

Comportamento e perfil de comunidade de protozoários ciliados no rúmen de bovinos¹

Isabel Cristina Vidal Siqueira²
Marta D'Agosto³

BEHAVIOR AND COMMUNITY PROFILE OF RUMEN CILIATE IN CATTLE

ABSTRACT: Aiming to evaluate the influence of Elephant grass diets, with or without a concentrated ration in the community profile, inferring about the association and antagonism behaviors among rumen ciliates. Samples of rumen content were analysed in ten crossbred cows Holstein x Zebu fed Elephant grass with or without concentrate. Were presented the following community profile: B (53.3%), mixed A-B (26.7%), A (13.3%) and O (6.7%). When the antagonistic and association behaviors were analyzed, it was observed that *Eudiplodinium maggii* Fiorentini, 1889 was detected in the absence of *Polyplastron multivesiculatum* Dogiel & Federowa, 1925 and in the presence of *Epidinium* sp. in 53.3% and 87.5% of the samples, respectively. Concentrate diets promoted the community O (50%), followed by B (40%) and A (10%). Under these conditions, the rumen ciliate populations were influenced by the kind of diet, however, such variables did not interfere with the community profile.

Key words: Antagonistic behavior, association behavior, community profile, rumen ciliate protozoa, elephant grass.

¹Parte de dissertação de mestrado - Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Comportamento e Ecologia Animal da Universidade Federal de Juiz de Fora.

²Mestre em Ciências Biológicas - Comportamento e Ecologia animal/ Bolsista CNPq. siqueiraicv@bol.com.br

³Departamento de Zoologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora, 36036-330, Juiz de Fora, MG dagosto@icb.ufjf.br

INTRODUÇÃO

A expressão "ciliados do rúmen" engloba protozoários ciliados de grupos diferentes que constituem diversas populações da comunidade ruminal. O comportamento e a distribuição dos protozoários ciliados podem ser influenciados por vários fatores, tais como dieta ingerida pelo hospedeiro, pH ruminal, intervalo de tempo após alimentação, predação e pelas relações estabelecidas entre eles e deles com as bactérias e fungos.

Estudos sobre competição e antagonismo entre ciliados do rúmen realizados por EADIE (1962a; b) demonstraram que *Polyplastron multivesiculatum* Dogiel & Federowa, 1925, *Eudiplodinium maggii* Fiorentini, 1889 e *Epidinium* spp. Crawley, 1923, não estabelecem populações mistas. Com base na predominância e no antagonismo entre as espécies *P. multivesiculatum* e *E. maggii*, chamadas de grandes entodiniomorfidas, foram caracterizados os seguintes perfis de comunidade: tipo A, B e misto A-B.

No perfil do tipo A, *P. multivesiculatum* predomina sobre *E. maggii* e pode associar-se a *Diploplastron affine* Dogiel & Federowa, 1925 e outros ciliados; no tipo B, *E. maggii* e *Epidinium* spp., juntas ou isoladas, predominam sobre *P. multivesiculatum*. Essas observações foram relatadas também por outros autores (ABOU AKKADA *et al.*, 1969; JOUANY *et al.*, 1988).

TOWNE *et al.* (1988) propôs o perfil do tipo O caracterizado pela ocorrência somente de *Entodinium* spp. e isotríquídeos, sem a ocorrência dos grandes entodiniomorfidas típicos de outras comunidades.

O comportamento antagônico pode ocorrer por competição ou por predação, podendo uma população de *P. multivesiculatum* eliminar outras como as de *Entodinium* spp., *Epidinium* spp., *E. maggi*, *Eremoplastron* spp. e *Ostracodinium* spp. (EADIE, 1967; COLEMAN *et al.*, 1972; GRAIN *et al.*, 1979).

