

**ALIMENTOS FUNCIONAIS ATENUAM OS EFEITOS TÓXICOS Á EXPOSIÇÃO
CRÔNICA DA FUMAÇA DO CIGARRO NOS TESTICULOS E EPIDIDIMO DE
RATOS**

ADRIANO FALVO

**ALIMENTOS FUNCIONAIS ATENUAM OS EFEITOS TÓXICOS Á EXPOSIÇÃO
CRÔNICA DA FUMAÇA DO CIGARRO NOS TESTICULOS E EPIDIDIMO DE
RATOS**

ADRIANO FALVO

Defesa de Dissertação apresentada a
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-
Graduação, Universidade do Oeste
Paulista, como parte dos requisitos para
obtenção do título de Mestrado – Área
de concentração: Fisiopatologia Animal.

Orientador: Hermann Bremer Neto

636.085 21 Falvo, Adriano.

F197a

Alimentos funcionais atenuam os efeitos tóxicos à exposição crônica da fumaça do cigarro nos testículos e epidídimo de ratos / Adriano Falvo – Presidente Prudente, 2017.

38 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente Prudente, SP, 2017.

Bibliografia.

Orientador: Hermann Bremer Neto.

1. Prebióticos. 2. Probióticos 3. Título.

ADRIANO FALVO

**ALIMENTOS FUNCIONAIS ATENUAM OS EFEITOS TÓXICOS Á EXPOSIÇÃO
CRÔNICA DA FUMAÇA DO CIGARRO NOS TESTICULOS E EPIDIDIMO DE
RATOS**

Dissertação apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestrado - Área de Concentração: Fisiopatologia Animal.

Presidente Prudente, 28 de junho de 2017.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Hermann Bremer Neto
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente - SP

Profa. Dra Amouni Mohmoud Mourad
Universidade Presbiteriana Mackenzie
São Paulo - SP

Profa. Dra Inês Cristina Giometti
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente – SP

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus que sempre se fez presente realizando coisas que muitas vezes eram impossíveis e me fez chegar até aqui. Também ofereço este trabalho a minha esposa Eliane e filha Mariana, que muitas vezes deixaram seus sonhos de lado para que o meu se realizasse, tomaram minhas preocupações pra si e lutaram da forma que podiam para me ajudar, agradeço a vocês pelo amor e carinho para mim dedicado, pois vocês são a minha base. Aos meus amigos de trabalho Marcelo e Edilaine que assumiram minhas responsabilidades e permitiram que pudesse me ausentar para conquista desse titulo e principalmente ao meu orientador Prof. Dr. Hermann por toda paciência e ajuda desprendida durante esse tempo. Obrigado por tudo!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois ele é a razão de ter chegado até aqui.

Aos meus pais, pois foram eles que sempre motivaram o meu crescimento. À minha esposa e filha porque estiveram ao meu lado nas horas difíceis ajudando nessa caminhada.

E ao meu orientador Prof. Dr. Hermann Bremer Neto que me ajudou muito e me fez crescer profissionalmente.

*“Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades,
lembrai-vos de que as grandes coisas do homem
foram conquistadas do que parecia impossível.”*

(Charles Chaplin)

RESUMO

Alimentos Funcionais Atenuam os Efeitos Tóxicos à Exposição Crônica da Fumaça do Cigarro nos Testículos e Epidídimo de Ratos

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), o cigarro é responsável por 5 milhões de mortes anuais. A fumaça do cigarro causa efeitos maléficos em muitos outros sistemas, incluindo entre eles o sistema reprodutor masculino e alimentos funcionais podem atenuar os efeitos tóxicos do tabagismo. O objetivo do presente estudo foi o investigar os possíveis efeitos atenuadores da suplementação oral do prebiótico, probiótico e simbiótico sobre o testículo e epidídimo de ratos em fase de crescimento expostos à fumaça de cigarro. Para realização do presente estudo, foram utilizados 72 ratos machos, divididos aleatoriamente em oito grupos: controle; probiótico; prebiótico (MOS); Simbiótico; Controle Tabagista; Prebiótico Tabagista; Probiótico Tabagista; e Simbiótico Tabagista. Os animais dos grupos tabagistas foram expostos a fumaça de cigarro por uma hora diária, divididos em dois períodos de 30 minutos, cinco dias por semana. Após o período experimental, os animais foram anestesiados, sacrificados, os testículos e epidídimos foram retirados. As lesões microscópicas foram analisadas por meio do teste do qui-quadrado, teste exato de Fisher ou teste G a 5% de significância. Os resultados revelaram que os grupos tabagistas apresentaram uma maior prevalência de lesões nos testículos e epidídimo, quando comparados com os grupos controle. Os alimentos funcionais, prebiótico, probiótico e simbiótico, atenuaram os efeitos nocivos da exposição crônica a fumaça do cigarro no testículo e epidídimo. Os resultados obtidos nos permitem afirmar que os alimentos funcionais, probiótico, prebiótico e simbiótico, podem atenuar os efeitos crônicos nocivos do tabagismo passivo no testículo e epidídimo de ratos na fase de crescimento.

Palavras-chave: Alimentos funcionais. Prebióticos. Probióticos. Simbióticos.

ABSTRACT

Functional Foods Attenuate Toxic Effects to Chronic Exposure of Cigarette Smoke in Testis and Epididymis of Rats

According to the World Health Organization (WHO), cigarette smoking accounts for 5 million annual deaths. Cigarette smoke causes malevolent effects in many other systems, including the male reproductive system and functional foods that may mitigate the toxic effects of cigarette smoking. The objective of the present study was to investigate the possible attenuating effects of prebiotic, probiotic and symbiotic oral supplementation on the testis and epididymis of growing rats exposed to cigarette smoke. To perform the present study, 72 male rats were randomly divided into eight groups: control; probiotic; Prebiotic (MOS); Symbiotic; Smoking Control; Prebiotic Tobacco; Probiotic Smoking; And Smoking Symbiotic. The animals in the smoking groups were exposed to cigarette smoke for one hour daily, divided into two 30-minute periods, five days a week. After the experimental period, the animals were anesthetized, sacrificed, the testes and epididymides were removed. Microscopic lesions were analyzed using the chi-square test, Fisher's exact test or G test at 5% significance. The results showed that the smoking groups had a higher prevalence of lesions in the testes and epididymis when compared to the control groups. Functional, prebiotic, probiotic, and symbiotic foods attenuated the harmful effects of chronic exposure to cigarette smoke in the testis and epididymis. The results allow us to state that functional, probiotic, prebiotic and symbiotic foods can attenuate the chronic harmful effects of passive smoking on the testis and epididymis of rats during the growth phase.

Keywords: Functional food. Prebiotics. Probiotics. Symbiotics.

SUMÁRIO

1 ARTIGO.....	09
ANEXO 1 - APROVAÇÃO ÉTICA.....	26
ANEXO 2 - NORMAS DA REVISTA SEMINA: CIÊNCIAS AGRÁRIAS.....	28

1 ARTIGO

Alimentos funcionais atenuam os efeitos tóxicos á exposição crônica da fumaça do cigarro nos testículos e epidídimo de ratos

Adriano Falvo¹; Amanda Dias Geraldo², Thiele Veiga Lima³, Natalia Castelo de Oliveira Rodrigues³, Ana Paula Alves Favareto³; Inês Cristian Giometti¹, Hermann Bremer Neto¹

1 Departamento em Ciências Funcionais, Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, SP, Brasil.

2 Curso de Fisioterapia, Universidade do Oeste Paulista, Presidente, SP, Brasil.

3 Curso de Ciências Biológicas, Universidade do Oeste Paulista, SP, Brasil.

Resumo

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), o cigarro é responsável por 5 milhões de mortes anuais. A fumaça do cigarro causa efeitos maléficos em muitos outros sistemas, incluindo entre eles o sistema reprodutor masculino e alimentos funcionais podem atenuar os efeitos tóxicos do tabagismo. **Objetivo:** O objetivo do presente estudo foi o investigar os possíveis efeitos atenuadores da suplementação oral do prebiótico, probiótico e simbiótico sobre o testículo e epidídimo de ratos em fase de crescimento expostos à fumaça de cigarro. **Métodos:** Para realização do presente estudo, foram utilizados 72 ratos machos, divididos aleatoriamente em oito grupos: controle; probiótico; prebiótico (MOS); Simbiótico; Controle Tabagista; Prebiótico Tabagista; Probiótico Tabagista; e Simbiótico Tabagista. Os animais dos grupos tabagistas foram expostos a fumaça de cigarro por uma hora diária, divididos em dois períodos de 30 minutos, cinco dias por semana. Após o período experimental, os animais foram anestesiados, sacrificados, os testículos e epidídimos foram retirados.. **Resultados:** Os resultados revelaram que os grupos tabagistas apresentaram uma maior prevalência de lesões nos testículos e epidídimo, quando comparados com os grupos controle. Os alimentos funcionais, prebiótico, probiótico e simbiótico, atenuam os efeitos nocivos da exposição crônica a fumaça do cigarro no testículo e epidídimo. **Conclusão:** Os resultados obtidos nos permitem afirmar que os alimentos funcionais, probiótico, prebiótico e simbiótico, podem atenuar os efeitos crônicos nocivos do tabagismo passivo no testículo e epidídimo de ratos na fase de crescimento.

Palavras-chave: Alimentos funcionais. Prebióticos. Probióticos. Simbióticos.

Introdução

O tabagismo é um grave problema de saúde pública e segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), neste século o cigarro já é responsável por cinco milhões de mortes anuais, sendo 3,5 milhões nos países em desenvolvimento e 1,5 milhões em países desenvolvidos, levando a óbito um em cada 10 adultos (Coelho and others 2012). A previsão, se nada for feito, é de que, em 2030, este número aumentará para oito milhões de pessoas em todo o mundo (Clara and others 2016).

De forma ativa ou passiva a inalação da fumaça do cigarro leva à absorção de várias substâncias, tais como: nicotina, nitrosaminas, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, cádmio, amônia, monóxido de carbono, que chegam à circulação sistêmica através dos vasos pulmonares (Zavos and Zarmakoupis-Zavos 1999). O tabagismo passivo pode conter seis vezes mais nicotina, quatro vezes mais alcatrão, sete vezes mais monóxido de carbono, setenta e três vezes mais amônia e cinquenta vezes mais compostos cancerígenos que o tabagismo ativo (Coelho and others 2012).

O tabagismo passivo causa efeitos maléficos em vários sistemas, incluindo o sistema reprodutor masculino humano e animal (Colagar and others 2007). Os efeitos danosos acontecem em decorrência dos gases emitidos, pois muitos dos quais são oxidantes, desta forma o contato com a fumaça do cigarro leva ao aumento da produção de espécies reativas de oxigênio e por consequência eleva a produção de radicais livres, que se acumulam e são encontrados em todos os sistemas biológicos (Yildirim and others 2011).

