. Cocada de palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* L.) com adição de cachaça para alimentação humana. **Revista Brasileira de Agrotecnologia**, v. 6, n. 1, p.01-05, 2016.

SILVA, T. G. P.; et. al. Concentração de ácido cianídrico em diferentes ingredientes convencionalmente utilizados na dieta de ruminantes. **Anais... XV Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFRPE (JEPEX)**, 01 a 03 de dezembro, Área/Módulo: Ciências Agrárias (Pôster), p. 676, 2015, acessado em<19/01/2017 as 20:18><http://www.eventosufrpe.com.br/2015/cd/resumos/R0252-1.html>.

SILVA, T. G. P., **Concentração de ácido cianídrico na maniçoba in natura e conservada**, 2015a, 38f., Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Zootecnia), Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

SOUZA, C. M. P. *Opuntia ficus-indica* (L) Mill.: caracterização físico-química e avaliação do efeito antioxidante, antibacteriano, fotoprotetor e inibidor da tirosinase. 2012. 105 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

TSOCHATZIS, E. A.; e al. Liver cirrhosis, **Lancet**, v. 383, p. 1749–1761, 28 January 2014.

WANDERLEY, W. L.; et al. Consumo, digestibilidade e parâmetros ruminais em ovinos recebendo silagens e fenos em associação à palma forrageira, **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 13, n. 2, p. 444-456, abr./jun., 2012.

WILLIAMS, H. E.; SMITH JR., L. H., Disorders of oxalate metabolism, from the department of medicine, **American Journal Medicine**, v. 45, p. 715-735, November, 1968.

VAN SOEST, P. J. et al. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal Dairy Science**. v. 74, p.3583-3597. 1991.

VIEIRA, E. L.; et al. Effects of feeding high levels of cactus (*Opuntia ficus-indica* Mill) cladodes on urinary output and electrolyte excretion in goats. **Livestock Science**, v. 114, p. 354-357, 2008.

WEISS, W. P. **Energy prediction equations for ruminant feeds**. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, 61, 1999, Proceedings..., Ithaca: Cornell University, 1999.