

# POPULAÇÕES MICROBIANAS DOS RÚMENS DE VACAS LEITEIRAS SUBMETIDAS A DIVERSAS RAÇÕES

CARLOS DE SOUSA LUCCI  
Professor Adjunto

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP

HARRY RUSSEL CONRAD  
Professor da Universidade Estadual de Ohio, EUA

BURK DEHORITY  
Professor da Universidade Estadual de Ohio, EUA

JEAN A. GRUBB  
Pesquisador M.S.  
Universidade Estadual de Ohio, EUA

## INTRODUÇÃO

A população microbiana do rúmen é dependente da dieta que o animal recebe (CHURCH<sup>1</sup>). O simples emprego de um mesmo feno, nos estados grosseiro ou picado, fixando-se as quantidades ingeridas, implica em alterações na flora do rúmen. Também no caso de protozoários, há diferenças nítidas na predominância de certas espécies, conforme as rações recebidas (HUNGATE<sup>3</sup>). As alterações mais profundas ocorrem quando se comparam dietas com maiores proporções de concentrados, em relação àquelas baseadas em pastagens.

O presente estudo constituiu um esforço no sentido de conhecer as alterações em volumes dos líquidos ruminais, números de reciclagens por 24 horas, pH, e teores de matéria seca do conteúdo ruminal de animais mantidos sob diferentes condições de arração. Procurou-se também medir alterações nos números de bactérias cultivadas em meios de cultura total ou com amido, bem como nos números relativos dos protozoários mais encontrados no interior do rúmen.

## MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi conduzida no Centro de Pesquisa e Desenvolvimento em Agricultura de Wooster\*, de julho a outubro de 1978.

Três vacas providas de fístulas ruminais foram utilizadas em um delineamento em "change-over" conforme PIMENTEL GOMES<sup>5</sup> para comparar três tratamentos, todos em pastos excelentes de orchard grass (*Dactylis glomerata* L.): A) sem concentrados; B) com 3,0 kg de concentrados por animal e por dia e C) com 6,0 kg de concentrados por animal e por dia. A mistura concentrada foi constituída por milho 66,9%; farelo de soja 11,0%; aveia 20,1% e gordura 2,0%. Essa mistura era fornecida uma vez ao dia para a vaca no tratamento B, e duas vezes ao dia para aquela no tratamento C. Sal com minerais-traço e difosfato de cálcio foi fornecido em cochos, colocados nas pastagens. Os períodos de experimentação foram de 28 dias cada um sendo que, na última semana dos mesmos, realizaram-se duas coletas, no primeiro e no quinto dia da semana, dos conteúdos ruminais. Foram analisados os números totais de bactérias por ml de conteúdo ruminal e o número de bactérias amilolíticas por ml do conteúdo ruminal. Para tal fim, realizaram-se diluições e culturas anaerobicamente, em tubos de ensaio, pela técnica de "roller-tubes" descrita por HUNGATE<sup>3</sup>, fazendo-se contagens em 3 diluições: 10<sup>7</sup>, 10<sup>8</sup> e 10<sup>9</sup>, sendo cada diluição repetida em quatro culturas diferentes. As contagens das colônias foram feitas após incubação por 7 dias em estufa, a 38°C. Os meios de cultura utilizados constam da tabela 1: sendo rotineiramente empregados nos laboratórios de OARDC. Ambos os meios foram esterilizados antes de serem colocados anaerobicamente em tubos "roller".

LUCCI, C.S.; CONRAD, H.R.; DEHORITY, B.; GRUBB, J.A. Populações microbianas dos rúmens de vacas leiteiras submetidas a diversas rações. *Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 19(2): 157-61, 1982.

