

# Avaliação do comportamento de escape e migração de ciliados Isotriquiidae no sistema rúmem-retículo de bovinos

Geraldo Majela Moraes Salvio<sup>1</sup>  
Marta D'Agosto<sup>1</sup>

## EVALUATE OF THE ESCAPE BEHAVIOUR AND MIGRATION OF ISOTRICHIDAE CILIATES IN THE RUMEN-RETICULUM SYSTEM OF BOVINES

**ABSTRACT:** The protozoa were the first microorganisms identified in the rumen, but their importance to the animals has not been well defined yet. Some authors consider them as a protein source for the host, as they are digested in the stomach cavity. Such observation is, however, argued by other authors who have observed the existence of the retention of entodinomorphids ciliates in the rumen and the escape behaviour of isotrichids ciliates to the walls of the reticulum moments after the digestion. The present work had the objective of presenting evidences about the escape behaviour of isotrichids in the rumen-reticulum system of bovines evaluating the relation between this genus and the population types found. 45 ml of rumen and reticulum content from 30 animals killed in Além Paraíba MG, were collected. Temperature and pH were measured during sampling and later the samples were analysed in a laboratory. The results show that the rumen and reticulum environments are rather stable with an average temperature ranging from 36 to 37°C and pH 6.5. It also demonstrate a predominance of entodinomorphids not only in the rumen but also in the reticulum. A minor difference has been observed in the Isotrichidae when considering the reticulum. In respect to the escape of Isotrichidae, the data strengthen this idea, since there was a remarkable increase of Isotrichidae in the reticulum when compared to the rumen.

**Key Words:** escape behaviour; Isotrichidae; bovines; ciliates.

Apoio Financeiro: FAPEMIG

<sup>1</sup> Departamento de Zoologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora – MG. Campus Universitário, 36036-330, Juiz de Fora – MG, Brasil. E-mail: [majela@fusoos.com.br](mailto:majela@fusoos.com.br) / [dagosto@icb.ufjf.br](mailto:dagosto@icb.ufjf.br)

# INTRODUÇÃO

Uma variação no número de protozoários no rúmen tem sido registrada por diversos autores (WARNER, 1966; DEHORITY & TIRABASSO, 1989; TOWNE *et al.* 1990; ABE *et al.*, 1981; ANKRAH *et al.* 1990). Tal variação na concentração de diferentes grupos de microorganismos no rúmen é característica de cada grupo e pouco afetada pela hora do dia, a natureza da dieta ou o tipo de hospedeiro (WARNER, 1966).

WARNER (1966) sugeriu que tal variação resultasse de uma rápida multiplicação de isotríquídeos de quatro a oito horas após a alimentação e que estes permaneceriam sem se dividir após as 18 horas seguintes. Contudo o número de ciliados em reprodução por bipartição encontrados por outros autores não reforçam tal idéia (CLARKE, 1965; ABE *et al.* 1981).

ABE *et al.* (1981) encontraram um espesso amontoado de protozoários constituído principalmente de isotríquídeos, especialmente o gênero *Isotricha*, na parede do retículo em bovinos que eram sacrificados após uma noite sem se alimentar. O número de entodinomorfos encontrados nessa massa de protozoários não excedeu a 1% do total. Esse achado sugere que os isotríquídeos normalmente escapam para as paredes do retículo e só migram para o rúmen após o hospedeiro ser alimentado. Tal comportamento seria essencial para que os isotríquídeos mantivessem suas populações no interior do rúmen de bovinos já que ao escaparem para o retículo não seriam levados junto com o conteúdo alimentar para o restante do sistema digestivo.

