

## ESTABELECIMENTO DE PROTOZOÁRIOS CILIADOS NO RÚMEN DE BEZERROS ALIMENTADOS COM PROTEÍNA DE DIFERENTES FORMAS DE SOJA<sup>(1)</sup>

EDISON VALVASORI<sup>(2)</sup>, JOSÉ CARLOS MACHADO NOGUEIRA FILHO<sup>(3)</sup>, MARIA ELY MISEROCHI DE OLIVEIRA<sup>(3)</sup>, CARLOS DE SOUSA LUCCHI<sup>(3)</sup> e JULIANA RODRIGUES POZZI ARCARO<sup>(4)</sup>

**RESUMO:** Dezoito bezerros, neonatos, da raça Holandesa foram colocados em gaiolas individuais até os 105 dias de idade, em um delineamento inteiramente casualizado, para estudar o estabelecimento de protozoários ciliados no rúmen, recebendo dietas contendo diferentes fontes de proteína de soja. Foi fornecido leite durante os primeiros 49 dias e o alimento sólido, constituído de 29% de feno de gramínea e 71% composto de mistura de milho moído e soja nas formas: farelo comercial (A), soja torrada (B) e soja crua (C) foi introduzido no 16º dia de vida. Amostras do líquido ruminal dos bezerros obtidas aos 12, 47, 82 e 105 dias de idade, através de sonda estomacal, indicaram que: por volta da 6-7ª semana, deu-se o início do desenvolvimento da população de protozoários do rúmen; o gênero *Entodinium* foi o primeiro a estabelecer-se e, sentou-se em maior número durante todo o experimento. Outros gêneros observados foram: *Diplodinium*, *Epidinium*, *Isotricha* e *Dasyticha*. Um maior número de protozoários ciliados por mililitro do líquido ruminal foi encontrado nos animais que receberam soja crua.

**Termos para indexação:** alimento, bezerro, protozoários (Aliados do rúmen, soja).

*Establishment of rumen ciliate protozoa in calves fed diets with protein from different sources of soybean*

**SUMMARY:** Eighteen Holstein calves were placed in a complete randomized design to evaluate the protozoa population in the rumen under different diets: A) soybean oil meal, B) toasted soybean and C) raw soybean, as protein. Milk was fed up to 49 days old and solid feed after the 10 day. Samples of rumen liquor were collected at 12, 47, 82 and 105 days old, through stomach tube. Results showed that at 7 weeks old the *Entodinium* sp was the first population to establish. It was also the genera that presented the highest number of individuals.

1 Projeto IZ-14-007/90. Recebido para publicação em agosto de 1992.  
2 Seção de Criação e Manejo do Gado Leiteiro, Divisão de Zootecnia de Bovinos Leiteiros.  
3 Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/USP, Campus de Pirassununga.  
4 Seção de Reprodução e Inseminação Artificial, Divisão de Técnica Básica e Auxiliar.

Other genera observed were: *Diplodinium*, *Epdiniwn*, *Isotricha* and *Daspicha*. Treatment C (raw soybean) presented the highest concentration of rumen protozoa. The lower number of protozoa in samples of treatment B, related to C, showed that in feed processing, temperature probably provided protection against rumen degradation.

index terms: feed, calf, ciliate protozoa, toasted soybean, degradation.

## INTRODUÇÃO

Mudanças anatômicas e fisiológicas ocorrem no sistema digestivo dos bezerros na transição de pré-ruminantes para ruminantes. O interesse no desenvolvimento mais rápido da função plena do rúmen reside em utilizar alimentos fibrosos em idades mais precoces. Um aspecto importante é o estabelecimento dos microorganismos no proventrículo, constituídos por bactérias, protozoários, fungos e leveduras (HUNGATE, 1966), que transformam os substratos em dióxido de carbono, metano, ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico, junto com amônia, traços de alguns outros ácidos graxos voláteis e ácido láctico (ORSKOV & RYLE, 1990). Entre esses microorganismos, os protozoários ciliados, têm recebido atenção especial, nas últimas décadas, embora sua ausência não cause prejuízos ao animal hospedeiro (EADIE & GILL, 1971). Ocorrem em menor número em relação às bactérias, contêm acima de 40% do nitrogênio microbiano e respondem por cerca de 60% oti mais do total dos produtos de fermentação (HUNGATE, 1966).