CZERKAWSKI (1986) destacou a competição pelo nitrogênio, que é exercida entre ciliados e bactérias que digerem amido e celulose. Algumas espécies de ciliados, como por exemplo *Entodinium* spp., utilizam produtos resultantes da atividade fermentativa realizada por outros ciliados ou pelas bactérias, o

que evidencia as inter-relações existentes entre os ciliados e entre estes e as bactérias (JOUANY & SENAUD, 1983)

No Brasil, ainda são poucos os estudos sobre a taxonomia, biologia e, principalmente o comportamento de protozoários ciliados do rúmen de bovinos. No entanto, D'AGOSTO & GUEDES (2000), caracterizando o perfil de comunidade de ciliados do rúmen de 100 bovinos de corte, demonstraram que 94% das amostras configuravam-se no perfil do tipo B e três das amostras que poder-se-iam caracterizar como do tipo misto A-B, tenderiam a se estabilizar como do tipo B, pela predominância numérica de *Eudiplodinium* sp. em relação a *Polyplastron* sp. As demais amostras (3%) caracterizaram-se como do tipo O.

Os objetivos deste estudo foram identificar e quantificar os ciliados ocorrentes em amostras de conteúdo ruminal de vacas mestiças Holandês-Zebu mantidas à base de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.), avaliando a influência do estágio fenológico desta forrageira, o horário pós-alimentação e a adição de concentrado à dieta sobre os percentuais de ocorrência de cada gênero segundo as variáveis testadas, além de analisar o tipo de perfil de comunidade de ciliados nas amostras obtidas, inferindo-se sobre o comportamento de associação e antagonismo entre eles.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas amostras do conteúdo ruminal de dez bovinos mestiços Holandês-Zebu, fistulados no rúmen, com idade entre sete a onze anos e peso de $536,9 \pm 48,95$ kg, mantidos confinados no campo experimental da EMBRAPA Gado de Leite, situado no Município de Coronel Pacheco, Zona da Mata, Minas Gerais. Os animais receberam as dietas em cochos para alimentação individual (*callan-gates*). Cada animal possuía um colar com um dispositivo magnético que abria o seu respectivo cocho. Esse sistema de manejo de alimentação garantiu que o animal somente se alimentasse da dieta proposta.

Foram fornecidas dietas exclusivas de capim-elefante com idade de corte de 30 dias (D1), 45 dias (D2), 60 dias (D3), e capim-elefante de 55 a 60 dias suplementado com 2kg (D4) e

4kg (D5) de ração concentrada. As dietas foram fornecidas duas vezes ao dia e água *ad libitum*.

A matéria seca nos diferentes cortes do capim-elefante foram de 13,22; 16,17 e 18,28% para as idades de 30, 45 e 60 dias de crescimento, respectivamente.

A ração concentrada consistia de 65% de milho em grãos, 10% de farelo de algodão, 20% de farelo de trigo, 2% de uréia, 2% de calcário e 1% de mistura mineral, apresentando 18% de teor de proteína bruta.

Os períodos de obtenção de amostras foram intercalados por sete dias para adaptação às dietas testadas. O rúmen foi esvaziado para se obter amostras homogeneizadas, sendo este procedimento realizado em dias alternados, para amenizar o estresse causado aos animais. As amostras foram coletadas em duas situações com o animal em jejum (T0) e duas horas após a alimentação (T2).

Trinta amostras, compostas por 20 ml de líquido ruminal e de cerca de 20 cm³ de conteúdo ruminal, foram fixadas em 40 ml de formalina a 18,5% e conservadas em recipientes individualizados (DEHORITY, 1984). O pH ruminal foi medido imediatamente após a obtenção das amostras através de phmetro digital.

A avaliação qualitativa e quantitativa dos gêneros de protozoários ciliados foi realizada no Laboratório de Microscopia do Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Comportamento e Ecologia Animal da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), segundo DEHORITY (1984) com as modificações propostas por D'AGOSTO & CARNEIRO (1999).

Os resultados das contagens expressam o número de ciliados por milímetro de conteúdo ruminal, calculado pelos valores da média das duas contagens. A identificação dos ciliados baseou-se em OGIMOTO & IMAI (1981).

