



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

MONOGRAFIA

Análise histomorfométrica do epitélio ruminal de caprinos alimentados com palma forrageira

Andreza Guedes de Oliveira Nascimento

2018



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

Análise histomorfométrica do epitélio ruminal de caprinos alimentados com palma forrageira

Andreza Guedes de Oliveira Nascimento
Graduanda

Prof^a Dr^a Ângela Maria Vieira Batista
Orientadora

MSc. Tomás Guilherme Pereira da Silva – Co-orientador

Recife – PE
Agosto de 2018

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

N244a Nascimento, Andreza Guedes de Oliveira
Análise histomorfométrica do epitélio ruminal de caprinos
alimentados com palma forrageira / Andreza Guedes de Oliveira
Nascimento. -- 2018.
24 f. : il.

Orientadora: Ângela Maria Vieira Batista.
Coorientador: Tomás Guilherme Pereira da Silva.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Zootecnia) -
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de
Zootecnia, Recife, BR-PE, 2018.
Inclui referências.

1. Caprino - Alimentação e rações 2. Plantas forrageiras
3. Mucosa intestinal 4. Alimentos - Consumol. Batista, Ângela Maria
Vieira, orient. II. Silva, Tomás Guilherme Pereira da, coorient.
III. Título

CDD 636

A minha mãe, Alcidezia Guedes de Oliveira Nascimento, pelo amor e compreensão durante todos os momentos da minha vida, principalmente os difíceis durante a jornada da graduação.

A minha amiga, Grasiela Roberta Pereira da Silva, por toda força e carinho que me ajudaram a chegar até aqui.

DEDICO

Nunca uma falha, sempre uma lição.

R.R.F.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por ter me dado forças sempre para que não desistisse de tudo, pelos momentos de conforto diante das adversidades e por botar no meu caminho pessoas que me ensinam sempre como melhorar e acrescentam conhecimentos.

A minha mãe Alcidezia, que sempre está ao meu lado, me apoiando e incentivando a crescer profissionalmente.

Aos amigos de grande parte da graduação, mas que levarei por toda vida Gislaine Lourenço, Francisco Neto, Aildson Ferreira pelos momentos bons e ruins, de muito aprendizado, conversas, troca de conhecimentos e descontração que proporcionaram.

As amigas de turma, Amanda Ferraz, Daniela Pinheiro, Marisol Ramos, Patrícia Lira, e não poderia faltar Laura Oliveira que não esquecerei nunca do primeiro dia de aula que não me emprestou o caderno para eu tirar xerox, agradeço a todas por todos os momentos tristes e felizes, de força e motivação por todos esses anos, que ajudaram no aprendizado diário e a divertir os todos os dias principalmente os difíceis, que pareciam intermináveis durante a semana de provas, mas graças a Deus deu tudo certo.

Aos amigos que fiz durante os experimentos de PIBIC e laboratório, Kelly Cristina, Sánara Melo, Luiz Wilker, Karen Abreu, Olga Ximena, Guilherme Heliodoro, João Vitor, por todo aprendizado e momentos de descontração.

À Maria Presciliâna de Brito Ferreira (Priscila), minha primeira orientadora de PAV, pela oportunidade e conhecimento passado, aos meus orientadores de PIBIC, prof. Dr. Francisco Fernando Ramos de Carvalho e prof.^a Dr^a Ângela Maria Vieira Batista, pela oportunidade de ingressar na área de pesquisas e pelos conhecimentos passados.

A Tomás Guilherme da Silva, por toda ajuda, paciência, pelos ensinamentos e oportunidades, pela amizade e motivação.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), pelo acolhimento se tornando minha segunda casa durante esses anos.

A todos do departamento de Zootecnia pelo aprendizado para minha formação profissional, aos funcionários do apoio didático, coordenação, direção e terceirizados.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1 Influência dietética sobre o estômago de ruminantes	10
2.2 Fatores antinutricionais	11
3. MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1 Coleta de amostras	17
3.2 Processamento histológico	17
3.3 Avaliação histomorfométrica	18
3.4 Análise estatística.....	18
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
5. CONCLUSÃO	22
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores de nutrientes digestíveis totais (NDT) e carboidratos não fibrosos (CNF) na palma forrageira.

Tabela 2. Composição nutricional dos ingredientes das dietas experimentais.

Tabela 3. Proporção dos ingredientes e composição nutricional das dietas experimentais.

Tabela 4. Variáveis histomorfométricas (μm) do epitélio ruminal de caprinos alimentados com palma forrageira.

Tabela 5. Consumo de matéria seca, proteína bruta, nutrientes digestíveis totais e oxalatos totais por caprinos submetidos a dietas baseadas em palma forrageira.

