



OLÉO DE SOJA COMO FONTE DE LIPÍDIOS EM DIETAS DE BOVINOS E SEUS EFEITOS SOBRE PROTOZOÁRIOS CILIADOS DO RÚMEN

Mariana Fonseca Rossi¹, Isabel Martinele², Carlos Gustavo Santos Ribeiro³, Fernando César Ferraz Lopes⁴ & Marta D'Agosto⁵

1 - Graduanda em Ciências Biológicas, Bolsista PIBIC/CNPq. E-mail: marianafrossi@hotmail.com; 2 - Doutoranda, Depto. de Zootecnia, UFLA; Profa. Substituta, Depto. de Zoologia, UFVJ; ³Doutorando do Programa de Pós-graduação em Zootecnia da UFMG. Bolsista da FAPEMIG; ⁴Analista da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. Bolsista do CNPq. ⁵Profa. Associado, Depto. de Zoologia, UFVJ, Juiz de Fora, MG.

Palavras-chave: Capim-elefante, defaunação, *Entodinium*, proteína microbiana

INTRODUÇÃO

No ambiente ruminal, os protozoários ciliados utilizam diferentes substratos como fonte de nutrientes, incluindo os componentes da dieta do hospedeiro, além de outros organismos da microbiota ruminal, como bactérias ou mesmo protozoários (WILLIAMS & COLEMAN, 1992).

Entretanto, esses protozoários não representam uma fonte significativa de proteína para o hospedeiro, uma vez que ficam retidos no rúmen. Ainda, ao predarem as bactérias, comprometem o fluxo de proteína de origem bacteriana ao intestino delgado. Deste modo, a diminuição no número de protozoários resultaria na redução da atividade predatória sobre as bactérias, otimizando a síntese de proteína microbiana (WILLIAMS & COLEMAN, 1992).

A inclusão de óleo de soja em substituição parcial a grãos em dietas de vacas em lactação contribui com maior disponibilidade de energia ao animal, e por seu efeito defaunador, melhora também o fluxo de proteína microbiana ao rúmen, resultando em melhorias no desempenho produtivo do animal. MARTINELE *et al.* (2008b) correlacionaram a defaunação com a redução na digestibilidade da fibra em detergente neutro, especialmente quando eliminadas as populações de protozoários celulolíticos. Este efeito defaunador pode contribuir com a redução na emissão de metano por ruminantes devido ao aumento da proporção de propionato em relação ao acetato (MARTINELE *et al.*, 2008b).

JORDAN *et al.* (2006) relataram uma tendência ao declínio no número de protozoários do rúmen de bovinos de corte após adição de óleo de soja integral ou refinado nas dietas. O efeito deletério de lipídios sobre os ciliados também foi observado por YANG *et al.* (2009) que constataram diminuição na concentração de protozoários ruminais em vacas leiteiras alimentadas com óleo de soja e óleo de linhaça. Estudos demonstram outros efeitos negativos da defaunação, tais como redução no consumo de matéria seca, queda do pH ruminal (EIFERT *et al.*, 2005) e decréscimo na digestibilidade das frações fibrosas da dieta (SILVA *et al.*, 2007).

O efeito depressor dos lipídios sobre o consumo de matéria seca relaciona-se à inibição do crescimento microbiano e, consequentemente, fermentação da fibra, reduzindo, assim, a taxa de passagem da digesta pelo trato gastrointestinal. Esta inibição pode ser direta, conforme mencionado acima, ou indireta, devido à substituição do carboidrato por lipídios, não sendo estes, fonte de energia para o crescimento microbiano (VARGAS *et al.*, 2002).

FONSECA & DIAS-DA-SILVA (2001) destacaram que a relação proteína/energia nos produtos finais da digestão, tem seu aumento favorecido por dietas lipídicas, podendo estimular melhorias na produtividade de ruminantes, cuja alimentação baseia-se em dietas fibrosas de baixo valor nutritivo. Entretanto, não há evidências experimentais que descrevam seguramente os efeitos da defaunação no metabolismo ruminal.

