

## DIMINUIÇÃO DO NUMERO DE PROTOZOARIOS RUMINAIS EM OVINOS ALIMENTADOS COM COPRODUTO DA VINIFICAÇÃO

**RODRIGO CHAVES BARCELLOS GRAZZIOTIN<sup>1</sup>; FLÁVIA PLUCANI AMARAL<sup>2</sup>;**  
**LUCAS HASSE<sup>3</sup>; FERNANDA MEDEIROS GONÇALVES<sup>4</sup>; CÁSSIO CASSAL**  
**BRAUNER<sup>5</sup>; MARCIO NUNES CORRÊA<sup>6</sup>**

<sup>1</sup>*Universidade Federal de Pelotas – r\_cbg@hotmail.com*

<sup>2</sup>*Universidade Federal de Pelotas – flaplucani@yahoo.com.br*

<sup>3</sup>*Universidade Federal de Pelotas – hassemissioneiro@gmail.com*

<sup>4</sup>*Universidade Federal de Pelotas – fmgvet@gmail.com*

<sup>5</sup>*Universidade Federal de Pelotas – cassiocb@gmail.com*

<sup>6</sup>*Universidade Federal de Pelotas – marcio.nunescorrea@gmail.com*

### 1. INTRODUÇÃO

De acordo com IPCC (2007), a agricultura é responsável por 13,5% das emissões mundiais, de gases de efeito estufa. Dentre estes gases, o metano ( $\text{CH}_4$ ) tem grande relevância, sendo 28 vezes mais danoso que o dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) (IPCC, 2014). No território brasileiro, 66,9% do total de metano emitido tem origem ruminal (BRASIL, 2016), ressaltando a importância de estudar a produção entérica de gases de efeito estufa.

$\text{CH}_4$  é formado decorrente de fermentações ruminais, de carboidratos contidos nos alimentos, produzidas por micro-organismos residentes no rúmen de bovinos, ovinos e outros animais de produção (KURIHARA et al., 1999). Uma grande gama de ações tem sido estudadas para diminuir sua emissão, tendo como foco, interferir de alguma maneira na produção ou consumo da molécula de hidrogênio ( $\text{H}_2$ ), que é substrato chave para sua produção (BOADI, 2004).

Os protozoários ruminais são citados como grandes produtores de  $\text{H}_2$  (Morgavi, 2012), por esta razão estão relacionados a 20% do habitat ideal das metanogênicas, assumindo uma grande contribuição para a produção do  $\text{CH}_4$  entérico (USHIDA; JOUANY, 1996; FINLAY et al., 1994). Tecnologias como a defaunação (eliminação de protozoários ruminais por agentes químicos da dieta) vem ganhando força na pesquisa de mitigação de gases de efeito estufa gerados intra ruminalmente, pelo fato de poder diminuir a produção de  $\text{CH}_4$  de 20 a 50% dependendo da composição da dieta (VAN NEVEL; DEMEYER, 1996).

Uma potencial estratégia para reduzir o  $\text{CH}_4$  entérico seria a alimentação dos ruminantes com a inclusão de taninos condensados em suas dietas totais (ROBERTSON; WAGHORN, 2002; GRAINGER et al., 2009). De acordo com BHATTA et al. (2009) taninos condensados, tiveram êxito em diminuir o número de metanogênicas e de protozoários, em experimentação in vitro.

Bagaço de uva contém altas concentrações de taninos (SPANGHERO et al., 2009), se mostrando um potencial alimento para a diminuição da produção de metano entérico por defaunação.

Objetivou-se avaliar a influência da suplementação de bagaço de uva sobre a população de protozoários ruminais em ovinos.

### 2. METODOLOGIA

O experimento foi conduzido no pavilhão experimental de ovinos, da Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão/RS. Foram utilizados oito ovinos adultos, cruzas Texel e Corriedale, alocados ao acaso em dois grupos

distintos: controle (CON) e grupo uva (GU). O CON recebeu uma dieta basal (DB) contendo 440,3g MS/d de ração comercial; 380,7g MS/d de feno de alfafa e 170g MS/d de feno capim arroz. O GU recebeu a DB com substituição de 30% na matéria seca total por bagaço de uva seco.

O líquido ruminal foi coletado via sonda esofágica com filtração em gaze do material obtido, conservando-se 5 mL da amostra em tubos plásticos contendo de 10 mL de formalina a 37%.

Após a homogeneização do conteúdo, o mesmo era submetido a refrigeração por 12h. Posterior a este período, 0,5 mL da amostra eram retirados e misturados a 9,5 mL de glicerol 30%, obtendo-se uma solução de 1:20 do produto inicial. Duas gotas de verde brilhante a 2% eram adicionadas para melhor visualização das estruturas dos protozoários. Após homogeneização, 1 mL da amostra era disposata em uma câmara de vidro medindo 1x20x50 mm e recoberta por uma lamínula de vidro 30x60 mm impressa com 100 quadros de 0,01 mm<sup>2</sup>.