Os protozoários ciliados no rúmen, invadem o alimento, armazenam amilopectinas, engolfam e digerem bactérias e são mais facilmente destruídos em meio ácido, em relação às bactérias (ORPIN, 1983/84; ORSKOV & RYLE, 1990). Devido aos protozoários não conseguirem sintetizar seus próprios amino-ácidos, ficam dependentes da dieta e da proteína microbiana para exercerem suas funções (RYLE & ORSKOV, 1987). A degradação de um alimento a nível de rúmen pode ser afetada pelo calor utilizado no processamento desse alimento.

O presente trabalho teve como objetivo acompanhar a instalação e o desenvolvimento de alguns gêneros de protozoários no rúmen de bezerros, do nascimento até os 105 dias de vida, quando recebiam dietas com proteína de soja nas formas de farelo comercial, soja torrada e soja crua.

## MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado no Instituto de Zootecnia, em Nova Odessa, SP, de agosto a dezembro de 1990.

Dezoito bezerros da raça Holandesa Preto e Branco foram colocados em um delineamento inteiramente casualizado (GOMES, 1978), visando comparar os seguintes tratamentos: A = farelo de soja, B = grãos de soja torrados e C = grãos de soja crus, ingredientes de misturas concentradas das rações. O aleitamento foi feito até o 49º dia, sendo os alimentos sólidos introduzidos no 16º dia de vida (quadro 1), com um máximo de 2,5kg diários/animal.

Quadro 1. Porcentagens dos ingredientes nas rações dos diferentes tratamentos

Ingredientes	Tratamentos		
	A	B	
		%	-
Farelo de soja	26,00		
Soja moída torrada		40,00	
Soja moída crua			40,00
Milho moído	43,00	29,00	29,00
Feno picado'	29,00	29,00	29,00
Mistura mineral	2,00	2,00	2,00
Proteína bruta	20,00	20,00	20,00

• Feno de coast-cross (*Cynodon dactylon* L.) Pers.)

Cerca 40ml de amostra do líquido ruminal cotetados, de cada bezerro, por sonda esofagiana (SINGÚ et al., 1988 e TOWNE et al., 1990a), no período da manhã, antes do fornecimento do alimento (SINHA et al., 1974 e KUKAR et al., 1988), aos 12, 47, 82 e 105 dias de idade. O preparo das amostras, para a contagem e classificação dos protozoários, obedeceu às técnicas descritas por HUNGATE (1966); DEHORITY (1987) e NOGUEIRA FILHO et al. (1990).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O quadro 2 mostra, para cada dieta, os diversos gêneros, números de protozoários ciliados por milímetro de líquido ruminal ( $\times 10^3$ ), das amostras coletadas aos 12, 47, 82 e 105 dias de idade nos diferentes tratamentos.

Quadro 2. Número de protozoários ciliados por milímetro de líquido ruminal ( $\times 10^3$ ), para os diversos gêneros, intervalos de tempo e dietas: A (farelo de soja; B (soja torrada); C (soja crua)