Alguns dos componentes do cigarro e/ou seus metabólitos podem ser detectados no plasma seminal, indicando que estes compostos podem atravessar a barreira hematotesticular e atingir diretamente as células germinativas em maturação e o espermatozoide (Hassan and others 2009). Desta forma, roedores expostos ao cigarro podem apresentar atrofia de túbulos seminíferos, degeneração de células germinativas e de células de Leydig, redução de espermatozoides no epidídimo, redução da motilidade espermática e da integridade do DNA/cromatina espermática, sendo que estas alterações são dependentes do tempo de exposição e concentração da fumaça do cigarro (Calogero and others 2009; La Maestra and others 2014).

Atualmente, tem merecido atenção a ação de alguns suplementos alimentares, que podem ter efeitos benéficos quando consumidos na quantidade e frequência adequadas e são chamados de alimentos funcionais. Dentre os suplementos, alguns microrganismos vivos podem ser usados com fins preventivos e terapêuticos, competindo pela colonização da mucosa intestinal e produzindo substâncias bacteriostáticas, assim como estimulando a proliferação de bactérias benéficas e reforçando os mecanismos de defesa do hospedeiro (Moraes and Colla 2006) e são denominados como probióticos. Os probióticos mais usados são as bactérias lactoacidófilas dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (Williams 2010).

Outro alimento funcional, o prebiótico, possui propriedades benéficas para a saúde ao estimular seletivamente o crescimento ou a atividade de determinados microrganismos da microbiota intestinal e é

composto de ingredientes que são indigeríveis pelo trato gastrointestinal (Gibson and Roberfroid 1995; Flesch and others 2014). Um exemplo de prebióticos é o mananoligosacárideo (MOS), um tipo de sacarídeo derivado da parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae* (Mewes and others 1997).

O simbiótico é um alimento funcional formado pela associação de um ou mais microrganismos probióticos e prebiótico e que podem trazer os benefícios à saúde do hospedeiro de ambos os alimentos funcionais. Além disso, os simbióticos aumentam a resistência das cepas contra patógenos, devido ao aumento dos linfócitos circulantes e citocinas que estimulam a fagocitose, otimizando, assim, o sistema imunológico intestinal, favorecendo o controle da microbiota e diminuindo a incidência de infecções (Bengmark and Ortiz de Urbina 2005; Flesch and others 2014).

A microbiota constitui um fator chave no desenvolvimento e regulação da imunidade, digestão, absorção de nutrientes e o metabolismo e pode ser modulada por substâncias bioativas, como prebióticos, probióticos ou simbióticos, contribuindo significativamente para a barreira que impede que bactérias patogênicas que colonizam o trato gastro intestinal (de Vrese and Schrezenmeir 2008).

A exposição crônica à fumaça de cigarro tem sido relatada como prejudicial aos parâmetros reprodutivos (Sankako and others 2013), porém, não foi observado estudo avaliando os efeitos dos alimentos funcionais, probiótico, prebiótico e simbiótico sobre os órgãos reprodutores masculinos e sua associação com a histopatologia, dinâmica da espermatogênese e dimensão fractal em ratos machos expostos cronicamente à fumaça de cigarro. Portanto, o objetivo do presente estudo foi o de avaliar o efeito dos alimentos funcionais, prebiótico, probiótico e simbiótico nos testículos e epidídimos de ratos machos na fase de crescimento e submetidos à exposição crônica à fumaça de cigarro.

Materiais e métodos

Animais

A experimentação com os ratos e todos os procedimentos no presente estudo foi realizada de acordo com as diretrizes experimentais de animais (CEUA nº 2470/2015) da Universidade do Oeste Paulista, Estado de São Paulo, Brasil.

Ratos e delineamento experimental

Um total de 72 ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) jovens, 23 dias e $46,33 \pm 2,6$ g de massa corporal, foram randomicamente distribuídos em oito grupos (n=8): Controle [ração padrão (Supralab Especial, Alisul, RS, Brasil)]; Probiótico [ração padrão + 2g de probióticos (*Lactobacillus acidophilus*, $1,0 \times 10^9$ de Unidades Formadoras de Colônias - UFC); *Enterococcus faecium* $2,1 \times 10^9$ UFC; *Bacillus subtilis* $2,9 \times 10^9$ UFC; e *Bifidobacterium bifidum* $2,0 \times 10^9$ UFC por kg de produto)]; Prebiótico [ração padrão + 1g de mananoligosacárideo - MOS (fração activa, α -1,3 e α -1,6 derivada de um mananoligosacárideo, apresentando 30% de α -mananos, derivados de cepa de levedura *Saccharomyces cerevisiae*)]; Simbiótico

(ração padrão + 2 g Probióticos + 1 g Prebiótico); Controle Tabagista: [ração padrão + tabagismo (exposição por 1 hora diária a fumaça de cigarro - Tabacalera del Este S.A. - Paraguai)]; Probiótico Tabagista: ração padrão + 2 g probiótico + tabagismo; Prebiótico tabagista: ração padrão + 1g prebiótico + tabagismo; Simbiótico: ração padrão + 2 g probiótico + 1 g prebiótico + tabagismo.

Protocolo de exposição à fumaça do cigarro e sacrifício

Período de adaptação: os animais foram expostos à fumaça do cigarro numa câmara hermeticamente fechada e com temperatura controlada de 22°C, por um período de 10 minutos, uma vez ao dia, durante cinco dias. A concentração média ajustada foi de 350 partes por milhão (ppm) durante o período de exposição de monóxido de carbono (CO), medido através de um detector de gás específico, modelo TxiPro®, da Biosystems.

Período experimental: teve duração de 180 dias onde os animais foram expostos à fumaça de cigarro por 60 minutos diários, 30 minutos no período da manhã e 30 minutos no período da tarde nas mesmas concentrações de CO, cinco dias por semana (Mello and others 2006; Cendon Filha 1994).

Aos 180 dias do período experimental, todos os animais foram pesados, anestesiados com tiopental 100 mg/mL (Thiopentax, Cristália – Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda – Brasil), com uma dosagem de 50 mg/Kg da massa corporal, por via intraperitoneal e foi realizada a eutanásia dos mesmos por exsanguinação (Baumans and others 1996).

Processamento histológico

As amostras do testículo e epidídimo esquerdo dos animais foram obtidas com abertura por incisão da parede abdomino-pélvica e após excisão foram fixados em solução de Davidson e em seguida imersos em solução de etanol a 70%. A seguir, procedeu-se às etapas relacionadas ao processamento com desidratação e inclusão em parafina, coloração pela técnica hematoxilina-eosina (HE), para evidenciar os componentes teciduais e exame em microscópio de luz (Leica, modelo DM750, Alemanha). As 72 lâminas, sendo uma por animal, foram analisadas e documentadas fotograficamente.

Análise histopatológica

Testículo

Foram avaliados os seguintes parâmetros: degeneração do epitélio germinativo; necrose do epitélio germinativo; contração tubular; hiperplasia de células intersticiais; dilatação tubular e atrofia de células intersticiais.

Epidídimo

Foram avaliados os seguintes parâmetros: degeneração do epitélio (vacolar); necrose do epitélio; contração dos ductos; hiperplasia epitelial e epididimite.

As células cancerígenas do testículo e epidídimo analisadas foram: seminoma; sertolioma e leidgocitoma.

Todas as análises histopatológicas foram descritas em escores: 0: ausência de alteração; 1: alteração leve; 2: alteração moderada; e 3: alteração acentuada. Ressaltando que as alterações foram consideradas leves quando apareciam em até três campos, as alterações moderadas estavam presentes em quatro a seis campos e as alterações acentuadas estavam presentes em mais de seis campos microscópicos em objetiva 40x por todo corte histológico (Lima and others 2012).

Avaliação da dinâmica da espermatogênese

Foram analisadas 100 secções transversais de túbulos seminíferos por animal, de forma aleatória, os quais apresentavam forma mais regular e circular possível, e foram classificadas em quatro categorias, de acordo com o tipo de célula germinativa presente: estádios I-VI (uma geração de espermátide), VII-VIII (espermatozoides), IX-XIII (duas gerações de espermátides) e XIV (espermatócitos secundários) do ciclo do epitélio seminífero (Leblond and Clermont 1952), utilizando um microscópio de luz (Leica, modelo DM 750, - Alemanha) com uma ampliação de x200.

Análise da dimensão fractal

Para análise da dimensão fractal do testículo, as lâminas histológicas, uma por animal, foram fotografadas com o microscópio óptico (Leica, modelo DM 750, - Alemanha), foram binarizadas para leitura pelo método *box-counting*, por meio do software image J (Instituto Nacional de Saúde, Estados Unidos – NIH), disponível gratuitamente na internet (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>) (Oliveira and others 2014). O software considera o *box-counting* em duas dimensões, assim permite a quantificação da distribuição de pixels nesse espaço, não considerando, portanto, a textura da imagem. A influência disso é que duas imagens com a mesma distribuição dos pixels, uma binarizada e outra em nível de cinza, possuem a mesma dimensão fractal. Dessa forma, a análise das lâminas histológicas fractais baseia-se na relação entre a resolução e a escala avaliada, e o resultado pode ser quantitativamente expresso como a dimensão fractal do objeto que é $DF = (\log Nr / \log r - 1)$, sendo Nr a quantidade de elementos iguais necessários para preencher o objeto original e r a escala aplicada ao objeto (Ozaki and others 2015). Com isso, a dimensão fractal calculada com o software imagem J ficará sempre entre 0 e 2, não distinguindo texturas diferentes (Figura1).

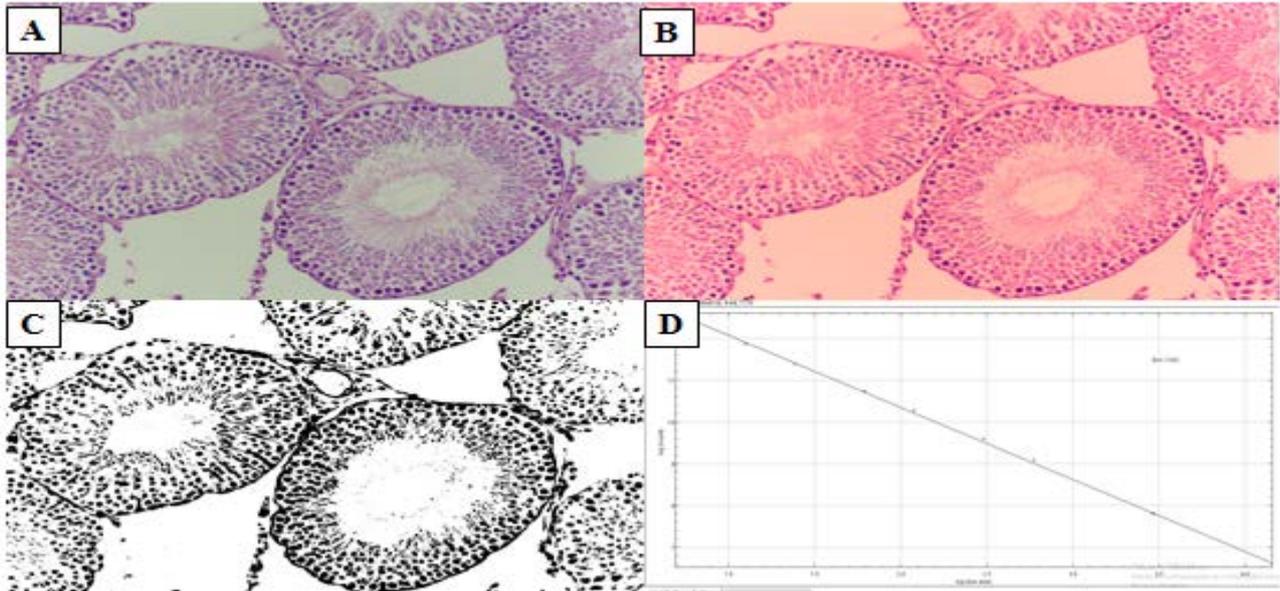


Figura 1 – A) Corte histológico do testículo direito corados em Hematoxilina e Eosina (HE), aumento 40x. B) Processo de binarização. C) Imagem de HE após o processo de binarização. Observam-se os núcleos celulares em preto e todo o restante da célula, em branco. D) Regressão linear pela sobreposição de quadrados (N) de lados (r) progressivamente menores, sendo N_r a quantidade de quadrados de lado r necessários para cobrir a imagem, a cada tamanho escolhido. A dimensão fractal é a inclinação da linha de regressão dos valores dos dois log.

