

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE DRACENA

**INFLUÊNCIA DAS LACTONAS MACROCÍCLICAS
UTILIZADAS EM BOVINOS NO DESENVOLVIMENTO DE
MICROORGANISMOS E DECOMPOSIÇÃO DAS FEZES**

Amábile França Morello

Zootecnista

2018

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE DRACENA

**INFLUÊNCIA DAS LACTONAS MACROCÍCLICAS
UTILIZADAS EM BOVINOS NO DESENVOLVIMENTO DE
MICROORGANISMOS E DECOMPOSIÇÃO DAS FEZES**

Amábile França Morello

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Velludo Gomes de Soutello

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas - UNESP, Câmpus de Dracena, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia Animal.

2018

FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvida pela Seção Técnica de Biblioteca e Documentação
Campus de Dracena

M842i


Morello, Amábile França.

Influência das lactonas macrocíclicas utilizadas em bovinos no desenvolvimento de microrganismos e decomposição das fezes / Amábile França Morello. – Dracena: [s.n.], 2018.
39 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp). Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena. Área do conhecimento: Produção Animal, 2018.

Orientador: Ricardo Velludo Gomes de Soutello
Inclui bibliografia.

1. Endectocidas. 2. Nematódeos. 3. Ruminantes. I. Título.



Bibliotecário Fábio Sampaio Rosas
CRB 8/6665

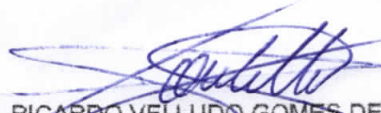
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

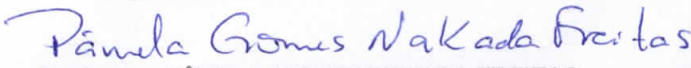
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: **INFLUÊNCIA DAS LACTONAS MACROCÍCLICAS UTILIZADAS EM BOVINOS NO DESENVOLVIMENTO DE MICROORGANISMOS E DECOMPOSIÇÃO DAS FEZES**

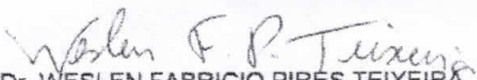
AUTORA: AMÁBILE FRANÇA MORELO

ORIENTADOR: RICARDO VELLUDO GOMES DE SOUTELLO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIA E TECNOLOGIA ANIMAL, área: Produção Animal pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. RICARDO VELLUDO GOMES DE SOUTELLO
Curso de Engenharia Agrônoma / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena


Profa. Dra. PÂMELA GOMES NAKADA FREITAS
Curso de Engenharia Agrônoma / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena


Dr. WESLEN FABRÍCIO PIRES TEIXEIRA
FMVA / Faculdade de Medicina Veterinária - UNESP

Dracena, 05 de março de 2018

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Amábile França Morello, natural de São Caetano do Sul, nascida em 23 de dezembro de 1989. Graduada em Zootecnia, pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”/ Unesp- Dracena (2008-2013), durante sua graduação foi integrante do grupo de estudos em Bubalinos (GEBU), ministrou aulas de química no cursinho pré vestibular oferecido pela Unesp de Dracena. Sua iniciação científica foi em parasitologia intitulado “Avaliação da resistência do carrapato bovino *Rhipicephalus (boophilus) microplus* a carrapaticidas na região da alta paulista”. Trabalhou como assistente de Qualidade de Processo na empresa Premix de Presidente Prudente, mesmo período em se Pós-Graduada em Gestão da Qualidade de Produtos e Processos pela Pontifícia Universidade Católica/ PUC-Campus de Curitiba (2013-2015). Ingressou no mestrado em Ciência e Tecnologia Animal pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”/ Unesp- Dracena (2016-2018), quando foi contratada pela Yessinergy do Brasil, como Analista de Qualidade (2017-2018).

“O Sonho é que leva a gente para frente. Se a gente for seguir a razão, fica aquietado, acomodado.”

Ariano Suassuna

DEDICATÓRIA

A Deus por tudo que me proporciona na vida. À minha mãe, Marlília, ao meu pai, Vlademir, os quais amo muito, pelo exemplo de vida e família. Às minhas irmãs, Glau e Nana, por me mostrarem que o amor é sempre maior que a distância.

AMO VOCÊS

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela vida, por esta rica oportunidade de mestrado e pela força, me proporcionando condições para eu chegar até aqui mesmo passando por dificuldades durante todo o percurso.

Aos meus pais, Vlademir e Marlília, pelo amor incondicional, por estarem comigo, pelo carinho e apoio que sempre dedicaram a mim, por acreditarem no meu sucesso e compreensão em todos os momentos no decorrer de minha vida, e por todos os esforços e paciência para que eu possa estar aqui hoje.

As minhas irmãs Glauciana e Natália pelo apoio, pelo carinho, pelo companheirismo e pela ajuda em todos os momentos.

Ao meu orientador, Ricardo Velludo Gomes de Soutello, pela infindável paciência, apoio, imensa dedicação, pela competência durante todo o período de orientação deste e de todos os trabalhos nos quais já executamos juntos desde a minha graduação, pela disponibilidade oferecida em todos os momentos, por me acalmar nos momentos mais críticos do trabalho e não me deixar desistir diante das dificuldades encontradas, me mostrou caminhos quando estava perdida, deu muita força, apontou erros, possibilidades, enfim, que com enorme sabedoria, foi meu maior interlocutor nesse período, fazendo com que o trabalho fosse realizado com sucesso, em todas as etapas. Agradeço também por ter disponibilizado seus animais para a realização deste trabalho.

Aos amigos e colegas, que estiveram ao meu lado, sempre, seria uma desonra citar o nome de alguns, pois todos tiveram enorme importância no meu crescimento pessoal e intelectual. Ao EEPPA (Equipe de extensão e pesquisa em parasitologia Animal) e aos meus companheiros deste trabalho, Juliana Alencar, João Henrique Silva, Arthur Almeida, Pedro Santi, Leandro Pinto, Renata Tardivo, Yasmin Dias, Hornblenda Bello e por todos que me ajudaram. Agradeço pela inestimável ajuda, pelo carinho e pelas barras que enfrentamos juntos durante as várias fases deste trabalho.

Agradeço a Universidade “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Dracena, por ceder à área experimental, laboratórios, técnicos e professores de ótima qualidade. Obrigada pela confiança investida em mim.

A TODOS, O MEU MUITO OBRIGADA!

Comissão de Ética no Uso de Animais

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada **"Influência do resíduo de lactonas macrocíclicas sobre microorganismos das fezes de bovinos"** (Influence on residue lactones macrocyclic microorganisms in cattle stool), registrada com o nº **30/2016.R1 – CEUA**, sob a responsabilidade do(a) Prof(a). Dr(a). **Ricardo Velludo Gomes de Soutello** – que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de **pesquisa científica** – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA da Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas da UNESP - Câmpus de Dracena, em reunião de **08/02/2017**.

Dracena, 08 de fevereiro de 2017.



Prof. Dr. Danilo Domingues Millen
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais

INFLUÊNCIA DAS LACTONAS MACROCÍCLICAS UTILIZADAS EM BOVINOS NO DESENVOLVIMENTO DE MICRORGANISMOS E DECOMPOSIÇÃO DAS FEZES

RESUMO - Os parasitos influenciam de maneira significativa a bovinocultura no Brasil, sendo a aplicação de endectocidas da família das lactonas macrocíclicas umas das formas mais utilizadas para o controle, porém podem proporcionar contaminação ao ambiente, visto que sua eliminação é principalmente via fezes e urina. Com isto, este trabalho objetivou verificar o desenvolvimento de microrganismos edáficos e a decomposição das fezes de bovinos ao longo do tempo após o tratamento com diferentes lactonas macrocíclicas. Foram avaliadas as fezes de doze animais, divididos em quatro grupos homogêneos, sendo o G1- controle (sem a administração de endectocida), G2-Ivermectina 1%, G3-Ivermectina 3,15% e G4- Moxidectina 1%. As colheitas das fezes dos animais foram realizadas nos dias 0, 7, 14, 21, 28, 42 e 56 pós tratamento, e submetidas a três ambientes de decomposição, sendo ambiente controlado (BOD), Natural (NAT): exposto as condições climáticas naturais e enterradas no solo (Solo). Nos dias das cada colheitas e 112 dias após cada colheita, foi realizada a avaliação matéria orgânica. As avaliações da microbiota das fezes foram realizadas nos dias das colheitas e 7 após cada colheita. Observou-se que as ivermectinas em suas duas concentrações (1 e 3,15%) interferiram no desenvolvimento da população microbiana, já a moxidectina 1% não alterou a dinâmica populacional das bactérias, que também não foi influenciada pelo ambiente exposto em nenhum dos tratamento. A decomposição não foi afetada pela utilização de lactonas macrocíclicas, porém a incorporação da matéria orgânica ao solo foi fator determinante para a redução de matéria orgânica.

Palavras-chave: endectocidas, nematódeos, ruminantes

THE USE OF MACROCYCLIC LACTONES IN BOVINE ANIMALS AND ITS INFLUENCE ON THE DEVELOPMENT OF MICROORGANISMS AND DECOMPOSITION OF FECS.

ABSTRACT - The parasiticens have a significant influence on cattle breeding in Brazil, being a species of endemic to the family of macrocyclic lactones, the most used forms for control, but are capable of contaminating the atmosphere, since its suction is mainly via feces and urine. This work aimed to verify the development of edaphic microorganisms and a decomposition of bovine faeces over time after treatment with different macrocyclic lactones. The feces of the animals were divided into four homogenous groups: G1-control (endectocide), G2-Ivermectin 1%, G3-Ivermectin 3.15% and G4-Moxidectin 1%. Samples were collected on days 0, 7, 14, 21, 28, 42 and 56, and were submitted to three decomposition environments (BOD), Natural (NAT): natural and buried in soil (Ground). On the days of the harvests and on the 112 days after each harvest, an organic matter evaluation was performed. Fecal microbiota evaluations were performed on the days of harvest and 7 days after each harvest. It was observed that the ivermectins were twice (1 and 3.15%) interfered in the development of the microbial population, since moxidectin 1% did not alter the population dynamics of the bacteria, which was also not influenced by the environment exposed in any of them. The decomposition was not affected by the use of macrocyclic infants, but it was a measure of the physical nature of the soil determining the reduction of organic material.

Keywords: Ruminants, nematodes, endectocides.

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS | 1 |
| 1.1 Introdução..... | 1 |
| 1.1.1 Fauna do solo coprófaga..... | 2 |
| 1.1.2 Importância da Fauna Edáfica..... | 3 |
| 1.2 Helmintos Gastrointestinais..... | 4 |
| 1.3 Lactonas Macroclícas..... | 5 |
| 1.3.1 Impacto do Resíduo de Lactonas Macroclícas no Ambiente..... | 7 |
| 1.4 Referências..... | 9 |
| Capítulo 2- INFLUÊNCIA DAS LACTONAS MACROCLÍCAS UTILIZADAS EM BOVINOS NO DESENVOLVIMENTO DE MICRORGANISMOS E DECOMPOSIÇÃO DAS FEZES. | 13 |
| 1 INTRODUÇÃO..... | 15 |
| 2 MATERIAL E MÉTODOS..... | 16 |
| 1.5 Animais e Local Experimental..... | 16 |
| 1.6 Tratamentos e Delineamento Experimental..... | 16 |
| 1.7 Colheitas Amostrais e Análises..... | 17 |
| 1.7.1 Análise da decomposição das fezes..... | 17 |
| 1.7.2 Análise microbiológica..... | 18 |
| 1.7.3 Registros meteorológicos..... | 19 |
| 2 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 19 |
| 3 CONCLUSÃO..... | 28 |
| 4 REFERÊNCIAS..... | 29 |

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.1 Introdução

O Brasil possui o maior rebanho comercial de bovino no mundo, com mais de 218 milhões de cabeças, segundo o IBGE (2016) e ocupa a segunda posição mundial em abate de bovinos, 42 milhões de cabeças por ano (ANUALPEC, 2015). Sendo que uma característica importante da pecuária brasileira é ter a maior parte de seu rebanho criado em pasto, por ser uma das formas mais econômica e prática para produzir e oferecer alimentos para os bovinos (FERRAZ; FELÍCIO, 2010).