ANKRAH *et al.* (1990), utilizando-se de um "container" introduzido no interior do rúmen que restringia a passagem de protozoários, investigou os fenômenos de escape e migração de protozoários no rúmen de bovinos. O termo migração foi utilizado para definir o movimento de protozoários do interior do retículo para o rúmen e escape para definir o movimento contrário, do rúmen para o retículo. ANKRAH *et al.* (1990) demonstraram que, após a alimentação a concentração de Isotrichidae no rúmen aumentou de sete a oito vezes em cerca de 40 minutos e decresceu em 88% após quatro horas. As variações encontradas foram atribuídas por este autor aos compor-

tamentos de migração e escape, que não são comuns nos representantes da Família Ophryoscolecidae. As variações no número de Ophryoscolecidae são atribuídas à lise celular e a diluição pelo alimento ou água ingeridos. Tal conclusão baseia-se no fato de não ter sido encontrada diferença na concentração de Ophryoscolecidae no rúmen 24 horas após a alimentação e no rúmen e "container" 40 minutos após a alimentação do segundo dia.

DEHORITY & TIRABASSO (1989) também verificaram uma variação no número de Isotrichidae no rúmen de ovelhas e atribuíram essa variação ao comportamento de escape. Utilizando-se de animais fistulados, foram coletados conteúdos ruminais em diferentes períodos. Os resultados obtidos no seu trabalho indicam que a variação no número de Isotrichidae foi influenciado pela frequência de alimentação. Em animais alimentados duas vezes por dia, duas migrações parecem ocorrer. Demonstraram, ainda, que o escape pode ocorrer pelo denso acúmulo de isotríquídeos no fundo do rúmen e não somente para as paredes do retículo como sugerido por ABE *et al* (1981). Um grande número de isotríquídeos foi encontrado no fundo do rúmen por DEHORITY & TIRABASSO (1989).

O presente trabalho teve como objetivos obter maiores dados sobre o comportamento de escape de ciliados do rúmen para o retículo e avaliar a relação entre esses gêneros e os perfis populacionais encontrados.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no município de Além Paraíba, Minas Gerais, latitude 21° 52' 23" S, longitude 42° 40' 32" W Gr. e altitude 160 m. A região onde se localiza o município de Além Paraíba é de clima tropical, com duas estações definidas, a estação seca, de abril a setembro, e a estação chuvosa, de outubro a março.

A análise do material, identificação e quantificação dos ciliados, foram feitas na Universidade Federal de Juiz de Fora, em laboratório do Curso de Mestrado em Ciências Biológicas - Comportamento e Ecologia Animal.

Foram obtidos conteúdos de rúmen e retículo de 30 animais recém abatidos no Matadouro municipal procedentes de fazendas de Além Paraíba totalizando 60 amostras, sendo 30 de cada compartimento. Os animais foram escolhidos aleatoriamente sendo todos mestiços resultantes do cruzamento de bovinos da raça gir e holandesa e de ambos os sexos. Apresentavam idade entre quatro e cinco anos e peso médio de 225 Kg. Os animais utilizados foram alimentados nas fazendas de origem apenas com braquiária (*Brachiaria*), capim gordura (*Melinis*) e/ou capim colônia (*Panicum*). As coletas foram realizadas nos dias 22 de julho de 1998 e 05 de agosto de 1998, sempre à tarde, após as 18 horas, momento de abate no Matadouro Municipal.

Os animais chegavam ao Matadouro Municipal pelo menos doze horas antes do abate, não recebendo nenhum tipo de alimento durante esse período, apenas água. As amostras foram obtidas diretamente das cavidades após o abate do animal e imediatamente fixadas com formalina a 18,5% e conservadas em frascos devidamente identificados com o número dado a cada animal e a cavidade de onde fora retirado o conteúdo.

As avaliações quantitativas e qualitativas se basearam em técnica proposta por DEHORITY (1984) e de acordo com modificação desta técnica proposta por D'AGOSTO & CARNEIRO (1999), na qual o corante verde brilhante foi substituído por três gotas de solução de lugol. A identificação dos gêneros de ciliados encontrados no rúmen e no retículo dos bovinos examinados foi baseada em OGIMOTO & IMAI (1981).

No momento da obtenção das amostras foram medidos dados referentes ao pH e temperatura de cada compartimento, utilizando-se pHmetro Hanna modelo HI8314.

