



Suplementação com óleo de girassol em dietas à base de cana-de-açúcar e seus efeitos sobre as populações de protozoários ciliados no rúmen de vacas lactantes¹

**Mariana Rossi², Isabel Martinele³, Shirley Motta de Souza⁴, Fernando César Ferraz Lopes⁵,
Maria Ignez Leão⁶, Marta D'Agosto⁷**

¹Trabalho Financiado pela FAPEMIG (CVZ 01751/09) e CNPq (478388/2009-8).

²Mestranda, Comportamento e Biologia Animal – UFJF, Juiz de Fora, MG. E-mail: marianafrossi@hotmail.com

³Doutoranda, Departamento de Zootecnia – UFLA, Lavras, MG.

⁴Doutoranda, Departamento de Zootecnia - UFV, Viçosa, MG.

⁵Analista da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, bolsista de produtividade do CNPq.

⁶Professor, Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

⁷Professor Associado, Departamento de Zoologia, UFJF, Juiz de Fora, MG.

Resumo: Objetivou-se avaliar os efeitos de níveis crescentes de óleo de girassol (OG) em dietas à base de cana-de-açúcar sobre protozoários ciliados no rúmen de quatro vacas Holandês x Gir em lactação, distribuídas em um delineamento quadrado latino 4 x 4. Os animais receberam dietas à base de cana-de-açúcar picada, acrescidas (base na matéria seca) de 0, 1,5; 3,0 ou 4,5% de OG. Amostras de fluido ruminal foram coletadas às 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 18 e 24 h após a alimentação e fixadas em formalina 18,5% (v/v). A densidade média total e genérica de protozoários foi submetida à análise de variância. Verificou-se efeito do animal sobre o número total de protozoários independente do tratamento. Uma provável resistência foi observada nas populações de *Charonina* e *Ostracodinium* que foram reduzidas apenas na dieta contendo 4,5% de OG (P<0,05). A inclusão de 3,0 e 4,5% de OG foi eficiente no controle de grande parte das populações de ciliados, destacando completa defaunação do gênero *Epidinium*. Assim, a adição de óleo de girassol em dietas à base de cana-de-açúcar apresentou impacto negativo nas populações de protozoários ciliados no rúmen, podendo ser utilizada como agente defaunador na alimentação de vacas em lactação.

Palavras-chave: bovinos, defaunação, *Entodinium*, lipídio, microbiota ruminal

Supplementation with sunflower oil in diets based sugarcane and its effect on the rumen ciliate protozoa populations of lactating cows

Abstract: The aim of this work was to evaluate the effect of increasing levels of sunflower oil (SO) in diets based on sugarcane on the rumen ciliate protozoa of four Holstein x Gir cows in lactation, in 4 x 4 latin square design. The animals received diet based sugarcane pricked, increased (dry matter basis) of 0; 1,5; 3,0 or 4,5% of SO. Samples of ruminal fluid were collected at 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 18 and 24 h after the feeding and fixed in formalin 18,5% (v/v). The total and generic mean density of protozoa were submitted to variance analysis. Effect of the animal on the total number of protozoa was verified independent of treatment. A probable resistance was observed in *Charonina* and *Ostracodinium* populations that were reduced only in diet with 4,5% of SO (P<0,05). The inclusion of 3,0 and 4,5% SO was efficient in the control of great part of the ciliate populations, highlighting complete defaunation of genus *Epidinium*. Thus, the addition of sunflower oil in diets based on sugarcane had a negative impact on rumen ciliate protozoa populations and can be used as defaunated agent in feed for lactating cows.

Keywords: cattle, defaunation, *Entodinium*, lipid, rumen microbial

Introdução

Dietas suplementadas com fontes lipídicas são utilizadas com o intuito de atender às necessidades energéticas de vacas em lactação e promover mudanças na dinâmica da fermentação ruminal. O óleo de



girassol é uma fonte lipídica rica em ácidos graxos insaturados e, por seu efeito defaunante promove redução na atividade predatória dos protozoários sobre as bactérias. Assim, possibilita maior síntese de proteína de origem microbiana com conseqüente acréscimo do fluxo desta para o duodeno. Além disso, a suplementação com óleo de girassol propicia melhor utilização de nitrogênio no rúmen, aumenta a concentração de propionato e diminui a de acetato, favorecendo menor emissão de metano para o ambiente (Doranalli & Mutsvangwa, 2011). O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do fornecimento de níveis crescentes de óleo de girassol em dietas à base de cana-de-açúcar sobre as populações de protozoários ciliados no rúmen de vacas lactantes.