Os perfis de comunidade foram reconhecidos de acordo com EADIE (1962a, 1962b) e com TOWNE *et al.* (1988), considerando-se a predominância de *P. multivesiculatum* ou *E. maggii* e *Epidinium* spp., ou a ausência desses grandes entodiniomorfidados e a ocorrência de *Entodinium* spp. e/ou isotríquideos. Os dados analisados referem-se aos de identificação e quantificação das amostras por tratamento, utilizando-se os animais como unidades experimentais

Os comportamentos de associação e de antagonismo entre alguns gêneros de ciliados foram analisados segundo EADIE (1967).

Para avaliar tais parâmetros foram utilizadas três alíquotas de cada amostra, examinando-se 100 campos microscópicos de cada na câmara de Sedgewick-Rafter. Pela concentração e presença ou ausência de determinados ciliados entodiniomorfidas, inferiu-se sobre o tipo de comportamento e o perfil de comunidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a análise qualitativa e quantitativa dos protozoários ciliados encontrados nas amostras de conteúdo ruminal dos animais alimentados com dietas exclusivas de capim-elefante, (D1, D2, D3) foram registrados os seguintes perfis: comunidade do tipo B (53,3%), comunidade mista A-B (26,7%), comunidade tipo A (13,3%) e comunidade tipo O (6,7%) (Tabela 1; Figura 1). Somente em duas amostras foi observada comunidade do tipo O, caracterizada pela presença de *Entodinium* e/ou isotríquideos, sem a ocorrência de grandes entodiniomorfidas que determinam as comunidades A e B (Tabela 1).

Tabela 1. Tipos de perfil de comunidade no rúmen de bovinos alimentados com capim-elefante com 30 (D1), 45 (D2) e 60 (D3) dias de crescimento e entre 55 a 60 dias de crescimento acrescidas com 2 kg (D4) e 4kg (D5) de ração concentrada, em amostras obtidas em jejum (T0) e duas horas após a alimentação (T2).

Dieta (Horário)	Animal										Total
	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	
D1 (T2)	B	A	A-B	*	*	*	*	*	*	*	3
D1 (T0)	A-B	O	A-B	*	*	*	*	*	*	*	3
D2 (T2)	B	A-B	B	A	B	A	B	*	*	*	7
D2 (T0)	B	A-B	A-B	O	B	A-B	B	*	*	*	7
D3 (T2)	B	*	*	B	B	A	B	*	*	*	5
D3 (T0)	B	*	*	B	B	A-B	B	*	*	*	5
D4 (T2)	*	*	*	B	*	*	O	B	O	O	5
D5 (T2)	*	*	*	B	*	*	O	B	A	O	5
Total	6	4	4	6	4	4	6	2	2	2	40

(*) Indica que o animal não participou do referido tratamento. Os perfis de comunidade são caracterizados pela presença de grandes entodiniomorfidas, logo, A: *P. mutivesiculatum*; B: *E. maggi* e/ou *Epidinium* spp.; A-B: comunidade mista de A e B; O: sem grandes entodiniomorfidas.

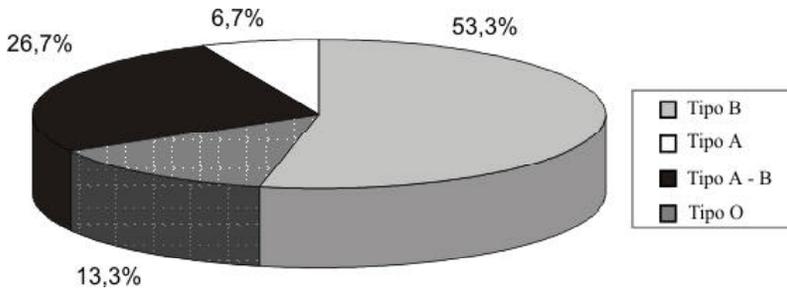


Figura 1. Percentual de comunidades do tipo B (com presença de *E. maggii* ou *Epidinium* spp.), A (predominância de *P. multivesiculatum*), comunidade mista A-B (presença de organismos predominantes das comunidades A e B) e O (sem grandes entodiniomorfidas), no rúmen de bovinos alimentados com dietas exclusivas de capim-elefante

