

INFLUÊNCIA DA SOJA FORNECIDA CRUA, TOSTADA OU COMO FARELO, NA COMPOSIÇÃO DE RAÇÕES PARA BOVINOS, SOBRE O NÚMERO E GÊNEROS DE PROTOZOÁRIOS CILIADOS DO RÚMEN.

JOSÉ CARLOS MACHADO NOGUEIRA FILHO
Professor Doutor
Faculdade de Medicina Veterinária
e Zootecnia da USP

CARLOS DE SOUSA LUCCI
Professor Titular
Faculdade de Medicina Veterinária
e Zootecnia da USP

MARIA ELY MISEROCHI DE OLIVEIRA
Professor Doutor
Instituto de Ciências Biomédicas
da USP

LAÉRCIO MELOTTI
Professor Doutor
Faculdade de Medicina Veterinária
e Zootecnia da USP

EDSON VALVASORI
Pesquisador Científico
Instituto de Zootecnia
Nova Odessa

CESAR GONÇALVES DE LIMA
Professor Assistente
Faculdade de Medicina Veterinária
e Zootecnia da USP

JOSÉ APARECIDO DA CUNHA
Técnico de Laboratório
Faculdade de Medicina Veterinária
e Zootecnia da USP

NOGUEIRA FILHO, J.C.M.; LUCCI, C.S.; OLIVEIRA, M.E.M.; MELOTTI, L.; VALVASORI, E.; LIMA, C.G.; CUNHA, J.A. Influência da soja fornecida crua, tostada ou como farelo, na composição de rações para bovinos, sobre o número e gêneros de protozoários ciliados do rúmen. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.*, São Paulo, 27(1):123-127, 1990.

RESUMO: Seis bovinos mestiços, com fístulas ruminais, receberam os seguintes tratamentos: A) soja grão, crua; B) soja grão, tostada e; C) farelo de soja, serviram como fontes de proteína de rações constituídas

de 50% de concentrados e 50% de volumosos (feno de *Brachiaria decumbens*). O delineamento utilizado foi o "change-over" tendo os períodos experimentais duração de 28 dias, dos quais os últimos sete prestaram-se para colheita de amostras do líquido ruminal e contagem de protozoários ciliados. Os resultados mostraram maior número de protozoários por mililitro de líquido ruminal com a soja crua ($633,2 \times 10^3$) do que com a tostada ($492,9 \times 10^3$), mas esta apresentou maior número que o farelo de soja ($407,5 \times 10^3$), sendo os resultados, significantes a 5% de probabilidade. Outros resultados são fornecidos, para os gêneros *Entodinium* spp, *Diplodinium* spp, *Eudiplodinium* spp, *Epidinium* spp, *Polyplastron* spp, *Isotricha* spp e *Dasytricha* spp.

UNITERMOS: Alimentação, bovinos; Soja; Rúmen; Protozoa

INTRODUÇÃO

Embora protozoários flagelados estejam presentes no rúmen (CLARKE³, 1979; OGIMOTO & IMAI¹⁴, 1981; DEHORITY⁵, 1987), a grande maioria dos protozoários daquele compartimento é representada pelos ciliados que têm sido divididos em Holotricha (Família Isotrichidae) e os entodiniomorfos (Família Ophryoscolecidae da Ordem *Entodiniomorpha*). Estes desempenham papéis importantes na nutrição dos ruminantes, degradando proteínas, fibra e amido, e produzindo entre outros produtos finais, ácidos graxos voláteis que, absorvidos, contribuem para o metabolismo energético (HUNGATE⁹, 1966; CHURCH², 1974; DEHORITY⁵, 1987). Os entodiniomorfos são especialmente importantes na ingestão e digestão do amido (HUNGATE⁹, 1966), enquanto que os Holotricha participam, com vantagem sobre outros gêneros, na assimilação de carboidratos solúveis (ORPIN & LETCHER¹⁵, 1978).

Dietas concentradas, com altas proporções de grãos, oferecem uma disponibilidade mais rápida para a fermentação dos carboidratos pelos microorganismos do rúmen. Assim sendo, NAKAMURA & KANEGASAKI¹² (1969); GRUBB & DEHORITY⁸ (1975); NOUR et alii¹³ (1979); DENNIS et alii⁶ (1982), detectaram aumentos significativos de ciliados do rúmen, quando dietas com níveis elevados de concentrados eram oferecidas, enquanto que LATHAM et alii¹¹ (1971) notaram decréscimos no número de Holotricha; SLYTER et alii¹⁶ (1970) verificaram somente presença de entodiniomorfos e valores de pH do líquido ruminal muito baixos (5,0 - 5,2); ABE et alii¹ (1973) observaram marcante decréscimo na concentração de protozoários; VANCE et alii¹⁷ (1972) detectaram o desaparecimento dos ciliados do rúmen após 14 dias de

recebimento ininterrupto de dietas com 88,5% de concentrado e o reaparecimento da fauna 112 dias após, com a mesma alimentação, encontrando principalmente espécies de *Entodinium*.