Dieta	Gênero	Intervalo de tempo			
		12 dias	47 dias	82 dias	105 dias
Farelo de soja	<u>Entodinium</u>		0,93 $\pm$ 0,04a'	3,83 $\pm$ 0,12a	16,97 $\pm$ 0,35a
	<u>Diplodinium</u>			0,58 $\pm$ 0,05a	2,81 $\pm$ 0,05a
	<u>J. pdinium</u>				1,10 $\pm$ 0,15a
	<u>Isotnrha</u>				2,77 $\pm$ 0,10a
	<u>Dasyttrita</u>				2,53 $\pm$ 0,11a
	Total		0,93A	4,41A	26,18A
Soja torrada	<u>Entodinium</u>		1,77 $\pm$ 0,10a	9,15 $\pm$ 0,30b	33,19 $\pm$ 0,78b
	<u>Diplodinium</u>			1,64 $\pm$ 0,09b	4,22 $\pm$ 0,11b
	<u>Epslinium</u>			0,72 $\pm$ 0,04b	1,35 $\pm$ 0,08ab
	<u>Isotnrha</u>			0,60 $\pm$ 0,08b	3,41 $\pm$ 0,071)
	<u>Dasyttrita</u>			0,70 $\pm$ 0,05b	2,88 $\pm$ 0,13a
	Total		1,77A	12,81B	45,05B
Soja Crua	<u>Entodinium</u>		3,211 $\pm$ 0,301,	27,23 $\pm$ 1,36c	54,96 $\pm$ 0,98c
	<u>Diplodinium</u>			2,81 $\pm$ 0,09c	4,14 $\pm$ 0,111)
	<u>Epslinium</u>			1,77 $\pm$ 0,11c	1,44 $\pm$ 0,02b
	<u>Isotnrha</u>			2,11 $\pm$ 0,20c	4,85 $\pm$ 0,18c
	<u>Dasyttrita</u>			1,77 $\pm$ 0,12c	5,82 $\pm$ 0,231,
	Total		3,2113	35,69C	71,21C
CV (c:c)'			23,14	12,64	5,06

\* Médias, na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas, distintas dentro de cada gênero, e por letras maiúsculas distintas para os números totais, diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05)  
CV para número total

Aos 12 dias de idade, quando o único alimento dos bezerros era leite integral, nenhum protozoário foi identificado nas amostras de líquido ruminal das diferentes dietas. Estas observações estão de acordo com EADIE et al. (1959); HUNGATE (1966); NOGUEIRA FILHO (1981); VEIRA (1986) e SINGH et al. (1988).

Aos 47 dias, as amostras coletadas mostraram somente a presença do gênero *Entodinium*, como observado por NOGUEIRA FILHO (1981); SINGH et al. (1988) e TOWNE et al. (1990b), que constataram que o primeiro gênero a se estabelecer no rúmen é o *Entodinium*. Ainda neste período, a dieta contendo soja crua (C), apresentou maior número de indivíduos em relação aos demais tratamentos. O tratamento com soja torrada (B), apresentou maior população de microorganismos em relação às com farelo de soja, embora a diferença não fosse significativa, provavelmente em razão do coeficiente de variação neste período ter sido elevado (23,14%). Assim sendo, foi possível, nesta idade, comprovar o estabelecimento de protozoários, o que concorda com EADIE & GILL (1971) e SINHA et al. (1974).

Nas amostras colhidas nos bezerros com 82 e 105 dias de idade (quadro 2), observa-se acentuado aumento de protozoários ciliados, com maiores concentrações na dieta soja crua (C), seguida da torrada (B); esta por sua vez, seguida do farelo de soja (A). Resultados semelhantes a estes, foram encontrados por NOGUEIRA FILHO et al. (1990). Assim, o calor da torrefação alterou a soja de tal forma que, ao ser empregada como alimento, fez diminuir a população de protozoários. CHALUPA (1975) afirma que o calor aplicado ao alimento diminui a degradação ruminal do mesmo. A soja crua, sendo mais prontamente degradada a nível de rúmen, deve provocar maiores concentrações de  $\text{NH}_3$  ruminal (DAVENPORT et al., 1987; USHIDA & JOUANY, 1990) que, provavelmente, influi no aumento do número dos protozoários. A população de protozoários das amostras de bezerros recebendo a soja como farelo comercial foi menor em relação aos demais tratamentos; na extração do óleo, para obtenção do farelo, utilizam-se solventes e calor (CAMARA et al., 1982). Com relação ao óleo contido na semente de soja, depreende-se, pela população de protozoários das diversas dietas, que o mesmo não protegeu a soja grão da degradação ruminal, de acordo

com resultado de DAVENPORT et al. (1987). Contudo, TOWNE et al. (1990h), quando misturaram 3,5% de óleo de soja em uma ração, observaram redução na população de protozoários em rúmen de bovinos.