Das amostras examinadas, *Entodinium* spp. representou 68,8% total de ciliados o que corrobora os resultados encontrados por ABOU AKKADA *et al.* (1969), NOGUEIRA-FILHO *et al.* (1992), D'AGOSTO *et al.* (1998) e SÁLVIO & D'AGOSTO (1999), mas esta predominância não é considerada para a caracterização de perfis de comunidade de ciliados do rúmen.

Os resultados indicaram que os animais alimentados com a mesma dieta não apresentaram o mesmo perfil de comunidade, com exceção para D3, que promoveu maior homogeneidade para a comunidade B entre os animais (Tabela 1).

Analisando individualmente os animais, perceberam-se oscilações entre os tipos de perfil, atribuídas à dinâmica das populações, possivelmente influenciadas por fatores como o antagonismo e a competição entre os ciliados, promovidos pela modificação do meio (Tabela 1). COLEMAN *et al.* (1972) e GRAIN *et al.* (1979) observaram mudanças no ecossistema ruminal atribuídas ao comportamento predatório e à competição entre *P. multivesiculatum* e alguns ciliados.

A maioria das amostras caracterizadas como comunidades mistas A-B, apresentou predominância de *E. maggii* em relação a *P. multivesiculatum*. Estes dados indicam uma clara tendência para o estabelecimento natural de um dos tipos de comunidade, neste trabalho a comunidade do tipo B, tendo em vista os altos valores médios e percentuais de *E. maggii*. Estas considera-

ções concordam com os resultados obtidos por D'AGOSTO & GUEDES (2000; 2001). Todavia, em algumas amostras, houve o equilíbrio entre estas populações. Este fenômeno sugere que sejam realizados estudos que enfatizem a ocorrência ou não de comunidades verdadeiramente mistas.

A ocorrência de comunidades mistas registradas no presente estudo contradiz EADIE (1962a, b), ABOU AKKADA *et al.*(1969) e JOUANY *et al.* (1988) pois relataram que *E. maggi* e *P. mutivesiculatum* não estabelecem comunidade mista.

Indícios do comportamento de antagonismo foram observados em 53,3% das amostras caracterizadas como do tipo B e em 13,3% do tipo A (Figura 1). Nas amostras do tipo B verificou-se predominância do comportamento de associação entre *E. maggi* e *Epidinium* sp. em 87,5% do total, enquanto em 12,5% delas *E. maggi* ocorreu isoladamente (Figura 2).

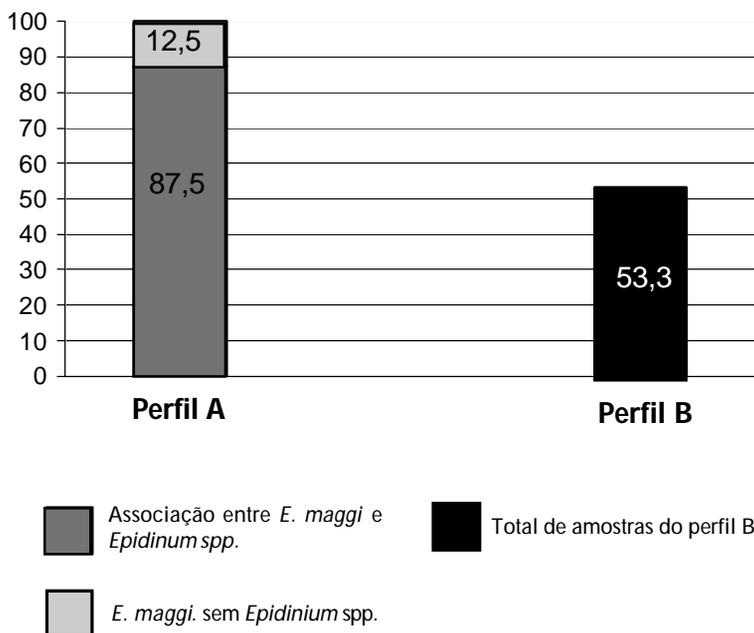


Figura 2. Percentuais de associação entre *Eudiplodinium maggi* e *Epidinium* spp. nas amostras caracterizadas como de perfil B.