No laboratório, de cada amostra homogeneizada foi pipetado 1 ml de conteúdo e transferido para tubos de ensaios, onde foram acrescentadas três gotas de lugol. Após 15 minutos, o conteúdo recebia a adição de 9 ml de glicerol a 30%. Para proceder à contagem, de cada tubo de ensaio foi pipetado 1 ml do conteúdo para preencher a câmara de contagem Sedgewick-Rafter. Utilizando-se uma grade de contagem em uma das oculares, foram quantificados os ciliados presentes em 50 campos e posteriormente, após rotação da câmara em 180°, mais 50 campos. Os dados foram registrados em formulário próprio para cada animal. Em tabelas individuais foram registradas para cada

cavidade do estômago, o número total de ciliados observados diretamente na grade de contagem, a quantidade de ciliados por ml de conteúdo coletado em cada cavidade e os percentuais correspondentes ao número total de ciliados de cada cavidade. Para calcular-se o número total de ciliados por ml de conteúdo, os valores encontrados na grade de contagem foram multiplicados por 80 e por 20. Tais valores correspondem a superfície total da câmara de contagem e à diluição, respectivamente (DEHORITY, 1984).

As análises dos perfis populacionais registrados no rúmen e no retículo tiveram como princípio básico as observações propostas por EADIE (1962a,b).

Indícios do comportamento de escape foram verificados quantificando-se os gêneros de protistas dos quatro compartimentos, comparando-se os dados obtidos.

As análises estatísticas realizadas foram análise de variância pelo General Linear Model (GLM/SAS) e para o teste de médias foi aplicado o teste de Tukey 5%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A maior quantidade de protozoários ciliados foram encontrados no rúmen (Tabela 1), predominantemente representantes da Família Ophryoscolecidae e principalmente do gênero *Entodinium* (Tabela 2).

No retículo há nitidamente um maior número de protozoários representantes da Família Isotrichidae, em relação ao encontrado no rúmen, porém, representantes do gênero *Entodinium* foram os protistas mais freqüentes também nessa cavidade (Tabela 2).

**Tabela 1** -Número de ciliados por ml de conteúdo, por família, encontrados nas quatro cavidades do estômago dos bovinos pesquisados.

Famílias	Rúmen	Retículo
Blepharocorythidae	32000	11200
Isotrichidae	628800	1235200
Ophryoscolecidae	5322200	1952000
<b>Total</b>	<b>5983000</b>	<b>3198400</b>

**Tabela 2** - Número médio e percentuais de ciliados encontrados em 1 ml de conteúdo do rúmen e retículo de bovinos recém abatidos no Matadouro Municipal de Além Paraíba MG.

Gêneros	Rúmen		Retículo		Total	
	%	c	%	c		
Isot	12,65	404800(a)	35,24	744000(a)	1148800	
Dasy	7,84	224000(a)	31,47	488000(a)	712000	
Char	0,47	32000(a)	74,08	11200(a)	43200	
Ento	54,01	3782400(a)	77,16	1120000(b)	4902400	
Eudi	1,95	129600(a)	72,98	48000(a)	177600	
Erem	4,67	264000(a)	62,27	160000(a)	424000	
Ostr	4,61	299200(a)	71,38	120000(a)	419200	
Eodi	4,17	150400(a)	39,67	228800(a)	379200	
Poly	0,01	1600(a)	100	-	1600	
Dipld	5,20	334400(a)	70,85	137600(b)	472000	
Diplp	0,19	9600(a)	54,55	8000(a)	17600	
Met	1,07	59200(a)	60,66	38400(a)	97600	
Epid	2,22	128000(a)	63,50	73600(a)	201600	
<b>TOTAL</b>		<b>5899200</b>	<b>64,99</b>	<b>3177600</b>	<b>35,01</b>	<b>9076800</b>

Isot: *Isotricha*; Char: *Charonina*; Dasy: *Dasytricha*; Ento: *Entodinium*; Eudi: *Eudiplodinium*; Erem: *Eremomplastron*; Ostr: *Ostracodinium*; Eodi: *Eodinium*; Poly: *Polyplastron*; Dipld: *Diplodinium*; Diplp: *Diploplastron*; Met: *Metadinium*; Epid: *Epidinium*.