Resumo

Objetivou-se mensurar variáveis histomorfométricas do epitélio ruminal de caprinos alimentados com palma forrageira (espessura de epitélio total, espessura da camada de queratina e espessura das camadas não-queratinizadas), alimentados com os genótipos de palmas forrageiras: miúda (*Nopalea cochenillifera* Salm Dyck) e orelha de elefante mexicana (*Opuntia stricta* Haw), oriundos dos municípios pernambucanos de Lagoa de Itaenga e Ibimirim, nessa ordem, sendo transportadas para o Recife a cada 15 dias, a cada novo lote de palma forrageira foram coletadas amostras com a finalidade de quantificar os teores de matéria seca e de proteína bruta para ajuste das rações. O feno de capim Tifton-85, o fubá de milho, o farelo de soja e os micro ingredientes foram adquiridos no comércio local. Foram utilizados 36 caprinos SPRD, machos, castrados, com idade média de 1 ano e peso corporal inicial (PCI) médio de $19,0 \pm 2,8$ kg, alocados em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com três tratamentos e doze repetições. Os animais foram alojados individualmente em baias com piso suspenso de madeira ripada, com dimensões de 1,8 m x 1,0 m ($1,8 \text{ m}^2$), providas de comedouro e bebedouro, dispostas em apriscos de alvenaria coberto com telhas de fibrocimento. O experimento durou 100 dias, sendo 30 dias destinados à adaptação dos animais às condições experimentais e 70 dias para coletas de dados. Os animais que receberam a dieta controle apresentaram maior espessura da camada queratinizada e das camadas não queratinizadas do epitélio ruminal (sacos dorsais) em comparação aos que receberam a dieta contendo a palma miúda, sem diferir significativamente do tratamento com palma orelha de elefante mexicana, as dietas controle e com palma orelha de elefante mexicana provocam maior espessamento das camadas de queratina e camadas não queratinizadas do epitélio dos sacos dorsais do rúmen de caprinos, contudo podem ser utilizadas na alimentação de caprinos por serem boa fonte de nutrientes.

Palavras-chave: Consumo, Tifton-85, *Opuntia*, *Nopalea*.

ABSTRACT

The objective of this study was to measure histomorphometric variables of the ruminal epithelium of goats fed forage palm (total epithelium thickness, keratin layer thickness and thickness of non-keratinized layers) fed with forage palm genotypes: small (*Nopalea cochenillifera* Salm Dyck) and ear of Mexican elephant (*Opuntia stricta* Haw), originating from the municipalities of Pernambuco, Lagoa de Itaenga and Ibimirim, in that order, being transported to Recife every 15 days. For each new lot of forage palm, samples were collected with the purpose of quantifying the dry matter and crude protein contents for adjustment of rations. Tifton-85 grass hay, maize corn meal, soybean meal and micro ingredients were commercially available, 36 male SPRD male goats with an average age of 1 year and mean body weight (ICP) of 19.0 ± 2.8 kg were used in a completely randomized design with three treatments and twelve replicates. The animals were individually housed in slatted wooden slats with $1.8 \text{ m} \times 1.0 \text{ m}$ (1.8 m^2) dimensions, provided with a feeder and drinking fountain, arranged in masonry sheaths covered with asbestos cement tiles. The experiment lasted 100 days, with 30 days for adaptation of animals to experimental conditions and 70 days for data collection. The animals that received the control diet had a greater thickness of the keratinized layer and the non-keratinized layers of the ruminal epithelium (dorsal sacks) in comparison to those that received the diet containing the small palm, without significantly differing from the Mexican palm ear treatment, control diets and with Mexican elephant ear palms cause greater thickening of the keratin layers and non-keratinized layers of the epithelium of the dorsal bags of the rumen of goats, however they can be used to feed goats as they are a good source of nutrients.

Keyword: consumption, Tifton-85, *Opuntia*, *Nopalea*.

1. INTRODUÇÃO

Caprinos são animais ruminantes que possuem o estômago composto por quatro compartimentos: rúmen, retículo, omaso e abomaso, os três primeiros conhecidos por pré-estômagos são revestidos por epitélio pavimentoso estratificado aglandular (BANKS, 1992) possuindo função de degradar o alimento através da fermentação microbiana e atividade mecânica, já o abomaso constitui o estômago químico. No rúmen, a ingesta sofre ação de microorganismos(bactérias, protozoários e fungos). Por isso é de grande importância avaliar o comportamento do metabolismo e absorção dos nutrientes e quais efeitos exercem no desenvolvimento do epitélio ruminal, tendo em vista que o epitélio ruminal é sensível à qualidade da dieta, a qual influencia os ácidos graxos voláteis produzidos durante o processo de fermentação (Sakata& Tamate 1978, 1979), a parede ruminal tem como maior característica a presença de papilas que são projeções da mucosa que aumentam a superfície de contato deste órgão (Banks, 1992) fazendo com que tenha maior capacidade de absorção dos ácidos graxos voláteis (AGV) (Dirksen et al., 1985).