Material e Métodos

Foram utilizadas quatro vacas multíparas Holandês x Gir, canuladas no rúmen, com 107 ± 10 dias em lactação, dispostas em cochos dotados com dispositivo eletrônico para alimentação individual. Água e mistura mineral foram fornecidos *ad libitum*. Foram avaliadas quatro dietas à base de cana-de-açúcar picada suplementada com concentrado contendo níveis crescentes de óleo de girassol (OG) (0; 1,5; 3,0 e 4,5% na matéria seca da dieta). O delineamento experimental foi uma quadrado latino 4 x 4, cujas fases tiveram duração de 19 dias, sendo 10 dias para adaptação às dietas e nove para coletas. As amostras de fluido ruminal para a quantificação de protozoários ciliados foram obtidas via fístula ruminal, sendo realizadas imediatamente antes da alimentação (tempo zero) e às 2, 4, 6, 8, 10, 12, 18 e 24 h após o fornecimento das dietas. Para cada horário de coleta, alíquotas de 20mL de fluido ruminal foram fixadas em formalina 18,5% (v/v) (Dehority, 1984). Os gêneros de ciliados foram identificados segundo Ogimoto & Imai (1981) e quantificados em câmara Sedgewick–Rafter (Dehority, 1984) com modificações propostas por D’Agosto & Carneiro (1999). Os ciliados do gênero *Entodinium* foram classificados em pequenos ($34,36\mu \pm 3,58$), médios ($44,72\mu \pm 3,87$) ou grandes ($61,83\mu \pm 6,68$). Os resultados da quantificação total e genérica de protozoários foram submetidos à análise de variância, utilizando o programa estatístico BIOESTAT 5.0.

Resultados e Discussão

A densidade de protozoários ciliados identificados está apresentada na Tabela 1. Nas dietas contendo 1,5% de OG nenhum dos gêneros encontrados, com exceção de *Eremoplastron*, apresentou suas populações reduzidas em relação ao tratamento controle (Tabela 1), sugerindo possível resistência de grande parte dos ciliados a esta dieta. Tal resistência também foi observada nas populações de *Charonina* e *Ostracodinium* que foram reduzidas apenas na dieta contendo 4,5% de OG ($P < 0,05$) (Tabela 1). Observou-se que as densidades registradas para as três categorias de *Entodinium*, bem como para *Eodinium*, *Epidinium*, *Eudiplodinium*, *Diplodinium*, *Ostracodinium* e o número total de ciliados, foram significativamente menores nas dietas contendo 3,0 ou 4,5% de OG, com destaque para a defaunação completa de *Epidinium* ($P < 0,05$) (Tabela 1). Esses resultados reforçam a toxicidade de ácidos graxos insaturados sobre os microorganismos ruminais. O efeito depressor de OG também pode ser observado nas populações de *Eremoplastron*, cujas densidades médias foram reduzidas nas dietas contendo 1,5; 3,0 e 4,5% de OG ($P < 0,05$) (Tabela 1). Estes dados corroboram com Váradyová et al. (2007), que relataram queda na densidade deste gênero em dietas contendo óleos de colza e girassol. Nota-se que a densidade média das espécies de tamanho médio do gênero *Entodinium* aumentou no tratamento com 4,5% de OG, não diferindo do tratamento controle ($P > 0,05$) (Tabela 1) e, pressupondo-se possível adaptação deste gênero à dieta ao longo do período experimental. A caracterização das espécies de *Entodinium* conforme seu tamanho se faz importante, uma vez que está intimamente relacionada com a biomassa no rúmen, além de levar em consideração sua diversidade funcional. Deste modo, o conhecimento prévio da composição da microbiota favorece a flexibilização da dieta fornecida ao ruminante. O efeito do animal sobre a densidade média total das populações de ciliados mostrou-se tão importante quanto o da dieta, visto que a densidade média destes organismos variou significativamente conforme o animal em cada um dos tratamentos. Tal observação somada aos elevados desvios-padrão observados indica que, além dos



fatores associados à constituição da dieta, fatores metabólicos característicos dos animais também proporcionam variações nas populações de protozoários.