Análise estatística

As médias dos parâmetros fisiológicos correspondentes ao peso corporal inicial (g), peso corporal final (g), consumo médio diário de água (mL/dia) e consumo médio diário de ração (g/dia) foram analisados pelo teste de Shapiro-Wilk para análise da normalidade dos dados. Foi utilizada ANOVA one way, seguido do teste de Tukey, para comparação entre médias. As alterações histopatológicas foram analisadas estatisticamente por meio do teste exato de Fisher. Os resultados da dinâmica da espermatogênese em relação aos estádios foram comparados entre os tratamentos pelo teste de Kruskal-Wallis, com o teste “a posteriori” de Dunn. Os resultados da dimensão fractal foram analisados por meio de ANOVA, seguida pelo teste de Tukey. A normalidade dos dados foi avaliada por meio do teste de Cramer Mises e a homocedasticidade por meio do teste de Levene. Foi considerado como nível de significância estatística o limite de 5%. As análises estatísticas foram realizadas no programa BioEstat 5.3.

Resultados e discussão

A sobrevivência dos ratos em fase de crescimento não diminuiu com a exposição crônica, 180 dias, ao tabagismo passivo, bem como não foram observadas quaisquer alterações anormais, físicas ou comportamentais, ao longo do período experimental. Os resultados do peso corporal inicial mostraram não existir diferença significativa entre os tratamentos, o que demonstra a homogeneidade dos animais (Tabela 1).

Observamos menor média do peso corporal dos animais expostos por 180 dias a fumaça do cigarro, quando comparado à média dos resultados do grupo de ratos não tabagistas (Tabela 1), o que também foi observado em outros estudos utilizando roedores como modelo experimental e expostos cronicamente à nicotina (Schechter and Cook 1976; McNair and Bryson 1983; Grunberg and others 1984, 1986; Wager-Srdar and others 1984). Talvez essa diminuição do peso corporal possa ser devida a presença da nicotina na fumaça do cigarro, aumentando o gasto energético (Hofstetter and others 1986) ou reduzindo o apetite (Williamson and others 1991). A média do consumo de ração e água não diferiram entre os grupos fumantes e não fumante, reforçando a hipótese de que a provável perda de peso do grupo controle fumante seja o aumento do gasto energético devido à presença da nicotina e não a perda de apetite.

Tabela 1 – Parâmetros nutricionais e fisiológicos em ratos Wistar expostos passivamente a fumaça passiva do cigarro e suplementados ou não com probiótico, prebiótico e ou simbiótico, por um período de 180 dias.

Parâmetros	Tratamentos							
	Não Tabagistas				Tabagistas			
	C	PRO	PRE	SIM	C	PRO	PRE	SIM
Peso Corporal Inicial (g)	46,6 ± 2,4	46,0 ± 2,6	46,1 ± 2,4	46,6 ± 1,9	46,2 ± 2,5	46,4 ± 2,5	46,3 ± 2,4	46,3 ± 2,6
Peso Corporal Final (g)	242,8 ± 19,2 ^c	233,8 ± 10,1 ^{bc}	228,3 ± 8,2 ^{bc}	235,0 ± 11,7 ^{bc}	189,9 ± 9,5^a	218,1 ± 9,6 ^{bc}	210,1 ± 7,6 ^b	217,3 ± 8,5 ^{bc}
Consumo médio diário de água (mL/dia)	30,5 ± 3,0	30,3 ± 4,7	28,8 ± 4,7	30,6 ± 4,1	32,1 ± 1,7	31,5 ± 3,3	30,3 ± 2,7	30,3 ± 2,6
Consumo médio diário de ração (g/dia)	18,6 ± 1,2	19,0 ± 2,2	18,6 ± 2,2	17,8 ± 1,9	17,3 ± 0,8	17,0 ± 1,5	17,1 ± 1,4	16,4 ± 1,7

C: grupo controle; PRO: grupo probiótico; PRE: grupo prebiótico; SIM: grupo simbiótico; CT: grupo controle tabagismo; PROT: grupo probiótico tabagismo; PRET: grupo prebiótico tabagismo; SIMT: grupo simbiótico tabagismo. ANOVA one way, seguida de teste de Tukey (p<0,05). Letras minúsculas indicam diferença estatística na linha entre os tratamentos.

Os grupos de animais que foram suplementados com os alimentos funcionais e submetidos à exposição crônica a fumaça do cigarro apresentaram um aumento na média do peso corporal final em relação ao grupo controle fumante, o que pode ser devido aos múltiplos mecanismos subjacentes: maior solubilidade dos minerais devido ao aumento da produção bacteriana de ácidos graxos de cadeia curta, que é promovida

pela maior oferta de substrato; aumento da superfície de absorção promovendo a proliferação de enterócitos mediados por produtos de fermentação bacteriana, predominantemente lactato e butirato; aumento da expressão de proteínas de ligação ao cálcio; melhoria da saúde intestinal; degradação do complexo mineral de ácido fítico; liberação de fatores moduladores ósseos, como fitoestrógenos de alimentos e estabilização da microbiota intestinal e ecologia (Scholz-Ahrens and others 2007; Slavin 2013). Os grupos não expostos a fumaça do cigarro não diferiram quanto ao peso final e ou consumo médio diário de água e ração, revelando que os alimentos funcionais nesse estudo não alteraram o peso final, consumo de água e ou ração.

Observou-se aumento significativo da frequência da doença degeneração do epitélio germinativo testicular do grupo de exposto a fumaça do cigarro, 75% e apenas 13,89% dos não tabagistas. Outros estudos também relatam esse efeito no testículo, bem como a desorganização na citoarquitetura (Güven and others 1999; Oyeyipo and others 2010). A suplementação dos alimentos funcionais atenuou a percentagem dessa patologia nos grupos tabagistas e não tabagistas, porém nos grupos tabagistas essa redução foi significativa apenas no grupo suplementado com prebiótico ($P < 0,05$) (Tabela 2).

Tabela 2 – Frequência percentual (%) de lesões inflamatórias no testículo de ratos fumantes passivos ou não alimentados com dietas controle ou com probiótico, prebiótico e simbiótico (n=9)

Variáveis	Degeneração	Necrose	Contração	Hiperplasia
Tabagismo				
Não	13,89	27,78	11,11	0,00
Sim	75,00	57,99	38,89	11,11
Valor de p	0,0004	0,0268	0,1056	0,0573
Aditivos				
Controle	72,22	60,42	50,00	11,11
Probiótico	38,89	38,89	38,89	0,00
Prebiótico	33,34	44,45	38,89	0,00
Simbiótico	33,34	27,78	33,34	0,00
Valor de p	0,2851	0,8421	0,7778	0,9954
Tabagismo e aditivos				
C	22,22 b	33,33	11,11	0,00
PRO	11,11 b	22,22	11,11	0,00
PRE	11,11 b	33,33	11,11	0,00
SIM	11,11 b	22,22	11,11	0,00
CT	100,00 a	87,50	55,56	11,11
PROT	66,67ab	55,56	33,33	0,00
PRET	55,56 b	55,56	33,33	0,00
SIMT	66,67ab	33,33	33,33	0,00
Valor de p	0,0068	0,1458	0,1265	0,2341

Teste exato de Fisher a 5% de significância ($P < 0,05$). Letras diferentes na coluna indicam ter diferença significativa ($P < 0,05$).

Observou-se um aumento significativo na frequência da anormalidade necrose do epitélio germinativo testicular dos grupos expostos ao tabagismo passivo em relação aos grupos não expostos a fumaça do cigarro, 57,99 e 27,78%, respectivamente. Os compostos da fumaça do cigarro podem também afetar os vasos sanguíneos através da liberação de substâncias vasoconstritoras na corrente sanguínea (Collin and others 1995) e essa vasoconstrição, especialmente nos vasos sanguíneos intertubulares, pode resultar numa diminuição do fluxo sanguíneo testicular, isto é, a estagnação do sangue no testículo, acarretando uma hipóxia estagnada no tecido testicular (Hanadi and others 2011). A suplementação dos alimentos funcionais atenuou o aumento da frequência dessa anormalidade, porém essa redução não foi significativa nos grupos expostos a fumaça do cigarro ($P>0,05$). O grupo tabagista apresentou uma maior frequência da anormalidade contração tubular em relação ao grupo não fumante, 38,89 e 11,11%, respectivamente, porém essa diferença não foi significativa ($P>0,05$). Uma possível explicação desses resultados é que fumar causa degeneração de células de Leydig e ao longo do tempo pode reduzir a produção de testosterona (Yardimci and others 1997). Como a secreção de fluido tubular é uma função dependente da concentração do androgênio, os compostos que reduzem os níveis testiculares de testosterona irão reduzir a secreção de fluido e o diâmetro tubular (contração tubular) e que representam distúrbios também na função das células de Sertoli (Garcia and others 2012). A menor percentagem de contração tubular observada nos grupos suplementados com os alimentos funcionais pode ser devida a possível modulação da microbiota intestinal, induzindo a modulação da imunidade gastrointestinal local e resultando em efeitos sistêmicos no sistema imunitário, devido à ativação das vias metabólicas que restauram a homeostase dos tecidos e a saúde global (Poutahidis and others 2014).

Os grupos tabagistas apresentaram um aumento da doença hiperplasia de células intersticiais, porém não foi significativa em relação aos grupos não tabagistas ($P<0,05$). A suplementação dos alimentos funcionais diminuiu a frequência dessa patologia nos grupos tabagistas. A avaliação histopatológica do testículo e epidídimo de ratos intoxicados com fumaça do cigarro em outros estudos também obtiveram os mesmos resultados (Rajpurkar and others 2000; Ahmadnia and others 2007).

Observa-se um aumento da degeneração do epitélio epididimário (vacolar) dos grupos tabagistas em relação aos grupos não tabagistas. ($P<0,05$) (Tabela 3). Lima and others (2012) também observaram alterações histopatológicas nos testículos e epidídimo de ratos expostos à fumaça do cigarro e relataram existir uma alta correlação entre essa patologia e a alta taxa de infertilidade em homens fumantes. A suplementação dos alimentos funcionais atenuou a frequência dessa patologia, porém não foi significativa ($P>0,05$).