Letras iguais na mesma linha indicam que não há diferença significativa ( $P > 0,05$ )

A predominância de *Entodinium* no rúmen de bovinos já foi assinalada por diversos autores (TOWNE *et al.*, 1990; WILLIAMS & COLEMAN, 1991; FRANZOLIN *et al.*, 1997), podendo chegar a compor 95% do total de ciliados do rúmen (D'AGOSTO *et al.*, 1998)

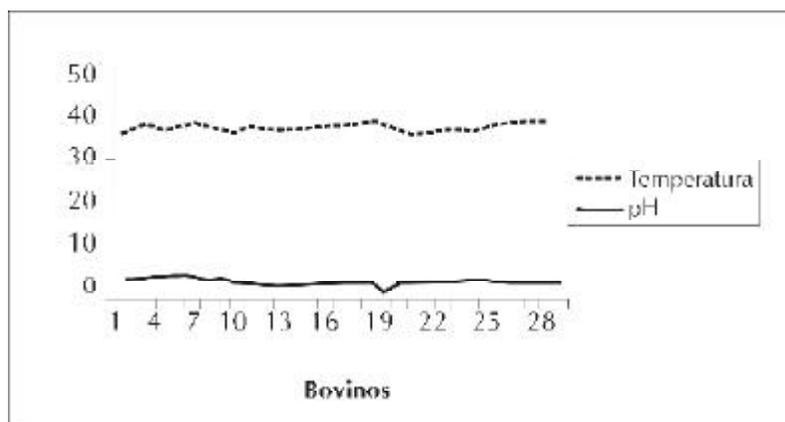
No presente trabalho, registrou-se esta predominância tanto no rúmen quanto no retículo (Tabela 2).

Os dados de temperatura e pH (Figuras 1 e 2) demonstraram que o rúmen e o retículo representam ecossistemas constantes. Estas observações concordam com as afirmações de TEIXEIRA (1992) para o sistema ruminal, podendo ser ampliados para outros compartimentos do estômago. Considerando as medições realizadas imediatamente após as coletas nos interiores de cada cavidade, o rúmen apresentou temperatura mé-

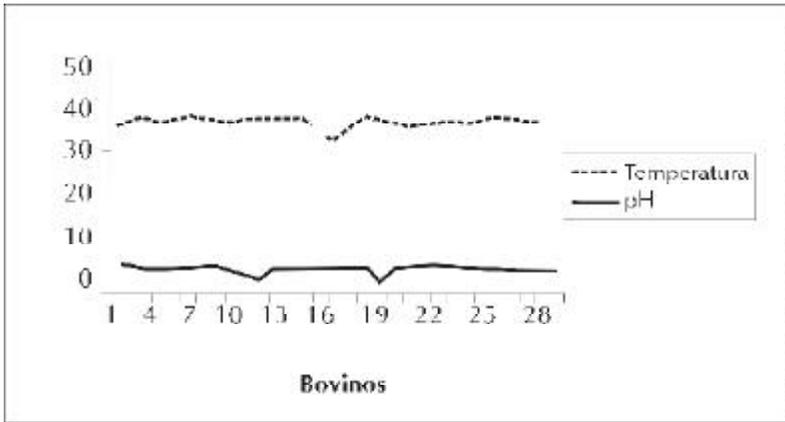
dia de 37,39°C e pH médio de 6.5. Estes valores de temperatura e pH do rúmen estão dentro da faixa de variação apresentada por DEHORITY (1987a) como encontradas em condições normais. Os valores de temperatura e pH do retículo não foi relatado por outros autores. Nessa cavidade a temperatura média encontrada foi de 36,74° C e pH médio de 6.5.

O rúmen e o retículo apresentaram condições, no que diz respeito a temperatura e pH, bastante semelhantes. Tal semelhança encontrada entre o rúmen e o retículo foi também verificada no que diz respeito aos gêneros de protozoários ciliados encontrados em ambas as cavidades. O que variou apenas foi a ocorrência de determinados gêneros no rúmen e no retículo (Figura 3). O gênero *Entodinium* foi o mais predominante nas duas cavidades, contudo nota-se uma diminuição na porcentagem desses ciliados no retículo com maior número de representantes da Família Isotrichidae, como *Dasyricha* e *Isotricha*.

