

EFEITO DO USO DA BETAÍNA NA BIOLOGIA E MORFOLOGIA DOS ESTÁDIOS EVOLUTIVOS DE *Eimeria acervulina* EM FRANGOS DE CORTE INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE COM OOCISTOS ESPORULADOS*

MARCEL TEIXEIRA¹; TANIA MARCIA S. NIANG²; AUGUSTO V. DA C. GOMES³; CARLOS WILSON G. LOPES⁴

ABSTRACT:- TEIXEIRA, M.; NIANG, T.M.S.; GOMES, A.V. DA C.; LOPES, C.W.G. [The effect of betain on biology and morphology of developmental stages of *Eimeria acervulina* in broiler chicks experimentally infected.] Efeito do uso da betaína na biologia e morfologia dos estádios evolutivos de *Eimeria acervulina* em frangos de corte infectados experimentalmente com oocistos esporulados. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 15, n. 4, p. 193-198, 2006. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Km 7 da BR 465, Seropédica, RJ. Brasil, 23890-000. E-mail: teixeira@ufrj.br

Purposing to investigate the betaine effect on biology and morphology of developmental stages of *Eimeria acervulina*, 420 broiler chicks Cobb were experimentally inoculated with 2×10^5 sporulated oocysts and housed in battery cages in a block design with five treatments and six replicates each, including a positive control, a group treated with salinomycin and growth promoter plus three levels of betaine as additive in the feed at 0.05, 0.10 and 0.15%. Measurements of oocysts, sporocysts and endogenous stages were performed as morphological parameters, while pre patent and patent periods and sporulation time were taken as biological parameters. Morphology was also associated with the mathematical constant Phi (1.618) to evaluate possible relationship. Betaine was able to cause modifications in both biology and morphology of oocysts and sporocysts, whereas it was weakly able to affect developmental stages based on trophozoites and macrogamonts measurements. According to the measures of sporocysts *E. acervulina* development was closely related to Phi.

KEY WORDS: Betaine, *Eimeria acervulina*, experimental infection, mathematical constant Phi.

RESUMO

Com o objetivo de se avaliar o efeito da betaína na biologia e morfologia dos estádios evolutivos de *Eimeria acervulina*, 420 pintos de corte Cobb foram inoculados experimentalmente por via oral com 2×10^5 oocistos esporulados e alocados em baterias num delineamento de blocos ao acaso com cinco tratamentos e seis repetições, incluindo-se um controle positivo, um grupo tratado com o anticoccidiano salinomicina e promotor de crescimento, e mais três níveis como aditivo na ração a

0,05, 0,10 e 0,15%. Os parâmetros morfológicos utilizados basearam-se nos oocistos, esporocistos e estádios endógenos, enquanto que os períodos pré-patente e patente mais o tempo de esporulação foram utilizados como parâmetros biológicos. Ainda a morfologia dos oocistos esporulados foi associada com a constante matemática Phi (1,618) para avaliar possíveis relações. A betaína foi capaz de causar modificações na biologia e morfologia dos oocistos e esporocistos, sendo, entretanto eficiente em afetar os estádios endógenos baseando-se nas medidas dos trofozoítos e macrogametas. De acordo com as medidas dos esporocistos o desenvolvimento de *E. acervulina* esteve fortemente relacionado com Phi.

PALAVRAS-CHAVE: Constante matemática Phi, *Eimeria acervulina*, esporocistos, estádios endógenos, infecção experimental, oocistos.

INTRODUÇÃO

A betaína é um composto químico amplamente encontrado na natureza sendo sintetizada por uma grande variedade

* Sob os auspícios do CNPq e CAPES/PROEX.

¹ Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Km 7 da BR 465, Seropédica, RJ 23890-000. Bolsista do CNPq. E-mail: teixeira@ufrj.br

² Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Km 7 da BR 465, Seropédica, RJ 23890-000.

³ Departamento de Produção Animal, Instituto de Zootecnia, UFRRJ, Seropédica, RJ 23890-000.