O desenvolvimento do epitélio ruminal, mais especificamente das papilas, é influenciado pela composição do alimento, tornando esse efeito mais importante que aquele exercido pela idade do animal(DUKES et al. 1970). O tamanho e presença das papilas variam conforme a região do rúmen. As papilas são geralmente mais densas nas partes centrais da poção dorsal e ventral, onde assumimos que há uma maior absorção (NEIVA et.al,2006). Seu desenvolvimento está diretamente ligado ao tipo de alimentação e aos AGVs formados devido à fermentação do alimento consumido pelo animal, sofrendo maior alteração a partir do momento em que sólidos começam a ser adicionados à dieta. Os alimentos energéticos levam a maior produção desses ácidos, podendo ser destacado o ácido butírico o mais importante quando se trata de crescimento em números e altura das papilas. A literatura é rica em avaliações quanto ao efeito de diferentes dietas sobre as papilas ruminais, são escassas informações sobre a histomorfometria do epitélio ruminal de caprinos alimentados com palma forrageira. A histomorfometria é uma avaliação histológica quantitativa de uma amostra de material orgânico e avalia parâmetros estruturais sendo importante ferramenta oferecendo informações que não são possíveis por outro diagnóstico.

Diante do exposto, objetivou-se mensurar variáveis histomorfométricas do epitélio ruminal de caprinos alimentados com palma forrageira (espessura de epitélio total, espessura da camada de queratina e espessura das camadas não-queratinizadas).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Influência dietética sobre o estômago de ruminantes

A nutrição dos caprinos é constituída de volumoso, entretanto, com o manejo inadequado das pastagens e períodos de seca, é importante buscar alternativas alimentares visando atender as exigências nutricionais dos animais, obtendo um produto final de qualidade. A utilização de alimentos concentrados aliado ao volumoso na dieta, seja como suplemento ou em confinamentos, visa atender essas exigências. Porém, a incorporação de alimentos concentrados à dieta aumenta sua densidade energética, podendo acarretar em distúrbios metabólicos (Alves et al., 2003), principalmente alterações no pH ruminal (SANTRA et al., 2003). A fermentação tanto de carboidratos estruturais (celulose), quanto de carboidratos não-estruturais (amido), resulta na formação de ácidos graxos voláteis que são absorvidos pelo epitélio ruminal (LEEK, 1996; RUSSEL & GAHR, 2000). Grande ingestão de amido pode causar desequilíbrio na flora microbiana, acarretando em acidose ruminal (OWENS et al., 1998). Além disso, alto consumo de concentrado e produção de ácido láctico no rúmen pode aumentar em mais de 200 vezes, e como seu pH é baixo (3,7) faz com que o pH do fluido ruminal caia de 6 a 7 para valores inferiores a 4,0 (Maruta & Ortolani, 2002a, 2002b).

A palma forrageira é amplamente utilizada na alimentação de pequenos ruminantes no semiárido por ser adaptada às condições climáticas local e considerada boa fonte de energia, por ser rica em carboidratos não fibrosos.

Segundo Ferreira et al. (2009), a palma forrageira é ingerida voluntariamente em grandes quantidades reflete sua alta aceitabilidade pelos animais ruminantes.

A relação K: Na palma forrageira é alta, embora possa variar amplamente, devido à variação no teor de K (25,8 a 33,1 g/kg de MS) (TELES et al., 2004; WANDERLEY et al., 2002; SANTOS et al., 1990). Sua composição bromatológica pode variar em virtude da espécie, idade dos artículos, época do ano e tratos culturais (MOURA 2013). Contudo, independente do gênero e espécie, a palma forrageira apresenta baixos teores de matéria seca (11,7%), proteína bruta (4,8%), fibra insolúvel em detergente neutro (26,8%) e fibra insolúvel em detergente ácido (18,9%) (FERREIRA et al., 2009). Adicionalmente, de acordo com a literatura, a concentração de nutrientes digestíveis totais (NDT) e de carboidratos não fibrosos (CNF) pode variar de 618,4 a 676,0 g/kg MS e de 480,7 a 711,7 g/kg MS, respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1. Valores de nutrientes digestíveis totais (NDT) e carboidratos não fibrosos (CNF) na palma forrageira.

Gênero	NDT (g/kg de MS) *	Referência
Opuntia	676,0	Batista et al. (2003a) ¹
	664,0	Batista et al. (2003a) ²
	661,6	Cavalcanti et al. (2006) **
	655,6	Melo et al. (2006) ¹
	618,4	Tosto et al. (2007)**
Nopalea	662,0	Batista et al. (2003a) ³

Gênero	CNF (g/kg de MS) *	Referência
Opuntia	614,0	Rocha Filho (2012)
	556,3	Valadares Filho et al. (2006)
	535,3	Cavalcanti et al. (2006)
	509,0	Rocha Filho (2012)
	480,7	Bispo et al. (2007)
Nopalea	711,7	Valadares Filho et al. (2006)
	590,0	Maciel et al. (2015)
	539,0	Rocha Filho (2012)
	529,0	Pordeus Neto et al. (2016)
	504,0	Rocha Filho (2012)

Fonte: SILVA (2017, p.17)

2.2 Fatores antinutricionais

Alguns alimentos possuem substâncias que podem interferir no sistema digestório dos animais, tornando alguns nutrientes indisponíveis para absorção, como por exemplo, o ácido oxálico, nitrito, taninos, entre outros segundo Oliveira et al. (2007), alimentos destinados aos ruminantes como milho, aveia, trigo, cevada e outros, acumulam nitratos que, quando consumidos em excesso podem causar até a morte do animal. O nitrato entra no rúmen é metabolizado para nitrito, sendo absorvido e transportado para o sangue e oxida as células carreadoras de oxigênio. O ácido oxálico no trato gastrintestinal forma cristais ao ligar-se a alguns minerais como o cálcio e ferro, interferindo assim na biodisponibilidade desses micronutrientes (Massey et al., 2001).