No parâmetro necrose do epitélio epididimário, os resultados revelam não existir diferença entre os grupos não tabagistas e tabagistas (Tabela 3). Isso é frequentemente observado no epidídimo e é causado por compostos que agem via mecanismos isquêmicos (Creasy 2001). Não foi observada contração dos ductos epididimários nos grupos não tabagistas e tabagistas em relação ao parâmetro hiperplasia epitelial (epididimário) o grupo tabagista apresentou maior frequência dessa anormalidade em relação aos grupos não tabagistas ($P<0,05$). Notou-se uma melhora significativa no grupo tabagista quando os alimentos funcionais foram adicionados.

Tabela 3 – Frequência percentual (%) de lesões inflamatórias no epidídimo de ratos fumantes passivos ou não alimentados com dietas controle ou com probiótico, prebiótico e simbiótico (n=9).

Variáveis	Degeneração (vacular)	Necrose	Hiperplasia	Epididimite
Tabagismo				
Não	11,11	0,00	19,44	22,22
Sim	33,33	11,11	52,78	52,78
Valor de p	0,0226	0,0573	0,0032	0,0074
Aditivos				
Controle	27,78	11,11	55,56	55,56
Probiótico	22,22	5,56	33,33	33,33
Prebiótico	22,22	5,56	38,89	38,89
Simbiótico	16,67	0,00	16,67	22,22
Valor de p	0,8853	0,4088	0,0996	0,2129
Tabagismo e aditivos				
C	11,11	0,00	33,33 abc	22,22 b
PRO	11,11	0,00	22,22 bc	22,22 b
PRE	11,11	0,00	11,11 c	22,22 b
SIM	11,11	0,00	11,11 c	22,22 b
CT	44,44	22,22	77,78 a	88,89 a
PROT	33,33	11,11	44,44 abc	44,44 ab
PRET	33,33	11,11	66,67 ab	55,56 ab
SIMT	22,22	11,11	22,22 bc	22,22 b
Valor de p	0,4998	0,2670	0,0132	0,0203

Teste exato de Fisher a 5% de significância (P<0,05). Letras diferentes na coluna indicam ter diferença significativa (p<0,05).

Os grupos tabagistas apresentaram maior frequência de epididimite do que os grupos não tabagistas (P<0,05) e a suplementação dos alimentos funcionais, probiótico, prebiótico e simbiótico nos grupos também tabagistas atenuaram a frequência dessa anormalidade (Tabela 3), principalmente o simbiótico. A fumaça de cigarro contém mais de 1000 substâncias oxidantes, que levam a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) que se acumulam no sangue e em várias células e nos tecidos. O acúmulo de ROS nestes tecidos tem como consequência final a peroxidação lipídica das membranas celulares. Também a destruição celular causada pela fumaça do cigarro pode acontecer como consequência da resposta do organismo ao estresse oxidativo, como por exemplo, reações inflamatórias (Yanbaeva and others 2007). A produção de espécies (ROS) é parte integrante do metabolismo e está presente em condições normais. Para contrabalançar essa produção e seus potenciais efeitos negativos, o organismo dispõe de um sistema antioxidante. Nas situações em que surge um desequilíbrio entre os sistemas, com predomínio dos oxidantes, ocorre o estresse oxidativo (Cavalcante and Bruin 2009). Os alimentos funcionais, probióticos, prebióticos e simbióticos, aumentam os níveis de fermentação no intestino, como consequência eleva a produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). Os AGCC são solúveis em água e são absorvidos pela corrente sanguínea. Estudos em animais demonstraram que o aumento de AGCC modula o sistema imunológico de uma maneira geral, aumentando a atividade citotóxica de células de defesa. Há também alguma evidência de aumento da resistência à doença por mostra interagir com as células imunitárias e, portanto, podem estimular o sistema imunitário diretamente. A ação antioxidante da AGCC parece ser especialmente relevante em função de sua capacidade

de atravessar todas as barreiras morfofisiológicas e de distribuir-se amplamente nos tecidos, células e compartimentos subcelulares. A distribuição subcelular dos AGCC possibilita sua interação com moléculas tóxicas na totalidade da célula, reduzindo o dano oxidativo tanto em meio lipídico quanto aquoso (Cavalcante and Bruin 2009). Da mesma maneira as fibras prebióticas são também úteis no alívio de condições inflamatórias, diminuindo lesão epitelial e inflamação (Slavin and Green 2007).

Embora o fumo de tabaco seja considerado um fator de risco importante para muitos cânceres, não é claro se o risco do câncer testicular é afetado similarmente. A possibilidade de que o tabagismo possa ser prejudicial em relação ao câncer testicular é plausível, pois a fumaça do cigarro contém carcinógenos conhecidos, como o arsênico (Smith and others 1997), porém nesse estudo não foram evidenciados seminoma, sertolioma e leidgocitoma nos animais submetidos à exposição crônica a fumaça do cigarro.

A fumaça de cigarro nos túbulos seminíferos aumentou a média da dimensão fractal e a suplementação dos alimentares funcionais reduziu esse parâmetro, evidenciando uma ação protetora do probiótico, prebiótico e simbiótico nos ratos, como modelo animal *in vivo*, dos efeitos tóxicos do tabagismo passivo. Nos grupos não tabagistas, não observamos diferença ($P > 0,05$) da média entre os grupos suplementados e o grupo controle (Figura 2). A análise por meio da dimensão fractal, além de quantificar as alterações histológicas, tem a vantagem de ser independente do avaliador, uma vez que se trata de uma análise realizada por software (Moreira and others 2011). Embora a associação entre o hábito de fumar e efeitos nocivos aos testículos seja universalmente aceita, ainda pouco se sabe sobre as alterações morfofuncionais do tabagismo nos testículos (Li and others 2003), poucos experimentos foram realizados sobre a ação benéfica dos alimentos funcionais nesse órgão.

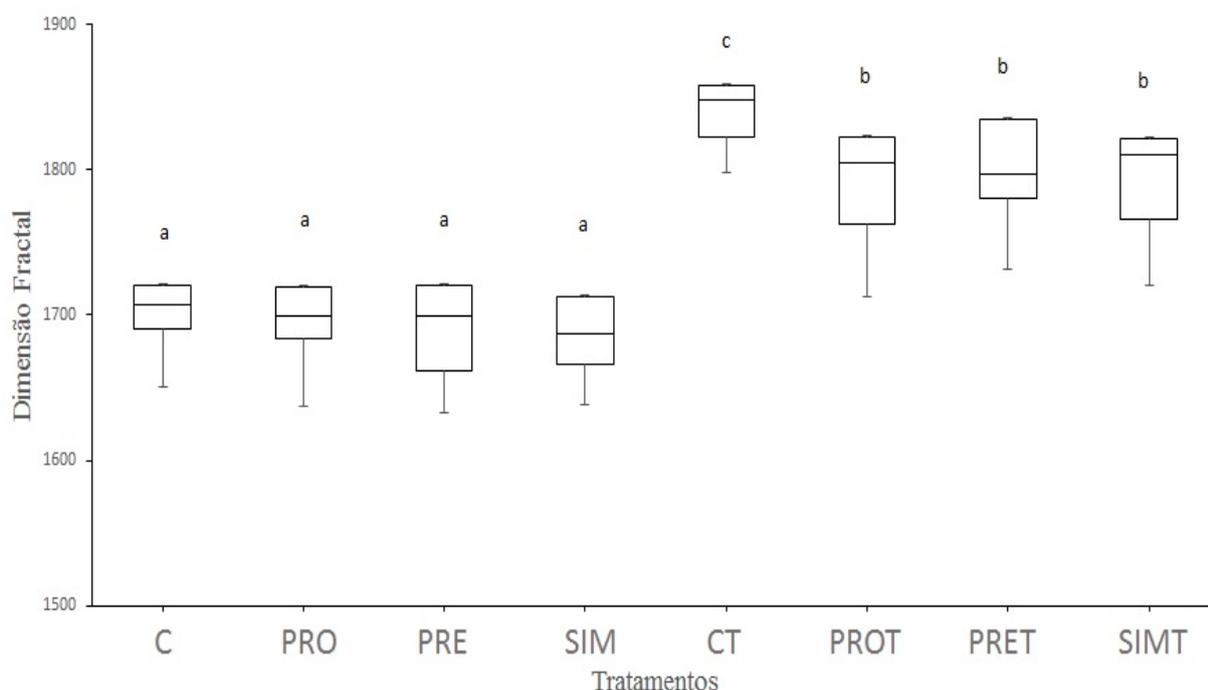


Figura 2 – Análise da dimensão fractal de ratos fumantes passivos ou não alimentados com dietas controle ou com probiótico, prebiótico e simbiótico (n=9). Letras diferentes indicam ter diferença significativa pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Na análise dos resultados da dinâmica da espermatogênese (estádios) observou-se que somente existiu uma diminuição na percentagem de estágios IX a XIII do ciclo do epitélio seminífero nos grupos tabagistas em relação aos animais não tabagistas (tabela 5), sendo que o grupo prebiótico apresentou as maiores médias ($p < 0,05$). Com relação aos grupos tabagistas, a suplementação dos alimentos funcionais prebióticos e simbióticos aumentou a percentagem dos estágios IX e XIII, porém essa diferença não foi significativa ($P > 0,05$).

A fumaça do cigarro tem um efeito prejudicial sobre a espermatogênese, pois os componentes tóxicos levam as alterações histológicas causadas pela hipoxemia induzida pelo fumo (Ahmadnia and others 2007).

O processo de espermatogênese gera alta demanda metabólica. Sendo assim, o testículo é fisiologicamente vulnerável à hipóxia, a insuficiência de oxigênio, que pode ser causada pelo tabagismo, pode afetar negativamente a função testicular, comprometendo a espermatogênese e a secreção hormonal (Harlev and others 2015). Conforme observado no grupo controle fumante quando comparado ao grupo controle não fumante, o aumento das médias observadas nos grupos suplementados em relação ao grupo controle fumante, demonstra a capacidade dos prebióticos e dos simbióticos em diminuir os efeitos deletérios da fumaça do cigarro.

Tabela 5. Dinâmica da espermatogênese nos grupos de animais expostos ou não ao tabagismo crônico e suplementados ou não na ração com alimentos funcionais, probiótico, prebiótico e simbiótico.