⁴ Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, UFRRJ, Seropédica, RJ 23890-000. E-mail: lopeschw@ufrj.br

de microrganismos e plantas (CHAMBERS; KUNIN, 1987; CAYLEY, 1992; BOHNERT, 1995; MACNEIL, 1999). Seu acúmulo nas células é capaz de conferir proteção contra o estresse osmótico por permitir a continuidade da atividade metabólica em condições que normalmente inativariam as células (PETRONINI et al., 1992; AUGUSTINE et al., 1997). Por esse motivo tem sido utilizada como aditivo na alimentação animal para minimizar o impacto causado por doenças entéricas tais como a coccidiose, melhorando o desempenho dos animais e reduzindo os efeitos adversos da infecção (VIRTANEN, 1988; REMUS, 1995; REMUS; VIRTANEN, 1996; VIRTANEN, 1996; GOLDFLUS, 1998; WALDENSTEDT, 1999; KETTUNEN, 2001; KLASING, 2002). No entanto, além da existência de resultados controversos faltam informações sobre o efeito do uso da betaína diretamente no parasito.

O presente estudo visou avaliar o efeito do uso da betaína na biologia e morfologia dos estádios evolutivos de *Eimeria acervulina* por meio da observação de alterações nos períodos parasitológicos e mensuração de oocistos, esporocistos e estádios endógenos.

MATERIALE MÉTODOS

Animais e Instalações

Foram utilizados 420 pintos de corte da linhagem comercial Cobb adquiridos no incubatório e transportados diretamente para as instalações do Departamento de Nutrição e Pastagens do Instituto de Zootecnia na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). As aves foram alojadas em baterias de metal de três andares (96x80x39cm) e distribuídas num delineamento por blocos ao acaso constituído de cinco tratamentos e seis repetições.

A dieta basal formulada de acordo as exigências nutricionais das aves de corte (ROSTAGNO et al., 2000) foi fornecida em programa de alimentação com duas fases sendo a inicial do primeiro aos 21 dias de idade e a final dos 22 aos 43 dias de idade. Água e comida foram fornecidas *ad libitum* durante todo o experimento. A suplementação de betaína (Betafin® 96% de pureza) foi feita nas duas fases em substituição ao ingrediente inerte na ração. As dietas contendo três níveis de betaína (Tratamento 3 (T3), com 0,05%; Tratamento 4 (T4), com 0,10% e Tratamento 5 (T5), com 0,15%), foram comparadas com um tratamento controle positivo (Tratamento 2 (T2), com 0% de betaína) e com outro tratamento contendo medicação anticoccidiana (Tratamento 1 (T1) com salinomicina 20.000mg/kg), promotor de crescimento (penicilina G potássica 2.000mg/kg) e 0% de betaína.

Material Infectante e Inoculação

O material infectante foi composto de oocistos de *E. acervulina* cepa Ea3LPL8a (Embrapa). Este inóculo foi preparado com o objetivo de se obter a dose infectante aproximada de 2×10^5 (duzentos mil) oocistos esporulados por cada 1ml de suspensão, considerando-se a patogenicidade da espécie e variante em questão e dose infectante média necessária para produzir infecção moderada em experimentação. Todo o prepa-

ro foi feito conforme metodologia de Ercket et al. (1999). A infecção das aves ocorreu no 14º dia de vida ou 0 DAI (dias após a infecção) individualmente com 1ml do inóculo por via oral.

Necropsia e Histologia

As necropsias foram feitas nos dias 0, 4, 7 e 14 após a infecção (DAI), utilizando-se seis aves de cada tratamento. A eutanásia das aves foi realizada de acordo com os procedimentos e métodos de eutanásia previstos na Resolução nº 714, de 20 de junho de 2002 do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CRMVRJ, 2005). Fragmentos de aproximadamente dois cm foram retirados da região duodenal do intestino de cada ave e fixados com formalina neutra (10ml aldeído fórmico 37-40% + 100ml H₂O destilada + carbonato de cálcio q.s. até precipitação) para o processamento histológico (BEHMER et al., 1976).