04



Considerando a possível influência de fontes lipídicas sobre os protozoários ruminais, objetivou-se avaliar os efeitos da utilização de óleo de soja sobre a densidade e ocorrência destes organismos, incluindo-o em níveis crescentes na dieta de vacas em lactação.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Leite da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (CNPGL/EMBRAPA), situado no município de Coronel Pacheco, MG. Foram utilizadas quatro vacas multíparas Holandês x Zebu, fistuladas no rúmen, com 90 ± 25 dias de lactação e pesando $458,0 \pm 57,0$ kg. Os animais foram confinados em cochos cobertos, com dispositivo eletrônico para alimentação individual do tipo *callan gates*. Água e mistura mineral foram fornecidos *ad libitum*.

As dietas experimentais foram formuladas à base de capim elefante picado na forma de mistura completa, com relação volumoso:concentrado de 52:48 com base na matéria seca. Os concentrados foram compostos por fubá de milho, farelo de soja, polpa cítrica, mistura mineral vitamínica e níveis crescentes de óleo de soja de forma a se obter 0; 1,5%; 3,0% e 4,5% deste nutriente na matéria seca total. As dietas foram formuladas para serem isotróficas (14,4% de PB) e isofibras (42,8% de FDN), e o nível da oferta foi ajustado para 10% de sobra. A proporção dos ingredientes e a composição químico-bromatológica das dietas estão apresentadas na Tabela 1.

O experimento foi delineado em quadrado latino 4x4, constituindo quatro fases experimentais de 21 dias, sendo que destes, 11 foram de adaptação às dietas e 10 de coletas. As vacas eram ordenhadas mecanicamente, duas vezes ao dia, sendo a alimentação fornecida uma única vez, logo após a ordenha da manhã.

As amostras de conteúdo do rúmen foram obtidas via fistula ruminal no último dia de cada uma das quatro fases do experimento, sendo que as coletas foram realizadas às zero horas (imediatamente antes da alimentação), 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16 e 24 horas após o fornecimento das dietas. Para cada horário de coleta, alíquotas de 20mL de conteúdo ruminal foram fixadas em formalina 18,5% (v/v) (DEHORITY, 1984) e acondicionadas em frascos de polietileno, sendo analisadas no Laboratório de Protozoologia do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Comportamento e Biologia Animal, Universidade Federal de Juiz de Fora, MG. Os gêneros de ciliados foram identificados segundo OGIKOTO & IMAI (1981) e quantificados em câmara Sedgewick-Rafter, segundo DEHORITY (1984) com modificações propostas por D'AGOSTO & CARNEIRO (1999). Os resultados da quantificação total e genérica de protozoários foram submetidos à análise de variância (ANOVA) para verificar o efeito dos tratamentos sobre estes. O programa estatístico utilizado foi o BIOESTAT 5.0 (AYRES *et al.*, 2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A densidade média, o desvio padrão da média e a composição relativa do número total de ciliados e o de cada gênero por mililitro de conteúdo ruminal estão apresentados na Tabela 2. O gênero *Entodinium* foi o mais representativo, compondo 79,54%; 77,99%; 71,57%; 83,16% das populações, respectivamente nos tratamentos 0, 1,5%, 3,0% e 4,5% com óleo de soja. As densidades absoluta e relativa observadas para este gênero no tratamento controle, se assemelham às observada (s) por MARTINELE *et al.*, (2008a) ao trabalharem com dietas à base de capim- elefante.