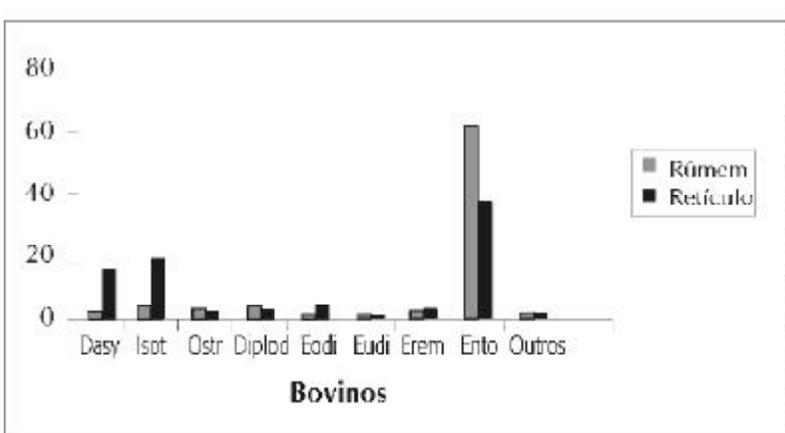
**Figura 1** - Temperatura (°C) e pH encontrados no rúmen dos bovinos.



**Figura 2-** Temperatura e pH encontrados no retículo dos bovinos.



**Figura 3-** Proporção (%) dos gêneros encontrados no rúmen e retículo dos trinta animais bovinos recém abatidos no Matadouro Municipal de Além ParaíbaMG.



Dasy: *Dasytricha*; Isto: *Isotricha*; Ostr: *Ostracodinium*; Diplod: *Diplodinium*; Eodi: *Eodinium*; Eudi: *Eudiplodinium*; Erem: *Eremomplastron*; Ento: *Entodinium*.

Tanto no rúmen quanto no retículo populações do tipo K, caracterizadas pela presença do gênero *Elytroplastron* (WILLIAMS & COLEMAN, 1991) não foram registradas. Tal gênero não foi encontrado nos bovinos pesquisados ou foram observados em proporções muito baixas. Na maioria dos animais a população foi do tipo O, que se caracteriza pela ausência de grandes entodinomorfos citados nos tipos populacionais anteriores (WILLIAMS & COLEMAN, 1991). Não foram encontradas populações do tipo A, caracterizada pela presença do gênero *Polyplastron* e usualmente acompanhado pelo gênero *Diploplastron* (EADIE, 1962a). Quatorze bovinos apresentaram populações do tipo B no rúmen, caracterizada pela presença dos gêneros *Epidinium* e *Eudiplodinium* (EADIE, 1962a). Desses, 12 apresentavam ambos os gêneros e foram registrados em dois animais o gênero *Eudiplodinium* não associado a *Epidinium* no rúmen.

No retículo, 13 animais apresentaram populações do tipo B. Em quatro destes registrou-se a presença de *Eudiplodinium* não associados a *Epidinium* e em outros três animais foram encontrados *Epidinium* não associado a *Eudiplodinium*.

Muitos autores (ABE *et al.*, 1981; HOBSON & WALLACE, 1982; ANKRAH *et al.*, 1990) afirmaram existir um comportamento de escape de isotríquídeos para as paredes do retículo e uma alta taxa de retenção de entodinomorfos no rúmen. De fato já foi observado uma brusca variação no número de ciliados após a alimentação do gado. ABE *et al.* (1981) verificaram um aumento considerável de protistas no rúmen uma hora após a alimentação e uma diminuição abrupta logo a seguir devido a migração ao comportamento de escape dos isotríquídeos. Esse comportamento é ainda citado em outros trabalhos (PURSER, 1961; WARNER, 1966; CLARKE, 1965).

Essa mesma variação foi encontrada por FRANZOLIN (1997) que registrou um aumento do número de holotríquios de 9,4% antes da alimentação para 15,3% no rúmen em 40 minutos após. Tal variação foi mostrada tanto em bovinos quanto em búfalos e atribuída ao comportamento de migração desses ciliados do retículo para o rúmen.