Preparo de Oocistos, Tempo de Esporulação e Períodos parasitológicos

Amostras de fezes de cada tratamento foram coletadas diariamente do 4º ao 14º dias após infecção (DAI) e processadas conforme Duszynski e Wilber (1990). As amostras foram avaliadas sucessivamente neste período por meio da técnica de centrifugação em solução saturada de açúcar. A cada análise o percentual de esporulação foi dado pela observação total de cem oocistos por amostra. O tempo de esporulação mínimo foi dado quando esporozoítos totalmente formados no interior dos esporocistos apareciam pela primeira vez. O tempo máximo de esporulação foi dado quando a quantidade de oocistos esporulados não mais aumentou e conseqüentemente o percentual de esporulação tornou-se estável no seu nível máximo (LONG; JOYNER, 1976). Os períodos pré-patente e patente foram determinados como base nas definições de Levine (1985).

Morfologia dos Estádios Evolutivos

O estudo morfológico dos parasitos foi realizado por meio da mensuração dos oocistos, esporocistos e formas endógenas teciduais. Para ambas as avaliações foi utilizado microscópio binocular Carl Zeiss (RFA) acoplado com ocular micrométrica K-15X PZO (Polônia). Os oocistos utilizados na mensuração foram obtidos a partir de mistura de fezes coletadas nos dias de maior eliminação. As lâminas contendo os oocistos foram examinadas em aumento de 1000x, sendo medidos 100 oocistos esporulados oriundos de cada grupo experimental. Foram consideradas as medidas dos diâmetros maior (DM) e menor (Dm) dos oocistos e diâmetros maior (dM) e menor (dm) dos esporocistos e a razão (índice morfológico-IM) entre os diâmetros. Para a mensuração das formas endógenas as lâminas de cortes histológicos foram examinadas em aumento de 400x ou 1000x. Considerando-se o período de coleta do material para a histologia, as formas endógenas medidas foram aquelas presentes em maior abundância no material, sendo os trofozoítos presentes no 4º DAI e os macrogametócitos no 7º DAI. Ao todo foram mensuradas 30 dessas formas endógenas para cada tratamento, sendo considerados os valores dos diâmetros maior e menor, e o IM dos oocistos.

Relacionando a Morfologia de *Eimeria acervulina* com Phi

Phi é uma constante matemática que representa a proporção da sucessão numérica de Fibonacci que é de aproximadamente 1,618. É considerada uma constante do crescimento (HUNTLEY, 1976) e para relacioná-la com o desenvolvimento de *E. acervulina*, os dados obtidos com a mensuração foram utilizados. Sendo assim, calculou-se a razão média de diversas medidas de oocistos e esporocistos para observar quais resultados se aproximavam da constante Phi.

Análise Estatística

A análise estatística dos dados foi realizada conforme Sampai (2002) com auxílio do programa SISVAR versão 4.6 (FERREIRA, 2000) para análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tempo de Esporulação

Os dados da análise do tempo de esporulação estão apresentados na Tabela 1 onde se observa que em todos os tratamentos o tempo de esporulação mínimo foi de aproximadamente 48 h. Embora houvesse alguma diferença no percentual de oocistos esporulados, a esporulação ocorrida até esta data foi bastante semelhante. Já, o tempo de esporulação máximo variou substancialmente entre os grupos, sendo mais curto no T3 (0,05% betaína) no 4º DAI e mais demorado no T5 (0,15% betaína) no 6º DAI. Nos demais grupos a esporulação máxima ou total foi atingida no 5º DAI.

O tempo de esporulação é considerado um importante fator para a diferenciação de espécies do gênero *Eimeria* (LONG; JOYNER, 1976), sendo rotineiramente utilizado para dar suporte ao diagnóstico de coccidiose. Embora seja característico em algumas espécies, pode variar substancialmente com a interferência de variáveis externas, tais como as variações do meio ambiente entre outros (FAYER, 1980). Graat et al. (1994) ao avaliar a esporulação de *E. acervulina* sob diferentes condições ambientais, observaram que a temperatura e a umidade relativa não foram capazes de influenciar a taxa de esporulação (%) nem o curso da esporulação, no entanto, afetaram o seu início, sendo a temperatura o fator mais importante. Diferentemente, no presente estudo foram apenas alterados os períodos finais da esporulação (T3 e T5), e sabendo-se que as condições ambientais foram idênticas para todos os grupos, pode-se descartar a hipótese de que tal alteração não ocorreu em função de temperatura e umidade.