Com a intensificação da produção em pasto, surgiram novas tecnologias, como o uso em cruzamentos industriais de raças europeias (*Bos taurus*), reconhecidamente mais susceptíveis aos parasitos que os zebuínos (*Bos indicus*), e com aumento da taxa de lotação nas pastagens (animal ha⁻¹), favorece o parasitismo aumentando os prejuízos. Trabalhos demonstram que as infecções por helmintos gastrintestinais em ruminantes causam, não só a mortalidade, mas também a ineficiência produtiva dos animais, demonstrando que os parasitos influenciam de maneira significativa a pecuária (BIANCHIN, 2008). Em um estudo realizado por Soutello et al. (2002) foi concluído que infecções por nematoides afetam principalmente bovinos jovens, que sem tratamento com anti-helmínticos deixaram de ganhar, em média, 53 kg se comparados com animais tratados, no período de 18 meses.

Segundo Graef et al. (2013), o principal método de controle de parasitas é a utilização de fármacos, e o mais utilizados, são as lactonas macrocíclicas, pelo seu amplo espectro de atividade, alta eficiência e elevada margem de segurança, pois são manipulados para serem persistentes no organismo do animal, podendo proporcionar contaminação prolongada aos produtos de origem animal, e ao meio ambiente, visto que a eliminação deste fármaco (50 a 90%) é principalmente via fezes e urina (MURLOY, 2001). Desta forma, podem afetar a população de seres que vive permanentemente ou que passa um ou mais ciclos de vida no solo. Estes organismos desempenham a importante função de decompor as fezes, incorporar os nutrientes e realizar o controle biológico.

Partindo da hipótese de que os resíduos de endectocidas interferem no desenvolvimento de microrganismos presentes nas fezes, e conseqüentemente na sua decomposição, o objetivo deste trabalho foi verificar o desenvolvimento de microrganismos edáficos e a decomposição das fezes de bovinos ao longo do tempo, após o tratamento com diferentes lactonas macrocíclicas.

1.1.1 Fauna do solo coprófaga

A fauna do solo é uma comunidade de invertebrados, composta por: microfauna, mesofauna e macrofauna que varia de tamanho e diâmetro, podendo viver permanentemente, ou ter um ou mais ciclos de vida no solo (AQUINO; ASSIS, 2005).

A microfauna compreende invertebrados de diâmetro do corpo inferior a 100 µm, incluindo os protozoários e nematoides (SWIFT et al., 1979). Estes vivem em filme de água e não desenvolve relações mutualísticas com a microflora, e influenciam as transformações de serrapilheira por se alimentarem de raízes, fungos e bactérias, o que faz com que tenham importante papel na regulação da matéria orgânica no perfil do solo.

Os invertebrados com tamanho médio de 100 µm a 4 mm, são classificados como mesofauna composto pelos ácaros e colêmbolos, incluindo os proturos, dipluros, tisanuros, e pequenos insetos que se movimentam em fissuras, poros e na interface do solo (GIRACCA et al. 2003). Atuam como transformadores e micropredadores, alimentando-se de fungos, bactérias entre outros animais do solo, normalmente habitam os espaços porosos e não são capazes de criar sua própria galeria, sendo afetados pela compactação do solo (HEISLER; KAISER, 1995).

Já a macrofauna é composta pelos organismos de maior diâmetro, de 4 a 20 mm, incluindo minhocas, coleópteros em estado larval e adulto, centopeias, cupins, formigas, piolhos de cobra (milipeias), tatuzinhos e aracnídeos (LAVELLE; SPAIN, 2001), com tamanho suficiente para romper as estruturas dos horizontes minerais e orgânicos do solo ao se alimentar movimentar e construir galerias no solo (ANDERSON, 1988). As minhocas influenciam tanto na porosidade do solo, quanto

nas relações de nutrientes por meio da formação de túneis e da ingestão de minerais e matéria orgânica, além de auxiliarem na regulação das populações dos organismos em escalas espaciais menores: mesofauna e microfauna.

Ainda sobre a macrofauna do solo, desempenham papel chave no funcionamento do ecossistema, pois ocupa diversos níveis tróficos dentro da cadeia alimentar do solo e afeta a produção primária de maneira direta e indireta, absorvendo e enriquecendo o solo com resíduos de plantas, micro-organismos, húmus e água por meio das cadeias alimentares (YIN et al., 2010).

A predação seletiva de fungos e bactérias, feita especialmente pela microfauna, assim como a estimulação, digestão e disseminação de microrganismos, e a fragmentação dos detritos realizada pelas meso e macrofauna, interferem na decomposição da matéria orgânica (CRAGG; BARDGETT, 2001). Logo, é notório que os organismos do solo estão interligados, e que ao impactar um componente da cadeia alimentar, afeta diretamente todas as demais.

1.1.2 Importância da fauna edáfica

Sabendo que um bovino adulto defeca 11 a 16 vezes por dia e em cada evento produz 1,5 a 2,7 kg de fezes (MATHEWS; SOLLENBERGER, 1996), quantidade doze vezes maior que um ovino defeca por dia, o papel dos invertebrados coprófagos (especialmente coleópteros e insetos) se torna fundamental para a decomposição das fezes dos bovinos, por meio do enterramento, enriquecendo os horizontes edáficos subjacentes (KALISZ; STONE, 1984),

Em efeito, os microartrópodes aproveitam as galerias abertas pelos insetos coprófagos para colonizar e transformar os excrementos em ambiente epígeo, e transportam passivamente os conídios aderidos em seus tegumentos, para o interior dos bolos fecais (GARCIA et al., 2004). Além destes fatores bióticos, os abióticos como tamanho e forma das fezes, composição, umidade, pH, e localização, bem como condições meteorológicas e as perturbações mecânicas, influenciam nos processos de incorporação das fezes no solo (BARTH, 1993).

1.2 Helmintos Gastrointestinais

Os helmintos de maior interesse na parasitologia zootécnica, pertencem a dois filos, Filo Plathyhelminthes: classes Trematoda e Cestoda; e o Filo Nematelminthes: Classe Nematoda (SEQUEIRA, 2001), os quais parasitam os bovinos causando sérios problemas.

As infecções com helmintos gastrintestinais em ruminantes causam perdas econômicas, devido à mortalidade e redução na produtividade dos animais. Estima-se que cerca de 10 milhões de cabeças de bovinos e búfalos morrem em consequência direta ou indireta provocada pela presença de helmintos (HERLICH, 1978).

Esses parasitas inibem o apetite, e devido a infecção do trato digestivo, diminuem a digestibilidade dos alimentos e conseqüentemente a absorção dos nutrientes. A nutrição adequada aumenta a resistência dos animais contra o parasitismo e minimiza as infecções secundárias, segundo Lima (2008), a ingestão de vitamina A, vitaminas do complexo B e seus precursores, proteína e minerais, está diretamente relacionada ao aumento da resistência dos animais a parasitas gastrintestinais, principalmente em períodos críticos do ano. Na maioria das vezes, os bovinos com infecções helmínticas não apresentam sintomas aparentes, pois apresentam a forma sub-clínica. Nesse caso o problema se agrava, pois os animais sofrem de um mal imperceptível ao olho do produtor, mas que interfere na sua produtividade.

No Brasil, bovinos criados em pastagens naturais, estão expostos à infecção por larvas de nematódeos gastrintestinais e pulmonar, particularmente dos gêneros: *Cooperia* spp., *Haemonchus* spp., *Ostertagia* spp., *Strongyloides* spp., *Trichostrongylus* spp., *Oesophagostomum* spp., e *Dictyocaulus* spp. A incidência e distribuição destes parasitos, variam de regiões e sazonalidade, dependendo de vários fatores como regime pluvial, ecossistema, manejo, tipo e idade dos animais. Mesmo em períodos de seca, encontra-se considerável quantidade de larvas, principalmente de *Cooperia* spp. nas pastagens (BIANCHIN; GOMES, 1985).

Os ovos e principalmente as larvas de helmintos, têm a capacidade de sobreviver por longos períodos no pasto, pois o bolo fecal protege as larvas infectantes

da dissecação, fazendo com que algumas perdurem no pasto por vários meses, ou até mais de um ano (ARMOUR, 1989).

Segundo Fonseca (2006), o ciclo reprodutivo, dos principais nematódeos, limita-se ao tubo digestivo e os ovos produzidos pelas fêmeas são eliminados juntamente com as fezes. No bolo fecal, e nas primeiras 24 horas, os ovos embrionados evoluem para larvas de primeiro estágio (L1), as quais sofrem muda para segunda fase (L2), substituindo a cutícula protetora. Ambas alimentam-se de bactérias e outros microrganismos presentes nas fezes. As L2 mudam para larvas de terceiro estágio (L3), e retém a cutícula da fase anterior. As L3 constituem-se na fase de resistência às adversidades climáticas e, após abandonarem o bolo fecal, migram para a vegetação adjacente, e sendo ingeridas pelos animais. As L3 são dependentes do teor de oxigênio, temperatura e umidade relativa. O ciclo de ovos à L3 se completa entre 7 a 10 dias ou podem permanecer viáveis por dias ou meses.

1.3 Lactonas Macrocíclicas

Como mencionado, os helmintos gastrintestinais em bovinos resultam em sérios prejuízos, pois reduzem a produtividade, a descoberta dos endectocidas macrocíclicos revolucionou o tratamento e prevenção das doenças parasitárias. Eles são amplamente utilizados devido ao seu amplo espectro de atividade, alta eficiência e elevada margem de segurança. As avermectinas são substâncias semi-sintéticas derivadas do microrganismo de solo, possuem atividade acaricida e anti-helmíntica e pertencem a um grupo químico chamado de macrolactonas ou lactonas macrocíclicas (SHOOP et al., 1995) sendo administradas aos animais, como bovinos, suínos, ovinos e equinos (OMURA, 2008).

Essas substâncias incluem o grupo de compostos macrocíclicos formados por uma extensão de cadeia de múltiplos propionatos e ciclizados a uma lactona grande, tipicamente de 12, 14 e 16 membros. As avermectinas e a milbemicinas também são grupos de derivados macrocíclicos da lactona de 16 membros que, diferente dos antibióticos macrolídeos, não tem atividade antifúngica ou antibacteriana (ROBERSON, 1992; JUNG et al, 2002).

Esses dois grupos diferem principalmente em um ligante dissacarídeo ao carbono-13 presente na avermectina, mas não nas milbemicinas. Estas milbemicinas, descobertas em 1967 são produzidas pela fermentação de actinomicetos (*Streptomyces avermitilis*) e os compostos deste grupo comercializados como endectocidas são a abamectina, ivermectina, eprinomectina, doramectina e selamectina. Este último é um derivado semi-sintético da doramectina, e é utilizado estritamente em cães e gatos (HENNESSY; ALVINERE, 2002). Dois compostos desta classe são importantes comercialmente como vermífugos.

O outro composto é a moxidectina, sintetizada a partir da nemadectina e utilizada como endectocida em animais de produção. Sua descoberta foi em 1983, composto resultante da fermentação de *Streptomyces hygroscopicus* subsep. *noncyanogenus* (HENNESSY; ALVINERE, 2002; JUNG et al, 2002; ROCK et al, 2002).

As lactonas macrocíclicas possuem massas moleculares ($639,4 \text{ g mol}^{-1}$) e valores de coeficiente de partição ($6,0 \text{ Log } K_o^{-1}$) elevados, caracterizando-se como substância lipofílica. Segundo Ong et al. (1996), a velocidade de absorção de substâncias lipofílicas por um organismo é diretamente proporcional ao coeficiente de partição. Estudos têm demonstrado que a moxidectina é a molécula mais lipofílica dentre as lactonas macrocíclicas, assim permite seu armazenamento no tecido adiposo, proporcionando efeito acumulativo e prolongada permanência deste fármaco no corpo do animal (PRICHARD et al., 2012).