MURPHY *et al.* (1985) apontaram alguns fatores que estimulariam tal migração. Segundo os autores, estímulos químicos originados da dieta poderiam estar envolvidos na causa dessa migração; citaram ainda fatores físicos durante a ingestão do alimento e a influência da saliva ou de componentes salivares

como estímulos à migração

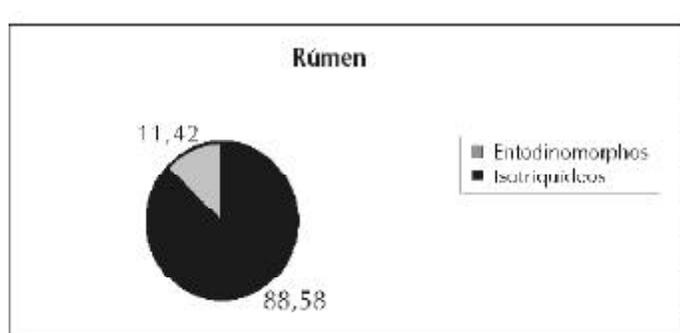
Os resultados encontrados no presente trabalho permitem reforçar tais idéias. Como os animais, no momento da coleta, já estavam há pelo menos doze horas sem se alimentar seria esperado encontrar um maior número de isotríquidos no retículo em relação ao rúmen e um grande número de entodínomorfos no rúmen. Ambos os fatos ocorreram, como pode ser verificado nas Figuras 4 e 5. Tanto no rúmen quanto no retículo, os entodínomorfos foram predominantes. Com relação aos isotríquidos, comparando-se rúmen e retículo, verificou-se um aumento considerável desses no retículo, pois enquanto correspondiam no rúmen a 11,4% dos ciliados encontrados, no retículo passaram a corresponder a 39,16% dos ciliados encontrados. A análise de variância seguida de teste de Tukey demonstrou haver diferença significativa entre o total de ciliados que ocorrem no rúmen e aqueles encontrados no retículo. Houve diferença significativa entre isotríquidos comparando-se rúmen e retículo. Também mostrou haver diferença significativa entre isotríquidos e entodínomorfos no rúmen, sendo os últimos mais comuns, diferença essa que não foi encontrada no retículo. Tais resultados sugerem um aumento significativo de isotríquidos no retículo em relação à sua concentração no rúmen. Destacam-se as condições estudadas, com animais em jejum de no mínimo 12 horas. Os resultados estão de acordo com o relatado por PURSER (1961), CLARKE (1965) e WARNER (1966). Quanto aos gêneros, ao se comparar as duas cavidades, apenas houve diferença significativa em dois gêneros: *Diplodinium* e *Entodinium*, ambos representantes dos entodínomorfos. Como o comportamento de escape para o retículo é atribuído aos isotríquidos (ABE *et al.*, 1981; HOBSON & WALLACE, 1982; ANKRAH *et al.*, 1990) e não houve diferença significativa entre os valores encontrados no rúmen e retículo dos animais entre os gêneros representantes desse grupo, *Isotricha* e *Dasytricha*, parece que o comportamento de escape não é influenciado ou realizado por apenas um dos gêneros, ao contrário ambos contribuem para a diferença significativa encontrada entre os isotríquidos no rúmen e no retículo.

Tais resultados indicam uma distribuição constante de entodínomorfos tanto no rúmen quanto no retículo, já que nas duas cavidades eles são predominantes. Com relação ao comportamento de escape de isotríquidos, os dados reforçam essa

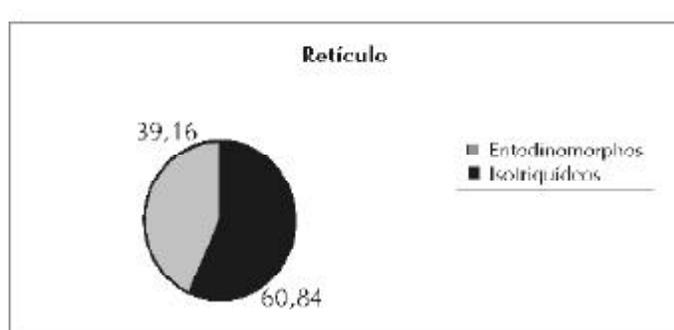
idéia, já que houve um número significativamente maior destes no retículo em relação ao do rúmen.