Tabela 1. Tempo de esporulação dos oocistos por frangos de corte provenientes de infecção experimental com 2×10^5 oocistos esporulados de *Eimeria acervulina*.

Tratamentos	Esporulação/Dias após infecção		
	Mínima	Máxima	%
Salomicina	2º	5º	36
Controle positivo	2º	5º	39
Betaína (0,05%)	2º	4º	34
Betaína (0,10%)	2º	5º	41
Betaína (0,15%)	5º	6º	40

Embora uma explicação para a influência dos tratamentos na esporulação ainda não possa ser apresentado no momento, considera-se importante tal observação que na prática se traduz em influência na epidemiologia da coccidiose. Joyner e Norton (1977) e Ruff et al. (1978; 1993) ao estudar a influência de anticoccidianos no desenvolvimento dos oocistos de diversas espécies, relataram quedas expressivas na produção de oocistos e na esporulação destes. Entretanto, não existem trabalhos relacionando o uso da betaína frente à esporulação de oocistos.

Períodos Parasitológicos

Na Tabela 2 observa-se a eliminação de oocistos ocorrida nos diferentes tratamentos durante o período experimental. Nota-se que o início da eliminação ocorreu de forma igual para todos os grupos, mais precisamente começando no 4º DAI. Também de forma semelhante entre os tratamentos prolongou-se até o 20º DAI aproximando-se de zero nas contagens feitas a partir desta data. Sendo assim, pode se afirmar que de uma forma geral o período pré-patente e patente não só foi característico para *E. acervulina* em questão, como foram semelhantes entre os tratamentos, supondo não haver influência da betaína neste parâmetro.

Alterações Morfológicas dos estádios evolutivos

Os dados da morfologia dos estádios evolutivos de *E. acervulina* estão apresentados na Tabela 3. Conforme pode ser observado, a maior parte das variáveis correspondentes às fases endógenas do parasito não foi afetada significativamente pelos tratamentos, a exceção do Dm dos macrogametas

Tabela 2. Eliminação diária de oocistos por frangos de corte provenientes da infecção experimental com 2×10^5 oocistos esporulados de *Eimeria acervulina*.

Dias após infecção	Tratamentos				
	T1	T2	T3	T4	T5
0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0
4	364	384	160	504	512
5	131.000	1.480.000	86.000	750.000	710.000
6	19.000	67.700	52.700	39.900	100.000
7	2.400	15.100	18.100	5.100	29.400
8	3.400	21.000	19.000	30.000	62.700
9	5.300	27.000	4.200	16.600	21.400
10	131.000	173.000	180.000	89.000	386.000
11	267	3.067	2.334	3.400	5.867
12	2.000	10.300	7.800	9.800	15.400
13	560	21.400	5.960	1.420	10.580
14	967	1.530	800	267	200
15	120	890	160	115	510
16	133	395	28	333	890
17	13	29	125	12	12
18	46	12	37	12	50
19	42	4	12	8	8
20	12	37	21	25	1
21	1	1	1	1	1
22	1	0	0	0	1

^a T1 = Salomicina; T2 = Controle positivo; T3 = 0,05% de Betaína; T4 = 0,10% de Betaína; T5 = 0,15% de Betaína.

Tabela 3. Morfologia dos estádios evolutivos de *Eimeria acervulina* provenientes da infecção experimental com 2×10^5 oocistos esporulados em frangos de corte.