**RESUMO:** Três vacas Holandesas fistuladas, foram utilizadas para comparar, dentro de um delineamento em "change-over", três tratamentos com pastos de "orchard grass" (*Dactylis glomerata* L.), com as seguintes quantidades de concentrados por vaca e por dia: A) zero kg; B) 3,0 kg e C) 6,0 kg. Os períodos de experimentação foram de 28 dias cada um. Na última semana realizaram-se duas coletas independentes dos conteúdos ruminais. Registraram-se os volumes ruminais, em litros; as reciclagens ("turnover") por 24 horas; os números totais de bactérias por ml de conteúdo ruminal; os números de bactérias amilolíticas por ml de conteúdo ruminal; os números totais de bactérias no rúmen; os valores de matéria seca dos conteúdos ruminais; os valores de pH e as porcentagens relativas dos protozoários dos gêneros *Entodimium* sp, *Diplodimium* sp e *Dasytrich* sp. Não foram observadas diferenças significativas entre tratamentos, para todas as medidas citadas.

**UNITERMOS:** Nutrição, ruminantes\*; Rúmen, microbiologia\*; Vacas leiteiras\*

TABELA 1 – Meios de cultura utilizados, em quantidades para 600 ml.

Ingredientes	Meio Total	Meio com Amido
Fluído ruminal	240,0 ml	240,0 ml
Água destilada	150,0 ml	150,0 ml
Agar	12,0 g	–
Amido solúvel	0,30 g	0,60 g
Celobiose	0,15 g	–
Glucose	0,15 g	–
Resazurin (Sol. 0,1%)	0,6 ml	0,6 ml
Sal mineral I (*)	90,0 ml	90,0 ml
Sal mineral II (**)	90,0 ml	90,0 ml
Na <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> (12%)	20,0 ml	20,0 ml
Cisteína (3%)	10,0 ml	10,0 ml

(\*) Solução mineral I = 0,3% K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>

(\*\*) Solução mineral II = 0,3% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0,6% (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,6% NaCl; 0,06%; MgSO<sub>4</sub> e 0,06% de CaCl<sub>2</sub>

Por ocasião das amostragens, injetou-se polietileno-glicol (PEG) via fístula do rúmen, na quantia de 150 g por vaca, colhendo-se o conteúdo ruminal imediatamente antes da injeção de PEG (0 horas), 1 hora e 24 horas depois. As leituras das concentrações de PEG nas amostras de líquido do rúmen foram feitas por turbidometria (HYDEN<sup>4</sup>).

Amostras de 10 ml de líquido ruminal foram separadas e colocadas em solução de formol (DEHORITHY<sup>2</sup>), com a finalidade de fixar os protozoários existentes, para posterior contagem diferencial.

Valores de pH foram medidos imediatamente após as retiradas de material do rúmen; os teores de matéria seca das amostras também foram controlados, mas apenas na última coleção (outubro).

Análises estatísticas foram feitas conforme PIMENTEL GOMES<sup>5</sup>, considerando-se as repetições das amostras como grupos isolados de informações. O esquema das análises é apresentado na tabela 2.

TABELA 2 – Esquema das análises de variância

FONTES DE VARIAÇÃO	GRAUS DE LIBERDADE
Regressão linear	1
Desvios da regressão	1
Tratamentos	2
Grupos	1
Linhas dentro de grupos	4
Colunas dentro de grupos	4
Resíduo	6
TOTAL	17

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos quanto ao volume de rúmen estimado pelo uso de PEG, em litros, e a reciclagem do líquido ruminal ou "turn-over" (RTN) são apresentados na tabela 3.

TABELA 3 – Médias de volume ruminal (1) e das reciclagens (RTN) em números por 24 horas, nos diferentes tratamentos, Ohio, EUA, 1978.

TRATAMENTOS kg concentrados/vaca/dia	VOLUME RUMINAL (1)	RECICLAGEM (RTN)
A – zero kg concentrados	55,0	3,68
B – 3 kg concentrados	66,5	2,58
C – 6 kg concentrados	74,5	2,78
Coeficiente de variação (%)	39%	32%

Apesar da tendência em aumentar o volume do líquido ruminal com o uso de maiores quantidades de concentrados, bem como de diminuição do número de reciclagens por 24 horas, as diferenças entre tratamentos não foram consideradas estatisticamente significativas. É provável que tal fato tenha ocorrido por causa dos coeficientes de variação altos (maiores que 30%), e o pequeno número de graus de liberdade de análise de variância. Contudo, a variação elevada nos resultados é normal em estudos de microbiologia de rúmen, quando se consideram variações individuais à mesma ração. A maior reciclagem na ração A, em relação às rações B e C, é explicável pela menor digestibilidade da forragem em relação as dietas com concentrados, conforme HUNGATE<sup>3</sup>. Já os maiores volumes ruminais encontrados nas rações B e C seriam devidos em parte ao menor turnover, e em parte à ação da presença de concentrados estimulando um maior consumo de alimentos, pelo menos até o nível testado (6 kg conc/animal/dia).