Nozella (2001) afirma que o conteúdo de taninos nas plantas pode variar de acordo com as condições climáticas e geográficas, possuem uma composição química variada. Tendo como efeito esses compostos a inibição da fermentação no rúmen, através da ligação a proteínas e fibras, as tornando resistentes à digestão, ou indiretamente, pela ligação com enzimas digestivas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Previamente a realização do experimento, o mesmo foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética do Uso de Animais (CEUA/UFRPE), licença número 053/2015.

O ensaio experimental foi conduzido no Setor de Caprinos e Ovinos do Departamento de Zootecnia (DZ) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), localizado no Recife – PE.

Foram utilizados 36 caprinos sem padrão racial definido (SPRD), machos, castrados, com idade média de 1 ano e peso corporal inicial (PCI) médio de $19,0 \pm 2,8$ kg, em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com três tratamentos e doze repetições. Os animais foram alojados individualmente em baias com piso suspenso de madeira ripada, com dimensões de $1,8\text{ m} \times 1,0\text{ m}$ ($1,8\text{ m}^2$), providas de comedouro e bebedouro, dispostas em aprisco de alvenaria coberto com telhas de fibrocimento.

A fração concentrada das dietas foi composta por fubá de milho, farelo de soja, ureia pecuária e mistura mineral comercial indicada para a espécie animal. A fração volumosa foi composta por palma forrageira (miúda ou orelha de elefante mexicana) e feno de capim Tifton-85 (Tabela 2).

Tabela 2. Composição nutricional dos ingredientes das dietas experimentais.

Itens	Ingredientes (g kg ⁻¹ de MS) ¹				
	Feno de Tifton 85	Palma Miúda	Palma OEM ²	Farelo de Soja	Fubá de Milho
Matéria seca (MN)	895.6	123.6	97.3	882.7	877.1
Matéria orgânica	916.1	870.6	851.0	929.6	987.7
Matéria mineral	839	129.4	149.0	70.4	12.3
Extrato etéreo	22.7	13.9	17.8	15.0	38.3
Proteína bruta	86.0	40.0	55.0	487.0	85.0
Fibra em detergente neutro _{cp} ^{**}	669.4	252.8	198.1	134.6	146.8
Carboidratos não fibrosos	138.0	563.9	580.1	293.0	717.6
Carboidratos totais	807.4	816.7	778.1	427.6	864.4
Oxalatos totais	3.80	2.91	5.77	1.88	5.59

¹g kg⁻¹ de MS: grama por quilograma de matéria seca; ²Palma OEM: palma orelha de elefante mexicana;
 *MN:matéria natural; **Fibra em detergente neutro_{cp}: fibra insolúvel em detergente neutrocorrigida para cinzas e compostos nitrogenados.

Os tratamentos experimentais constituíram-se de uma dieta base T1 (feno de capim Tifton, fubá de milho e farelo de soja) e nas quais o feno de capim Tifton(75%) foi parcialmente substituído por genótipos de palma forrageira, T2 contendo palma miúda,fubá de milho e farelo de soja e T3 palma orelha de elefante mexicana,fubá de milho e farelo de soja. As dietas foram isonitrogenadas e isoenergéticas, de modo a atender as exigências nutricionais de um caprino com peso corporal de 25 kg, visando ganhos médios diários de 200 e 150 g dia⁻¹ de acordo com as recomendações nutricionais do NRC (2007) (Tabela 3).

Tabela 3. Proporção dos ingredientes e composição nutricional das dietas experimentais.

Ingredientes	(g kg ⁻¹ de MS)*		
	Controle	Miúda	OEM**
Feno de Tifton-85	600	150	150
Palma miúda	0	450	0
Palma OEM**	0	0	450
Fubá de milho	270	271	273
Farelo de soja	110	100	100
Ureia pecuária	5	14	12
Sal mineral	15	15	15
Total	100	100	100
Composição química (g kg ⁻¹ de MS)			
Matéria seca (MN***)	890.8	234.8	190.3
Matéria orgânica	924.0	904.2	895.3
Matéria mineral	76.0	95.8	104.7
Proteína bruta	142.1	141.8	143.2
Extrato etéreo	25.6	21.5	23.4
FDNcp ¹	456.1	267.4	243.1
Carboidratos não fibrosos	300.2	473.4	485.8
Carboidratos totais	756.3	740.8	728.8
Nutrientes digestíveis totais	648.7	710.2	632.9
Oxalatos totais	4.0	3.6	4.9