Fase Evolutiva	Diâmetros (μm) ^a		Índice Morfométrico
	Variáveis ^b		
	Maior	Menor	
Oocistos (N=100)	Tratamentos		
	T2 15,33 _{a1}	T2 11,93 _{a1}	T2 1,29 _{a1}
	T3 18,19 _{a2}	T3 13,57 _{a2}	T5 1,34 _{a2}
	T5 18,68 _{a2 a3}	T4 13,61 _{a2}	T3 1,34 _{a2}
	T4 18,69 _{a2 a3}	T5 13,97 _{a2 a3}	T1 1,35 _{a2}
	T1 19,02 _{a3}	T1 14,15 _{a3}	T4 1,38 _{a2}
Esporocistos (N=100)	Tratamentos		
	T2 6,36 _{a1}	T2 4,10 _{a1}	T3 1,58 _{a1}
	T3 7,47 _{a2}	T3 4,82 _{a2}	T2 1,59 _{a1}
	T1 7,77 _{a2 a3}	T5 4,89 _{a2}	T1 1,59 _{a1}
	T5 7,82 _{a2 a3}	T4 4,96 _{a2}	T4 1,63 _{a1}
	T4 7,97 _{a3}	T1 4,99 _{a2}	T5 1,63 _{a1}
Trofozoítos (N=30)	Tratamentos		
	T2 3,88 _{a1}	T2 3,59 _{a1}	T5 1,09 _{a1}
	T4 4,02 _{a1}	T4 3,60 _{a1}	T1 1,09 _{a1}
	T1 4,15 _{a1}	T5 3,83 _{a1}	T2 1,09 _{a1}
	T5 4,16 _{a1}	T3 3,85 _{a1}	T3 1,10 _{a1}
	T3 4,27 _{a1}	T1 3,88 _{a1}	T4 1,12 _{a1}
Macrogametas (N=30)	Tratamentos		
	T2 10,28 _{a1}	T2 8,10 _{a1}	T1 1,17 _{a1}
	T1 10,32 _{a1}	T4 8,19 _{a1}	T2 1,29 _{a1}
	T4 10,65 _{a1}	T5 8,30 _{a1 a2}	T4 1,30 _{a1}
	T3 10,89 _{a1}	T3 8,45 _{a1 a2}	T3 1,31 _{a1}
	T5 10,94 _{a1}	T1 8,96 _{a2}	T5 1,33 _{a1}

^a Valores sem subscrito comum na mesma coluna por tratamento diferem significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey, por fase evolutiva. ^b T1 = Salomicina; T2 = Controle positivo; T3 = 0,05% de Betaína; T4 = 0,10% de Betaína; T5 = 0,15% de Betaína.

do grupo T1 que foram maiores em relação aos do grupo T2 e T4. Quanto aos oocistos, estes foram afetados de diversas formas pelos tratamentos. O grupo T2 (controle positivo) teve oocistos menores ($p < 0,05$) que dos demais grupos considerando-se os diâmetros maior e menor, além de um formato mais esferoidal baseando-se no índice morfométrico. Diferentemente os oocistos do grupo T1 (Salinomicina) foram maiores ($p < 0,05$) do que dos demais grupos com uma tendência ao formato elipsoidal. Já entre os oocistos dos três grupos tratados com a betaína não foi observada nenhuma diferença seja quanto ao tamanho ou quanto ao formato. Assim como nas fases endógenas os esporocistos foram pouco afetados pelos tratamentos sendo menores ($p < 0,05$) no grupo T2 e maiores ($p < 0,05$) no grupo T4 ambos com base no diâmetro maior.

Eimeria acervulina e Phi

Conforme pode ser observado na Tabela 4, a única razão matemática que se aproxima de Phi (1,618) é aquela obtida a partir dos dM e dm dos esporocistos de *E. acervulina*, por estarem relacionados ao crescimento de uma das fases do ciclo biológico, a esporogonia. Tal fato indica, entre outros aspectos, que embora muitas variações morfológicas estivessem ocor-

Tabela 4. Valores médios obtidos de diversas variáveis da morfologia de oocistos e esporocistos de *Eimeria acervulina* e suas razões matemáticas provenientes da infecção experimental com 2×10^5 oocistos esporulados em frangos de corte por tratamento.