A eficácia das avermectinas está relacionada ao seu mecanismo de ação, principalmente devido a sua interação com os canais de cloreto dependentes de glutamato em invertebrados. O parasiticida impede o fechamento desses canais, aumentando a permeabilidade ao íon Cl^- . Isto leva a hiperpolarização e transmissão neuronal reduzida, resultando em paralisia e morte dos parasitos. Além disso, inibem os canais de cloro ligados ao ácido g-aminobutírico (GABA), que ocorrem no sistema nervoso periférico de invertebrados, e no sistema nervoso central dos vertebrados (FORRESTER et al. 2003; OMURA; CRUMP, 2004).

Em relação à persistência da atividade antiparasitária, as avermectinas ocupam posição de destaque, pois além do seu amplo espectro de ação contra diferentes tipos de parasitos, possuem longo período residual de proteção. Entretanto, este mesmo efeito, que é positivo para o controle parasitário, pode originar consequências danosas ao meio ambiente (HERD, 1995). São eliminadas principalmente através das fezes e

considerável parcela do medicamento original é eliminado de forma não-metabolizada, ou seja, inalterado, independentemente da formulação comercial utilizada (LUMARET; ERROUISSI, 2002; FLOATE et al., 2005). Desta forma, se a droga é aplicada em animais sob pastejo, seus metabólitos e substâncias ativas serão eliminados juntamente com a urina ou as fezes diretamente no campo, elevando a carga de substâncias químicas despejadas no ambiente local (SOMMER; BIBBY, 2002). Sua ação contra nematoides e artrópodes ocorre por meio da afinidade das lactonas macrocíclicas aos neurotransmissores, glutamato dos seres invertebrados e ácido g-aminobutírico (GABA) de alguns invertebrados e vertebrados (PRICHARD et al., 2003).

Em um estudo com bovinos tratados com dose única por via subcutânea, 35% da ivermectina administrada foi excretada como composto principal nas fezes dentro de 31 dias após o tratamento (FERNANDEZ et al., 2009). A eliminação é prolongada, apresentando um aporte contínuo do fármaco ativo, tendo como consequência a maior permanência no ambiente (PÉREZ et al., 2001). Já Iglesias et al. (2006) relataram que a concentração de ivermectina permaneceu relativamente constante nas fezes depositadas em pastagem, durante 60 dias, mesmo quando expostas às condições ambientais.

1.3.1 Impacto do resíduo de lactonas macrocíclicas no ambiente

As lactonas macrocíclicas, como as avermectinas e milbemicinas, são potentes anti-helmínticos, exercendo atividade contra endo e ectoparasitas (FLOATE et al., 2005), e altas concentrações destes fármacos excretadas nas fezes, ocorre principalmente nas primeiras semanas pós-tratamento, e afetam as populações de fauna coprófaga que mantiverem contato com estas fezes. Segundo Floate et al. (2001), há espécies que são susceptíveis, mesmo em baixas concentrações destes anti-helmínticos.

Além desses fatores, a ivermectina adsorve fortemente ao solo e à matéria orgânica (HALLEY et al., 1989; KROGH et al., 2008), possuindo baixo potencial de dessorção (KROGH et al., 2008) e, conseqüentemente, baixo potencial de lixiviação (HALLEY et al., 1989; OPPEL et al., 2004).

Ainda, as avermectinas são insolúveis em água, e tem forte tendência para se ligarem a partículas, fazendo com que os resíduos medicamentosos dos endectocidas desta classe, ou seus metabólitos em fezes de bovinos, ocasionem efeitos adversos em alguns organismos que habitam o esterco e invertebrados não alvo que vivem no solo (LUMARET; ERROUISSI, 2002; SUAREZ, 2002). Os distúrbios que as lactonas macrocíclicas podem produzir em invertebrados não alvo e sobre a participação dos seus associados na degradação do esterco e reciclagem de elementos no solo são imprevisíveis, e podem influenciar negativamente a biodiversidade e a sustentabilidade dos ecossistemas agrícolas (KOLAR et al., 2006).

Partindo da hipótese de que os resíduos de endectocidas interferem no desenvolvimento de microrganismos presentes nas fezes e conseqüentemente na sua decomposição, o objetivo deste trabalho foi verificar o desenvolvimento de microrganismos edáficos e a decomposição das fezes de bovinos ao longo do tempo após o tratamento com lactonas macrocíclicas.

1.4 Referências

ARMOUR, J. The influence of host immunity on the epidemiology of trichostrongyle infections in cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 32, p. 5-19, 1989.

ANDERSON, J. M. Invertebrate-mediated transport process in soils. **Agriculture Ecosystems and Environment**, v. 25, p. 5-14, 1988.

AQUINO, A. M. de; ASSIS, R. L. de. (Ed.). Fauna do Solo e sua Inserção na Regulação Funcional do Agroecossistema. In: AQUINO, A. M. de. **Processos Biológicos no Sistema Solo-Planta: Ferramentas para uma agricultura sustentável**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 47-75, 2005.

BARTH, D. Importance of methodology in the interpretation of factors affecting degradation of dung. **Veterinary Parasitology**, v. 48, p. 99-108, 1993.

BARROS, G. S. C.; CASTRO, N. R.; GILIO L.; FACHINELLO, A.; GIACHINI, F. G.; MORAIS, A. P. **Relatório pibagro-Brasil**. Piracicaba: Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada - CEPEA, 2015. Disponível em: <http://www.cepea.esalq.usp.br/comunicacao/Cepea_PIB_BR_mar15.pdf>. Acesso em: Janeiro 2016, 2015.

BIANCHINI, I.; MELLO, H. J. H. **Epidemiologia e controle de helmintos gastrointestinais em bovinos de corte nos Cerrados**. 2. ed. Campo Grande, EMBRAPA/CNPQC, 1985. p. 7.

CRAGG, R. G.; BARDGETT, R. How changes in soil faunal diversity and composition within a trophic group influence decomposition processes. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 33, p. 2073-2081, 2001.

FERNANDEZ, C.; SAN ANDRES, M.; PORCEL, M. A.; RODRIGUEZ, C.; ALONSO, A.; TARAZONA, J. V. Pharmacokinetic profile of ivermectin in cattle dung excretion, and its associated environmental hazard. **Soil Sediments Contamination**, v.18, p. 564–575; 2009.

FLOATE, K. D.; SPOONER, R., COLWELLI, D. Larvicidal activity of endectocides against pest flies in the dung of treated cattle. **Medicine Veterinary. Entomology**, v.15, p.117–120, 2001.

FLOATE, K.; WARDHAUGH K.; BOXALL A.; SHERRATT T N. Fecal residues of veterinary parasiticides: Nontarget Effects in the Pasture Environment. **Annual Review of Entomology**, v. 50, p. 153–79, 2005.

FONSECA, A. H. **Helmintoses gastro-intestinais dos ruminantes**. Rio de Janeiro: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2006. [Material didático].

FORRESTER, S. G.; PRICHARD, R. K.; DENT, J. A.; BEECH, R. N. Haemonchus contortus: HcGluCl α expressed in Xenopus oocytes forms a glutamate-gated ion channel that is activated by ibotenate and the antiparasitic drug ivermectin.

Molecular and Biochemistry Parasitology, v. 129, p.115–121, 2003.

GIRACCA, E. M. N.; ANTONIOLLI, Z. I.; ELTZ, F. L. F.; BENEDETTI, E.; LASTA, E.; VENTURINI, S. F. Levantamento da meso e macrofauna do solo na microbacia do Arroio Lino, Agudo/RS. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 9, p. 257-261, 2003.

GARCIA, M. V.; MONTEIRO, A. C.; SZABÓ, M. P. J. Colonização e lesão em fêmeas ingurgitadas do carrapato Rhipicephalus sanguineus causadas pelo fungo Metarhizium anisopliae. **Ciência Rural**, v. 34, p. 1513-1518, 2004.

HALLEY, B. A.; JACOB, T. A.; LU, A. Y. H. The environmental impact of the use of ivermectin: environmental effects and fate. **Chemosphere**. v. 18, p. 1543–1563, 1989.

HEISLER, C.; KAISER, E. A. Influence of agricultural traffic and crop management on Collembola and microbial biomass in arable soil. **Biology and Fertility of Soils**, v.19, n. 2/3, p. 159-165, 1995.

HENNESSY, D. R.; ALVINERIE, M. R. Pharmacokinetics of the macrocyclic lactones: conventional wisdom and new paradigms. In: VERCRUYSSSE, J.; REW, R. S. (Ed.) **Macrocyclic lactones in antiparasitic therapy**. Wallingford: CABI Publishing, p. 97-119, 2002.

HERD R. Endectocidal drugs: ecological risks and counter-measures. **International Journal for Parasitology** v. 8, p. 875-885, 1995.

IGLESIAS, L. E.; SAUMELL, C. A.; FERNANDEZ, A. S.; FUSE, L. A.; LIFSCHITZ, A. L.; RODRIGUEZ, E. M.; STEFFAN, P. E.; FIEL, C. A. Environmental impact of ivermectin excreted by cattle treated in autumn on dung fauna and degradation of faeces on pasture. **Parasitology Research**, v. 100, p. 93–102, 2006.

JUNG, M.; SAITO, A.; BÖESCHER, G. Chemistry, pharmacology and safety: Milbemycin Oxime. In: VERCRUYSSSE, J.; REW, R. S. (Ed.) **Macrocyclic lactones in antiparasitic therapy**. Wallingford: CABI Publishing, p. 51-74, 2002.

KALISZ, P. J.; STONE, E. L. Soil mixing by scarab beetles and pocket gophers in North Central Florida. **Soil Science Society of America Journal**, v. 48, p. 169-172, 1984.

KOLAR L.; FLAJS V. C.; KUZNER J.; MARC I.; POGACNIK M.; BIDOVEC A.; VAN GESTEL C. A. M.; ERZEN, N. K. Time profile of abamectin and doramectin excretion and degradation in sheep faeces. **Environmental Pollution**, v.144, p.197-202, 2006.

KROGH, K. A.; BJÖRKLUND, E.; LOEFFLER, D.; FINK, G.; HALLING-SØRENSEN, B.; TERNES, T. A. Development of an analytical method to determine avermectins in water, sediments and soil using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1211, p. 60-69, 2008.