*g kg⁻¹ de MS: grama por quilograma de matéria seca; **Matéria natural; ¹Níveis de garantia assegurados pelo fabricante: cálcio 240g; fósforo 71g; potássio 28,20g; magnésio 20g; enxofre 20g; cobre 0,40g; cobalto 0,03g; cromo 0,01g; ferro 0,25g; iodo 0,04g; manganês 1,35g; selênio 0,015g; zinco 1,7g; flúor máximo 0,71g; Solubilidade do fósforo em ácido cítrico a 2% (mín.) = 95%; ²Fibra insolúvel em detergente neutro corrigida para cinzas e compostos nitrogenados; ³Nutrientes digestíveis totais, Palma OEM- palma orelha de elefante mexicana.

Os genótipos de palmas forrageiras utilizados foram: miúda (*Nopaleacochenillifera* Salm Dyck) e orelha de elefante mexicana (*Opuntia stricta* Haw), oriundos dos municípios pernambucanos de Lagoa de Itaenga e Ibimirim, nessa ordem, sendo transportadas para o Recife a cada 15 dias. As palmas foram armazenadas em montes com altura inferior a 80 cm, permitindo a ventilação no interior do material. O processamento da palma foi realizado imediatamente antes de cada arraçoamento em máquina desintegradora, sendo fornecida na forma de mistura completa, para evitar a seleção de alimentos pelos animais. A cada novo lote de palma forrageira foram coletadas amostras com a finalidade de quantificar os teores de matéria seca e de proteína bruta para ajuste das rações. O feno de capim Tifton-85, o fubá de milho, o farelo de soja e os micro ingredientes foram adquiridos no comércio local.

Durante o período de adaptação os animais foram pesados, identificados com brincos, vacinados contra clostrídios, submetidos ao controle de endo e ectoparasitas e suplementados com complexo vitamínico ADE. O experimento totalizou 100 dias, sendo 30 dias destinados à adaptação dos animais às condições experimentais e 70 dias para coletas de dados. Os caprinos foram castrados no início do período de adaptação, com o auxílio de alicate emasculador (tipo *burdizzo*) utilizando previamente administração de associação anestésica com ação local.

No período de adaptação, os animais receberam ração com composição nutricional equivalente às utilizadas no experimento e foi realizada a estimativa do consumo voluntário em função das sobras referentes ao dia anterior. O arraçoamento foi realizado duas vezes ao dia (08h e 15h), na forma de ração completa, sendo 60% da dieta oferecida no turno da manhã e 40% no turno da tarde, com água sempre à disposição dos animais.

Durante todo o período experimental, alimentos e sobras foram pesados para mensuração do consumo alimentar, coletando as sobras diariamente pela manhã para monitoramento do consumo e cálculo da oferta seguinte, sendo o ajuste da quantidade de alimentos realizado a cada dois dias em função do consumo do dia anterior, permitindo-se sobras na ordem de 15% do total ofertado. O consumo de matéria seca e dos nutrientes foi calculado mediante a diferença entre as quantidades oferecidas e refugadas. Os animais foram pesados no início do experimento e a cada 21 dias para acompanhamento do desempenho produtivo.

A concentração de oxalatos nos alimentos e nas sobras foi mensurada seguindo-se a metodologia preconizada por Moir (1953).

3.1 Coleta de amostras do rúmen

Ao final do período experimental, os animais foram casualizados em uma ordem de abate, submetidos a jejum de sólidos por 16 horas e pesados para a obtenção do peso corporal ao abate (PCA). No momento do abate, os animais foram insensibilizados por atordoamento por meio de pistola com dardo cativo, suspensos pelos membros posteriores através de cordas e sangrados por quatro minutos a partir de cisão nas artérias carótidas e veias jugulares (BRASIL, 2000). Ainda suspensos, os animais foram esfolados manualmente segundo metodologia de Cezar e Sousa (2007).

Após realizada a esfola, foram removidos os componentes internos das cavidades pélvica, abdominal e torácica, sendo o estômago pesado cheio e vazio. Em seguida, foram coletados fragmentos dos sacos ruminais. Antes da fixação em formol as amostras foram lavadas com solução fisiológica a 0,9% gelada para retirada do excesso do conteúdo alimentar. Foram coletados de cada animal 6 fragmentos (1 cm^2), sendo três de cada saco do rúmen (dorsal e ventral). Objetivando evitar alterações pós-morte no material, os fragmentos foram rapidamente imersos em formol a 10% em tampão fosfato de sódio (pH 7,2) e armazenados em potes plásticos devidamente identificados.