Variáveis ^a	Tratamentos ^b					Média geral
	T1	T2	T3	T4	T5	
DM	19,02	15,48	18,18	18,69	18,68	18,01
Dm	14,15	11,93	13,57	13,61	13,97	13,45
dM	7,77	6,36	7,47	7,97	7,82	7,48
Dm	4,98	4,10	4,82	4,96	4,89	4,75
DM/dm	1,35	1,30	1,34	1,38	1,34	1,34
dM/dm	1,59 _{a1}	1,59 _{a1}	1,58 _{a1}	1,63 _{a1}	1,63 _{a1}	1,60
DM/dM	2,51	2,51	2,47	2,38	2,43	2,46
Dm/dm	3,89	3,85	3,84	3,82	3,89	3,86
Dm/dM	1,87	1,93	1,85	1,74	1,82	1,84
Dm/dm	2,89	2,97	2,87	2,79	2,91	2,89

^a DM = Diâmetro maior do oocisto; Dm = Diâmetro menor do oocisto; dM=Diâmetro maior do esporocisto; dm=Diâmetro menor do esporocisto (μm). Em dM/dm valores sem subscrito na linha comum diferem significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey, por fase evolutiva. ^b T1 = Salomicina; T2 = Controle positivo; T3 = 0,05% de Betaína; T4 = 0,10% de Betaína; T5 = 0,15% de Betaína.

rendo na parede dos oocistos, o desenvolvimento dos esporocistos que foram formados na primeira etapa do processo de esporulação e conseqüentemente dos esporozoítos que foram formados a seguir, obedeceram a uma constante estreitamente relacionada com Phi que como visto anteriormente é uma constante do crescimento, observada em várias situações na natureza. Observa-se ainda, que esta constante não foi afetada pelos tratamentos, sugerindo que não houve interferência dos tratamentos no modo e na proporcionalidade em que os esporocistos se desenvolveram. Esta é a primeira vez que a constante de crescimento foi relacionada com o desenvolvimento de espécies do gênero *Eimeria*.

CONCLUSÕES

A betaína foi capaz de afetar parcialmente a biologia de *E. acervulina*, pois embora não tenha influenciado os períodos pré-patente e patente, afetou o tempo máximo de esporulação. Também foi capaz de afetar a morfologia dos oocistos e esporocistos de *E. acervulina*, mas exerceu pouca influência no desenvolvimento dos estádios endógenos com base na mensuração de trofozoítos e macrogametas encontrados na mucosa duodenal.

Existe uma grande relação entre a constante de crescimento Phi e o desenvolvimento exógeno de *E. acervulina*, com base no crescimento dos esporocistos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMQUIST, H.J.; GRAU, C.R. Interrelationship of methionine, choline, betaine and arsenocholine in the chick. *Journal of Nutrition*, v. 27, p. 263-269, 1943.
- AUGUSTINE, P.C.; DANFORTH, H.D. Influence of Betaine and Salinomycin on Intestinal Absorption of Methionine and Glucose and on the Ultrastructure of Intestinal Cells