Aos 82 e 105 dias de idade, constatou-se, nas amostras do líquido ruminal dos bezerros mantidos em diferentes dietas, o estabelecimento de 5 gêneros de protozoários: *Entodinium*, *Epidinium*, *Isotricha* e *Dasytricha*, com exceção da dieta farelo de soja (A), que apresentou, aos 82 dias, somente os dois primeiros gêneros.

O *Entodinium*, primeiro a se estabelecer, apresentou maior quantidade de indivíduos por mililitro de líquido ruminal em todos os tratamentos, mas com maior concentração nos bezerros que receberam soja crua, seguida da soja torrada e finalmente do farelo de soja. Este gênero utiliza, principalmente, amido para seu desenvolvimento (ORPIN, 1983/84) e resiste a um meio mais ácido que os outros protozoários ciliados (RYLE & ORSKOV, 1987); o que é importante em dietas com alta quantidade de grãos (TOWNE et al., 1990b), caso deste experimento.

O gênero *Diplodinium* foi o segundo a se estabelecer no rúmen dos animais que receberam farelo de soja (A); resultados concordes com BRYANT et al. (1958), que sugerem a mesma sequência de estabelecimento. Nas diferentes dietas, o gênero *Diplodinium* apresentou maior número na soja crua (C), seguida da torrada (B) e por fim do farelo de soja (A), aos 82 dias de idade. Aos 105 dias de idade, a soja crua e a torrada, mostraram-se semelhantes quanto ao número de indivíduos deste gênero. HUNGATE (1966) comenta que o *Diplodinium* não ocorre em grandes concentrações no rúmen, estando presente tanto em animais ingerindo elevada quantidade de grãos como naqueles submetidos a regime de pastagens ou feno.

O gênero *Epidinium*, esteve presente em maior quantidade aos 82 dias de idade nos animais alimentados com soja crua, em relação aos que receberam soja torrada. Na amostra de 105 dias de idade, o número de indivíduos diminuiu em relação a 82 dias, no caso da soja crua, mas este número foi maior em relação ao farelo de soja. Conforme RUCKEBUSCH & THIVEND (1980) o gênero *Entodinium* utiliza grãos de amido e clorofila.

Com referência aos gêneros *Isotricha* e *Dasytricha*, as amostras do líquido ruminal dos diversos tratamentos mostraram pequena quantidade de indivíduos em relação ao gênero *Entodinium*, fato já esperado, uma vez que os grãos perfaziam quase 70% das rações. Segundo HUNGATE (1966) e ABE et al. (1973), em animais recebendo dietas com alta quantidade de concentrados,

o número de entodinomorfos aumenta em relação à população dos holotricha.

O grupo holotricha, depende de carboidratos solúveis para sua subsistência (RUCKEBUSCH & TRIVEND, 1980; ORSKOV & RYLE, 1990). O quadro 2 mostra que a soja torrada, apresentou menor população de *Holotricha* e *Dasytricha* em relação à soja crua, indicando diminuição da disponibilidade de carboidratos solúveis, com a torrefação da soja.

## CONCLUSÕES

1- A população de *Entodinium*, é a primeira a estabelecer-se às 7 semanas de idade, e está presente em maior número durante todo o período experimental.

2- Bezerros alimentados com soja crua, apresentam maior população de protozoários ciliados, em relação àqueles que recebem soja torrada.