- LAVELLE, P.; SPAIN, A. V. **Soil ecology**. Dordrecht: Kluwer Academic Pub., p.654, 2001.
- LUMARET, J. P.; ERROUISSI, F. Use of anthelmintics in herbivores and evaluation of risks for the non target fauna of pastures. **Veterinary Research**, v.33, p.547-562, 2002.
- MATHEWS, B. W.; SOLLENBERGER, L. E. Grazing systems and spatial distribution of nutrients in pastures: soil considerations. In: NUTRIENT CYCLING IN FORAGE SYSTEMS, 1996, Columbia. **Proceedings...** Columbia: University of Missouri, p. 213-229, 1996
- MOLENTO, M. F. Método Famacha tratamento seletivo no controle do *Haemonchus contortus*. In: SIMPÓSIO SOBRE CONTROLE DE PARASITAS EM PEQUENOS RUMINANTES, 2005. **Anais...** [S.l.]: FEINCO/SP, 2005.
- MULROY, A. Monitoring and analysis of water and wastes. **Water Environment Technology**, v. 13, n. 2, p. 32-36, 2001.
- OMURA, S.; CRUMP, A. The life and times of ivermectina success story. **Nat. Review Microbiology**. v. 2, p. 984–989; 2004.
- OMURA, S. Ivermectin: 25 years and still going strong. **International Journal Antimicrob: Agents**, v. 31, p. 91–98, 2008.
- ONG, S.; LUI, H.; PIDGEON, C. Immobilized-artificial-membrane chromatography measurements of membrane partition coefficient and predicting drug membrane permeability. **Journal of Chromatography A**, v. 728, p.113-128, 1996.
- OPPEL, J.; BROLL, G.; LOFFLER, D.; MELLER, M.; ROMBKE, J.;TERNES, T. Leaching behaviour of pharmaceuticals in soil-testing systems: a part of an environmental risk assessment for groundwater protection. **Science and Total Environment**, v. 328, p.265–272, 2004.
- PÉREZ, R.; CABEZAS, I. SUTRA, J. F., GALTIER, P.; ALVINERIE, M. Fecal excretion profile of moxidectin and ivermectin after oral administration in horses. **The Veterinary Journal**, v. 161, p. 85-92, 2001.
- PRICHARD, R.; FORRESTER, S.; NJUE, A.; FENG, X.; LIU, J.; BEECH, R. Receptor mechanisms of antiparasitics. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 26, p. 29-31, 2003.
- PRICHARD, R.; MÉNEZ, C.; LESPINE, A. Moxidectin and the avermectins: consanguinity but not identity. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 2, p. 134-153, 2012.
- RANGEL, V. B.; LEITE, R. C.; OLIVEIRA, P. R.; SANTOS, E. J. Resistência de *Cooperia spp.* e *Haemonchus spp.* às avermectinas em bovinos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.2, p.186-190, 2005

ROBERSON, E. L. Drogas utilizadas contra nematódeos. In: BOOTH, N.H.; MCDONALD, L.E. (Ed.) **Farmacologia e terapêutica em veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.740-741, 1992.

ROCK, D. W.; DELAY, R. L.; GLIDDON, M.J. Chemistry, Pharmacology and Safety: Moxidectin. In: VERCRUYSSSE, J.; REW, R.S. (Ed.) **Macrocyclic lactones in antiparasitic therapy**. Wallingford: CABI Publishing, p. 75-96, 2002.

SHOOP, W. L.; MROZIK, H.; FISHER, M. H. Structure and activity of vermectins and milbemycins in animal health. **Veterinary Parasitology**, v. 59, p.139-156, 1995.

SEQUEIRA, T. C. G. **Parasitologia animal**: animais de produção. Rio de Janeiro: EPUB, p.75-76, 2001.

SOMMER C.; BIBBY B. M. The influence of veterinary medicines on the decomposition of dung organic matter in soil. **European Journal of Soil Biology**, v. 38, p. 155–159, 2002.

SOUTELLO, R. G. V.; SENO, M. C. Z.; AMARANTE, A. F. T. Anthelmintic resistance in cattle nematodes in northwestern São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.148, p.360-364, 2002.

SUÁREZ, V. H. Helminthic control on grazing ruminants and environmental risks in South America. **Veterinary Research**, v. 33, p. 563–573, 2002.

SWIFT, M. J.; HEAL, O. W.; ANDERSON, J. M. **Decomposition in terrestrial ecosystems**. Oxford: Blackwell, p.372, 1979.

YIN, X.; SONG, B.; DONG, W.; XIN W., WANG, Y. A review on the ecogeography of soil fauna in China. **Journal of Geographical Sciences**, v. 20, p. 333-346, 2010.

WHITEHEAD, D.C. **The role of nitrogen in grassland productivity**. [S.l.]: Commonwealth Bureau of Pastures and field Crops , 1970. (Bulletin 48).

CAPÍTULO 2- INFLUÊNCIA DAS LACTONAS MACROCÍCLICAS UTILIZADAS EM BOVINOS NO DESENVOLVIMENTO DE MICRORGANISMOS E DECOMPOSIÇÃO DAS FEZES.

INFLUÊNCIA DAS LACTONAS MACROCÍCLICAS UTILIZADAS EM BOVINOS NO DESENVOLVIMENTO DE MICRORGANISMOS E DECOMPOSIÇÃO DAS FEZES

RESUMO- Os parasitos influenciam de maneira significativa a bovinocultura no Brasil, sendo a aplicação de endectocidas da família das lactonas macrocíclicas uma das formas mais utilizadas para o controle, porém podem proporcionar contaminação ao ambiente, visto que sua eliminação é principalmente via fezes e urina. Com isto, este trabalho objetivou verificar o desenvolvimento de microrganismos edáficos e a decomposição das fezes de bovinos ao longo do tempo após o tratamento com diferentes lactonas macrocíclicas. Foram avaliadas as fezes de doze animais, divididos em quatro grupos homogêneos, sendo o G1- controle (sem a administração de endectocida), G2-Ivermectina 1%, G3-Ivermectina 3,15% e G4- Moxidectina 1%. As colheitas das fezes dos animais foram realizadas nos dias 0, 7, 14, 21, 28,42 e 56 pós tratamento, e submetidas a três ambientes de decomposição, sendo ambiente controlado (BOD), Natural (NAT): exposto as condições climáticas naturais e enterradas no solo (Solo). Nos dias das cada colheitas e 112 dias após cada colheita, foi realizada a avaliação matéria orgânica. As avaliações da microbiota das fezes foram realizadas nos dias das colheitas e 7 após cada colheita. Observou-se que as ivermectinas em suas duas concentrações (1 e 3,15%) interferiram no desenvolvimento da população microbiana, já a moxidectina 1% não alterou a dinâmica populacional das bactérias, que também não foi influenciada pelo ambiente exposto em nenhum dos tratamento. A decomposição não foi afetada pela utilização de lactonas macrocíclicas, porém a incorporação da matéria orgânica ao solo foi fator determinante para a redução de matéria orgânica.

Palavras-chave: endectocidas, nematódeos, ruminantes

THE USE OF MACROCYCLIC LACTONES IN BOVINE ANIMALS AND ITS INFLUENCE ON THE DEVELOPMENT OF MICROORGANISMS AND DECOMPOSITION OF FESTS.

ABSTRACT - The parasiticens have a significant influence on cattle breeding in Brazil, being a species of endemic to the family of macrocyclic lactones, the most used forms for control, but are capable of contaminating the atmosphere, since its suction is mainly via feces and urine. This work aimed to verify the development of edaphic microorganisms and a decomposition of bovine faeces over time after treatment with different macrocyclic lactones. The feces of the animals were divided into four homogenous groups: G1-control (endectocide), G2-Ivermectin 1%, G3-Ivermectin 3.15% and G4-Moxidectin 1%. Samples were collected on days 0, 7, 14, 21, 28, 42 and 56, and were submitted to three decomposition environments (BOD), Natural (NAT): natural and buried in soil (Ground). On the days of the harvests and on the 112 days after each harvest, an organic matter evaluation was performed. Fecal microbiota evaluations were performed on the days of harvest and 7 days after each harvest. It was observed that the ivermectins were twice (1 and 3.15%) interfered in the development of the microbial population, since moxidectin 1% did not alter the population dynamics of the bacteria, which was also not influenced by the environment exposed in any of them. The decomposition was not affected by the use of macrocyclic infants, but it was a measure of the physical nature of the soil determining the reduction of organic material.

Keywords: Ruminants, nematodes, endectocides.

2.1 Introdução

O Brasil possui o maior rebanho comercial de bovino no mundo, com mais de 218 milhões de cabeças segundo o IBGE (2016) e ocupa a segunda posição mundial em abate de bovinos, 42 milhões de cabeças por ano (Anualpec, 2015). E uma característica importante da pecuária brasileira é ter a maior parte de seu rebanho criado em pasto, por ser uma das formas mais econômica e prática para produzir e oferecer alimentos para estes animais (Ferraz e Felício, 2010).

Com a intensificação da produção em pasto, surgiram novas tecnologias, além do aumento da taxa de lotação nas pastagens (animal há⁻¹), que favorecem o parasitismo e aumentam os prejuízos. Trabalhos demonstram que as infecções por helmintos gastrintestinais em ruminantes, causam não só a mortalidade, mas também a ineficiência produtiva, demonstrando que os parasitos influenciam de maneira significativa a pecuária (Bianchin, 2008). Em um estudo realizado por Soutello et al.(2002),foi concluído que infecções por nematoides, em bovinos, afetam principalmente animais jovens, que sem tratamento com anti-helmínticos, deixaram de ganhar em média 53 kg se comparados com animais tratados, no período de 18 meses.

O principal método de controle de parasitas é a utilização de fármacos (Graef et al.,2013). Sendo que as drogas mais utilizados, são as da família das lactonas macrocíclicas, pelo seu amplo espectro de atividade, alta eficiência e elevada margem de segurança, pois são manipulados para serem persistentes no organismo do animal, podendo proporcionar uma contaminação prolongada aos produtos de origem animal e ao meio ambiente, visto que sua eliminação (50 a 90%) é principalmente via fezes e urina (Murloy, 2001). Desta forma, podem afetar a população de seres que vive permanentemente ou que passa um ou mais ciclos de vida no solo. Estes organismos desempenham a importante função de decompor as fezes, incorporar os nutrientes e realizar o controle biológico.

Partindo da hipótese de que os resíduos de endectocidas interferem no desenvolvimento de microrganismos presentes nas fezes e conseqüentemente na sua decomposição, o objetivo deste trabalho foi verificar o desenvolvimento de microrganismos edáficos e a decomposição das fezes de bovinos ao longo do tempo após o tratamento com lactonas macrocíclicas.

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Animais e local experimental

O trabalho foi conduzido no Setor de Bovino de Corte, na Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas (FCAT) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Câmpus de Dracena, no período de 22 de março a 05 de setembro de 2017, sendo protocolado na Comissão de Ética em Uso de Animais sob o número 30/2016 na Universidade Estadual Paulista (UNESP), Câmpus de Dracena

Foi utilizada uma área experimental de 2 ha formada por *Urochloa decumbens*, provido de bebedouro e cochos para suplementação. Foram utilizados 12 garrotes contemporâneos da raça Nelore, oriundos de um mesmo rebanho, com idade de 18 meses e peso médio de 208 ± 18 kg. Os animais foram vacinados contra clostridioses antes de iniciar o experimento e durante o experimento, no mês de maio, contra febre aftosa.

2.2.2. Tratamentos e delineamento experimental

Os animais foram divididos em quatro grupos homogêneos contendo três bovinos cada, conforme OPG e peso, sendo um grupo (G1) sem tratamento antiparasitário e três grupos tratados: G2-Ivermectina 1% (Ivomec®, Merial), G3-Ivermectina 3,15% (Ivomec Gold®, Merial) e G4- Moxidectina 1% (Cydectin®, Zoetis). A aplicação dos fármacos foi realizada por via subcutânea no dia 0 do experimento e a dose ministrada conforme orientação do fabricante de 1 ml para 50 kg de peso corporal. A unidade experimental considerada foi a amostra composta de fezes dos três animais de cada grupo.

Cada unidade experimental foi direcionada à três tipos de ambientes para decomposição, Natural (NAT), onde o bolo fecal ficou exposto a temperatura e umidade ambiente, Estufa *Biochemicla Oxigen Demand* (BOD), onde a temperatura foi mantida em $27^{\circ} \text{C} \pm 1^{\circ} \text{C}$ e umidade $55\% \pm 5\%$ e Enterrada (Solo), onde as

amostras compostas foram enterradas e umedecidas com 250 ml de água a cada três dias.

O arranjo experimental foi em fatorial 4x3x7, caracterizado por fezes de quatro grupos de animais tratados ou não com endectocidas, três ambientes de decomposição e sete períodos de colheita. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, para teste de comparação de média foi aplicado Tukey, com significância a 5%, os dados foram analisados no programa estatístico SAS (2008).

2.2.3 Colheitas amostrais e análises

Foram realizadas sete colheitas de fezes, direto da ampola retal dos animais, nos dias 0, 7, 14, 21, 28, 42 e 56 pós-tratamento. Em cada colheita, as amostras fecais dos três animais de cada grupo foram homogeneizadas, totalizando, ao fim do experimento, 28 amostras compostas.