Tratamentos	Dinâmica da espermatogênese (estágios)			
	I ao VI (%)	VII ao VIII (%)	IX ao XIII (%)	XIV (%)
C	43,00 ab (33,88 - 52,88)	29,50 (20,00 - 36,00)	26,50 abc (18,50 - 34,50)	2,50 (-2,50 - 7,50)
PRO	37,00 a (31,38 - 40,38)	26,00 (20,75 - 32,75)	31,50 bc (24,38 - 39,38)	2,00 (0,88 - 3,88)
PRE	35,00 ab (20,50 - 52,50)	24,50 (7,75 - 39,75)	36,00 c (25,00 - 47,00)	1,00 (-1,25 - 4,75)
SIM	42,00 ab (15,75 - 63,75)	22,50 (17,13 - 30,13)	30,00 abc (24,75 - 36,75)	0,5 (-2,63 - 4,38)
CT	47,00 b (35,88 - 58,88)	28,00 (19,38 - 34,38)	23,00 a (13,00 - 33,00)	1,5 (-2,75 - 7,25)
PROT	45,50 ab (42,38 - 49,38)	27,00 (22,13 - 31,13)	22,00 a (20,88 - 23,88)	2,00 (0,13 - 3,13)
PRET	43,00 ab (37,38 - 50,38)	24,50 (20,25 - 30,25)	25,50 ab (16,75 - 32,75)	1,50 (-1,63 - 5,38)
SIMT	45,50 ab (37,13 - 53,13)	23,50 (14,13 - 35,13)	24,50 ab (17,63 - 30,63)	2,0 (0,13 - 3,13)

¹ Valores expressos como mediana (1° quartil – 3° quartil). C (Grupo Controle); SIM (Grupo Simbiótico); PRO (Grupo Probiótico); PRE (Grupo Prebiótico). Teste de Kruskal Wallis com teste a posteriori de Dunn. *P<0,05. Valores em coluna com diferentes letras minúsculas são significativamente diferentes (P<0,05).

Não foram encontrados estudos com relação à suplementação dos alimentos funcionais probióticos, prebióticos e simbióticos em relação aos estágios da espermatogênese.

Conclusão

Os resultados obtidos nos permitem afirmar que os alimentos funcionais, probióticos, prebiótico e simbiótico, podem atenuar os efeitos crônicos nocivos do tabagismo passivo nos testículos e epidídimos em ratos na fase de crescimento. Além disso, a dimensão fractal demonstrou ser uma ferramenta para quantificar o processo inflamatório nos testículos.

Referências

AHMADNIA, H., GHANBARI, M., MORADI, M.R. and KHAJE-DALOUEE, M. (2007) Effect of cigarette smoke on spermatogenesis in rats. *Urology journal* **4**, 159–163.

- BAUMANS, V., BERNOTH, E.M., BROMAGE, N., BUNYAN, J., ERHARDT, W., FLECKNELL, P., GREGORY, N., HACKBARTH, H., MORTON, D. and WARWICK, C. (1996) Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 1. *Laboratory Animals* **30**, 293–316.
- BENGMARK, S. and ORTIZ DE URBINA, J.J. (2005) Simbióticos: una nueva estrategia en el tratamiento de pacientes críticos. *Nutrición Hospitalaria* **20**, 147–156.
- CALOGERO, A., POLOSA, R., PERDICHIZZI, A., GUARINO, F., LA VIGNERA, S., SCARFIA, A., FRATANTONIO, E., CONDORELLI, R., BONANNO, O., BARONE, N., BURRELLO, N., D'AGATA, R. and VICARI, E. (2009) Cigarette smoke extract immobilizes human spermatozoa and induces sperm apoptosis. *Reproductive biomedicine online* **19**, 564–571.
- CAVALCANTE, A.G.M. and BRUIN, P.F.C. (2009) O papel do estresse oxidativo na DPOC: conceitos atuais e perspectivas. *Jornal Brasileiro de Pneumologia* **35**, 1227–1237.
- CLARA, A., MARQUES, F., VIEIRA, L.P., SILVA, J.O., ARAÚJO, V.B., PAULA, M. and TEIXEIRA, V. (2016) SMOKING PREVENTION ACTION WORKED WITH ADOLESCENTS : AN EXPERIENCE. *Revista Intercâmbio* **VII**, 437–443.
- COELHO, S.A., ROCHA, S.A. and JONG, L.C. (2012) Consequências do tabagismo passivo em crianças. *Ciência, Cuidado e Saúde* **11**, 294–301.
- COLAGAR, A.H., JORSARAE, G.A. and MARZONY, E.T. (2007) Cigarette smoking and the risk of male infertility. *Pak J Biol Sci* **10**, 3870–4.
- COLLIN, O., KILTER, S. and BERGH, A. (1995) Tobacco smoke disrupts testicular microcirculation in the rat. *International journal of andrology* **18**, 141–145.
- CREASY, D.M. (2001) Pathogenesis of male reproductive toxicity. *Toxicologic Pathology* **29**, 64–76.
- FLESCH, A.G.T., POZIOMYCK, A.K. and DAMIN, D.C. (2014) The therapeutic use of symbiotics. *ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)* **27**, 206–209.
- GARCIA, P.C., PIFFER, R.C., GERARDIN, D.C.C., SANKAKO, M.K., ALVES DE LIMA, R.O. and PEREIRA, O.C.M. (2012) Could zinc prevent reproductive alterations caused by cigarette smoke in male rats? *Reproduction, Fertility and Development* **24**, 559–567.
- GIBSON, Y.R. and ROBERFROID, M.B. (1995) Dietary Modulation of the Human Colonie Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. *The Journal of Nutrition* **125**, 1401–1412.
- GRUNBERG, N.E., BOWEN, D.J. and MORSE, D.E. (1984) Effects of nicotine on body weight and food consumption in rats. *Psychopharmacology* **83**, 93–98.
- GRUNBERG, N.E., BOWEN, D.J. and WINDERS, S.E. (1986) Psychopharmacology Effects of nicotine on body weight and food consumption in female rats. *Psychopharma* **90**, 101–105.
- GÜVEN, M.C., CAN, B., ERGÜN, A., SARAN, Y. and AYDOS, K. (1999) Ultrastructural effects of cigarette smoke on rat testis. *European urology* **36**, 645–9.
- HANADI, B.A., HAKEEM, A., KELANY, M., ELQUDSI, F.M., AMEEN, H.A. and KARIUM, S.A. (2011) The possible protective role of antioxidantes (Selenium, Vitamin E) in reducing smoking effects on testes of albino rats. *Univ. Bull. Environ. Res* **14**, 61–76.

- HARLEV, A., AGARWAL, A., GUNES, S.O., SHETTY, A. and DU PLESSIS, S.S. (2015) Smoking and Male Infertility: An Evidence-Based Review. *The world journal of men's health* **33**, 143–60.
- HASSAN, A., ABO-AZMA, S.M., FAYED, S.M. and MOSTAFA, T. (2009) Seminal plasma cotinine and insulin-like growth factor-I in idiopathic oligoasthenoteratozoospermic smokers. *BJU international* **103**, 108–111.
- HOFSTETTER, A., SCHUTZ, Y., JÉQUIER, E. and WAHREN, J. (1986) Increased 24-Hour Energy Expenditure in Cigarette Smokers. *New England Journal of Medicine* **314**, 79–82.
- LEBLOND, C.P. and CLERMONT, Y. (1952) DEFINITION OF THE STAGES OF THE CYCLE OF THE SEMINIFEROUS EPITHELIUM IN THE RAT. *Annals of the New York Academy of Sciences* **55**, 548–573.
- LI, M.D., KANE, J.K. and KONU, O. (2003) Nicotine, body weight and potential implications in the treatment of obesity. *Current topics in medicinal chemistry* **3**, 899–919.
- LIMA, V.M., BARBIERI, R.L., DELL AQUILA, A., MYAMORA, A. and DUARTE, I.S. (2012) Estudo histopatológico do efeito da nicotina nos testículos e epidídimos de ratos. *Revista Brasileira de Clínica Medica* **10**, 322–328.
- LA MAESTRA, S., DE FLORA, S. and MICALE, R.T. (2014) Does second-hand smoke affect semen quality? *Archives of toxicology* **88**, 1187–1188.
- MCNAIR, E. and BRYSON, R. (1983) Effects of nicotine on weight change and food consumption in rats. *Pharmacol Biochem Behav* **18**, 341–4.
- MELLO, P.R.B., OKAY, T.S. and BOTELHO, C. (2006) Influência da exposição a fumaça lateral do cigarro sobre o ganho de peso e o consumo alimentar de ratas gestantes: análise do peso e do comprimento dos filhotes ao nascimento. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia* **28**, 143–150.
- MEWES, H.W., ALBERMANN, K., BÄHR, M., FRISHMAN, D., GLEISSNER, A., HANI, J., HEUMANN, K., KLEINE, K., MAIERL, A., OLIVER, S.G., PFEIFFER, F. and ZOLLNER, A. (1997) Overview of the yeast genome. *Nature* **387**, 737–737.
- MORAES, F.P. and COLLA, L.M. (2006) ALIMENTOS FUNCIONAIS E NUTRACÊUTICOS: DEFINIÇÕES, LEGISLAÇÃO E BENEFÍCIOS À SAÚDE. Functional foods and nutraceuticals: definition, legislation and health benefits. *Revista Eletrônica de Farmácia* **3**, 109–122.
- MOREIRA, R.D., MORIEL, A.R., MURTA JUNIOR, L.O., NEVES, L.A. and GODOY, M.F. (2011) Dimensão fractal na quantificação do grau de rejeição celular miocárdica pós-transplante cardíaco. *Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular* **26**, 155–163.
- OLIVEIRA, M.A.B., BRANDI, A.C., SANTOS, C.A., BOTELHO, P.H.H., CORTEZ, J.L.L., GODOY, M.F. and BRAILE, D.M. (2014) Comparison of fractal dimension and Shannon entropy in myocytes from rats treated with histidine-tryptophan-glutamate and histidine-tryptophan cetoglutarate. *Revista brasileira de cirurgia cardiovascular : orgao oficial da Sociedade Brasileira de Cirurgia Cardiovascular* **29**, 156–62.
- OYEYIPO, I.P., RAJI, Y., EMIKPE, B.O. and BOLARINWA, A.F. (2010) Efeitos da administração oral de

nicotina no peso do órgão, nível sérico de testosterona e histologia testicular em ratos machos adultos. *nigeriana Journal of ...* **25**, 81–86.