3- Maior número de *Isotricha* e *Dasytricha* é encontrado nas amostras do líquido ruminal dos bezerros alimentados com soja crua, em relação à torrada.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABE, M.; SHIBUI, H.; IRIKI, T.; KUMENO, P. Relation between diet and protozoal population in the rumen. *Brit. J. Nutr.*, London, 29:197-202, 1973.
- BRYANT, M. P.; SMALL, N.; BOUMA, C. & ROBINSON, L. Studies on the composition of the ruminal flora and fauna of young calves. *J. Dairy Sci.*, Champaign, IL, 41:1747-67, 1958.
- CAMARA, J. M. D. S.; GODOY, O. P.; MARCUS FILHO, J. & D'ARCE, M. A. B. R. Soja: produção, pré-processamento e transformação agroindustrial. São Paulo, Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia, 1982. 99p. (Extensão Agroindustrial, 7).
- CHALUPA, W. Rumen bypass and protection of proteins and amino acids. *J. Dairy Sci.*, Champaign, IL, 58(8):1198-217, 1975.
- DAVENPORT, G. M.; BOLING, J. A.; GAY, N. & BUNTING, L. D. Effect of soybean lipid on growth and ruminal nitrogen metabolism in cattle fed soybean meal or ground whole soybeans. *J. Anim. Sci.*, Champaign, IL, 65(6):1680-9, 1987.
- DEHORITY, B. A. Rumen microbiology. Wooster, Agricultural Research and Development Center, Ohio, 1987. 239p.
- EADIE, M. G. & GILL, G. C. The effect of the absence of rumen ciliate protozoa on growing lambs fed on a roughage-concentrate diet. *Brit. J. Nutr.*, London, 26:155-67, 1971.
- EADIE, J. M.; HOBSON, P. N.; MANN, S. O. A relationship between some bacteria, protozoa and diet in early weaned calves. *Nature*, London, 183:624-5, 1959.
- GOMES, F. P. Curso de estatística experimental. 8a ed. Piracicaba, SP, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 1978. 430p.

- IIUNGATE, R. E. 'The rumen and its microbes. New York, Academie Press, 1966. 533p.
- KUKAR, C. K.; GUPTA, B. N. & MOHINI, M. Protozoal status in strained rumen liquor of caule and buffaloes. Indian J. Anim. Sci., Pusa, New Delhi, 58(1):112-5, 1988.
- NOGUEIRA FILHO, J. C. M. Contribuição ao estudo sobre protozoários em rumens de bezerros de rebanhos leiteiros. Tese de Mestrado. São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/USP, 1981. 70f.
- ; 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 gênero de protozoários ciliados do rúmen. Bras. J. Vet. Res. Anim. Sci., São Paulo, SP, 27(1):123-7, 1990.
- ORPIN, G. O. The role of ciliate protozoa and fungi in the rumen digestion of plant cell walls. Anim. Feed Sci. Technol., Amsterdam, 10(2/3):121-44, 1983/84.
- ORSKOV, E. R. & RYLE, M. Energy nutrition in ruminants. London, Elsevier Science Publishers LTD, 1990. 149p.
- RUCKEBUSCH, Y. & THIVEND, P. Digestive physiology and metabolism in ruminants. Westport, Conn. AVI., 1980, 854p.
- RYLE, M. & OILSKOV, E. R. Itumen (abates and tropical feeds. World Anim. Rcv., Romc, 64:21-30, 1987.
- SINIHA, R. N.; SHARMA, D. D.; NAMBU DRIPAD, V. K. N. & RANGANATHAN, B. Preliminary observations on the effect of ration after feeding at different intervals on microbial population and metabolic products of buffalo rumen. Indian J. Anim. Sci., Pusa, New Delhi, 44(1):18-21, 1974.
- SINGH, N.; NANGIA, O. P.; GARG, S. L.; PURI, J. P. & PUNIA, J. S. Establishment of rumen protozoa and bacteria under different management practices in buffalo calves. Indian J. Anim. Sci., Pusa, New Delhi, 58(11):1315-26, 1988.
- TOWNE, G.; NAGARAJA, T. G.; BRANDT Jr., R. T. & KEMP, K. E. Dynamics of ruminal ciliated protozoa in feedlot caule. Appl. Environ. Microbiol., Washington, 56(10):3174-8, 1990a.
- ; RUMINANT Ciliated protozoa in caule fed finishing diets with or without supplemental fat. J. Anim. Sci., Champaign, 11, 68(7):2150-5, 1990b.
- USHIDA K. & JOUANY J. P. Effect of denaturation on fibre digestion in sheep given two isonitrogenous diets. Anim. Feed Sci., Technol., Amsterdam, 29:153-8, 1990.
- VEIRA, D. M. The role of ciliated protozoa in nutrition of the ruminant. J. Anim. Sci., Champaign, IL, 63(5):1547-60, 1986.