2.2.3.1 Análise da decomposição das fezes

Para a decomposição em ambiente natural, as amostras compostas de cada tratamento foram transferidas cuidadosamente para um suporte de tela de arame com malha de um centímetro e dimensão de 30x30 cm (placa), e colocadas aleatoriamente em quadrantes delimitados em uma área com vegetação roçada no nível do solo conforme a metodologia descrita por Braz et al.,(2002).

As alíquotas direcionadas para a decomposição em ambiente controlado, foram colocadas em recipiente plástico descartável em estufa com temperatura de $27^{\circ} \text{C} \pm 1^{\circ} \text{C}$ e umidade entre $55\% \pm 5\%$.

Na decomposição enterrada no solo, a alíquota de cada tratamento foi acomodada em tecido tule, em formato de saco com dimensões de 25 cm x 4 cm e enterradas em covas de 20 cm de profundidade de forma aleatória e umedecidas com 250 ml de água a cada três dias.

Todas as amostras compostas foram submetidas aos três diferentes ambientes por 112 dias contados a partir das colheitas.

Nos dias das colheitas e no 112º dia após colheita, as alíquotas de fezes passaram pela avaliação para determinação de matéria orgânica, e feita a comparação entre a matéria orgânica inicial e final, depois da decomposição.

A determinação do teor de matéria orgânica seguiu o método estabelecido por Goldin (1987), com as seguintes modificações: secagem prévia das amostras em estufa a 105 °C, por um período de 24 h, visando eliminar toda a água presente nos resíduos, como a higroscópica, a capilar ou de cristalização (Rodella e Alcarde, 1994). Após este período, os cadinhos de cerâmica com as amostras foram acondicionados em forno do tipo mufla e incinerados a temperatura de 550 °C , por 3 h. Posteriormente, o conjunto (cadinho+resíduos) foi acondicionado em dessecador e, em seguida, mensurado a massa em expresso em gramas. O teor de matéria orgânica foi determinado em razão da perda de massa do resíduo incinerado, considerando-se o material perdido pela queima no intervalo de variação da temperatura de 105°C a 550° C, conforme a fórmula: $MO (\%) = (P - (T - C) \times 100) / P$, em que P = peso da amostra (g) depois de aquecida a 105° C; C = tara do cadinho (g); e T = peso da cinza + cadinho (g).

2.2.3.2 Análise microbiológica

Foi realizada no dia da colheita (D0), sendo 7 colheitas, e 7 dias após cada colheita (D7), isto para todos os grupos. Para esta avaliação foi utilizado o método de contagem em placas, por ser um método geral, que pode ser aplicado para contagem de grandes grupos microbianos, como aeróbios, mesófilos, aeróbios psicrotróficos, termófilos, bolores e leveduras, variando-se o tipo de meio, a temperatura e o tempo de incubação (Silva et al,1997; Hajdenwurcel, 1998).

Para a avaliação de bactérias totais, 5g da amostra composta de fezes de cada grupo foi diluído em 45ml de solução salina esterilizada, foram feitas diluições decimais em série de 10^5 , em seguida alíquotas de 0,1 ml foram transferidas para placas de Petri contendo aproximadamente 15 ml de meio de cultura Agar nutriente, e incubadas em BOD. A temperatura foi mantida em $27^\circ C \pm 1^\circ C$ e umidade $55\% \pm$

5% por 48h. Para a quantificação das bactérias, foi utilizado o método UFC (unidade formadora de colônia) que para Franco e Landgraf (1996) é certamente, a mais utilizada nos laboratórios de análise, pois diferentes grupos de microrganismos podem ser enumerados de acordo com o meio de cultura e/ou as condições de incubação empregadas que consiste em identificar e contar as colônias viáveis presentes nas placas.

2.2.3.3 Registros meteorológicos

Foram realizadas diariamente a aferição das temperaturas máxima, mínima e média do ar, precipitação pluviométrica e umidade relativa do ar.

2.3 Resultados e Discussão

Para a avaliação de matéria orgânica (MO) nas amostras compostas de fezes dos quatro grupos, os dados apresentados nas Figuras 1, 2, 3 e 4 demonstram que o ambiente Solo proporcionou, após 112 dias, maior redução de MO, se comparado aos ambientes BOD e NAT, pois os valores médios de MO encontrados para todas as colheitas neste ambiente variaram entre 3,25% a 11,81% para G1; 2,02% a 11,99% para o G2; 2,75% a 7,67% para o G3 e 2,35% a 11,06% para o G4, não diferindo entre as colheitas em função do período e tratamentos, porém diferindo significativamente dos outros ambientes de decomposição ($p < 0,05$).

Estes resultados demonstram que ao longo do tempo após a aplicação dos endectocidas, independente do princípio ativo, não houve diferença na decomposição das fezes, incorporadas ao solo.

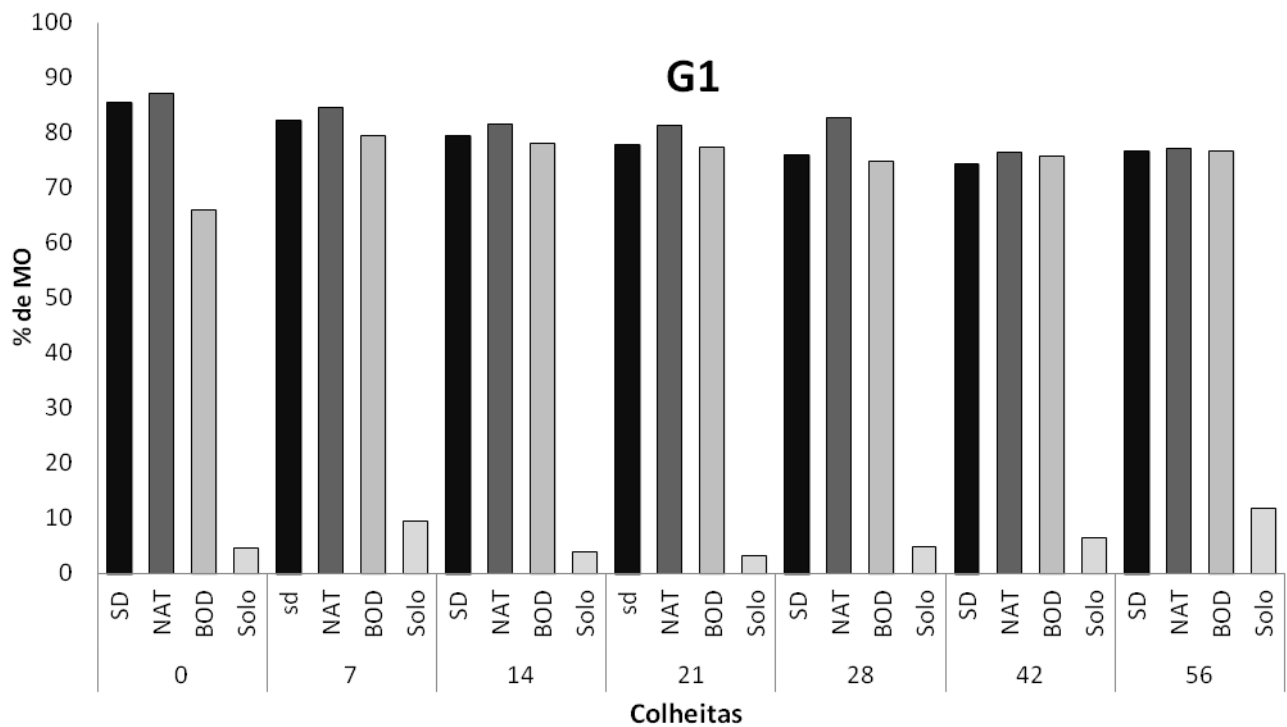


Figura 1 Comparativo de matéria orgânica inicial e final para amostras submetidas em três diferentes ambientes para todas as colheitas, para o G1 controle, sem aplicação de lactonas macrocíclicas.

%MO: porcentagem de matéria orgânica, SD: sem decomposição, avaliação realizada no dia da colheita, NAT: ambiente natural, resultado da avaliação 112 dias após processo de decomposição. BOD: com controle, resultado da avaliação 112 dias após processo de decomposição. Solo: enterradas no solo, resultado da avaliação 112 dias após processo de decomposição.

Segundo Wursthorn (1989), a incorporação de compostagem, no mínimo a 10 cm de profundidade no solo, propicia uma melhor degradação e incorporação da matéria orgânica, pois o ambiente se torna favorável ao desenvolvimento e ação dos organismos responsáveis pela decomposição.

Os besouros coprófagos são responsáveis por enterrar cerca de 70% das fezes dos bovinos em até 10 dias após a exposição das fezes frescas (Miranda et al, 2000). Este período é o que abrange elevadas concentrações residuais de ivermectina nas fezes (Alvinerie et al., 1998; Chiu et al., 1990; Lanusse et al., 1997).

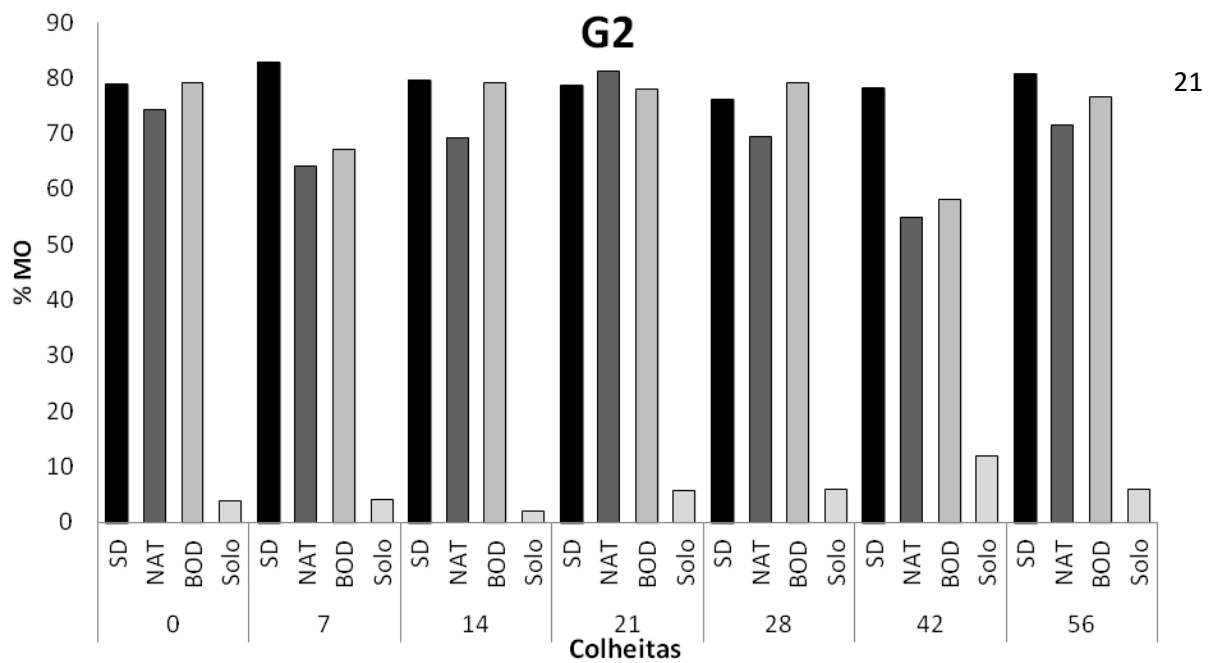


Figura 2 Comparativo de matéria orgânica inicial e final para amostras submetidas em três diferentes ambientes para todas as coletas, para o G2 ivermectina 1%.

%MO: porcentagem de matéria orgânica, SD: sem decomposição, avaliação realizada no dia da colheita, NAT: ambiente natural, resultado da avaliação 112 dias após processo de decomposição. BOD: com controle, resultado da avaliação 112 dias após processo de decomposição. Solo: enterradas no solo, resultado da avaliação 112 dias após processo de decomposição.