3.2 Processamento histológico

As lâminas histológicas foram confeccionadas no Laboratório de Histologia Animal do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal (DMFA) da UFRPE. Os fragmentos, já fixados, foram clivados a tamanhos adequados ao processamento, posteriormente desidratados em álcool etílico em concentrações crescentes, diafanizados em xanol, impregnados por parafina líquida em estufa regulada à temperatura de 58°C e incluídos em parafina. Em seguida, os blocos foram cortados em micrótomo rotativo do tipo Minot da LEICA®, ajustado para 5 micrômetros (μm). Estes cortes foram então transferidos para lâminas e mantidos em estufa regulada à temperatura de 36°C, durante 24 horas, para secagem e colagem. Em sequência, os cortes foram corados pelo método de Hematoxilina-Eosina (H.E) seguindo-se o protocolo do laboratório e as lâminas foram montadas com entellan e lamínula de tamanho apropriado.

3.3 Avaliação histomorfométrica

As variáveis morfológicas avaliadas microscopicamente, em μm , foram: espessura da queratina, espessura das camadas não queratinizadas do epitélio ruminal, e espessura da túnica muscular. Para as mensurações da camada de queratina e das demais camadas do epitélio foram realizadas dez medidas em distintos campos das lâminas, por animal. Essas medidas foram efetuadas utilizando-se objetiva de 40X. O epitélio total foi calculado a partir do somatório da camada de queratina e da fração que compreende as demais camadas que formam o epitélio (camadas não queratinizadas). Para todas as avaliações, foram selecionadas as regiões mais íntegras das lâminas, sem artefatos e com estrutura morfológica preservada. A captura de imagens foi realizada com auxílio do programa LAZ EZ®1.7.0 (2009) e utilização de microscópio LEICA DM500 acoplado à câmera LEICA ICC50 HD e conectado a um computador. As medidas histomorfométricas foram realizadas com auxílio do software computacional ImageJ, na Área de Patologia Animal do Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE.

3.4 Análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), com três tratamentos e doze repetições, totalizando 36 parcelas. Os dados produtivos, metabólicos e histomorfométricos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de significância de 5%, utilizando-se o pacote estatístico do SAS (1996).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Animais que receberam a dieta controle apresentaram maior espessura da camada queratinizada e das camadas não queratinizadas do epitélio ruminal (sacos dorsais)(Figura 1), em comparação aos que receberam a dieta contendo a palma miúda, sem diferir significativamente do tratamento com palma orelha de elefante mexicana (OEM)(Tabela 4), o que pode ser explicado pelo maior consumo de oxalatos totais pelos animais submetidos as dietas controle e com palma OEM (3,35 e 3,18 g dia⁻¹, respectivamente) (Tabela 5).

Tabela 4. Variáveis histomorfométricas (μm) do epitélio ruminal de caprinos alimentados com palma forrageira.

Tratamentos					
Variável	Controle	Miúda	OEM ¹	CV ²	Valor de P
Saco Dorsal					
CQ ³	13,424a	10,387b	11,551ab	36,52	0,0029
CNQ ⁴	45,132a	36,796b	38,628ab	35,08	0,0123
ET ⁵	58,556 ^a	47,183b	50,181b	28,93	0,0010
CQ (%ET) ⁶	24,737	22,720	24,148	38,53	0,5440
CNQ (%ET) ⁷	75,263	77,280	75,852	12,06	0,5440
Saco Ventral					
CQ ³	11,658	11,115	12,479	48,46	0,5841
CNQ ⁴	38,447	33,541	33,448a	35,52	0,0684
ET ⁵	50,105	44,697	45,927	31,50	0,1270
CQ (%ET) ⁶	24,031	24,759	27,764	32,65	0,1263
CNQ (%ET) ⁷	75,969	75,241	72,236	10,91	0,1263

¹OEM: Palma forrageira orelha de elefante mexicana; ²CV: Coeficiente de variação; ³CQ: Camada de queratina; ⁴CNQ: Camadas não queratinizadas; ⁵ET: Epitélio total; ⁶CQ (%ET): Percentual de camadas queratinizadas em relação ao epitélio total; ⁷CNQ (%ET): Percentual de camadas não queratinizadas em relação ao epitélio total.

A camada de queratina configura uma importante barreira de proteção epitelial em relação a ação de agentes agressores (compostos químicos e patógenos) (BANKS, 1992). De acordo com Neiva et al. (2006) e Silva (2017), substâncias presentes nos alimentos, como os oxalatos, geram efeito abrasivo sobre a mucosa ruminal, provocando assim maior espessamento do estrato córneo ou queratinizado.

Seguindo o mesmo comportamento verificado nas camadas de queratina, a dieta controle (45,13 μ m) e com palma OEM (38,62 μ m) proporcionaram maior espessamento das camadas não queratinizadas (Figura 1) (Tabela 3), o que possivelmente representa uma tentativa do epitélio de compensar a maior barreira imposta pela camada de queratina. Segundo Banks (1992), as camadas não queratinizadas (espinhosa, granulosa e basal) são estratos metabolicamente ativos, responsáveis pela absorção e metabolização dos produtos da fermentação.