Um total de vinte quadros nas duas linhas diagonais foi contado e o valor obtido foi multiplicado por cinco para ajuste do volume total da câmara, obtendo-se a estimativa total do número de protozoários em 1 ml da diluição, multiplicado-se pelo valor correspondente as diluições.

Todas as amostras foram contadas em duplicata, totalizando 16 amostras, sendo 8 amostras por grupo.

Os dados obtidos foram avaliados por meio do Teste t no programa estatístico software GraphPad Prism 5® (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, EUA), sendo considerado significativo o valor de  $P < 0,05$ .

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observado diferença significativa ( $P=0,05$ ) entre os tratamentos no número de protozoários ruminais (Figura 1).

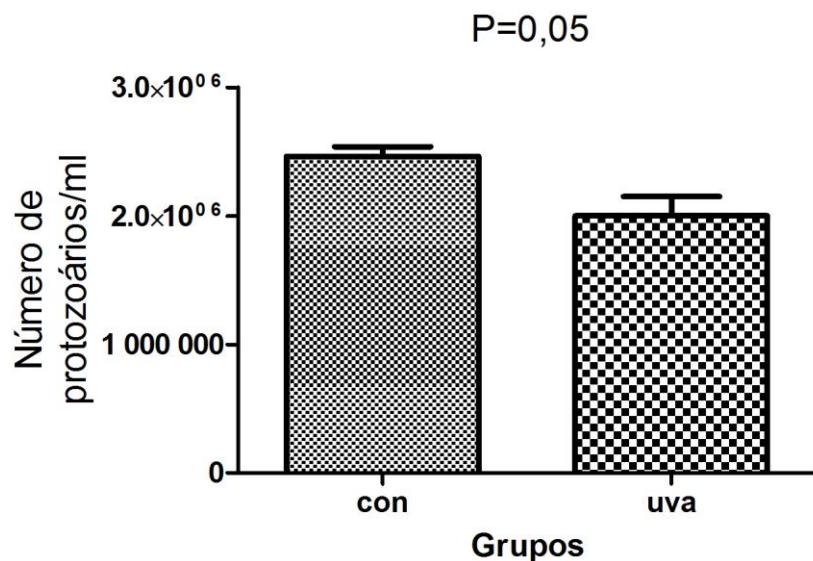


Figura 1: Número de protozoários ruminais de ovinos suplementados com bagaço de uva nas dietas.

Os resultados corroboram a informação obtida pelo estudo de ABARGHUEI et al. (2010) os quais atribuíram a redução do número de protozoários ruminais a interação entre taninos condensados e microrganismos.

Ainda há muita divergência nos resultados perante a adição de taninos na dieta e numero de protozoarios. De acordo com NEWBOLD et al. (1997), taninos não teriam atividade anti-protozoarios para diminuir o numero dos mesmos em grande expressão na totalidade do líquido ruminal, porém MAKKAR et al. (1995; 1998) cita que os taninos condensados podem reduzir o número tanto de *entodinimorfos* quanto de *holotrichas*, o que acarreta por uma maior taxa de proteína microbiana sendo degradada a nível intestinal.

Tal amplitude de resultados pode ser pela especificidade de cada ovino, métodos de coleta e tipos de dieta (YANEZ RUIZ et al., 2004), ou então concentrações e tipos dos taninos utilizados em cada estudo (BENCHAAR et al., 2008). De acordo com HEGARTY (1999) a redução de protozoários no ambiente ruminal pode ser de grande valia para a produção do rebanho, tendo maiores taxas de proteínas microbiana e de absorção de carboidratos no intestino.

De acordo com BOADI et al. (2004) o controle dos protozoários é uma ferramenta promissora para a mitigação de CH<sub>4</sub>, gás que contribui para o efeito estufa e fortemente associado a produção animal.

#### 4. CONCLUSÕES

O bagaço de uva é um potencial ingrediente na dieta de ovinos no sentido de reduzir o número de protozoários ruminais e, indiretamente, os custos com alimentação.

Sugere-se novas pesquisas para caracterização da população de protozoários em que ocorre tal redução afim de ampliar o conhecimento sobre a atuação deste alimento na produção animal.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABARGHUEI, M. J.; ROUZBEHAN, Y.; ALIPOUR, D. The influence of the grape pomace on the ruminal parameters of sheep. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 132, n. 1, p. 73-79, 2010.