Consoante DEHORITY⁵ (1987), parece que dietas contendo cerca de 40 a 50% de volumosos registrariam número máximo de protozoários ciliados. Quando rações exclusivas ou com altos níveis de concentrados são colocadas à disposição dos ruminantes, há tendência de diminuição do pH para níveis próximos de 6,0 e consequentemente um decréscimo no número de espécies de ciliados, prevalecendo no meio ruminal espécies de *Entodinium*, mais resistentes ao meio ácido.

O presente experimento procurou verificar a influência da soja fornecida crua, tostada ou como farelo, na composição de rações para bovinos, sobre o número e gêneros de protozoários ciliados que habitam o rúmen.

MATERIAL E MÉTODO

O ensaio foi executado no Centro Intraunidade de Zootecnia e Indústrias Pecuárias "Fernando Costa" - CIZIP, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, no Município de Pirassununga, SP, localizada à 21°8' de latitude sul e 47°25'42" de longitude oeste, com altitude de 634 metros.

Foram utilizados 6 bovinos machos com 5/8 de sangue Europeu, providos de fistulas ruminais, com peso médio de aproximadamente 300 kg ao início do experimento, que receberam os seguintes tratamentos: A) soja grão crua; B) soja tostada e; C) farelo de soja, como parte da proteína da ração constituída de 50% de concentrado e 50% de volumosos (feno de *Brachiaria decumbens*). A soja era acrescido rolão de milho e todas as misturas foram balanceadas para um teor de 12,5% de proteína bruta (P.B.).

O delineamento experimental escolhido foi o "change-over" (GOMES⁷, 1970) com dois grupos de 3 animais e três tratamentos, com subperíodos de 4 semanas de duração, sendo que na quarta semana foram colhidas amostras do líquido ruminal para contagens diferenciais de protozoários, uma hora após o arraçamento, com o propósito de se verificar o número máximo de ciliados após a refeição.

A disposição do "change-over" seguiu o seguinte esquema:

Períodos Animais

	1	2	3	4	5	6
I	A	B	C	A	B	C
II	B	C	A	C	A	B
III	C	A	B	B	C	A

Na oportunidade foi administrado o polietilenoglicol (PEG-4.000 F) como marcador da fase líquida do rúmen, na quantidade de 100 g por animal em cada subperíodo, diretamente naquele compartimento, após colheitas de amostras do suco de rúmen para contagens diferenciais dos ciliados, com o intuito de se estudar o volume e o "turn-over" do líquido ruminal e a degradabilidade da proteína das rações, em outro experimento paralelo (HYDEN¹⁰, 1956).

Foram colhidos 30 a 40 ml de fluido de rúmen, através de bomba de sucção, que eram recebidos em um balão kitasato; uma alíquota de 10 ml era transferida para um tubo de ensaio com 20 ml de formaldeído (diluído em água destilada a 1:2); o tubo era agitado imediatamente após a colheita, para fixação dos protozoários. O pH das amostras foi medido no momento da colheita do líquido de rúmen, utilizando-se peagômetro digital portátil.

As amostras permaneciam em repouso por uma noite, sendo depois diluídas a 1:20 em solução de glicerol a 30%. O "verde-brilhante" foi o corante utilizado, consoante DEHORITY⁴ (1977).

Obedeceu-se à técnica de DEHORITY⁴ (1977), na contagem dos ciliados, feita em câmara de Sedgwick-Rafter, tendo sido percorridos 100 campos diferentes. Calculou-se fator de correção para 1,0 ml de líquido ruminal; as operações foram executadas em duplicata e levada em consideração a média obtida.

A análise de variância foi feita conforme GOMES⁷ (1970), e as diferenças entre médias, comparadas pelo teste de Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As diferenças nos valores de pH ruminal não foram consideradas significativas: o coeficiente de variação foi de 1,6% e os valores encontrados foram 6,8; 6,8 e 6,7 para os tratamentos A, B e C, respectivamente.

Os valores encontrados para as contagens de protozoários foram as constantes da Tab.1.