- OZAKI, G., CELI TRINDADE CAMARGO, R., EMY KOIKE, T., ALVES GARCIA, T., CHACON CASTOLDI, R. and CARLOS SILVA CAMARGO FILHO, J. (2015) Fractal Analysis of Skeletal Muscle Tissue of Rats Subjected to Stretch Injury Análisis Fractal de Tejido Muscular Esquelético en Ratas Sometidas a Lesión por Estiramiento. *Int. J. Morphol* **33**, 908–913.
- POUTAHIDIS, T., SPRINGER, A., LEVKOVICH, T., QI, P., VARIAN, B.J., LAKRITZ, J.R., IBRAHIM, Y.M., CHATZIGIAGKOS, A., ALM, E.J., ERDMAN, S.E., HAIDER, S.G., HARMAN, S.M., METTER, E.J., TOBIN, J.D., PEARSON, J., BLACKMAN, M.R., FELDMAN, H.A., LONGCOPE, C., DERBY, C.A., JOHANNES, C.B., ARAUJO, A.B., MIDZAK, A.S., CHEN, H., PAPAPOPOULOS, V., ZIRKIN, B.R., CHEN, H., GE, R.S., ZIRKIN, B.R., TAKANO, H., ABE, K., MATSUMOTO, A.M., STANWORTH, R.D., JONES, T.H., BASSIL, N., MORLEY, J.E., BAER, J.T., PINES, A., HIJAZI, R.A., CUNNINGHAM, G.R., MAH, P.M., WITTEG, G.A., HAFFNER, S.M., VALDEZ, R.A., STERN, M.P., KATZ, M.S., KELLY, D.M., JONES, T.H., GHANAYEM, B.I., BAI, R., KISSLING, G.E., TRAVLOS, G., HOFFLER, U., LEVKOVICH, T., POUTAHIDIS, T., SMILLIE, C., VARIAN, B.J., IBRAHIM, Y.M., POUTAHIDIS, T., HAIGIS, K.M., RAO, V.P., NAMBIAR, P.R., TAYLOR, C.L., BASSIL, N., ALKAADE, S., MORLEY, J.E., BETTELLI, E., CARRIER, Y., GAO, W., KORN, T., STROM, T.B., KULLBERG, M.C., JANKOVIC, D., FENG, C.G., HUE, S., GORELICK, P.L., PARK, E.J., LEE, J.H., YU, G.Y., HE, G., ALI, S.R., ERDMAN, S.E., POUTAHIDIS, T., TOMCZAK, M., ROGERS, A.B., CORMIER, K., ERDMAN, S.E., SOHN, J.J., RAO, V.P., NAMBIAR, P.R., GE, Z., GOUNARIS, E., BLATNER, N.R., DENNIS, K., MAGNUSSON, F., GURISH, M.F., SALAMA, P., PHILLIPS, M., GRIEU, F., et al. (2014) Probiotic Microbes Sustain Youthful Serum Testosterone Levels and Testicular Size in Aging Mice. *PLoS ONE* **9**, e84877.
- RAJPURKAR, A., LI, H. and DHABUWALA, C.B. (2000) Morphometric Analysis of Rat Testis Following Chronic Exposure to Cigarette Smoke - Journals - NCBI. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology* **19**, 363–368.
- SANKAKO, M.K., GARCIA, P.C., PIFFER, R.C. and PEREIRA, O.C.M. (2013) Semen and reproductive parameters during some abstinence periods after cigarette smoke exposure in male rats. *Brazilian Archives of Biology and Technology* **56**, 93–100.
- SCHECHTER, M.D. and COOK, P.G. (1976) Nicotine-induced weight loss in rats without an effect on appetite. *European Journal of Pharmacology* **38**, 63–69.
- SCHOLZ-AHRENS, K.E., ADE, P., MARTEN, B., WEBER, P., TIMM, W., AÇIL, Y., GLÜER, C.-C. and SCHREZENMEIR, J. (2007) Prebiotics, probiotics, and synbiotics affect mineral absorption, bone mineral content, and bone structure. *The Journal of Nutrition* **137**, 838S–846S.
- SLAVIN, J. (2013) Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. *Nutrients* **5**, 1417–35.
- SLAVIN, J. and GREEN, H. (2007) Dietary fibre and satiety. *Nutrition Bulletin* **32**, 32–42.

- SMITH, C.J., LIVINGSTON, S.D. and DOOLITTLE, D.J. (1997) An international literature survey of “IARC Group I carcinogens” reported in mainstream cigarette smoke. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association* **35**, 1107–1130.
- DE VRESE, M. and SCHREZENMEIR, J. (2008) Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics. In *Food Biotechnology*. Springer Berlin Heidelberg. pp 1–66.
- WAGER-SRDAR, S.A., LEVINE, A.S., MORLEY, J.E., HOIDAL, J.R. and NIEWOEHNER, D.E. (1984) Effects of cigarette smoke and nicotine on feeding and energy. *Physiology and Behavior* **32**, 389–395.
- WILLIAMS, N.T. (2010) Probiotics. *American Journal of Health-System Pharmacy* **67**, 449–458.
- WILLIAMSON, D.F., MADANS, J., ANDA, R.F., KLEINMAN, J.C., GIOVINO, G.A. and BYERS, T. (1991) Smoking Cessation and Severity of Weight Gain in a National Cohort. *New England Journal of Medicine* **324**, 739–745.
- YANBAEVA, D.G., DENTENER, M.A., CREUTZBERG, E.C., WESSELING, G. and WOUTERS, E.F.M. (2007) Systemic Effects of Smoking. *Chest* **131**, 1557–1566.
- YARDIMCI, S., ATAN, A., DELIBASI, T., SUNGUROGLU, K. and GÜVEN, M.C. (1997) Long-term effects of cigarette-smoke exposure on plasma testosterone, luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone levels in male rats. *British journal of urology* **79**, 66–69.
- YILDIRIM, F., SERMETOW, K. and AYCICEK, A. (2011) Increased oxidative stress in preschool children exposed to passive smoking. *Jornal de Pediatria* **87**, 523–528.
- ZAVOS, P.M. and ZARMAKOUPIS-ZAVOS, P.N. (1999) IMPACT OF CIGARETTE SMOKING ON HUMAN REPRODUCTION: ITS EFFECTS ON MALE AND FEMALE FECUNDITY. *Technology* **6**, 9–16.

ANEXO 1
APROVAÇÃO ÉTICA

UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

PPG - Programa de Pesquisa de Pós-Graduação
PROBIC - Programa de Bolsas de Iniciação Científica**Parecer Final**

Declaramos para os devidos fins que o Projeto de Pesquisa intitulado "O EFEITO DO PREBIÓTICO, PROBIÓTICO E SIMBIÓTICO SOBRE O APARELHO REPRODUTOR DE RATOS FUMANTES PASSIVOS EM CRESCIMENTO", cadastrado na Coordenadoria Central de Pesquisa (CCPq) sob o número n° 2470 e tendo como participante(s) HERMANN BREMER NETO (responsável), CALIE CASTILHO SILVESTRE (docente), ANA PAULA ALVES FAVARETO (docente), ADRIANO FALVO (discente), MONICA MARIA NAKAHARA PAPAÏT (discente), VINICIUS AUGUSTO DIONISIO XAVIER (discente), foi avaliado e EM TRÂMITE pelo COMITÊ ACESSOR DE PESQUISA INSTITUCIONAL (CAPI) da Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE de Presidente Prudente SP.

Presidente Prudente, 2 de Junho de 2015.



Prof. Dr. Jair Rodrigues Garcia Jr.
Coordenador Científico da CCPq

ANEXO 2

NORMAS DA REVISTA SEMINA: CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Diretrizes para Autores

Normas Editoriais para Publicação

Atenção Autores:

Recomendamos aos autores COMPLETAMENTE consultar o Guia, DESDE papéis que não estão preparados RIGOROSAMENTE acordo com as normas não serão aceitos.

Depois de 2015/02/19, a taxa de submissão de novos artigos será de R \$ 100,00 . Se o artigo for rejeitado, esta taxa não será devolvida.

Os artigos submetidos após **2015/02/19** que são aceitos e aprovados para publicação serão submetidos a uma taxa de publicação, ajustado de acordo com o número de páginas do manuscrito.

Até 10 páginas: **R \$ 300,00**

de 11 a 15 páginas: **R \$ 400,00**

De 16 a 20 páginas: **R \$ 500,00**

de 21 a 25 páginas: **R \$ 600,00**

Se o **artigo for aceito para publicação** , a quantidade de **R \$ 100,00** pago pela taxa de inscrição **não será deduzida a taxa de publicação** .

O **comprovante de depósito** deve ser digitalizado e anexado como arquivo suplementar no sistema eletrônico.

O depósito deve ser feito em nome do Instituto de Tecnologia e Desenvolvimento Econômico e Social (ITEDES), CNPJ: 00.413.717 / 0001-65, em uma das três contas bancárias abaixo:

Banco do Brasil (001)

Branch: 1212-2

Conta corrente: 43509-0 - Brasil

Caixa Econômica Federal (104)

Branch: 3076

Conta Corrente: 0033-4

Transação: 003 - Brasil

Itaú (341)

Branch: 3893

Conta Corrente: 29567-9 - Brasil

Padrões editoriais para publicação em *Semina: Ciências Agrárias* , Universidade Estadual de Londrina (UEL)

Os artigos podem ser submetidos em Português ou Inglês, mas só serão publicados em Inglês . Os artigos que são submetidos em Português, se aceito para publicação, terá de ser **traduzida em Inglês**.

Artigos enviados à revista, 31 de março de 2014 e aqueles que ainda estão sendo processados pode ser publicado em Português; no entanto, será dada prioridade para publicação os artigos que são traduzidos para o Inglês.

Todos os artigos, depois de ser aceito para publicação, devem ser acompanhados de um certificado comprovativo de tradução ou correção (como arquivo suplementar) de um dos seguintes serviços de tradução:

Especialistas American Journal

Editage

Elsevier

<http://www.proof-reading-service.com>

<http://www.academic-editing-services.com/>

<http://www.publicase.com.br/formulario.asp>

<http://www.stta.com.br/>

O autor deve anexar o **documento que fornece evidência de** esta tradução ou correção no sistema eletrônico na página de apresentação em "**Docs. Sup** . "

COMENTÁRIOS:

1) Os manuscritos originais submetidos para revisão são inicialmente avaliados pelo Comitê Editorial da *Semina: Ciências Agrárias* . Nessa avaliação, serão avaliados os requisitos de qualidade para a publicação com a revista, tais como escopo do artigo, adequação em relação aos padrões da revista, a qualidade da escrita e da fundamentação teórica. Além disso, ele também é considerado atualização revisão da literatura, consistência e precisão da metodologia, a contribuição dos resultados, discussão dos dados observados no estudo, tabela e figura representação, e originalidade ea consistência das conclusões.

Se o número de manuscritos submetidos exceder a capacidade de avaliação e publicação de *Semina: Ciências Agrárias* , uma comparação entre as submissões serão feitas, e as obras consideradas como tendo o maior potencial de contribuição para o conhecimento científico será direcionado para consultores ad hoc. Os manuscritos que não são aprovados por estes critérios são arquivados, enquanto os manuscritos restantes são submetidos a avaliação por pelo menos dois conselheiros científicos que são especialistas na área disciplinar do manuscrito, sem identificar os autores. A taxa de inscrição não serão devolvidos aos autores que têm seus manuscritos arquivados.

2) Se for caso disso, se o projeto de pesquisa que originou o artigo foi realizada de acordo com biossegurança e ética normas técnicas sob a aprovação de um comitê de ética envolvendo seres humanos e / ou uma ética comissão que envolva animais, o nome de comissão, instituição e número do processo deve ser indicado.

Requisitos obrigatórios para ACEITAÇÃO:

a) O arquivo artigo principal anexa tem os nomes dos autores e suas respectivas afiliações.

b) O **registro completo** de todos os autores foi adicionado aos metadados durante a submissão; **Exemplo:** Nome completo; Instituição / Afiliação; País; Resumo da Biografia / Título / função.

c) Texto explicando a relevância do trabalho (importância e da distinção de trabalhos previamente publicados), com um comprimento máximo de 10 linhas, está incluído nos comentários de campo para o editor.

d) A apresentação é acompanhado de um documento comprovativo do pagamento da taxa de inscrição como arquivo suplementar no "**Docs. Sup** . "Seção.

e) O artigo principal é acompanhada por arquivos suplementares, incluindo gráficos, figuras, fotografias e outros documentos, na sua versão original (formatos JPEG, TIFF ou Excel).

f) As informações a seguir é incluída no manuscrito original: título, resumo, palavras-chave em tabelas português e inglês, e figuras.