Este fato explica os valores médios de MO maiores, após o mesmo período de decomposição, para os ambientes BOD, onde os resultados para todas as colheitas variaram entre 65,95% a 79,42% para G1, 58,19% a 79,23% para G2, 77,25% a 84,55% para G3 e 63,25% a 84,94% para G4, e para o NAT, que variou entre 76,41% a 87,19% para G1, 54,91% a 81,12% para G2, 77,57% a 87,18% para G3 e 70,33% a 85,41% para G4, os dois ambientes diferiram significativamente ($p < 0,05$) do ambiente Solo, porém não diferiram entre si, entre as colheitas e tratamentos, apesar do G1 não ter sido tratado com endectocidas ele estava distribuído de forma casualizada no mesmo ambiente e próximo dos grupos tratados o que pode explicar a sua baixa porcentagem de decomposição, pois o fato das avermectinas presentes nas fezes de bovinos causarem impacto na fauna não-alvo, interferem na harmonia do ecossistema (Lumarte et al, 2012).

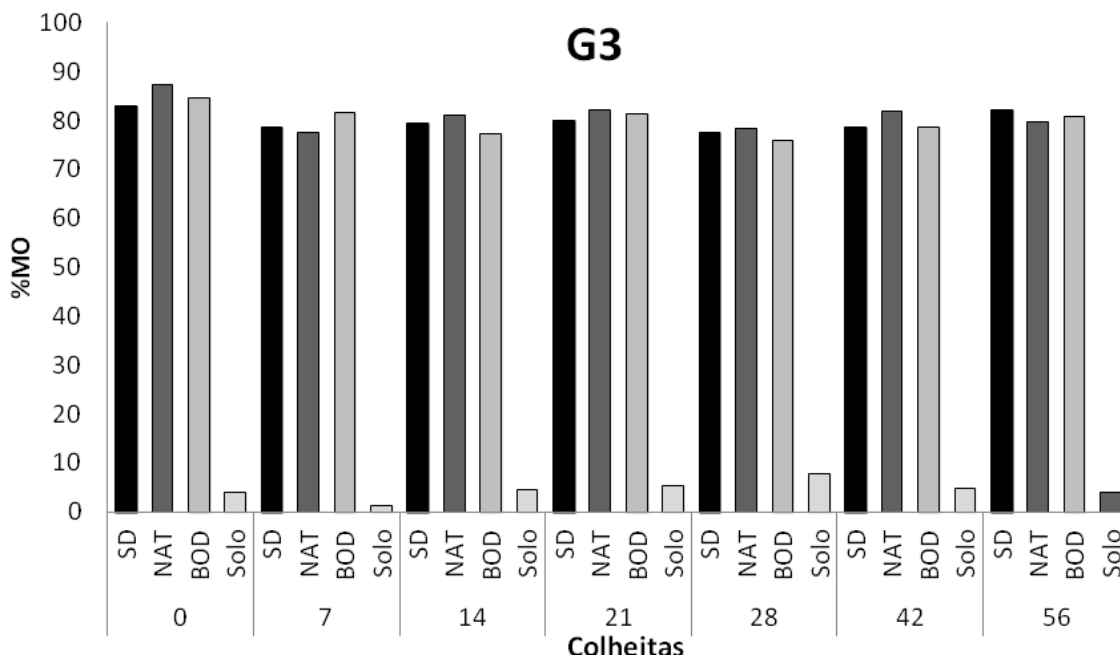


Figura 3 Comparativo de matéria orgânica inicial e final para amostras submetidas em três diferentes ambientes para todas as coletas, para o G3 ivermectina 3,15%.

%MO: porcentagem de matéria orgânica, SD: sem decomposição, avaliação realizada no dia da colheita, NAT: ambiente natural, resultado da avaliação 112 dias após processo de decomposição. BOD: com controle, resultado da avaliação 112 dias após processo de decomposição. Solo: enterradas no solo, resultado da avaliação 112 dias após processo de decomposição

A fauna coprófaga é essencial para a degradação do bolo fecal, no entanto em um estudo a campo, foi observado a falha na degradação das fezes de bovinos, devido à ausência de insetos, após o tratamento com ivermectina de liberação lenta (Wall e Strong, 1987, Prichard et al., 2012).

Glesias et al. (2006) observaram uma redução de 33% na contagem total de artrópodes presentes no bolo fecal, após a administração de ivermectina (0,2 mg/kg) em bovinos. No mesmo experimento, as menores concentrações de ivermectina encontradas em amostras de fezes do grupo tratado aos 60 dias pós-tratamento, foram superiores as concentrações indicadas por Strong e James (1993), passíveis de causar efeitos sub-letais na população coprófaga

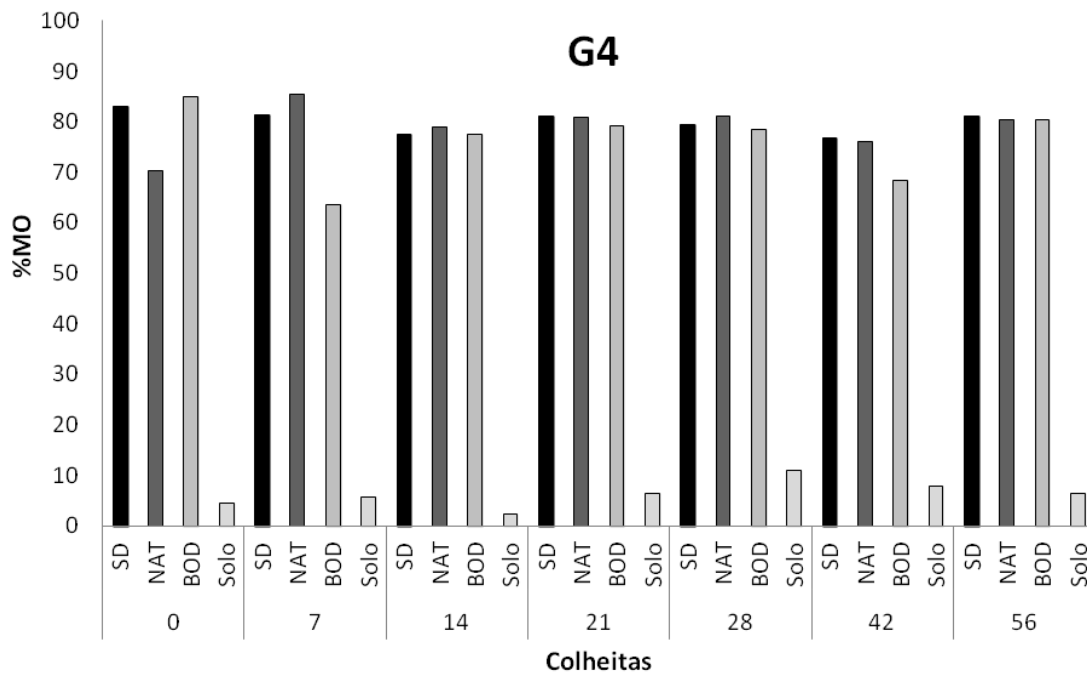


Figura 4 Comparativo de matéria orgânica inicial e final para amostras submetidas em três diferentes ambientes para todas as colheitas, para o G4 ivermectina 3,15%.

%MO: porcentagem de matéria orgânica, SD: sem decomposição, avaliação realizada no dia da colheita, NAT: ambiente natural, resultado da avaliação 112 dias após processo de decomposição. BOD: com controle, resultado da avaliação 112 dias após processo de decomposição. Solo: enterradas no solo, resultado da avaliação 112 dias após processo de decomposição.

Quando avaliados os resultados médios obtidos em UFC/ml para análise microbiana nas amostras compostas de fezes para cada grupo, é possível observar que para o G1 (Figura 5), em todas as colheitas, a população microbiana aumentou após sete dias nos dois ambientes BOD e NAT.

O aumento do número de UFC/ml é esperado, quando o material em decomposição está exposto a um ambiente com condições favoráveis ao crescimento de microrganismos decompositores, sendo que a umidade considerada ideal varia de 50 a 60% (Rodrigues et al., 2006), a temperatura inicial ideal para a atividade dos microrganismos mesófilos, responsáveis pela decomposição inicial, varia de 20° C e 25° C, após o período de 2 a 3 dias, a temperatura interna do bolo fecal eleva, pela atividade microbiana, para 43° C, a população microbiológica mesofílica é suprida pela implantação de uma comunidade microbiana termofílica, onde ocorre o pico de consumo de oxigênio atribuído a elevação da população microbiana (Miyatake e Iwabuchi, 2006).

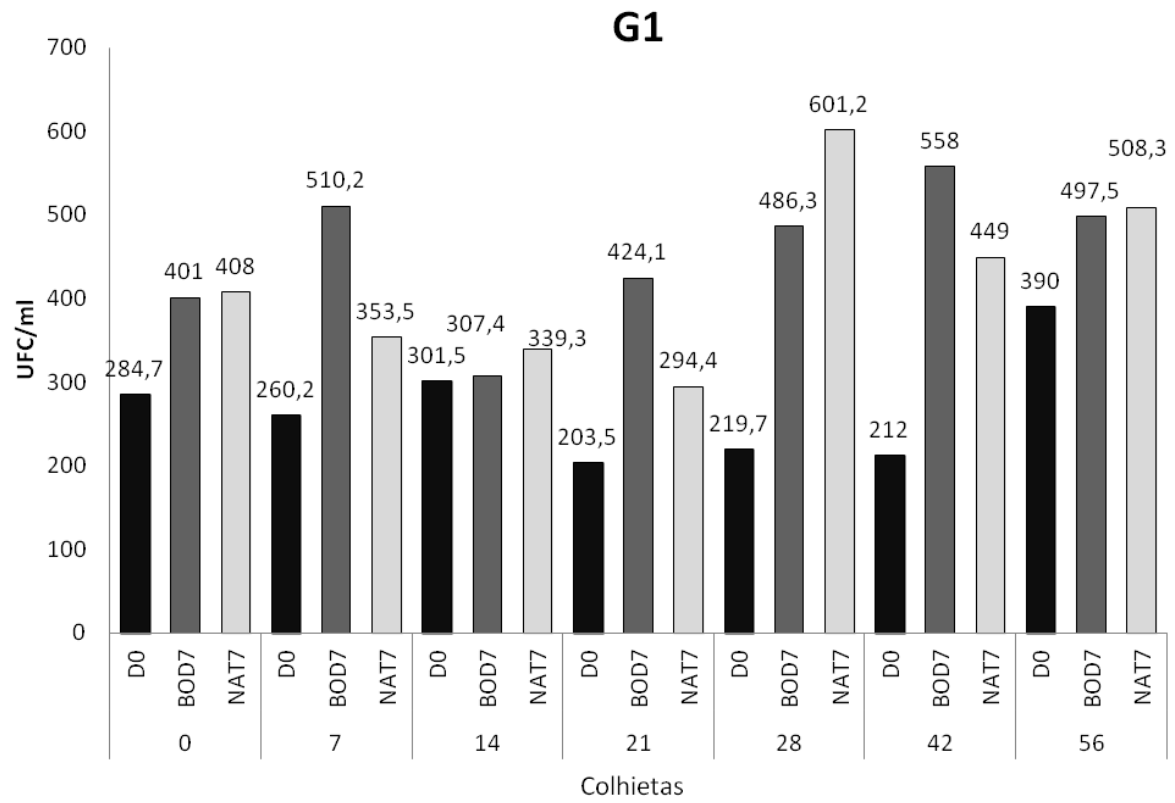


Figura 5- Quantidade de UFC/ml comparativas entre o dia da coleta e sete dias após a coleta para o G1-Sem administração de lactonas macrocíclicas.