Se considerarmos o total de protozoários/ml (Tab.1), foram surpreendidas maiores concentrações de indivíduos no tratamento com soja crua, seguindo-se a soja tostada e, com menor número de células/ml, o fa-

relo de soja. No caso de *Epidinium* spp, constatou-se também maior número de unicelulares/ml na soja crua; não houve diferença entre soja tostada ($2,1 \times 10^3$ /ml) e farelo de soja ($1,1 \times 10^3$ /ml). A não significância entre os tratamentos B e C, no gênero *Epidinium* spp, carece de uma explicação aparente.

Desta maneira, fica constatada uma população mais rica em protozoários ciliados nos rúmens de bovinos que receberam a soja não submetida ao calor, sendo também maior na soja tostada que no farelo de soja. Como a soja crua é mais degradada ao nível de rúmen, supõe-se que a maior concentração de NH_3 ruminal, resultante desse fato, em relação à soja tostada, menos degradável, tenha influído positivamente no crescimento das populações de protozoários. Com respeito aos números inferiores encontrados com o farelo de soja, pode-se também levantar a hipótese de que a presença de menor energia nesse tratamento, devido à retirada do óleo, tenha prejudicado o desenvolvimento melhor dos ciliados.

Estudos de SLYTER et alii¹⁶ (1970); LATHAM et alii¹¹ (1971); VANCE et alii¹⁷ (1972); ABE et alii¹ (1973) afirmam que a introdução de concentrados em níveis crescentes e por longos períodos numa dieta ocasiona uma diminuição drástica das espécies de ciliados, inclusive com o desaparecimento de *Holotricha*. Relatam ainda queda acentuada nos níveis de pH. Entretanto, no presente trabalho, não se constatou diminuição no pH e nem desaparecimento das espécies (ou gêneros), usualmente encontradas. Ainda foram verificadas diferenças em número de indivíduos entre tratamentos, dados estes que se assemelham aos mostrados por DENNIS et alii⁶ (1982), quando utilizaram níveis energéticos elevados (com 30%, 50% e 70% de concentrados (farelo de soja), com exceção apenas do gênero *Dasytricha* que não foi afetado.

GRUBB & DEHORITY⁸ (1975), ao substituírem ração com alta concentração de volumosos por dietas contendo 60% de concentrados, relatam que a energia disponível na ração, aumentava o número total de protozoários.

Ainda NAKAMURA & KANEGASAKI¹² (1969) observaram, em ovinos, números totais de protozoários de $7-12 \times 10^5$ /ml numa ração de concentrado e feno, e apenas $2-4 \times 10^5$ /ml numa dieta somente com feno.

CONCLUSÕES

Face aos resultados obtidos na presente investigação, parece lícito concluir o seguinte:

- 1) A soja crua possibilitou maior número de protozoários/ml; *Entodinium* spp/ml; *Diplodinium* spp/ml; *Eudiplodinium* spp/ml; *Epidinium* spp/ml; *Polyplastron* spp/ml; *Isotricha* spp/ml; e *Dasytricha* spp/ml do que a soja tostada ou farelo de soja.
- 2) A soja tostada aponta maior número de protozoários/ml; *Entodinium* spp/ml; *Diplodinium* spp/ml; *Eudiplodinium* spp/ml; *Polyplastron* spp/ml; *Isotricha* spp/ml; e *Dasytricha* spp/ml, relativamente ao farelo de soja.

NOGUEIRA FILHO, J.C.M.; LUCCI, C.S.; OLIVEIRA, M.E.M.; MELOTTI, L.; VALVASORI, E.; LIMA, C.G.; CUNHA, J.A. The influence of full fat soybeans, roasted soybeans and soybean meal on the number and genera of the rumen ciliated protozoa of cattle. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.*, São Paulo, 27(1):123-127, 1990.

SUMMARY: Six crossbred steers (300 kg live weight), with ruminal fistula, received the following treatments: A) full fat soybeans; B) full fat soybeans, roasted; and C) soybean meal, as protein sources in a ration with 50% concentrates: 50% roughage (*Brachiaria decumbens* hay). Statistical design was a "change-over" with periods of 28 days; on day 28 after feeding rumen liquor was collected and the protozoa concentration per ml determined. The concentration for treatment A was 633.2×10^3 per ml, treatment B was 492.9×10^3 per ml, and treatment C was 407.5×10^3 per ml. These means were significantly different ($p < 0.05$). Results are also reported for concentration by genus of protozoa in *Entodinium*, *Diplodinium*, *Eudiplodinium*, *Epidinium*, *Polyplastron*, *Isotricha* and *Dasytricha*.

UNITERMS: Nutrition of cattle; Soya bean; Rumen; Protozoa

TABELA 1 – Número de protozoários ciliados por mililitro de líquido ruminal ($\times 10^3$), verificado nos tratamentos A (soja crua); B (soja tostada); e C (farelo de soja). Pirassununga – SP, 1988.