Observou-se que *Entodinium* apresentou populações significativamente menores nas dietas com 3,0% de óleo de soja, corroborando resultados anteriores que indicam efeito tóxico do óleo de soja sobre esse gênero (MARTINELE *et al.*, 2008b). Entretanto, ao observarmos que determinadas populações, a exemplo as dos gêneros *Charonina* e *Entodinium*, retomaram o crescimento e apresentaram densidades que não diferiram do tratamento controle ($p > 0,05$), mesmo quando se



elevou o nível de óleo, pressupõe-se uma possível adaptação da microbiota ao longo do período experimental. Os elevados valores observados para o desvio padrão das médias obtidas para cada tratamento refletem essa dinâmica das populações de protozoários ciliados em resposta às variações no ambiente ruminal, isso se soma ainda, a fatores metabólicos característicos dos animais (MARTINELE *et al.*, 2008b). Tal observação pode ser visualizada na Tabela 3, cuja densidade média das populações variou significativamente conforme o animal em cada um dos tratamentos analisados. Essa informação evidencia claramente que o efeito do hospedeiro sobre estes organismos pode ser tão importante quanto o da dieta, ou até mais significativo, se as alterações na dieta são apenas em termos de percentual de seus constituintes. Assim, destaca-se que os tratamentos utilizados no presente estudo apresentaram um efeito individual sobre os protozoários ruminais, afetando apenas alguns gêneros, enquanto que o número médio total de protozoários não diferiu ($p < 0,05$) em relação ao tratamento controle, mas apenas em relação ao animal.

Tabela 1. Ingredientes e composição química das dietas experimentais.

Ingredientes ¹	Níveis de inclusão de óleo de soja (% de matéria seca da dieta)			
	Controle	1,5%	3,0%	4,5%
Capim-elefante	52,0	51,9	52,2	52,2
Fubá de milho	16,1	15,4	14,0	13,3
Farelo de soja	16,1	15,4	14,0	13,3
Polpa cítrica	14,8	14,7	15,4	15,4
PVM ²	1,0	1,0	1,0	1,0
Composição química da dieta ¹	(% de matéria seca da dieta)			
Óleo de soja	-	1,5	3,0	4,5
Proteína Bruta	14,4	14,4	14,5	14,4
Extrato Etéreo	2,8	4,2	5,6	7,1
Fibra em Detergente Neutro	43,0	42,8	42,8	42,5
Fibra em Detergente Ácido	25,2	25,0	25,1	24,9
Energia Líquida da Lactação (MGcal/Kg)	1,51	1,57	1,63	1,69

¹Valores estimados pelo programa Spartan (Michigan State University);

²Mistura vitamínico-mineral.

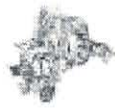


Tabela 2. Densidade média ($\times 10^4$), desvio padrão da média (DP), composição relativa (%) e a classificação funcional de protozoários ciliados/mL de conteúdo ruminal em vacas lactantes alimentadas com capim-elefante picado acrescido de 0, 1,5, 3,0 e 4,5% de óleo de soja.