Apesar dos dados apresentados, ainda não é suficientemente claro o papel dos ciliados no rúmen. Isso dificulta estabelecer um conceito para a relação entre ciliados e ruminantes. Parece ser mais conveniente considerar o rúmen como um ecossistema fechado, onde protozoários e bactérias mantêm uma relação recíproca, que em conjunto afetam positiva ou negativamente a digestão dos ruminantes.

**Figura 4**-Porcentagem de entodínocefalos e isotríquidos encontrados no rúmen.



**Figura 5**-Porcentagem de entodínocefalos e isotríquidos encontrados no retículo.



# AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa o Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo suporte financeiro para a realização deste trabalho.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABE, M.; T. IRIKI; N. TOBE & H. SHIBUI. 1981. Sequestration of Holotrich Protozoa in the reticulo-rumen of cattle. **Appl. Environ. Microbiol.** **41**: 758-765.
- ANKRAH, P.; S.C. LOERCH & B.A. DEHORITY. 1990. Sequestration migration and lysis of Protozoa in the rumen. **J. Gen. Microbiol.** **136**: 1869-1 875.
- CLARKE, R.T.J. 1965. Diurnal variations in the number of ciliate protozoa in cattle. **N.Z.J. Agric. Res.** **7**: 248-257.
- D'AGOSTO, M.; M.R. SANTA-ROSA, L.J.M. AROEIRA & F.C.F.LOPES. 1998. Influência da dieta no comportamento da população de ciliados do rúmen. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** **50**: 153-159.
- D'AGOSTO, M. & M.E. CARNEIRO. 1999. Evaluation of lugol solution used for counting rumen ciliates. **Rev. Bras. Zool.** **16(3)**:725 – 729.
- DEHORITY, B.A. 1984. Evaluation of subsampling and fixation procedures used for counting rumen protozoa. **Appl. Environ. Microbiol.** **48**: 182-185.
- DEHORITY, B.A. 1987a. **Rumen microbiology**. The Ohio State University, 125p.
- DEHORITY, B.A. & TIRABASSO P.A. 1989. Factors affeting the migration and sequestration of Rumen Protozoa in the family Isotrichidae. **Gen. Microbiol.** **135**: 539-548.
- EADIE, M. 1962a. The development of rumen 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.

- FRANZOLIN, R.; M.H.T. FRANZOLIN; J.C.M. NOGUEIRA-FILHO & E. SCHALCH. 1997. Avaliação comparativa da fauna ruminal e da degradabilidade entre búfalos e bovinos alimentados à base de cana-de-açúcar. **Anais da XXXIV Reunião da SBZ**. Juiz de Fora.
- HOBSON, P.N. & R.J. WALLACE. 1982. Microbial ecology and activities in the rumen: Part I. **Ccr. Crit. Ver. Microbiol.**, 165-225.
- OGIMOTO, K. & S. IMAI. 1981. **Atlas of rumen microbiology**. Tokyo, Japan Scientific Societies Press, viii+231 p.
- PURSER, D.B. 1961. A diurnal cycle for holotrich protozoa of the rumen. **Nature**, **190** :831-832.
- TEIXEIRA, J. C. 1992. **Nutrição de ruminantes**. Lavras, Edições FAEPE, XVIII+239p.
- TOWNE, G. & T. G. NAGAJARA. 1990. Omasal ciliated protozoa in Cattle, Bison and Sheep. **Appl. Environ. Microbiol.** **56**: 409-412.
- TOWNE, G.; T.G. NAGAJARA; R.T. BRANDT & K.E.KEMP. 1990. Ruminal ciliated protozoa in cattle fed finishing diets with or without supplemental fat. **J. Anim. Sci.** **68**: 2150-2155.
- WARNER, A.C.I. 1966. Diurnal changes in the concentration of microorganisms in the rumens of sheep fed limited diets daily. **J. Gen. Microbiol.** **45**:213-235.
- WILLIAMS, A.G. & G.S. COLEMAN. 1991. **The rumen protozoa**. Springer-Verlag, New York Inc., 423p.