Gêneros	Tratamentos			C.V. (%)
	A	B	C	
Entodinium spp	572,6 ^a	453,4 ^b	376,9 ^c	2,8
Diplodinium spp	24,3 ^a	17,8 ^b	14,7 ^c	5,1
Eudiplodinium spp	5,3 ^a	2,3 ^b	0,9 ^c	10,6
Epidinium spp	4,4 ^a	2,1 ^b	1,1 ^b	18,5
Polyplastron spp	2,2 ^a	0,9 ^b	0,4 ^c	19,8
Isotricha spp	11,4 ^a	8,7 ^b	7,4 ^c	2,8
Dasytricha spp	13,0 ^a	7,6 ^b	6,1 ^c	4,3
Total	633,2 ^a	492,9 ^b	407,5 ^c	

Obs: Números com letras diferentes, na mesma linha, mostram diferenças significativas ($p \leq 0.05$).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 01-ABE, M.; SHIBUI, H.; IRIKI, T.; KUMENO, F. Relation between diet and protozoal population in the rumen. *Brit. J. Nutr.*, 29:197-202, 1973.
- 02-CHURCH, D.C. *Fisiologia digestiva y nutrición de los ruminantes*. Zaragoza, Acribia, 1974. v.1.
- 03-CLARKE, R.T.J. Protozoa in the rumen ecosystem. In: CLARKE, R.T.J. & BAUCHOP, T., eds. *Microbial ecology of the gut*. New York, Academic Press, 1979. p.251-275.
- 04-DEHORITY, B.A. *Classification and morphology of rumen protozoa*. Wooster, Ohio Agricultural Research and Development Center, 1977.
- 05-DEHORITY, B.A. *Rumen microbiology*. Wooster, Ohio Agricultural Research and Development Center, 1987.
- 06-DENNIS, S.M.; ARAMBEL, M.J.; BARTLEY, E.E.; DAYTON, A.D. Effect of energy concentration and source of nitrogen on numbers and types of rumen protozoa. *J. Dairy Sci.*, 66:1248-1254, 1982.
- 07-GOMES, F.P. *Curso de estatística experimental*. Piracicaba, Nobel, 1970.
- 08-GRUBB, J.A. & DEHORITY, B.A. Effects of an abrupt change in ration from all roughage to high concentrate upon rumen microbial numbers in sheep. *Appl. Microbiol.*, 30: 404-412, 1975.
- 09-HUNGATE, R.E. *The rumen and its microbes*. New York, Academic Press, 1966.
- 10-HYDEN, S. A turbidometric method for the determination of higher polyethylene glucols in biological material. *Lantbr-Högsk. Ann.*, 22:139-145, 1956.
- 11-LATHAN, M.J.; SHARPE, M.E.; SUTTON, J.D. The microbial flora of the rumen of cows fed hay and high cereal rations and its relationship to the rumen fermentation. *J. appl. Bact.*, 34:425-434, 1971.

- 12-NAKAMURA, K. & KANEGASAKI, S. Densities of ruminal protozoa of sheep established under different dietary conditions. *J. Dairy Sci.*, 52:250-255, 1969.
- 13-NOUR, A.M.; ABOU-AKKADA, A.R.; EL-SHAZLY, K.; NAGA, M.A.; BORHAMI, B.E.; ABAZA, M.A. Effect of increased levels of urea in the diet on ruminal protozoal counts in four ruminant species. *J. anim. Sci.*, 49:1300-1305, 1979.
- 14-OGIMOTO, K. & IMAI, S. *Atlas of rumen microbiology*. Tokyo, Japan Scientific Societies Press, 1981.
- 15-ORPIN, C.G. & LETCHER, A.J. Some factors controlling the attachment of the rumen holotrich protozoa *Isotricha intestinalis* and *I. prostoma* to plant particles *in vitro*. *J. gen. Microbiol.*, 106:33-40, 1978.
- 16-SLYTER, L.L.; OLTJEN, R.R.; KERN, D.L.; BLANK, F.C. Influence of type and level of grain and diethylstilbestrol on the rumen microbial populations of steers fed all-concentrate diets. *J. anim. Sci.*, 31:996-1002, 1970.
- 17-VANCE, R.D.; PRESTON, R.L.; KLOSTERMAN, E.W.; CAHILL, V.R. Utilization of whole shelled and crimped corn grain with varying proportions of corn silage by growing-finishing steers. *J. anim. Sci.*, 35:598-605, 1972.

Recebido para publicação em 28/03/89

Aprovado para publicação em 12/12/89