Classificação Taxonômica	Tratamentos												Grupo Funcional	
	0%			1,5%			3%			4,5%				P
	Média	DP	%	Média	DP	%	Média	DP	%	Média	DP	%		
<i>Charonina</i>	0,65	0,57	1,41	0,98 ^a	0,96	1,66	0,39 ^b	0,42	1,01	0,91 ^a	0,83	1,75	0,0038	C.solúveis ¹
<i>Dasytricha</i>	2,67 ^a	2,76	5,82	2,11	1,94	3,59	2,10 ^a	2,10	5,46	1,13 ^b	1,17	2,17	0,0193	C.solúveis ¹
<i>Diplodinium</i>	1,44	1,09	3,13	1,28	0,88	2,17	1,43	1,38	3,71	1,36	1,18	2,61	0,9200	Celulose ²
<i>Diploplastron</i>	0,004	0,02	0,008	0,008	0,03	0,01	0,004	0,02	0,01	0,008	0,03	0,01	0,0065	Celulose ²
<i>Entodinium</i>	36,48	33,22	79,54	45,84 ^a	17,66	77,99	27,52 ^b	18,59	71,57	43,19 ^a	23,66	83,16	0,0078	Celulose ²
<i>Eodinium</i>	0,33	0,41	0,71	0,55 ^a	0,67	0,93	0,27 ^b	0,42	0,70	0,21 ^b	0,33	0,40	0,0192	Celulose ²
<i>Epidinium</i>	0,06	0,14	0,13	0,03	0,12	0,03	0,02	0,05	0,05	0,06	0,12	0,11	0,3074	Celulose ²
<i>Eremoplastron</i>	1,28	1,59	2,79	4,09	6,23	10,60	3,02	5,18	7,85	2,44	2,91	4,69	0,0559	Celulose ²
<i>Eudiplodinium</i>	0,13 ^a	0,24	0,28	0,60 ^b	1,15	1,95	0,54	0,81	1,40	0,24	0,4	0,46	0,0215	Celulose ²
<i>Isotricha</i>	1,38	1,56	3,00	1,66	1,32	0,02	1,65	1,88	4,88	1,32	1,37	2,54	0,6970	C.solúveis ¹
<i>Ostracodinium</i>	0,27	0,54	0,15	0,46	0,57	0,96	0,43	0,36	1,11	0,30	0,37	0,57	0,2474	Celulose ²
<i>Polyplastron</i>	0,04	0,09	0,08	0,10	0,18	0,17	0,07	0,25	0,18	0,01	0,04	0,01	0,1010	Celulose ²
TOTAL	45,86 ^a	35,16	58,77 ^b	13,57	38,45 ^a	21,04	51,93 ^{abc}	25,56	0,0065					

Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem significativamente ($P < 0,05$)

¹ Protozoários que se alimentam preferencialmente de carboidratos solúveis;

² Protozoários que se alimentam preferencialmente de materiais fibrosos;

Tabela 3. Efeito do hospedeiro sobre a densidade média e o desvio padrão da média (DP) do total de protozoários ciliados/mL de conteúdo ruminal ($\times 10^4$) em vacas lactantes alimentadas com dieta à base de capim-elefante picado acrescido de 0, 1,5, 3,0 e 4,5% de óleo de soja.

Tratamentos	Animal 1		Animal 2		Animal 3		Animal 4		P
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	
Controle	76,88 ^a	26,57	5,99 ^b	1,52	26,56 ^c	7,56	74,02 ^a	21,46	0,00
1,5%	65,20 ^a	12,58	51,78 ^b	13,71	52,00 ^b	13,02	66,09 ^a	8,78	0,01
3%	54,59 ^a	25,85	39,28 ^b	10,16	45,36 ^{a,b}	12,42	14,57 ^c	4,66	0,00
4,5%	39,28 ^a	7,38	36,65 ^a	13,25	44,67 ^a	9,42	87,11 ^b	25,42	0,00

Médias seguidas por letras distintas na mesma linha diferem significativamente ($P < 0,05$)



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AYRES, M.; AYRES JR, M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.S. BioEstat 5.0. 2007. **Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Biológicas e Médicas**, Belém: Sociedade Civil Mamirauá, Brasília CNPq.

D'AGOSTO, M. & CARNEIRO, M.E.1999. Evaluation of lugol solution used for counting rumen ciliates. **Revista Brasileira de Zoologia**, 16(3): 725-729.

DEHORITY, B.A.1984. Evaluation of subsampling and fixation procedures used for counting rumen protozoa. **Applied and Environmental Microbiology**, 48(1):182-185.

EIFERT, E.C., LANA, R.P., LANNA, D.P.D, ARCURI, P.B., LEÃO, M.I., VALADARES, S.C.F., LEOPOLDINO, W.M., SILVA, J.H.S.2005. Efeitos do fornecimento de monensina e óleo de soja na dieta sobre o desempenho de vacas leiteiras na fase inicial da lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 34(6): 2123-2132.