UFC/ml: Quantidade de unidades formadoras de colônias contadas, D0: Dia zero, avaliação realizada no dia da colheita, NAT7: ambiente natural, resultado da avaliação 7 dias após submetidos as condições naturais do ambiente .BOD7: ambiente controlado, avaliação 7 dias após submetidos as condições controladas do ambiente.

Para os G2 (Figura 6) e G3 (Figura 7) o comportamento populacional dos microrganismos, nas colheitas dos dias 14 e 21, diminuiu após sete dias para os ambientes BOD e NAT, este comportamento é contrario ao G1.

Uma possível explicação para a diminuição da quantidade UFC/ml é a alteração que ela causa no nos organismos não-alvo, gerando desequilíbrio aos organismos do solo, que estão interligados em uma cadeia alimentar e que ao impactar um componente desta cadeia, afeta indiretamente todo o restante (Lumaret e Errouissi, 2002)

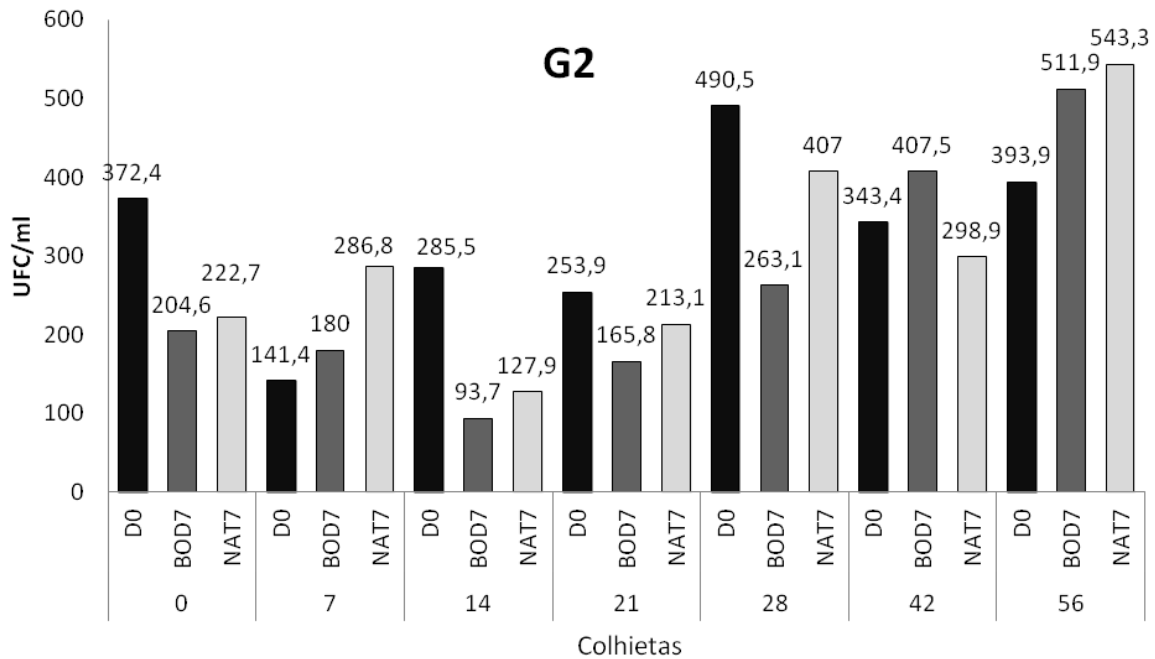


Figura 6 Quantidade de UFC/ml comparativas entre o dia da coleta e sete dias após a coleta para o G2- Ivermectina 1%.

UFC/ml: Quantidade de unidades formadoras de colônias contadas, D0: Dia zero, avaliação realizada no dia da colheita, NAT7: ambiente natural, resultado da avaliação 7 dias após submetidos as condições naturais do ambiente .BOD7: ambiente controlado, avaliação 7 dias após submetidos as condições controladas do ambiente.

Para o Grupo 4 (Figura 8) as amostras de todas as colheitas teve aumento nas populações microbianas após sete dias submetidos aos ambientes de decomposição NAT e em BOD, sugerindo que a Moxidectina 1% não afeta a população microbiana, pois teve o comportamento semelhante ao grupo controle. Não afetar população de microrganismos favorece a decomposição do bolo fecal, já que são responsáveis pelos processos de mineralização e humidificação da matéria orgânica, e em consequência, exercem influencia direta no ciclo de renovação de nutrientes do solo (Decäens et al.,2003)

Já se sabe que a ivermectina e a moxidectina têm diferentes cinéticas no plasma e nos tecidos, o que afeta a duração da atividade (Lanusse et al., 1997). A via de excreção é a mesma da ivermectina. No entanto, a ivermectina tem atividade durante 14 a 28 dias, enquanto moxidectina possui maior período de atividade (14 a 42 dias), quando administradas em dose única, com uma formulação de ação não prolongada (Prichard et al., 2012). A liberação lenta e gradual da moxitectina pode explicar o comportamento similar ao grupo controle.

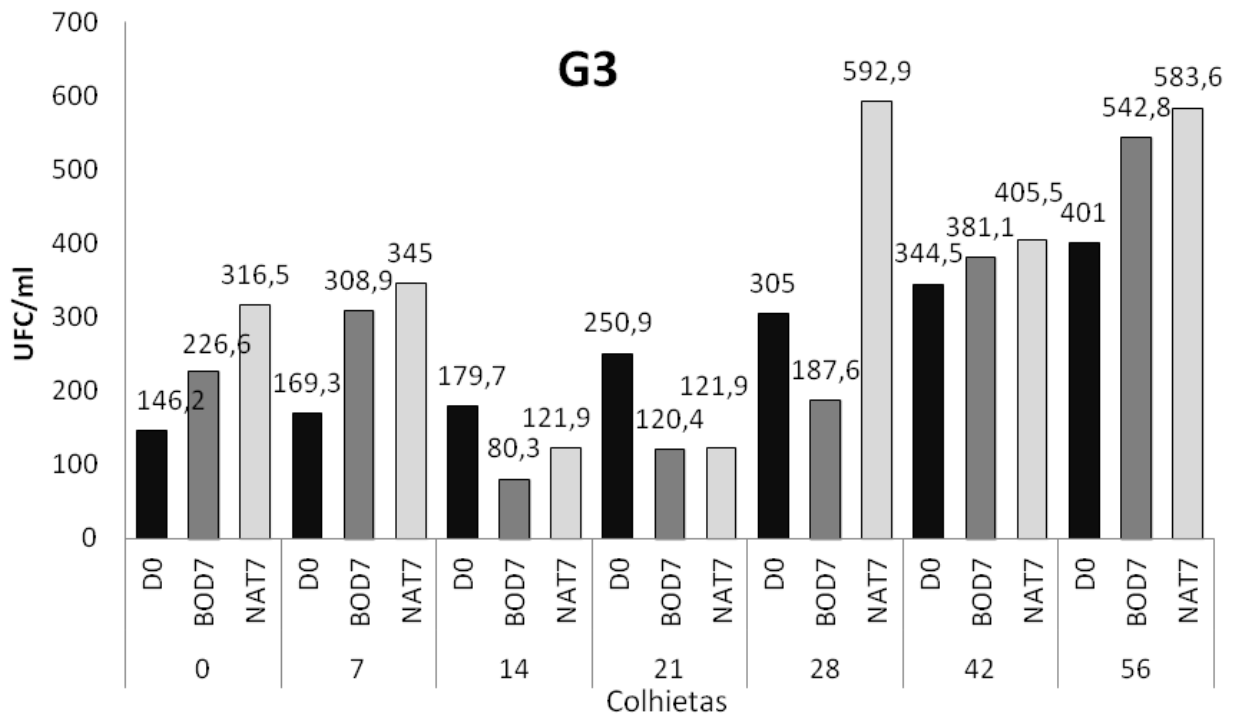


Figura 7-Quantidade de UFC/ml comparativas entre o dia da coleta e sete dias após a coleta para o G3- Ivermectina 3,15%.

UFC/ml: Quantidade de unidades formadoras de colônias contadas, D0: Dia zero, avaliação realizada no dia da colheita, NAT7: ambiente natural, resultado da avaliação 7 dias após submetidos as condições naturais do ambiente .BOD7: ambiente controlado, avaliação 7 dias após submetidos as condições controladas do ambiente.

Os dados meteorológicos foram correlacionados com a decomposição em ambientes expostos as condições climáticas naturais (Solo e NAT). Durante todo o experimento a temperatura média do ar registrada foi 23,71° C, sendo a menor registra 5, 8° C e a maior 37° C, a umidade relativa do ar manteve a média de 61,47 %, sendo a menor 13,5% e a maior 95,8%, o somatório das precipitações encontradas foram de 595,08 mm, sendo o maior índice registrado de 91,4mm em um dia.

Esses dados meteorológicos mantiveram um ambiente ideal para os organismos, responsáveis pela decomposição, pois para Hamoda et al.,1998, um dos fatores que influência a decomposição ideal é a umidade, sendo a melhor em torno de 60%, onde ocorre o aumento da degradação do carbono orgânico total.

Contudo, os resultados para decomposição, baseados na diferença de MO inicial e final, após 112 dias, mostram que mesmo com condições favoráveis para

ação de organismos decompositores, não houve redução significativa de matéria orgânica no tratamento NAT, diferindo significativamente ($p>0,05$) do tratamento Solo, onde houve uma redução significativa, independente do tratamento.

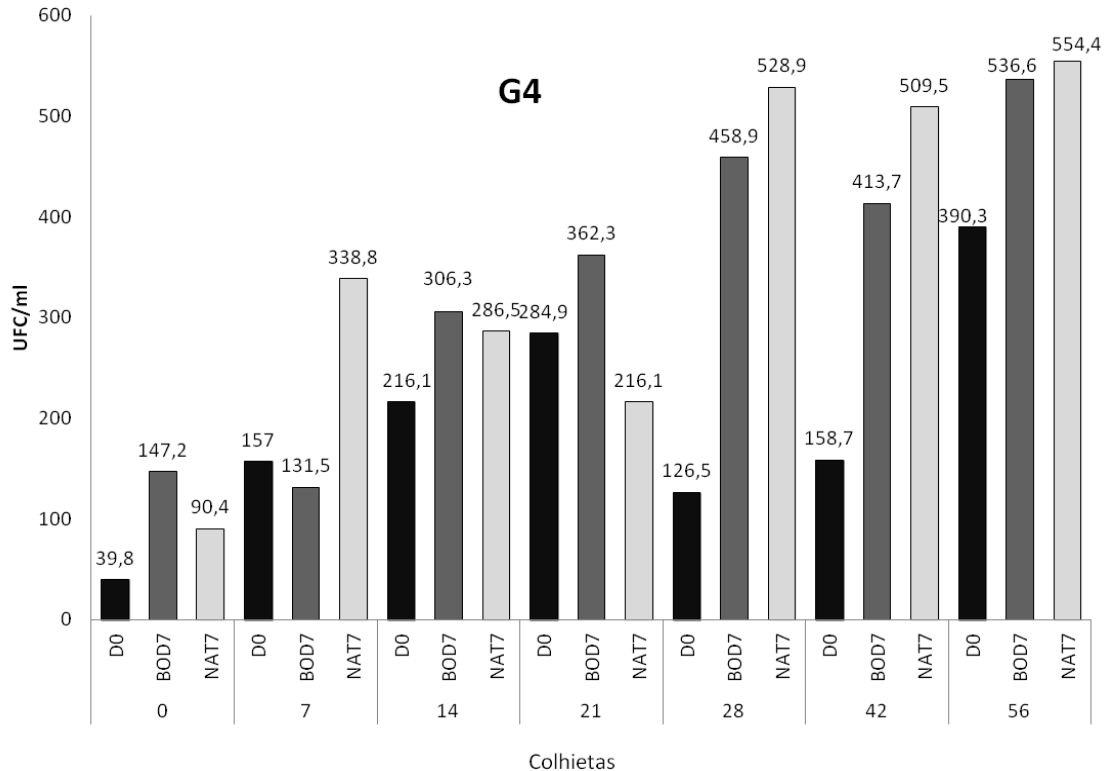


Figura 8 -Quantidade de UFC/ml comparativas entre o dia da coleta e sete dias após a coleta para o G4- moxidectina 1%.

