

Taninos condensados de diferentes espécies forrageiras como modulador de bactérias ruminais

Roberta Cavalcante Cracco¹, Gisele Maria Fagundes², Gabriela Benetel³, Flávia Alves Melo⁴, Katiéli Caroline Welter⁵, Caroline Matos da Silva⁶, Tatiane Ninomya Ribeiro⁷, Ives Claudio da Silva Bueno⁸

1 - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos. Universidade de São Paulo.

2 - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos. Universidade de São Paulo.

3 - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos. Universidade de São Paulo.

4 - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos. Universidade de São Paulo.

5 - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos. Universidade de São Paulo.

6 - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos. Universidade de São Paulo.

7 - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos. Universidade de São Paulo.

8 - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos. Universidade de São Paulo.

RESUMO - O objetivo do estudo foi avaliar o efeito in vitro de 10 leguminosas taniníferas sobre a quantificação de bactérias totais na microbiota de bovinos de corte. A avaliação da bioatividade dos taninos foi realizada através de técnica de bioensaio in vitro. Os inóculos foram obtidos de quatro animais Nelore adultos fistulados. O delineamento experimental utilizado foi em blocos aleatorizados em arranjo fatorial, sendo 24 tratamentos: 12 forrageiras (dez leguminosas e 2 controles) com e sem polietilenoglicol, com 4 repetições (blocos) e duas réplicas dentro de cada bloco. Os parâmetros avaliados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e o teste de média utilizado foi Duncan ao nível de 5% de probabilidade. Os taninos condensados (TC) aumentaram o número total de bactérias presente no rúmen de bovinos de corte.

Palavras-chave: Bovinos, Flavonoides, Leguminosas, Microbiota, PCR em tempo real

Condensed tannins of different forage species as a modulator of ruminal bacteria

ABSTRACT - The aim of the study was to evaluate the in vitro effect of tannin from 10 plant species on the quantification of bacteria total in the beef cattle microbiota. Four adult rumen-cannulated Nelore cattle grazing a tropical grass pasture with free access to a mineral premix and fresh water were used as inoculum donors. A bioassay based on the in vitro gas production technique was used to estimate the biological activity of tannins. The experimental design included an entirely randomized blocks with factorial arrangement. The data were subjected to analysis of variance followed by Duncan test to determine the significance of the difference between treatment means. CT increased the total number of bacteria present in the rumen of beef cattle.

Keywords: Bovines, Flavonoids, Legumes, Microbiota, Real-time PCR

Introdução

A pecuária está em constante crescimento, porém, com ela também crescem os efeitos negativos ao meio ambiente, como por exemplo, o aumento na emissão de gás metano, o mais importante dos gases do efeito estufa (Makkar & Vercoe, 2007; Samimi & Zarinabadi, 2012). O metano é produzido por bactérias metanogênicas presentes no rúmen dos animais, a partir de CO₂ e H₂ provenientes da atividade fermentativa das outras espécies de microrganismos. No entanto, para produzirmos com sustentabilidade, é preciso buscar alternativas para amenizar essas emissões. Os taninos condensados são compostos fenólicos oriundos do metabolismo secundário de plantas e encontrados em muitas espécies consumidas por ruminantes (Costa, 2008). Tem sido mostrado que esses componentes são capazes de exercer atividades antimicrobiana em ruminantes, modulando positivamente a microbiota nos ruminantes e alterando a qualidade dos produtos oriundos destes (Luciano et al., 2011). O objetivo do estudo foi avaliar o efeito in vitro de 10 leguminosas taniníferas sobre a quantificação de bactérias totais na microbiota de bovinos de corte.

Revisão Bibliográfica

Taninos condensados são polifenóis com habilidade de precipitar proteínas, carboidratos e outras moléculas se ligando à elas, ocasionando efeitos antimicrobianos (Scalbert, 1991). O mecanismo de ação nos microrganismos pode ser explicado por sua capacidade de precipitar as proteínas das células superficiais das mucosas e dos tecidos formando uma capa protetora, inibindo enzimas, causando uma ruptura da membrana plasmática e privando-os do substrato, e impedindo assim, o desenvolvimento dos mesmos (Haslam 1996; Rodrigues et al. 2014). O conteúdo de taninos nas plantas pode variar de acordo com as condições climáticas e geográficas, sendo, muitas vezes, pouco conhecido (Nozella, 2001). Nelson et al. (1997), ao estudarem as interações entre três fontes de taninos purificados e cinco tipos de bactérias ruminais, observaram variações entre os tipos bacterianos quanto à resistência aos taninos e entre as fontes destes quanto à quantidade necessária para a inibição do crescimento bacteriano.