FONSECA, A.J.M. & DIAS-DA-SILVA, A.A., 2001. Regulação da ingestão voluntária em ruminantes. **Revista Portuguesa de Zootecnia**, 8 (2): 63-106.

JORDAN, E.; KENNY, D.; HAWKINS, M.; MALONE, R.; LOVETT, D. K.; O'MARA, F. P. 2006. Effect of refined soy oil or whole soybeans on intake, methane output, and performance of young bulls. **Journal of Animal Science**, 84(9): 2418–2425.

MARTINELE, I.; SIQUEIRA-CASTRO, I.C.V.; D'AGOSTO, M. 2008a. Protozoários ciliados no rúmen de bovinos alimentados com dietas de capim-elefante e com dois níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, 9(1): 74-81.

MARTINELE, I.; EIFERT, E.C.; LANA, R.P.; ARCURI, P.B.; D'AGOSTO, M. 2008b. Efeito da monensina e do óleo de soja sobre os protozoários ciliados do rúmen e correlação dos protozoários com parâmetros da fermentação ruminal e digestivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 37(6): 1129-1136.

OGIMOTO, K & IMAI, S, 1981. **Atlas of Rumen Microbiology**. Japan Scientific Societis Press, Tokyo. 231p.

SILVA, M.M.C.; RODRIGUES, M.T.; RODRIGUES, C.A.F.; BRANCO, R.H.; LEÃO, M.I.; MAGALHÃES, A.C.M.; MATOS, R.S. 2007. Efeito da suplementação de lipídios sobre a digestibilidade e os parâmetros da fermentação ruminal em cabras leiteiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 36(1): 246-256.

VARGAS, L.H.; LANA, R.P.; JHAM, G.N. SANTOS, F.L.; QUEIROZ, A.C.; MANCIO, A.B. 2002. Adição de lipídios na ração de vacas leiteiras: parâmetros fermentativos ruminais, produção e composição do leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 31(1): 522-529.

WILLIAMS, A.G. & COLEMAN, G.S. 1992. **The Rumen Protozoa**. Springer-Verlag, New York. 441p.

YANG, S.L.;BU, D.P.; WANG,J.Q.;HU, Z.Y.;LI, D.;WEI, H.Y.;ZHOU, L.Y.; LOOR, J.J. 2009. Soybean oil and linseed oil supplementation affect profiles of ruminal microorganisms in dairy cows. **Animal**, 3(11):1562–1569.



apcbio

Realização: P.A.C. do
Viretório Acadêmico de
Ciências Biológicas

25 a 29 de
Outubro
de 2010

XXXIII Semana de Biologia

Anais da XVI Mostra de
Produção Científica



2010 Max
3315 135 M 1233



Anais da XVI Mostra Científica, XXXIII Semana de Biologia da UFJF
Outubro de 2010

dacbio

XXXIII SEMANA DE BIOLOGIA

25 a 29 de Outubro



dacbio
Inscrições
a partir de
04/10 no DACBio

Mini-Cursos
Simpósios
XVI Mostra de
Produção Científica

Bioconsciência da MEGA diversidade

Apoio:



Realização:

dacbio



Organização

Diretório Acadêmico de Ciências Biológicas
Prof. Walter Machado Couto



Coordenação Geral

Diego de Assis Gonçalves
Alyssa Rossi Borges
Edmo Montes Rodrigues

Tesouraria

Caroline Almeida do Vale

Comissão de Contatos

Edmo Montes Rodrigues
Neima Alice Menezes Evangelista

Comissão Científica

Tércia Vargas
Lidiane Silva
Ricardo Bianchetti

Organização

Rebecca Vasconcelos Botelho
Pilar Cozendey Silva
Matheus de Oliveira Neves
Erika Carvalho Guerra
Michaela Ladeira Melo
Laetitia Alves Cinsa
Samyra Gomes Furtado
Raphaella Vilela Eiras
Mônica Lyra
Juliana Costa e Silva