RESTRIÇÕES por área temática:

PARA A AGRONOMIA CAMPO, manuscritos que não será aceite em caso dos seguintes:

a) As experiências realizadas com uma *in vitro* cultura estão limitados à melhoria de protocolos padronizados já ou não fornecer nova informação sobre a área de assunto;

b) Os experimentos de campo não incluem dados correspondentes a, pelo menos, dois anos ou para diversos locais dentro do mesmo ano;

c) As experiências referem-se apenas a testes sobre a eficácia de produtos comerciais contra os agentes bióticos e abióticos ou estresse fisiológico;

d) As experiências envolvem apenas bioensaios (screening) sobre a eficácia dos métodos para controlar insetos, ácaros, ou doenças em plantas, a menos que contenham uma contribuição importante sobre os mecanismos de ação sob a perspectiva de uma fronteira do conhecimento; ou

e) O objectivo é limitado a registrar a ocorrência de uma espécie de uma praga ou patógeno ou associações com os anfitriões em novos locais dentro de regiões geográficas onde a espécie já é conhecido. Documentação das espécies ou associações já conhecidas só será considerada se eles são descritos em novas áreas ecológicas. Os registros de distribuição deve ser baseada nos ecossistemas e não em fronteiras políticas.

PARA O VETERINÁRIO FIELD, os manuscritos não serão aceites EM CASO DE O SEGUINTE:

a) A publicação de relatos de casos é restrita; apenas artigos com grande relevância e originalidade que fazem uma real contribuição para o avanço do conhecimento no campo serão selecionados para processamento.

Categorias de trabalho

a) Artigos Científicos: máximo de 20 páginas, incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas

b) Comunicações científicas: máximo de 12 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 16 citações e um máximo de duas mesas, duas figuras ou uma combinação de uma tabela e uma figura

c) Relatos de casos: máximo de 10 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 12 citações e um máximo de duas mesas, duas figuras ou uma tabela e uma figura

d) Artigos de revisão: máximo de 25 páginas, incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas

Apresentação do Trabalho

artigos completos originais, comunicações, relatos de casos e comentários devem ser escritos em Português ou Inglês usando o Microsoft Word para Windows, em papel tamanho A4, com linhas numeradas por página, espaço 1,5, fonte Times New Roman, tamanho 11 normal, margens de 2 cm em todos os lados, com páginas numeradas no canto superior direito e seguindo as diretrizes para o número máximo de páginas de acordo com a categoria do trabalho.

Figuras (desenhos, gráficos e fotografias) e tabelas devem ser numeradas com algarismos arábicos, devem ser incluídas no final do trabalho imediatamente após as referências bibliográficas, e devem ser citadas no texto. Além disso, os números devem ser de boa qualidade e deve ser fixada em seu formato original (JPEG, TIFF, etc.) em Docs Sup na página de submissão. As figuras e tabelas não serão aceitas se não estiverem em conformidade com as seguintes especificações: largura de 8 cm ou 16 cm com altura máxima de 22 cm. Se a figura tem maiores dimensões, que irá ser reduzido durante o processo de edição para as dimensões acima mencionadas.

Nota : Os números (Ex. **Figura 1**. Título) e tabelas (**Tabela 1**. Título) deve ter uma largura de 8 cm ou 16 cm com altura máxima de 22 cm. Aqueles com maiores dimensões irá ser reduzido durante o processo de edição para as dimensões acima mencionadas. Para todas as tabelas e figuras que não são trabalho original do autor, uma citação da fonte de consulta é obrigatória. Coloque esta citação abaixo da tabela ou figura e indicar com uma fonte menor (Times New Roman 10).

Ex: " **Fonte**": IBGE (2014), ou **Fonte** : IBGE (2014).

preparação do manuscrito

artigo científico:

Os artigos científicos devem relatar os resultados de pesquisas originais nas áreas afins, com as seções organizadas da seguinte maneira: Título em Inglês; Título em Português; Resumo em Inglês com palavras-chave (no máximo seis palavras, em ordem alfabética); Resumo em Português com palavras-chave (no máximo seis palavras, em ordem alfabética); Introdução; Materiais e métodos; Resultados e Discussão, com conclusões no final da discussão ou Resultados (Discussão e Conclusões deve ser escrito em separado); Agradecimentos; Fornecedores, se for o caso; e Referências Bibliográficas. Os títulos devem estar em negrito, sem numeração. Se há uma necessidade de incluir um subtítulo dentro de uma seção, ele deve ser colocado em itálico, e se existem outras sub-temas a incluir no âmbito de um sub-título, estas devem ser numeradas com algarismos arábicos. (Exemplo: **Materiais e Métodos** , *Áreas de estudo* , 1. *área rural* , 2. *Urbanuma rea* .)

O trabalho apresentado não pode ter sido publicado anteriormente com o mesmo conteúdo, a não ser sob a forma de um resumo em Eventos Científicos, notas introdutórias, ou formato reduzido.

Os trabalhos deverão ser apresentados na seguinte ordem:

1. Título do trabalho , acompanhada de sua tradução em Português, se for o caso.

2. Resumo e Palavras-chave: Um informativo abstrato com um mínimo de 200 palavras e máximo de 400 palavras devem ser incluídas, no mesmo idioma usado no texto do artigo, acompanhados de uma tradução em Inglês (*Abstract e Palavras-chave*) se o texto não foi escrito em Inglês.

3. Introdução: A introdução deve ser conciso e conter apenas o comentário que é estritamente necessário para introduzir o tema e apoiar a metodologia e discussão.

4. Materiais e Métodos: Esta seção pode ser apresentado de forma contínua, descritiva ou com sub-rubricas para permitir que o leitor a compreender e ser capaz de repetir a metodologia citada com ou sem o apoio de citações bibliográficas.

5. Resultados e Discussão : *Esta seção* deve ser apresentada de uma forma clara, com o auxílio de tabelas, gráficos e figuras, para que ele não levanta quaisquer perguntas para o leitor que diz respeito à autenticidade dos resultados e pontos de vista discutidos.

6. Conclusões: *Estes* devem ser claras e apresentadas de acordo com os objetivos propostos no trabalho.

7. Agradecimentos: As pessoas, instituições e empresas que contribuíram para o trabalho deve ser mencionado no final do texto, antes da seção do Referências Bibliográficas.

Nota:

Notas: Cada nota sobre o corpo do texto deve ser indicado por um símbolo sobrescrito imediatamente após a expressão se refere e devem ser incluídos como uma nota de rodapé no final da página.

Figuras: As figuras que são consideradas essenciais serão aceitas e devem ser citadas no texto pela sua ordem numérica, em algarismos arábicos. Se nenhum ilustrações apresentadas já foram publicados, a fonte ea permissão para publicação deve ser indicado.

Tabelas: Tabelas deve ser acompanhada por um cabeçalho que vai permitir a compreensão dos dados recolhidos sem a necessidade de utilizar o corpo do texto por referência.

Quantidades, unidades e símbolos:

a) Os trabalhos devem estar de acordo com os critérios estabelecidos nos Códigos Internacionais em cada área temática.

b) Use o Sistema Internacional de Unidades em todo o texto.

c) Use o formato de potência negativa observar e apresentar unidades relacionados: por exemplo, kg ha⁻¹

¹ . Não use o símbolo de barra para relacionar unidades: por exemplo, kg / ha.

d) Use um espaço simples entre as unidades: g L⁻¹, não gL⁻¹ ou gL⁻¹.

e) Use representação de tempo de 24 horas com quatro dígitos para as horas e minutos: 09h00, 18h30.

8. citações de autores no texto

As citações devem ser seguidas pelo ano de publicação, e várias citações devem seguir o sistema de ordem alfabética, de acordo com os seguintes exemplos:

a) Os resultados por Dubey (2001) confirmou que

b) De acordo com Santos et al. (1999), o efeito de azoto

c) Beloti et al. (1999b) avaliaram a qualidade microbiológica

d) [...], e inibir o teste para a formação de sincício (BRUCK et al., 1992).

e) [...] comprometer a qualidade dos seus derivados (AFONSO; Vianni, 1995).

Citações com dois autores

Em citações de fontes que têm dois autores, os nomes dos autores são separados por um ponto e vírgula, quando citando-os entre parênteses.

Ex: (PINHEIRO; CAVALCANTI, 2000).

Use e quando os autores estão incluídos na frase em vez de citados entre parênteses.

Ex : Pinheiro e Cavalcanti (2000).

Citando mais de dois autores

Indique o primeiro autor seguido da expressão et al.

Entre parênteses, referências separadas com um ponto e vírgula, quando mais de uma referência é citada.

Ex: (. Russo et al, 2000) ou Russo et al. (2000); (Russo et al, 2000;.. FELIX et al, 2008).

Citando vários documentos do mesmo autor , publicado no mesmo ano

Adicionar letras minúsculas, em ordem alfabética, após a data e sem um espaço.

Ex : (SILVA, 1999a, 1999b).

Citando vários documentos do mesmo autor, publicados em anos diferentes

Separe as datas com uma vírgula.

Ex : (Andrade, 1999, 2000, 2002).

Citando vários documentos de vários autores , mencionado em simultâneo

Coloque as citações em ordem alfabética, separadas por um ponto e vírgula.

Ex : (Bacarat, 2008; RODRIGUES, 2003).

9. Referências: As referências, de acordo com a norma NBR 6023, agosto de 2000, e número reformulação 14,724 da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), de 2011, devem ser listados em ordem alfabética no final do manuscrito. **Todos os autores participar num estudo referenciado deve ser mencionado,**

independentemente do número de participantes . A exatidão e adequação das referências a trabalhos que tenham sido consultados e mencionados no texto do artigo, bem como opiniões, conceitos e demonstrações, são da responsabilidade exclusiva dos autores.

Nota : Consulte problemas encontrados recentemente publicados de *Semina: Ciências Agrárias* para mais detalhes sobre como formatar referências no artigo.

As restantes categorias de trabalhos (comunicação científica, Relato de Caso e Revisão) devem seguir as normas acima mencionadas, mas com as seguintes indicações adicionais para cada categoria:

comunicação científica

comunicações científicas devem ser apresentados de uma forma concisa, mas com uma descrição completa da pesquisa termo ou investigação em curso (Nota introdutória), com documentação bibliográfica completa e metodologias, semelhante a um artigo científico regular. comunicações científicas deve conter as seguintes seções: Título (em Português e Inglês); Resumo com Palavras-chave em Português; Abstrato com palavras-chave em Inglês; e corpo do texto. O corpo do texto não deve ser dividido em seções, mas deve seguir esta sequência: introdução, metodologia, resultados e discussão (tabelas e figuras podem ser incluídos), conclusão e referências bibliográficas.