Com relação a estrutura histológica dos sacos ventrais do rúmen, não foi observada diferença significativa entre as espessuras das camadas queratinizadas, camadas não queratinizadas e epitélio total, bem como nos percentuais do estrato queratinizado e não queratinizados em relação ao epitélio total (Tabela 3). As diferenças entre o desenvolvimento do epitélio ruminal entre os sacos pode ter relação com o fato do saco dorsal sofrer maior ação dos produtos da fermentação ruminal, como os ácidos graxos voláteis ou de cadeia curta (acético, propiónico e butírico, sobretudo).

Tabela 5. Consumo de matéria seca, proteína bruta, nutrientes digestíveis totais e oxalatos totais por caprinos submetidos a dietas baseadas em palma forrageira.

Item	Tratamentos				
	Controle	Miúda	OEM ¹	CV ²	Valor de P
MS (g dia ¹) ³	704,10	603,56	668,10	22,25	0,3385
PB (g dia ¹) ⁴	104,30	88,89	97,40	21,57	0,2945
NDT (g dia ¹) ⁵	466,50	466,67	472,30	32,27	0,9953
OXALATOS (g dia ¹)	3,35	1,53	3,18	23,93	0,0000

¹OEM: Palma forrageira orelha de elefante mexicana; ²CV: Coeficiente de variação; ³MS: Matéria seca;

⁴PB: Proteína bruta; ⁵NDT: Nutrientes digestíveis.