- and Parasite Developmental Stages in Chicks Infected with *Eimeria acervulina*. *Avian Diseases*, v. 43, n. 1, p. 89-97, 1999.
- AUGUSTINE, P.C.; MECNAUGHTON, J.L.; VIRTANEN, E.; ROSI. Effect of betaine of the growth performance of chicks inoculated with mixed cultures of avian *Eimeria* species and on invasion and development of *Eimeria tenella* and *Eimeria acervulina* in vitro and in vivo. *Poultry Science*, v. 76, n. 6, p. 802-809, 1997.
- BEHMER, O.A.; TOLOSA, E.M.C.; NETO, A.G.F. *Manual de Técnicas para histologia normal e patológica*. São Paulo: EDART, 1976. 256 p.
- BOHNERT, H.J.; NELSON, D.E.; JENSEN, R.G. Adaptation to Environmental Stresses. *Plant Cell*, v. 7, n. 7, p. 1099-1111, 1995.
- CAYLEY, S.; LEWIS, B.A.; RECORD JR., M.T. Origins of the osmoprotective properties of betaine and proline in *Escherichia coli* K-2. *Journal of Bacteriology*, v. 174, n. 5, p. 1586-1595, 1992.
- CHAMBERS, S.T.; KUNIN, C.M. Osmoprotective activity for *Escherichia coli* in mammalian renal inner medulla and urine. *Journal of Clinical Investigation*, v. 80, n. 5, p. 1255-1260, 1987.
- CRMV-RJ. Resoluções. Disponível em: <<http://www.crmvrj.com.br/legisla/texto/res714.htm>>. Acesso em 22 jul. 2005.
- DUSZYNSKI, D.W.; WILBER, P.G. A guideline for the preparation of species descriptions in the Eimeriidae. *Journal of Parasitology*, v. 83, n. 2, p. 333-336, 1997.
- ECKERT, J.; BRAUN, R.; SHIRLEY, M. W.; COUDERT, P. *COST 89/820. Biotechnology: Guidelines on techniques in coccidiosis research*. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities, 1995. 300p.
- FAYER, R. Epidemiology of protozoan infections: the coccidia. *Veterinary Parasitology*, v. 6, n. 1-3, p. 75-103, 1980.
- FERREIRA, D.F. *Manual do Sistema Sisvar para Análises Estatísticas*. Lavras: UFLA, 2000. 63p.
- FETTERER, R.H.; AUGUSTINE, P.C.; ALLEN, P.C. BARFIELD, R.C. The effect of dietary betaine on intestinal and plasma levels of betaine in uninfected and coccidian-infected broiler chicks. *Parasitology Research*, v. 90, n. 4, p. 343-348, 2003.
- FONDACARO, J.D. Intestinal ion transport and diarrheal disease. *American Journal of Physiology*, v. 250, n. 1, p. 1-8, 1986.
- GOLDFLUS, F. Aplicação de Betaina em Dietas de Frangos de Corte. In: SEMINÁRIO TÉCNICO FINNFEEDS, Campinas, 1998. *Anais...* Campinas: APINCO. 1998. p. 21-26.
- GRAAT, E.A.M.; HENKEN, A.M.; PLOEGER, H. W.; NOORDHUTZEN, J.P.T.M.; VERTOMMEN, M.H. Rate and course of sporulation of oocysts of *Eimeria acervulina* under different environmental conditions. *Parasitology*, v. 108, n. 5, p. 497-502, 1994.
- HUNTLEY, H.E. *A Divina Proporção: Um ensaio sobre a beleza na matemática*. Brasília: Editora UnB, 1985. 178p.
- JOYNER, L.P.; NORTON, C.C. The anticoccidial effects of amprolium, dinitolmide and monensin against *Eimeria maxima*, *E. brunetti* and *E. acervulina* with particular reference to oocyst sporulation. *Parasitology*, v. 75, n. 2, p. 155-164, 1977.
- KETTUNEN, H.; PEURANEM, S.; TIHONEN, K. Betaine aids in the osmoregulation of duodenal epithelium of broiler chicks, and affects the movement of water across the small intestinal epithelium in vitro. *Comparative Biochemistry and Physiology*, v. 129, n. 2, p. 595-603, 2001.
- KLASING, K.C.; ADLER, K.L.; REMUS, J.C.; CALVERT, C.C. Dietary betaine increases intraepithelial Lymphocytes in the duodenum of coccidia-infected chicks and increases functional properties. *Journal of Nutrition*, v. 132, n. 8, p. 2274-2282, 2002.
- KOVEIT, A.J. Effect on mortality of semipurified diets versus natural feedstuffs fed to chickens infected with *Eimeria tenella*. *Avian Diseases*, v. 13, p. 288-296, 1969.
- LEVINE, N.D. *Veterinary Protozoology*. 1st Ed. Ames: Iowa State University Press, 1985. 414p.
- LONG, P.L.; JOYNER, L.P.; MILLARD, B.J.; NORTON, C.C. A guide to laboratory techniques used in the study and diagnosis of avian coccidiosis. *Folia Veterinaria Latina*, v. 6, n. 3, p. 201-216, 1976.
- LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. *Journal of Biological Chemistry*, v. 193, n. 1, p. 256-275, 1951.
- MACNEIL, S.D.; NUCCIO, M.L.; HANSON, A.D. Betaine and related osmoprotectants. Targets for metabolic engineering or stress resistance. *Plant Physiology*, v. 120, n. 4, p. 945-949, 1999.
- MATTHEWS, J.O.; SOUTHERN, L.L. The effect of dietary betaine in *Eimeria acervulina*-infected chicks. *Poultry Science*, v. 79, n. 1, p. 60-65, 2000.
- MATTHEWS, J.O.; WARD, T.L.; SOUTHERN, L.L. Interactive Effects of Betaine and Monensin in Uninfected and *Eimeria acervulina*-infected Chicks. *Poultry Science*, v. 76, n. 7, p. 1014-1019, 1997.
- MENEZES, R.C.A.; LOPES, C.W.G. Epizootiologia da *Eimeria arloingi* em caprinos na microrregião Serrana Fluminense, Rio de Janeiro, Brasil. *Revista da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, série Ciências da Vida*, v. 17, n. 1, p. 5-12, 1995.
- NIANG, T.M.S. *Suplementação da Betaina e o Desenvolvimento e Características da Carcaça, Digestibilidade da Ração e o Desenvolvimento do Intestino Delgado de Frangos de Corte Infectados por Eimeria acervulina*. 2005, 78f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2005.
- PEREIRA, M.J.S.; FONSECA, A.H.; LOPES, C.W.G. Regressão linear na caracterização de variações morfométricas em coccidia. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 10, n. 2, p. 75-78, 2001.
- PETRONINI, P.G.; DE ANGELIS, E.; BORGHETTI, A.F.; WHEELER, K.P. Modulation by betaine of cellular responses to osmotic stress. *Biochemistry Journal*, v. 282, n. 1, p. 69-73, 1992.