A tabela 4 apresenta resultados das contagens das populações microbianas dos rúmens, em números de bactérias  $\times 10^8$  por ml de líquido ruminal, que cresceram em

meios anaeróbicos com nutrientes diversos ou apenas com amido. A tabela também apresenta os números totais de bactérias e os números totais de bactérias amilolíticas nos rúmens.

As tendências para um maior número de bactérias por ml de conteúdo ruminal, como em todo o conteúdo ruminal, foram evidentes nas maiores quantidades de concentrados. Contudo, essas tendências não foram consideradas estatisticamente significativas. Aqui também, a razão deste fato deve prender-se ao pequeno número de repetições que a própria natureza do presente trabalho obriga, bem como aos coeficientes de variação elevados. Contudo, o maior número total de bactérias e o maior número de bactérias amilolíticas por ml de líquido ruminal estão dentro do esperado para as rações empregadas, uma vez que alimentos com maior quantidade de substratos prontamente utilizáveis, como é o caso das rações B e C, aumentam a atividade microbiana (CHURCH<sup>1</sup>, HUNGATE<sup>3</sup>).

A tabela 5 apresenta resultados das contagens de protozoários, em base percentual de sua distribuição, para *Endodinium sp*, *Diplodinium sp*, *Epidinium sp*, *Iso-tricha sp*, *Dasytricha sp* e *Ophryoscolex sp*.

TABELA 4 — Números de bactérias em cultura total/ml de conteúdo ruminal  $\times 10^8$ ; em meio de cultura com amido/ml de conteúdo ruminal  $\times 10^8$ ; em meio total x volume do rúmen e em meio de amido x volume do rúmen, em números  $\times 10^{13}$ , Ohio, EUA, 1978.

TRATAMENTOS	Nº total ( $\times 10^8$ ) ml	Amilolíticas ( $\times 10^8$ ) ml	Nº total ( $10^{13}$ )	Amilolíticas ( $10^{13}$ )
Kg concentrados vaca/dia				
A — 0 kg concen- trados	88,5	83,0	48,7	45,6
B — 3 kg concen- trados	87,7	85,7	58,3	57,0
C — 6 kg concen- trados	114,0	101,0	84,9	75,3
Coefficientes de variação (%)	18	22	51	59

TABELA 5 – Contagem diferencial de protozoários, em porcentagem do número total presente no rúmen

Tratamentos	Entodinium sp	Diplodinium sp	Epidinium sp	Isotricha sp	Dasytricha sp	Ophysalex sp
A – 0 kg concentrados	83,24	10,03	0,99	0	4,63	2,26
B – 3,0 kg concentrados	86,76	7,10	0,71	0	1,56	3,42
C – 6,0 kg concentrados	82,74	8,01	1,76	0,1	3,01	4,41

Os resultados de pH dos conteúdos dos rúmens das três vacas foram: 7,00; 6,95 e 6,75 respectivamente para os animais nos tratamentos A, B e C. As medições de pH foram feitas apenas na colheita de amostras dos rúmens efetuadas no III período experimental. Quanto aos teores de matéria seca obtidas em amostras também apenas do

III período do experimental, foram respectivamente 12,04%, 12,26% e 13,10% para os animais no tratamento A, B e C.

A tabela 6 fornece resultados originais do presente estudo, para os diferentes grupos de dados, sub-períodos e tratamentos.