Relato de caso

Um relatório do caso deve ser uma breve descrição de casos clínicos e patológicos, resultados sem precedentes, relatórios de novas espécies ou estudos sobre a ocorrência ou a incidência de pragas, microorganismos ou parasitas de interesse agrônomo, zootécnico, ou veterinária. O relato de caso deve conter as seguintes seções: Título (Português e Inglês); Resumo com Palavras-chave em Português; Abstrato com palavras-chave em Inglês; Introdução com revisão da literatura; relato de caso (s), incluindo os resultados, discussão e conclusão; e referências bibliográficas.

artigos de revisão bibliográfica

artigos de revisão deve envolver temas relevantes no âmbito da revista. O número de artigos de revisão por edição é limitada, e os autores só pode escrever artigos de revisão de interesse para a revista, na sequência de um convite por parte dos membros do conselho editorial da revista. Se um artigo de revisão é apresentado por um autor, a inclusão de resultados relevantes do autor ou do grupo envolvido no estudo é necessário, juntamente com referências bibliográficas que demonstrem experiência e conhecimento sobre o tema.

Um artigo de revisão deve conter as seguintes seções: Título (Português e Inglês); Resumo com Palavras-chave em Português; Abstrato com palavras-chave em Inglês; Desenvolvimento do tema proposto (o texto pode ser dividido em seções, mas isso não é necessário); Conclusões ou Considerações Finais; Agradecimentos (se aplicável); e Referências Bibliográficas.

Outras informações importantes

1. A publicação de artigos depende do parecer favorável de consultores ad hoc e a aprovação da *Semina: Ciências Agrárias* UEL Conselho Editorial.

2. Reprints não será dada aos autores, uma vez que as questões estarão disponíveis on-line no site da revista (<http://www.uel.br/revistas/uel>).

3. Transferência de Direitos Autorais: Os autores concordam com a transferência de direitos de publicação do manuscrito para a revista. A reprodução dos artigos é permitida somente quando a fonte seja citada. É proibido o uso comercial das informações.

4. perguntas imprevistas sobre ou problemas nos actuais padrões serão abordados pelo Conselho Editorial da área de assunto em que o artigo foi submetido para publicação.

5. *Número de autores*: Não há limite para o número de autores, mas as pessoas incluídas como co-autores deveriam ter efetivamente participaram do estudo. Pessoas com pouca participação no estudo ou a preparação

artigo devem ser citadas na seção Agradecimentos, como deve instituições que concederam bolsas de estudo e outros recursos financeiros.

as condições de submissão

Como parte do nosso processo de submissão, os autores devem verificar que o pedido está em conformidade com todos os itens listados abaixo. As inscrições que não estejam em conformidade com as normas será rejeitado e os autores informados sobre a decisão.

1. Os autores devem declarar que a contribuição é original e nova e que não está sendo avaliada para publicação em outros lugares; qualquer exceção (s) deve ser justificada em "Comentários ao Editor".
2. Os autores devem também afirmam que o material é formatado corretamente e que os documentos complementares estão ligados, estar consciente de que o **formato incorreto resultará na suspensão do processo de avaliação, sem avaliação do mérito** .
3. **Dados de autoria para todos os autores devem ser inseridos no campo de metadados durante o processo de submissão** .

Use o botão " **incluem o autor** ."

1. **No passo seguinte, por favor preencha os metadados em Inglês.**

A fim de incluir os dados, depois de salvar os dados de submissão em Português, clique em " **editar metadados** " no topo da página. Alterar o idioma para Inglês e inserir o título em Inglês, o resumo e palavras-chave. Salvar e continuar para a próxima etapa.

1. A **identificação de autoria** do trabalho deve ser removida do arquivo e da Word usando a opção "Propriedades", a fim de garantir que os critérios de anonimato da revista, no caso o artigo é submetido a revisão por pares, de acordo com as instruções disponíveis em [Assegurando um blind peer review](#) .
2. Os arquivos para submissão deve estar em Word, OpenOffice ou RTF (desde que não ultrapasse 2 MB).

O texto deve ser digitado em papel A4, com linhas numeradas, espaçamento 1,5 e fonte Times New Roman tamanho 11.

1. Confirme se todos os padrões éticos foram seguidos se a pesquisa foi realizada com seres vivos. Incluir documentos à prova de aprovação por um comité de ética institucionais envolvendo seres humanos e / ou uma comissão de ética envolvendo animais, se estes documentos são solicitados.
2. **Incluir o pagamento da [taxa de inscrição](#) , e anexar o comprovante de pagamento como documento suplementar em "[Docs. Sup](#) . "**

Declaração de direitos de autor

A **Declaração de Direitos Autorais** para artigos publicados nesta revista é o direito do autor. Uma vez que os artigos publicados nesta revista são de acesso público, os artigos podem ser usados livremente, com as suas próprias atribuições, para fins educacionais e não-comerciais.

A revista tem o direito de fazer alterações em um nível normativo, ortográfica e gramatical nos artigos originais, com o objectivo de manter o uso padrão adequado da linguagem e a credibilidade da revista. No entanto, o estilo de escrita dos autores serão respeitados.

Alterações, correções ou sugestões em um nível conceitual, quando necessário, será direcionado para os autores.

As opiniões expressas pelos autores dos artigos são de sua exclusiva responsabilidade.

Política de Privacidade

Os nomes e as filiações relatados neste jornal são usados exclusivamente para os serviços prestados e não são disponibilizados para qualquer outra finalidade ou a terceiros.

as condições de submissão

Como parte do nosso processo de submissão, os autores são obrigados a assegurar que a apresentação está em conformidade com todos os itens listados abaixo. As inscrições que não estejam em conformidade com as normas serão devolvidas aos autores.

1. Os autores afirmam que a contribuição é original e nova e que não está sendo avaliada para publicação em outro periódico; qualquer exceção (s) deve ser justificada em "Comentários ao Editor".
2. Os autores afirmam que o material é formatado corretamente e que os arquivos Suplementar foram carregados, estando ciente de que o **formato incorreto resultará na suspensão do processo de avaliação, sem avaliação do mérito** .
3. **Na próxima etapa, preencha os metadados em Inglês.**

Para incluir os metadados, depois de salvar os dados de submissão em Português, clique em " **editar metadados** " no topo da página. Alterar o idioma para Inglês e inserir o título em Inglês, o resumo e palavras-chave. Guardar e ir para a próxima etapa.

1. **Dados de autoria de todos os autores devem ser preenchidas durante o processo de submissão.**

Use o botão " **incluem o autor.** "

1. Verifique se a **identificação de autoria** do trabalho foi removida do arquivo e da Word usando a opção Propriedades, a fim de garantir que os critérios de anonimato da revista, se o artigo é submetido a revisão por pares de acordo com as instruções disponíveis em [Assegurando um ponto cego avaliação](#) .
2. Os arquivos para submissão estão em Word, OpenOffice ou RTF (desde que não excedam 2 MB).

O texto é escrito com espaçamento 1,5 e, em fonte Times New Roman tamanho 11. Use itálico em vez de sublinhado (exceto para endereços URL).

O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos em [Diretrizes para Autores](#) sob o título "Sobre a Revista".

1. Confirme se todos os padrões éticos foram seguidos se a pesquisa foi realizada com seres vivos. Fornecer a documentação da aprovação de um comitê de ética institucional e prova de consentimento informado se esses documentos são solicitados. A conformidade com os preceitos éticos aplicáveis devem ser citadas no corpo do texto.
2. Um texto indicando a relevância do trabalho (importância e da distinção em relação a outros trabalhos já publicados), com um comprimento máximo de 10 linhas, deve ser incluído no campo **Comentários ao Editor** .

Declaração de direitos de autor

A **Declaração de Direitos Autorais** para artigos publicados nesta revista é o direito do autor. Uma vez que os artigos que são publicados nesta revista são de acesso público, os artigos podem ser usados livremente, com as suas próprias atribuições, para fins educacionais e não-comerciais.

A revista tem o direito de fazer alterações em um nível normativo, ortográfica e gramatical nos artigos originais, com o objectivo de manter o uso padrão adequado da linguagem e a credibilidade da revista. No entanto, o estilo de escrita dos autores serão respeitados.

Alterações, correções ou sugestões a nível conceptual, quando necessário, será direcionado para os autores. Nestes casos, depois de ter sido alterado, os artigos vai ser submetido a uma nova avaliação.

As opiniões expressas pelos autores dos artigos são de sua exclusiva responsabilidade.

Política de Privacidade

Os nomes e as filiações relatados neste jornal são usados exclusivamente para os serviços prestados e não são disponibilizados para qualquer outra finalidade ou a terceiros.

Eles devem ser tanto destaque e em negrito? Ou isso deve apenas ler "Os títulos devem estar em negrito"?

Parece que esta frase e a seguinte frase (depois de "1") talvez deva ser comutada para maior clareza, como se segue:

Utilizando os seguintes passos, por favor preencha os metadados em Inglês.

1 . Use o botão "incluem o autor."

Por favor, revise as posições e a ordenação / numeração das etapas desta seção cuidadosamente para garantir que os passos são numerados claramente os autores de pedidos deve segui-los.

Uma vez que a frase indica "no caso de o artigo é submetido a revisão por pares", parece desnecessário incluir (ex .: artigos) aqui. Por favor considerar a exclusão desta.

Deve haver um item numerado separado com uma explicação sobre a taxa de inscrição? Se assim for, por favor, forneça as informações apropriadas. Se não, por favor em apagar isso.

Apresentação Preparação Checklist

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão com todos os itens a seguir, e apresentações podem ser devolvidos aos autores que não aderem a estas orientações.

1. A apresentação não foi publicado anteriormente, nem é antes de outra revista para apreciação (ou uma explicação foi fornecida Comentários ao Editor).
2. O arquivo de submissão estão em OpenOffice, Microsoft Word, RTF ou formato de arquivo de documento do WordPerfect.
3. Quando disponíveis, URLs para as referências foram fornecidas.
4. O texto está em espaço simples; usa uma fonte de 12 pontos; emprega itálico ao invés de sublinhar (exceto em endereços URL); e com figuras e tabelas são colocados dentro do texto nos pontos apropriados, em vez de no final.
5. O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos em [Diretrizes para Autores](#) , que está na seção Sobre a Revista.
6. Se submeter-se a uma seção com revisão por pares da revista, as instruções [Garantir um Blind Review](#) foram seguidas.

Nota de direitos autorais

Direitos Autorais dos manuscritos publicados pertencem à revista. Uma vez que eles são publicados em uma revista de acesso aberto, eles estão disponíveis gratuitamente, para uso particular ou para ser utilizado para fins educacionais e não-comerciais.

A revista tem o direito de fazer, no documento original, as mudanças em relação as normas linguísticas, ortografia e gramática, com o objectivo de assegurar as normas padrão da língua e a credibilidade da revista. Será, no entanto, respeitar o estilo de escrita dos autores.

Quando necessário, conceituais alterações, correções ou sugestões serão encaminhadas para os autores. Em tais casos, o manuscrito deve ser submetido a uma nova avaliação depois da revisão.

A responsabilidade pelas opiniões expressas nos manuscritos encontra-se inteiramente com os autores.

Declaração de privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para qualquer outra finalidade ou a qualquer outra parte.