As dietas de capim-elefante acrescidas de concentrado não promoveram oscilações nas populações de ciliados, exceto em A9, onde a comunidade se alterou de O para A com a mudança da dieta (Tabela 1). Do total dessas amostras destacou-se a predominância da comunidade O (50,0%), seguida por B (40,0%) e A (10,0%) (Figura 3), não se encontrando comunidades mistas A-B.

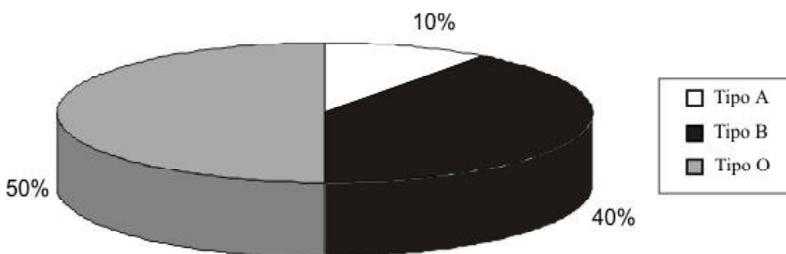


Figura 3. Percentual de comunidades do tipo B (com presença de *Eudiplodinium maggi* e/ou *Epidinium* spp.), A (*Polyplastron multivesiculatum*) e O (sem grandes entodiniomorfidas) no rúmen de bovinos alimentados com dietas de capim-elefante acrescidas de ração concentrada.

A influência de fatores, dentre eles a constituição da dieta, que atuam sobre o perfil de comunidade dos ciliados do rúmen é pouco estudada, o que dificultou a discussão dos dados encontrados. Destaca-se que a diversidade de metodologias utilizadas, dietas e variáveis testadas, manejo dos animais e forrageiras, assim como a localização geográfica foram fatores que dificultaram a comparação dos dados obtidos com os de outros trabalhos sobre ciliados de rúmen observados no Brasil. Todavia, todos estes estudos servem de base para o conhecimento da dinâmica populacional dos ciliados e de suas relações com os animais hospedeiros.

Nas condições estudadas, os tipos de dieta não interferiram sobre o perfil de comunidade, mas a ocorrência dos gêneros foi influenciada pelos hospedeiros. Pôde-se confirmar os comportamentos de antagonismo entre *P. multivesiculatum* e *E. maggi* e de associação desta espécie com *Epidinium* sp. uma vez que as amostras identificadas como mistas, assim o foram pela ocorrência simultânea de *P. multivesiculatum* e *E. maggi*, sem se considerar a relação numérica de suas populações.