UFC/ml: Quantidade de unidades formadoras de colônias contadas, D0: Dia zero, avaliação realizada no dia da colheita, NAT7: ambiente natural, resultado da avaliação 7 dias após submetidos as condições naturais do ambiente .BOD7: ambiente controlado, avaliação 7 dias após submetidos as condições controladas do ambiente.

Estes dados demonstram que independente do ambiente ser favorável para os organismos edáficos, se o material não for incorporado ao solo, não ocorre a decomposição da matéria orgânica. Isto porque, no processo de vermicompostagem, as minhocas são responsáveis por decompor dejetos de origem animal, gerando como produto final um composto coloidal rico em nutrientes, principalmente nitrogênio, cálcio, fósforo, magnésio e potássio, oriundos das dejeções das minhocas. Este composto pode ser definido como adubo orgânico, o húmus, e assim como na compostagem, o processo de vermicompostagem, são requeridos controles de umidade, temperatura e pH (KNAPPER, 1987).

Outro fato que pode explicar este comportamento é a características da Ivermectina de insolubilidade em água e tendência para se ligar a partículas, fazendo com que os seus resíduos, ocasionem efeitos adversos em alguns organismos que habitam o esterco, segundo Suárez, 2002.

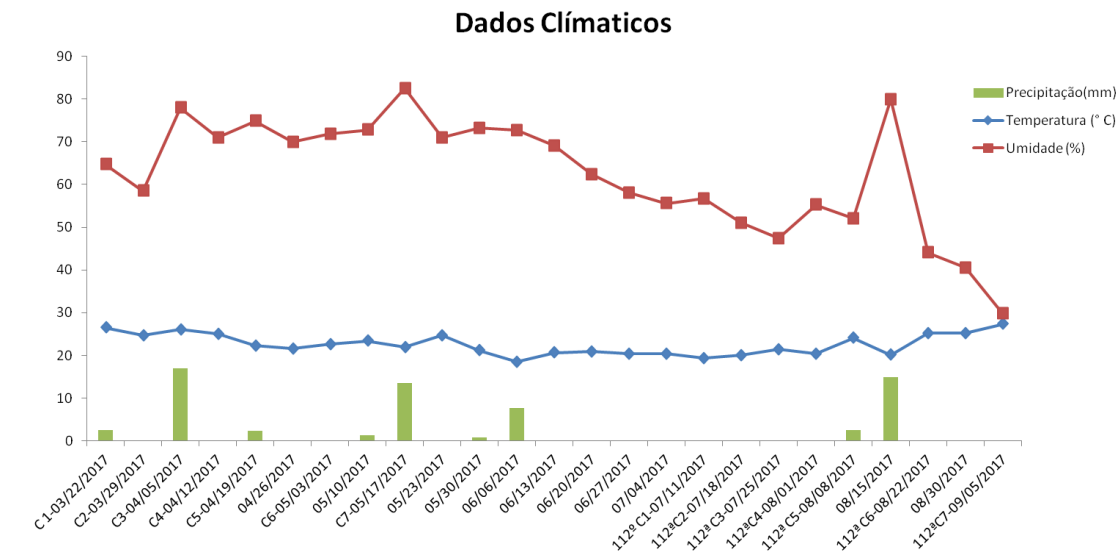


Figura 9- Dados meteorológicos coletados durante o experimento. Temperatura (° C), Umidade (%) e Chuva (mm).

Cn- data: ordem da colheita realizada na data. 112^a Cn-data: centésimo décimo segundo dia após a colheita.

2.4 Conclusão

De acordo com os resultados apresentados, pode-se concluir que:

As ivermectinas em suas duas concentrações (1 e 3,15%) interferiram no desenvolvimento da população microbiana, já a moxidectina 1% não alterou a dinâmica populacional das bactérias, que também não foi influenciada pelo ambiente exposto em nenhum dos tratamento.

A decomposição não foi afetada pela utilização de lactonas macrocíclicas, porém a incorporação da matéria orgânica ao solo foi fator determinante para a redução de matéria orgânica.

Referências

ALVINERIE, M.; SUTRA, J. F.; GALTIER, P.; LIFSCHITZ, A.; VIRKEL, G.; SALLOVITZ, J.; LANUSSE, C. Persistence of ivermectin in plasma and faeces following administration of a sustained-release bolus to cattle. **Res. Vet. Sci.** v. 66, p. 57–61, 1998.

BAERMANN, G. Eine Einfache Methode zur Auffindung von Ankylostomum (Nematoden) Larven in Erdproben. Mededeel mit h. **Geneesk. Lab Weltvreden Feestbundel, Batavia**, p. 41-47, 1917.

BAETA-HALL L., SÀÁGUA M. C.; BARTOLOMEU M. L.; ANSELMO A. M.; ROSA M. F. A compostagem como processo de valorização dos resíduos na extração de azeite em contínuo. **Boletim de Biotecnologia**, UME, UB, p.31-37, 2003.

BARROS, G.S.C., CASTRO, N. R, GILIO L., FACHINELLO, A., GIACHINI, F. G., MORAIS, A. P., Relatório pibagro-Brasil. Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada (CEPEA). Piracicaba. Disponível em: http://www.cepea.esalq.usp.br/comunicacao/Cepea_PIB_BR_mar15.pdf. Acessado em: Janeiro 2016. 2015.

BIANCHIN, I. Controles estratégicos dos nematódeos gastrintestinais em bovinos de corte no Brasil. **Hora Veterinária**, v.39, p.49-53, 1987.

BRAZ, S. P. et al. Disponibilidade dos nutrientes das fezes de bovinos em pastejo para a forragem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Coronel Pacheco, v. 31, n. 4, p.1614-1623, 2002.

CHIU, S. L.; GREEN, M. L.; BAYLIS, F. P.; ELINE, D.; ROSEGAY, A.; MERIWETHER, H.; JACOB, T. A. Absorption, Tissue Distribution, and Excretion of Tritium-Labeled Ivermectin in Cattle, Sheep, and Rat. **J. Agric. Food Chem.** v. 38, p. 2072–2078, 1990.

COLES, G. C.; BAUER, C.; BORGSTEEDE, F. H. M. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) methods for detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. **Veterinary Parasitology**, v.44, p.35-44, 1992.

CRISTINA, S.; HELOISA, F.; Parâmetros farmacocinéticos e atividade endectocida de uma nova formulação contendo avermectinas, via tópica (*Pour-on*), em bovinos. 121 tese (Doutor em Medicina Veterinária)- à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp, Jaboticabal, 2008.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRA F. M. Microbiologia de alimentos. São Paulo: Atheneu, p. 182, 1996.

GOLDIN, A. Reassessing the use of loss-on-ignition for estimating organic matter content in noncalcareous soils. **Commun. Soil Sci. Plant. Anal.**, v. 18, p.1111-1116, 1987.

GORDON, H. M.; Whitlock, H. V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *Journal of the Commonwealth Science and Industry Organization*, v.12, p.50-52, 1939.

GRAEF, J.; CLAEREBOU, E.; GELDHOF, P. Anthelmintic resistance of gastrointestinal 909 cattle nematodes. **Vlaams Diergeneesk. Tijdschr.** V.82, p.113–123, 2013.

HAJDENWURCEL, J. R. Atlas de microbiologia de alimentos. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora, p. 66,1998.

HAMODA M. F.; ABU QDAIS H. A.; NEWHAM B. J. Evaluation of municipal solid waste composting kinetics. *Res., Conserv. And Recycling*, v.23, p. 209-223, 1998.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Rio de Janeiro, 2016.

KNAPPER, C. F. U. Manual de produção de húmus. In: Associação Brasileira de Minhocultura – ABRAMI, p-21-25. (Boletim informativo, n.3), 1987.

KEITH, R. K. The differentiation of the infective larvae of some common nematode parasites of cattle. *Australian Journal of Zoology*, Victoria, v. 1, n. 2, p. 223-235, 1953.

LANUSSE, C. E.; ALVAREZ, L. I.; LIFSCHITZ, A. L. Princípios farmacológicos da terapia anti-helmíntica. In: CAVALCANTE, A.C.R., VIEIRA, L., CHAGAS, A.C.S., MOLENTO, M.B. Doenças Parasitárias de Caprinos e Ovinos Epidemiologia e Controle. Brasília, DF, cap. 22, p. 547–603, 2009.

LIMA, R. A. S.; SHIROTA, R.; BARROS, G. S. C. Estudo do complexo do agronegócio cavalo. Piracicaba: ESALQ/USP, p. 250, 2006.

MIYATAKE, F. K. Iwabuchi. Effect of compost temperature on oxygen uptake rate, specific growth rate and enzymatic activity of microorganisms in dairy cattle manure. **Bioresource Technol**, v.97, p.961-965, 2006.

MIRANDA, C. H. B.; SANTOS, J. C.; BIANCHIN, I. The role of *Digitonthophagus gazella* in pastura cleaning and production as a result of burial of cattle dung. *Pasturas Trop.* v. 22, p. 14–18, 2000.

MOLENTO, M. F. Método Famacha tratamento seletivo no controle do *Haemonchus contortus*. In: **Simpósio sobre Controle de Parasitas em Pequenos Ruminantes**. FEINCO/SP, 2005.

MULROY, A. Monitoring and Analysis of Water and Wastes. **Water Environment Technology**, v. 13, n. 2, p. 32-36, 2001.

PRICHARD, R.; MÉNEZ, C.; LESPINE, A. Moxidectin and the avermectins: consanguinity but not identity. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 2, p. 134-153, 2012.

RANGEL, V. B.; LEITE, R. C.; OLIVEIRA, P. R.; SANTOS, E. J. Resistência de *Cooperia spp.* e *Haemonchus spp.* às avermectinas em bovinos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.2, p.186-190, 2005.

ROBERT, F. H. S.; O'SULLIVAN, P. J. Methods for eggs counts and larval cultures for Strongyles infecting the gastrointestinal tract of cattle. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 1, n.1, p. 99-192, 1950.

RODELLA, A. A. e ALCARDE, J. C. Avaliação de materiais orgânicos empregados como fertilizantes. **Sci. Agric.**, v.51, p. 556-562, 1994.

RODRIGUES, M. S., SILVA, F.C. da., L.P. BARREIRA e KOVACS, A. Compostagem: reciclagem de resíduos sólidos orgânicos. In: Spadotto, C.A.; Ribeiro, W. **Gestão de Resíduos na agricultura e agroindústria**. FEPAF. Botucatu. p. 63-94, 2006.

SAS Institute Inc. 2008. **Statistical analysis system**. Release 9.3. (Software). Cary. USA.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A. SILVEIRA, N. F. A. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. São Paulo: Varela, p. 259 ,1997.

SOUTELLO, R. V. G.; CONDI, G. K.; PAES, F.; FONZAR, J. F. Influência do parasitismo e da suplementação proteica no desenvolvimento ponderal de novilhos mestiços Angus-Nelore e da raça Guzerá. **Cienc. Agr. Saúde**, v.2, p.21-27, 2002.

SOUTELLO, R. G. V.; SENO, M. C. Z.; AMARANTE, A. F. T. Anthelmintic resistance in cattle nematodes in northwestern São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.148, p.360-364, 2007.

SUÁREZ, V. H. Helminthic control on grazing ruminants and environmental risks in South America. **Veterinary Research**, v. 33, p. 563–573, 2002.

UENO, H. E GONÇALVES, V. C. Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes. **Japan International Cooperation Agency**, Tóquio. p. 143, 1998.

WURSTHORN, L.; MARTIN, P. Anthelmintic resistance: report of the Working Party for the Animal Health Committee of the SCA, CSIRO, 1989.