TABELA 6 – Resultados originais: bactérias em meio total ( $1 \times 10^8$ ), bactérias em meio com celulose ( $1 \times 10^8$ ), volumes ruminais (1) e turnovers em números/24 horasBactérias ( $1 \times 10^8$ ) em meio total

	1º Grupo			2º Grupo		
1º subp	167,0(A)	84,0(B)	69,0(C) <sup>a</sup>	152,0(A)	57,0(B)	71,0(C)
2º subp	170,0(C)	70,0(A)	68,0(B) <sup>a</sup>	227,0(C)	58,0(A)	61,0(B)
3º subp	111,0(B)	86,0(C)	38,0(A)	145,0(B)	61,0(C)	46,0(A)

Bactérias ( $a \times 10^8$ ) em celulose

	1º Grupo			2º Grupo		
1º subp	139,0(A)	49,2(B)	77,5(C)	154,0(A)	49,2(B)	75,4(C)
2º subp	188,0(C)	49,1(A)	121,0(B)	149,0(C)	49,1(A)	58,8(B)
3º subp	145,0(B)	58,2(C)	54,8(A)	91,0(B)	58,2(C)	51,8(A)

## Volume ruminal (1)

	1º Grupo			2º Grupo		
1º subp	48(A)	58(B)	82(C)	86(A)	44(B)	44(C)
2º subp	124(C)	28(A)	79(B)	102(C)	52(A)	51(B)
3º subp	113(B)	49(C)	55(A)	54(B)	46(C)	61(A)

## Turnover rúmen (nº/24 hs)

	1º Grupo			2º Grupo		
1º subp	4,10(A)	2,57(B)	5,06(C)	3,55(A)	3,56(B)	2,96(C)
2º subp	2,00(C)	3,35(A)	1,80(B)	2,00(C)	1,99(A)	2,29(B)
3º subp	2,50(B)	2,15(C)	3,26(A)	2,83(B)	2,51(C)	2,88(A)

## CONCLUSÕES

Para as condições do presente trabalho, puderam ser obtidas as seguintes conclusões:

- 1ª) Volumes do líquido ruminal de vacas tenderam a aumentar quando passou-se de tratamentos com pastos apenas, para tratamentos com quantidades crescentes de concentrados. Contudo, essas tendências não se mostraram estatisticamente significativas;
- 2ª) As concentrações de bactérias por ml de líquido ruminal e o número total de bactérias no rúmen tenderam a aumentar quando as vacas passaram a receber tratamentos com quantidades crescentes de concentrados; contudo, essas tendências não se mostraram estatisticamente significativas.

LUCCI, C.S.; CONRAD, H.R.; DEHORITY, B.; GRUBB, J.A. Rumen's microbial population of dairy cows under different rations. *Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 19(2): 157-61, 1982.

**SUMMARY:** Three fistulated Holstein cows were used in "change-over" design comparing three different treatments made with orchard grass pasture plus: A) no/concentrate mixture; B) 3,0 kg/concentrate mixture/cow/day; C) 6,0 kg/concentrate mixture/cow/day. Two separated collections of rumen contents were made in each subperiod of 28 days, to collect the following data, for treatments A, B, or C: liquid rumen volume; turn-overs by 24 hours; total bacterial counts/ml of rumen content; amilolytic bacterial counts/ml of rumen content; total numbers of rumen bacteria; dry matter of rumen content; pH values; and results concerning protozoa, on a relative percentual basis, for: *Entodinium* sp.; *Diplodinium* sp. and *Dasytrichasp*. For all data there were no statistical differences among the treatments.

**UNITERMS:** Dairy cattle\*; Nutrition of ruminants\*; Rumen microbiology\*

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 – CHURCH, D.C. *Digestive physiology*. Corvallis, O.S.U. Bookstores, 1971. v. 1.
- 2 – DEHORITHY, B. *Classification and morphology of protozoa*. Wooster, Ohio Agricultural Research & Development Center, 1977.
- 3 – HUNGATE, R.E. *The rumen and its microbes*. New York, Academic Press, 1966.
- 4 – HYDEN, S. A turbidometric method for the determination of higher polyethylene glycols in biological materials. *Ann. Roy. Agric. Coll. Sweden*, 22: 139-45, 1955.
- 5 – PIMENTEL GOMES, F. *Curso de estatística experimental*. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da USP, 1965.

Recebido para publicação em: 01-06-82.

Aprovado para publicação em: 18-03-83.