BENCHAAR, C.; MCALLISTER, T. A.; CHOUINARD, P. Y. Digestion, ruminal fermentation, ciliate protozoal populations, and milk production from dairy cows fed cinnamaldehyde, quebracho condensed tannin, or *Yucca schidigera* saponin extracts. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, n. 12, p. 4765-4777, 2008.

BHATTA, R.; Uyeno, Y.; Tajima, K.; Takenaka, A.; Yabumoto, Y.; Nonaka, I.; Enishi, O.; Kurihara, M. I. Difference in the nature of tannins on in vitro ruminal methane and volatile fatty acid production and on methanogenic archaea and protozoal populations. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 11, p. 5512-5522, 2009.

BOADI, D.; BENCHAAR, C.; CHIQUETTE, J.; MASSÉ, D. Mitigation strategies to reduce enteric methane emissions from dairy cows: update review. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 84, n. 3, p. 319-335, 2004.

Brasil. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Coordenação-Geral de Mudanças Globais de Clima. **Terceira Comunicação Nacional do Brasil à Convenção-Quadro das Nações Unidas sobre Mudança do Clima**. Brasília: MCTI. 2016

FINLAY, B. J.; Esteban, G.; Clarke, K. J.; Williams, A. G.; Embley, T. M.; Hirt, R. P. Some rumen ciliates have endosymbiotic methanogens. **FEMS Microbiology Letters**, Oxford, v. 117, n. 2, p. 157-161, 1994.

GRAINGER, C.; Clarke, T.; Auldist, M. J.; Beauchemin, K. A.; McGinn, S. M.; Waghorn, G. C.; Eckard, R. J. Potential use of *Acacia mearnsii* condensed tannins

to reduce methane emissions and nitrogen excretion from grazing dairy cows. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 89, n. 2, p. 241-251, 2009.

HEGARTY, R. S. Reducing rumen methane emissions through elimination of rumen protozoa. **Crop and Pasture Science**, Melbourne, v. 50, n. 8, p. 1321-1328, 1999.

Intergovernmental Panel on Climate Change – IPCC. Summary for policymakers. In: FIELD, C. B. et al. (Eds.). **Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Part A: Global and Sectoral Aspects. Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change**. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA. p. 1-32, 2014.

Intergovernmental Panel on Climate Change – IPCC. United Nations Environment Programme. **Assessment Report 4: Contribution of Working Groups I, II and III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change**. Geneva. 2007.

KURIHARA, M.; MAGNER, T.; HUNTER, R. A.; MCCRABB, G. J. Methane production and energy partition of cattle in the tropics. **British Journal of nutrition**, Cambridge, v. 81, n. 3, p. 227-234, 1999.

MAKKAR, H. P.; BLÜMMEL, M.; BECKER, K. In vitro effects of and interactions between tannins and saponins and fate of tannins in the rumen. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Londres, v. 69, n. 4, p. 481-493, 1995.

MAKKAR, H. P.; SEN, S.; BLÜMMEL, M.; BECKER, K. Effects of fractions containing saponins from *Yucca schidigera*, *Quillaja saponaria*, and *Acacia auriculiformis* on rumen fermentation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 46, n. 10, p. 4324-4328, 1998.

NEWBOLD, C. J.; EL HASSAN, S. M.; WANG, J.; ORTEGA, M. E.; WALLACE, R. J. Influence of foliage from African multipurpose trees on activity of rumen protozoa and bacteria. **British Journal of Nutrition**, Cambrige, v. 78, n. 02, p. 237-249, 1997.

ROBERTSON, L. J.; WAGHORN, G. C. Dairy industry perspectives on methane emissions and production from cattle fed pasture or total mixed rations in New Zealand. **Proceedings - New Zealand Society of Animal Production**, Palmerston North, v. 62, p. 213-218, 2002.

SPANGHERO, M.; SALEM, A. Z. M.; ROBINSON, P. H. Chemical composition, including secondary metabolites, and rumen fermentability of seeds and pulp of Californian (USA) and Italian grape pomaces. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 152, n. 3, p. 243-255, 2009.

USHIDA, K.; JOUANY, J. P. Methane production associated with rumen-ciliated protozoa and its effect on protozoan activity. **Letters in Applied Microbiology**, Bedford, v. 23, n. 2, p. 129-132, 1996.

VAN NEVEL, C. J.; DEMEYER, D. I. Control of rumen methanogenesis. **Environmental Monitoring and assessment**, Bangor, v. 42, n. 1-2, p. 73-97, 1996.

YANEZ RUIZ, D. R.; MOUMEN, A.; MARTIN GARCIA, A. I.; MOLINA ALCAIDE, E. Ruminal fermentation and degradation patterns, protozoa population, and urinary purine derivatives excretion in goats and wethers fed diets based on two-stage olive cake: Effect of PEG supply. **Journal of animal science**, Champaign, v. 82, n. 7, p. 2023-2032, 2004.