Tabela 1 Densidade média ($\times 10^4$) e desvio-padrão da média (DP) de protozoários ciliados/mL de fluido ruminal ($\times 10^4$) em vacas em lactação, alimentadas com dietas à base de cana-de-açúcar acrescidas de 0; 1,5; 3,0 e 4,5% de óleo de girassol.

Gêneros	Tratamentos								P
	0%		1,5%		3%		4,5%		
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	
<i>Charonina</i>	0,19 ^a	0,33	0,34 ^{ab}	0,52	0,49 ^b	0,72	0,20 ^a	0,29	0,0335
<i>Dasytricha</i>	5,47	4,76	4,52	3,26	5,51	6,87	3,10	2,94	0,1075
<i>Diplodinium</i>	0,16 ^a	0,35	0,44 ^b	0,61	0,12 ^{abc}	0,23	0,04 ^c	0,08	0,0002
<i>Diploplastron</i>	0,12	0,26	0,07	0,15	0,10	0,22	0,02	0,08	0,1742
<i>Entodinium P</i>	42,51 ^a	28,42	59,00 ^b	33,71	26,77 ^c	26,14	35,84 ^{ac}	13,96	0,0001
<i>Entodinium M</i>	13,34 ^a	8,14	15,68 ^a	8,01	7,80 ^b	2,88	14,56 ^a	7,67	0,0001
<i>Entodinium G</i>	7,12 ^a	4,02	10,74 ^b	7,26	7,42 ^a	2,87	5,58 ^a	3,36	0,0002
<i>Eodinium</i>	0,24 ^{ab}	0,44	0,58 ^a	1,32	0,16 ^b	0,27	0,57 ^a	0,56	0,0354
<i>Epidinium</i>	0,27	0,53	0,01	0,05	-	-	-	-	-
<i>Eremoplastron</i>	1,48 ^a	2,97	0,12 ^b	0,26	0,01 ^b	0,05	0,01 ^b	0,04	0,0001
<i>Eudiplodinium</i>	0,25 ^a	0,30	0,15 ^{ab}	0,21	0,11 ^b	0,27	0,02 ^b	0,08	0,0011
<i>Isotricha</i>	1,88	3,24	1,55	1,37	1,40	1,85	1,34	2,65	0,7722
<i>Ostracodinium</i>	0,20 ^a	0,23	0,15 ^a	0,18	0,14 ^a	0,20	0,03 ^b	0,06	0,0014
<i>Polyplastron</i>	0,14	0,32	0,19	0,22	0,16	0,26	0,07	0,18	0,2318
Total	73,46 ^a	36,72	93,61 ^b	49,30	50,23 ^c	34,40	61,43 ^{ac}	21,44	0,0001

Médias seguidas por letras distintas na mesma linha representam diferenças significativas ($P < 0,05$).

Conclusões

A inclusão de óleo de girassol nos níveis de 3,0 e 4,5% em dietas à base de cana-de-açúcar foi eficiente no controle das populações de protozoários ciliados no rúmen, contribuindo com uma redução respectivamente de 32 e 16,5% no número total de ciliados, em relação ao tratamento controle.

Literatura citada

- D'AGOSTO, M.; CARNEIRO, M.E. Evaluation of lugol solution used for counting rumen ciliates. **Revista Brasileira de Zoologia**, v.16, n.3, p.725-729, 1999.
- DEHORITY, B.A. Evaluation of subsampling and fixation procedures used for counting rumen protozoa. **Applied and Environmental Microbiology**, v.48, n.1, p.182-185, 1984.
- DORANALLI, K.; MUTSVANGWA, T. [2011]. **Feeding sunflower oil to partially defaunate the rumen increases nitrogen retention, urea-nitrogen recycling to the gastrointestinal tract and the anabolic use of recycled urea-nitrogen in growing lambs**. Disponível em: <<http://journals.cambridge.org/action/displayAbstract?fromPage=online&aid=7986266&fulltextType=RA&fileId=S0007114510005155>> Acesso em 25/03/2011.
- OGIMOTO, K.; IMAI, S. **Atlas of rumen microbiology**. 1ed. Tokyo: Japan Sci. Soc. Press, 1981.231p.
- VÁRADYOVÁ Z; KIŠIDAYOVÁ, S.; SIROKA, P.; JALČ, D. Fatty acid profiles of rumen fluid from sheep fed diets supplemented with various oils and effect on the rumen ciliate population. **Czech Journal of Animal Science**, v.52, n.11, p.399-406, 2007.