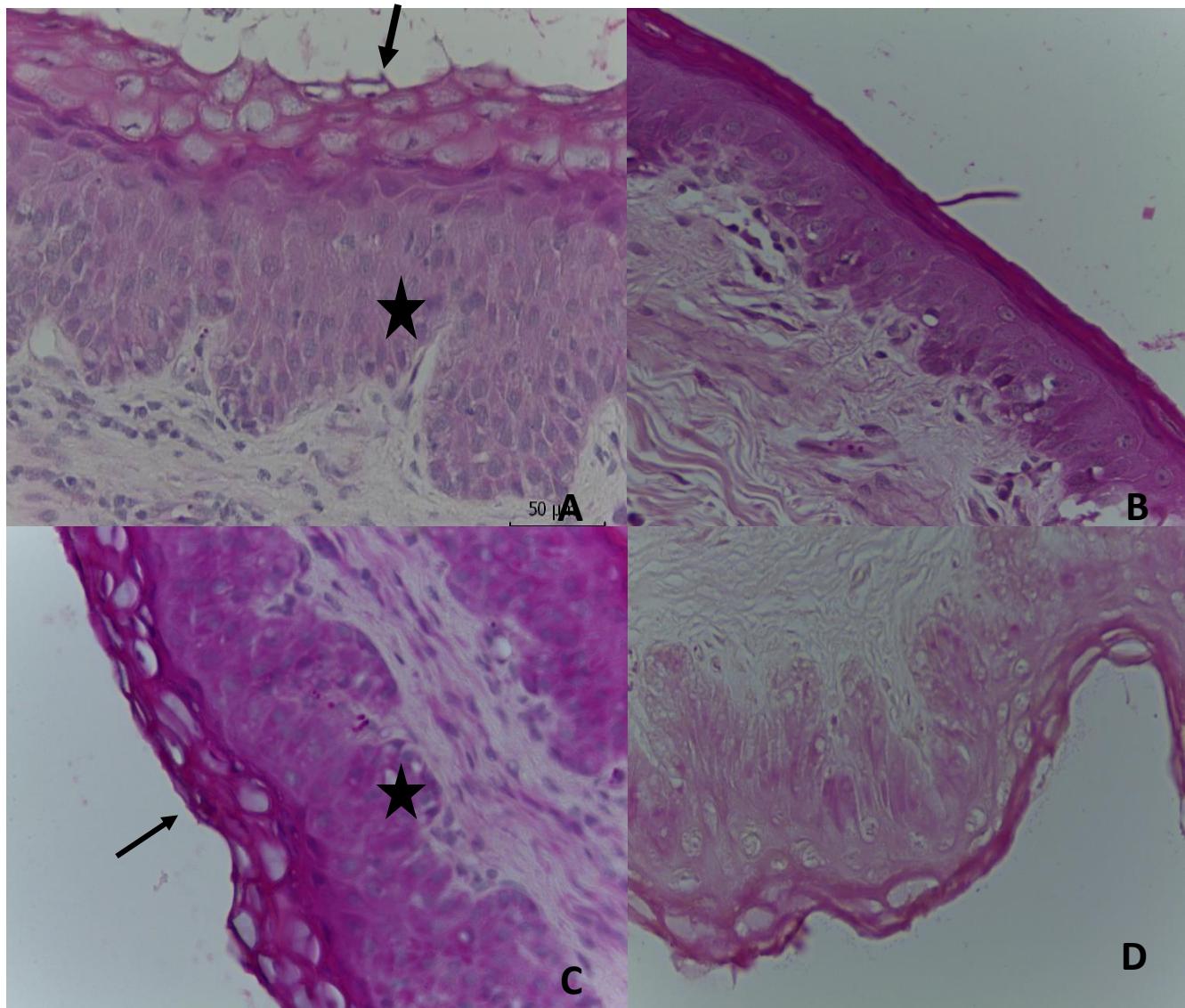


Figura 1. Fotomicrografias do epitélio ruminal de caprinos. A) tratamento controle apresentando acentuadas vacuolizações nas células da camada de queratina; B) tratamento com palma miúda apresentando poucas vacuolizações nas células da camada queratinizada; C) tratamento com palma orelha de elefante mexicana apresentando aumento na espessura das camadas não queratinizadas (estrela); D) tratamento com palma orelha de elefante mexicana apresentando acentuadas vacuolizações nas células da camada de queratina (seta) e aumento na espessura das camadas não queratinizadas (estrela); hematoxilina-eosina, 40X.

5. CONCLUSÃO

As dietas controle e com palma orelha de elefante mexicana provocam maior espessamento das camadas de queratina e camadas não queratinizadas do epitélio dos sacos dorsais do rúmen de caprinos, contudo podem ser utilizadas na alimentação de caprinos por serem boa fonte de nutrientes.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BANKS, W.J. Histologia Veterinária Aplicada. 5.ed. São Paulo: Editora Manole, 1992
629p.
- CHURCH, D. C. Fisiología Digestiva y Nutrition de los Rumiantes. Zaragoza: Acribia, 1974.
- CUNNINGHAM, J.G. Tratado de Fisiología Veterinária. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 1992.
- COSTA, Roberto Germano et.al. Características morfológicas e volumétricas do estomago de caprinos submetidos a diferentes períodos de aleitamento. **Brazilian journal of veterinary research and Animal Science**.40, n.supl.p.118-125, 2003.
- CUNNINGHAM, J.G **Tratado de fisiología veterinária**/3.ed. Rio de Janeiro:
Guanabara Koongan, 2004.
- CAVALCANTI, Carmem Valéria de Araújo et al. **Palma forrageira enriquecida com ureia em substituição ao feno de capim-tifton 85 em rações para vacas da raça Holandesa em lactação.** *R. Bras. Zootec.* [Online]. 2008, vol.37, n.4, pp.689-693.
- Dirksen, G., H.G. Liebich, G. Brosi, H. Hagemeister, and E. Mayer. 1984. **Morphologie der pansenschleimhaut und fettsäureresorption beim rind: bedeutendefaktoren für gesunkheit und leistung.** *Zentralbl. Veterinaermed.* 31:414–30.
- DUKES, H. H.; SWWNSON, M. J. Fisiología de los animales domésticos. Madrid: Aguilar, 1970. p. 1053.
- DUKES, H.H. **Fisiología dos animais domésticos**/ 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koongan, 1993.
- JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. Histología Básica. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995. KOLB, E. Fisiología Veterinária. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1984.
- LEEK, B. F. Digestão no estômago dos ruminantes. In: SWENSON, M.J.; REECE, W. O. Dukes Fisiología dos Animais Domésticos. 11.ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 1996. cap. 21, p. 353-380.

- MOIR, K.W. The determination of oxalic acid in plants. *Queensland Journal of Agricultural Science*, v.10, n.1, p.1-3, 1953.
- NEIVA, G. S. M. **Teores de ácidos graxos voláteis no líquido ruminal; histologia e histoquímica da mucosa do estômago de ovinos recebendo palma forrageira (Opuntia ficus indica Mill).** 1996. 49p. Tese de Doutorado. Dissertação de Mestrado-Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil. Orskov, ER Starchdigestionandutilization in ruminants. *J. of Animal Science*, 63: 1624-33, 1986.
- NOZELLA, E.F. Determinação de tanino em plantas com potencial forrageiro para ruminantes. 2001. 58f. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.
- OWENS, F. N.; SECRIST, D. S.; HILL, W. J.; GILL, D. R. Acidosis in cattle: a review. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 76, n. 1, p. 275-286, 1998.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requirements of small ruminants. 2007.
- RUSSEL, R. W.; GAHR, S. A. Glucose availability and associated metabolism. In: D'MELLO, J. F. P. Farm Animal Metabolism and Nutrition. Wallingford: CABI Publishing, 2000. cap. 6. P. 121-148.
- SANTOS, L.C. Desenvolvimento de papilas ruminais. PUBVET, Londrina, V.2, N.40, Art.387, Out, 2008.
- SILVA, T. G. P. da. **Histomorfometria do epitélio ruminal e reticular de ovinos alimentados com dietas baseadas em palma forrageira.** Dissertação de Mestrado-Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil. 2017.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE - SAS Institute. User'sguide: statistics Versão 612Cary: North Carolina State University 1996
- WANDERLEY, W.L.; FERREIRA, M.A.; ANDRADE, D.K.B. et al. Palma forrageira (*Opuntia ficus indica* Mill) em substituição à silagem de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) na alimentação de vacas leiteiras. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.1, p.273-281, 2002.