Materiais e Métodos

Dez espécies de plantas ricas em taninos foram avaliadas (*Flemingia macrophylla*, *Leucaena leucocephala*, *Stylosanthes guianensis*, *Gliricidia sepium*, *Cratylia argentea*, *Cajanus cajan*, *Desmodium ovalifolium* e *Macrotiloma axillare* de ambiente tropical e *Desmodium paniculatum* e *Lespedeza procumbens* de ambiente temperado). O efeito das leguminosas testadas sobre a fermentação de bovinos de corte foi realizada através da técnica de produção de gases in vitro (Theodorou et al., 1994; Mauricio et al., 1999). O delineamento experimental utilizado foi em blocos aleatorizados em arranjo fatorial, sendo 24 tratamentos: 12 forrageiras (dez leguminosas e 2 controles) com e sem polietilenoglicol, com 4 repetições (blocos) e duas réplicas dentro de cada bloco. Para a obtenção do inóculo, coletou-se conteúdo ruminal de quatro bovinos Nelore fistulados, que estavam mantidos sob pastejo com livre acesso a água e sal mineral. Para a realização da incubação, utilizou-se garrafas de vidro de 160 mL, onde foram adicionados em duplicata, 0,5 g de cada planta (tratamento) com 25 mL de inóculo e 50 mL de solução nutritiva. Após o período de 24 h de incubação, foram coletadas amostras do líquido ruminal contido de cada garrafa para a realização das análises de PCR em tempo real (qPCR) (Sylvester et al., 2004). Das amostras de rúmen coletadas, realizou-se a extração de DNA através do kit Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega®). A concentração e qualidade do DNA obtido na extração foi realizada no espectrofotômetro. Os primers utilizados na técnica de qPCR foram: 1114F: CGGCAACGAGCGCAACCC e 1275R: CCATTGTAGCACGTGTGTAGCC. Os parâmetros avaliados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e o teste de média utilizado foi Duncan ao nível de 5% de probabilidade. Os procedimentos estatísticos foram obtidos com auxílio do programa SAS 9.2.

Resultados e Discussão

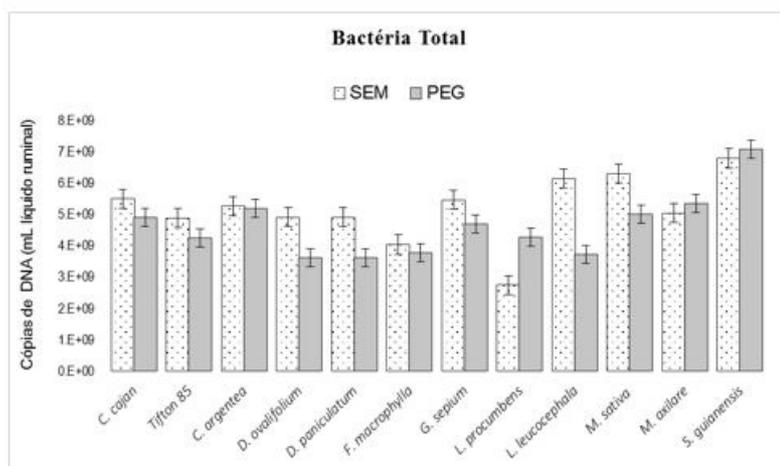
As análises moleculares mostraram que os TC causaram um aumento no número de bactérias totais em relação ao grupo com PEG (Figura 1). As espécies *S. guianensis*, *L. leucocephala* e *G. sepium* apresentaram os maiores valores de bactérias totais. No

entanto, com a adição de PEG, o número de bactérias na fermentação dessas espécies diminuíram. Algumas espécies de bactérias podem ter sido beneficiadas pela supressão de outros microrganismos pelos TC no rúmen. Em corroboração ao estudo, Bhatta et al. (2009), também observaram acréscimo no número de bactérias totais com a adição de taninos.

Conclusões

O estudo demonstrou que os taninos aumentam o número total de bactérias presente no rúmen de bovinos de corte.

Gráficos e Tabelas



(<http://cdn5.abz.org.br/wp->

Figura 1. Efeito dos TC das plantas avaliadas sobre a quantificação de bactérias totais na microbiota de bovinos de corte após 24 h de incubação. [content/uploads/2017/03/Grafico-leguminosas.jpg](http://cdn5.abz.org.br/wp-content/uploads/2017/03/Grafico-leguminosas.jpg)

Referências

COSTA, C. T. C. et al. Taninos e sua utilização em pequenos ruminantes. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v. 10, n. 4, p. 108-116, 2008. HASLAM, E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. Journal of Natural Products, v. 59, p. 205-215, 1996. LUCIANO, G. et al. Antioxidant status, colour stability and myoglobin resistance to oxidation of longissimus dorsi muscle from lambs fed a tannin-containing diet. Food Chemistry, v.124, p.1036-1042, 2011. MAKKAR, H.P.S.; VERCOE, P.E. Measuring methane production from ruminants. Dordrecht : Springer, 2007. p.138. MAURICIO, R.M.; MOULD, F.L.; DHANOA, M.S.; OWEN, E.; CHANNA, K.S.; THEODOROU, M.K. A semi-automated in vitro gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. Animal Feed Science and Technology, v. 79, p. 321-330, 1999. NELSON, K. E.; PELL, A. N.; DOANE, P. H. et al. Chemical and biological assays to evaluate bacterial inhibition by tannins. J. Chem. Ecol., v. 23, p. 1175-1194, 1997. NOZELLA, Eduardo Fernando. Determinação de taninos em plantas com potencial forrageiro para ruminantes. 2001. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo RODRIGUES, C.G.; FERREIRA P.R.B.; OLIVEIRA C.S.M.; JÚNIOR R.R.; VALÉRIO H.M.; BRAMDI I.V.; OLIVEIRA D.A. Antibacterial activity of tanins from *Psidium guineense* Sw. (Myrtaceae). Journal of Medicinal Plant Research, v.8, p.1-5,2014. SAMIMI, A.; ZARINABADI, S. Reduction of Greenhouse gases emission and effect on environment. Journal of American Science, v.8, p.1011-1015, 2012. SCALBERT, A.. Antimicrobial properties of tannins. Phytochemistry., v. 30, n. 12, p. 3875-3883, 1991. THEODOROU, M.K.; WILLIAMS, B.A.; DHANOA, M.S.; MCALLAN, A.B.; FRANCE, J. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology, v. 48, p. 185-197, 1994.