- REID, W.M. Relative Value of Oocysts Counts in Evaluating Anticoccidial Activity. *Avian Diseases*, v. 19, n. 4, p. 803-811, 1975.
- REMUS, J.; VIRTANEN, E. Use of liquid betaine in low methionine diets for broilers. *Poultry Science*, v. 75, (supl.), p. 35, 1996.
- REMUS, J.C.; VIRTANEN, E.; ROSI, L.; MACNAUGHTON, J. Effect of betaine on nutrient utilization of 21-day-old broilers during coccidiosis. In: CONFERENCE ON POULTRY NUTRITION, 10, 1995. Antalya, Turkey. *Proceedings of the Tenth World's Poultry Science Association*, Oxfordshire, UK: WORLD'S POULTRY SCIENCE ASSOCIATION, 1995. p. 371-372.
- ROSTAGNO, H.S.; SILVA, D.J.; COSTA, P.M.A.; FONSECA, J.B.; SOARES, P.R.; PEREIRA, J.A.A.; SILVA, M.A. *Composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos (Tabelas Brasileiras)*. Viçosa: Imprensa Universitária da UFV, 2000. 69p.
- RUFF M.D.; ANDERSON, W.I.; REID, W.M. Effect of the anticoccidial arprinocid on production, sporulation, and infectivity of *Eimeria* oocysts. *Journal of Parasitology*, v. 64, n. 2, p. 306-311, 1978.
- RUFF, M.D.; ALLEN, P.C.; CHUTE, M.B. Composition of heart, liver, and skeletal muscle from broilers with coccidiosis. *Poultry Science*, v. 60, n. 8, p. 1807-1811, 1981.
- RUFF M. D.; GARCIA, R.; CHUTE, M. B.; TAMAS, T. Effect of amprolium on production, sporulation, and infectivity of *Eimeria* oocysts. *Avian Diseases*, v. 37, n. 4, p. 988-992, 1993.
- SAMPAIO, I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. 2ª Ed. Belo Horizonte: Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2002. 265p.
- VIRTANEN, E.; JUNNILA, M.; SOIVIO, A. Effects of food containing betaine/amino acid additive on the adaptation of young Atlantic salmo salar L. *Aquaculture*, v. 83, p. 109-122, 1988.
- VIRTANEN, E.; REMUS, J.; ROSI, L.; MCNAUGHTON, J.; AUGUSTINE, P. The effect of betaine and salinomycin during coccidiosis in broilers. *Poultry Science*, v. 75, (supl.), p. 149, 1996.
- WALDENSTEDT, L.; ELWINGER, K.; THEBO, P.; UGGLA, A. Effect of betaine supplement on broiler performance during an experimental coccidial infection. *Poultry Science*, v. 78, n. 2, 182-189, 1999.

Recebido em 20 de junho de 2006.

Aceito para publicação em 10 de outubro de 2006.