AGRADECIMENTOS

Isabel Cristina
Vidal Siqueira
Marta D'Agosto

Agradecimentos ao Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Leite (EMBRAPA) e, aos pesquisadores Dr. Luiz Januário M. Aroeira, Dr. Pedro Braga Arcuri e Dr. João Paulo Soares Guimarães pela cessão dos animais e dietas. Ao Prof. Dr. Erik Daemon de Souza Pinto, pelas sugestões no texto. Ao CNPq pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABOU AKKADA, A.R.; E.E. BARTLEY & L.R. FINA. 1969. Ciliate protozoa in the rumen of the lactating cow. **J. Dairy Science**. **52**: 1088-1091.
- COLEMAN, G.S.; J.I. DAVIES & M.A. CASH. 1972. The cultivation of the rumen ciliates *Epidinium ecaudatum caudatum* and *Polyplastron multivesiculatum in vitro*. **J. Gen. Microbiol.** **73**: 509-521.
- CZERKAWSKI, J. W. 1986. An Introduction to Rumen Studies. Oxford, Pergamon Press, 236p.
- D'AGOSTO, M. & M.E. CARNEIRO. 1999. Evaluation of lugol solution used for counting rumen ciliates. **Revta bras. Zool.** **16**: 725-729.
- D'AGOSTO, M.; M.R. SANTA-ROSA; L.J.M. AROEIRA & F.C.F. LOPES. 1988. Influência da dieta no comportamento da população de ciliados do rúmen. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** **50**: 153-159.
- D' AGOSTO, M. & P.M.M. GUEDES 2000. Caracterização das populações de ciliados (Protista, Ciliophora) do rúmen de bovinos de corte no estado de Minas Gerais, Brasil. **Rev. bras. Zoociências.** **2**: 81-90.
- D'AGOSTO, M. & P.M.M. GUEDES. 2001. Associative behaviour and antagonism of bovine rumen ciliate (Protista, Ciliophora) from Zona da Mata, Minas Gerais State, Brazil. **Revta bras. Zool.** **18**: 1123-1126.
- DEHORITY, B.A. 1984. Evaluation of subsampling and fixation procedures used for counting rumen protozoa. **Appl. Environ. Microbiol.** **48**: 182-185.

Rev. bras.
Zoociências
Juiz de Fora
V. 5 N° 2
Dez/2003
p. 243-252

- EADIE, M. 1962a . The development of rumen microbial populations in lambs and calves under various conditions of management. **J. Gen. Microbiol.** **29**: 563-578.
- EADIE, M. 1962b. Inter-relationships between certain rumen ciliate protozoa. **J. Gen. Microbiol.** **29**: 579-588.
- EADIE, J.M. 1967. Studies on the ecology of certain rumen ciliate protozoa. **J. Gen. Microbiol.** **49**: 175-194.
- GRAIN, J.; C.A. GROLIERE, J. SENAUD; P. de PUYTORAC; B. ZAINAB and J.P. JOUANY. 1979. Ciliate implantation in the rumen: influence of inoculated genus and type of diet. **Ann. Rech. Vét.** **10**: 264-267.
- JOUANY, J.P.; D.I. DEMEYER & J. GRAIN. 1988. Effect of defaunating the Rumen. **Anim. Feed Sci. Technol.** **21**: 229-265.
- JOUANY, J.P. & J. SENAUD. 1983. Influence des ciliés du rumen sur l'utilisation digestive de différents régimes riches en glucides solubles et sur les produits terminaux formés dans le rumen. II. - Régimes contenant de l'inuline, du saccharose et du lactose. **Reprod. Nutr. Dévelop.** **23**: 607-623.
- NOGUEIRA FILHO, J.C.M.; C.D. LUCCHI; L. MELOTTI; M.E.M. OLIVEIRA; C.G. LIMA & J.^a CUNHA. 1992. Contagens diferenciais de protozoários ciliados em rúmen de bovinos arraçoados com capim elefante Napier (*Pennisetum purpureum* Shum), em vários estádios de crescimento vegetativo. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.** **29**: 215-221.
- OGIMOTO, K. & S. IMAI. 1981. **Atlas of rumen microbiology.** Tokyo, Japan Scientific Societies Press, viii+231p.
- SALVIO, G.M.M. & M. D'AGOSTO. 1999. Avaliação do comportamento de escape e migração de ciliados Isotriquiidae no sistema rúmen-retículo de bovinos. **Rev. bras. Zootecias.** **1**: 41-53.
- TOWNE, G.; T.G. NAGARAJA & K. KEMPTE. 1988. Ruminal ciliate in bison. **Appl. Environ. Microbiol.** **54**: 2733-2736.

Recebido: 10/05/03

Aceito: 05/11/03