

DEGRADABILIDADE DA PROTEÍNA E DESDOBRAMENTO DA MIMOSINA DA *Leucaena leucocephala* (LAM) DE WITH NO RÚMEN DE BÚFALOS SOB DIETAS COM DIFERENTES NÍVEIS DE PROTEÍNAS.

PROTEIN DEBRADABILITY AND TRANSFORMATION OF MIMOSINE FROM *Leucaena leucocephala* (LAM) DE WITH IN THE RUMEN OF BUFFALOES UNDER DIETS WITH DIFFERENT PROTEIN LEVELS.

Raul FRANZOLIN NETO¹; Pedro de ANDRADE²; Dario OCAMPOS³

RESUMO

A técnica de sacos de náilon suspensos no rúmen foi utilizada para estudar a degradabilidade da proteína bruta e do desdobramento da mimosina da *Leucaena leucocephala* em búfalos submetidos a um experimento em quadrado latino (4 x 4) com diferentes níveis de proteína bruta na ração (8,7; 10,5; 12,5 e 14,9% na MS). As rações não promoveram diferenças significativas ($P > 0,01$) na degradabilidade ruminal da proteína bruta da leucaena, que variou entre 30,92% e 71,70% em 3 e 48 horas de suspensão no rúmen, respectivamente. Houve uma lenta degradação ruminal da proteína e um acentuado desdobramento da mimosina nas amostras de leucaena colocadas dentro dos sacos de náilon no rúmen de búfalos.

UNITERMOS: *Leucaena*; Proteínas; Mimosina; Rúmen, digestibilidade; Búfalos

INTRODUÇÃO

A *Leucaena leucocephala* é uma leguminosa arbustiva de origem tropical com grande potencial de uso como planta forrageira na alimentação animal (JONES¹¹, 1979; FRANZOLIN NETO⁶, 1984).

A suplementação alimentar com leucaena tem produzido aumentos no ganho em peso de bovinos (SOBALE et al.¹⁸, 1978) e na produção de leite (FLORES et al.⁵, 1979). Melhora na produtividade animal com alimentação de leucaena pode estar associada ao elevado teor de proteína bruta da planta e também em função da solubilidade da proteína afetando a taxa de digestão nitrogenada no rúmen (AII; STOBBS¹, 1980). Entretanto o potencial total da leucaena como fonte protéica na nutrição animal é limitado pela presença de um aminoácido não protéico, tóxico, existente em todas as partes da planta, denominado mimosina, que sofre desdobramento pelos microrganismos no rúmen produzindo 3,4-DHP (Dihidroxipiridina) e outros compostos (FRANZOLIN NETO; VELLOSO⁹, 1987). Vários pesquisadores têm trabalhado procurando novos conhecimentos sobre o metabolismo da mimosina nos animais, na tentativa de se descobrir soluções viáveis para a neutralização dos efeitos tóxicos verificados nos animais devido à ingestão da mimosina (KUDO et al.¹², 1984; QUIRK et al.¹⁷, 1988; FRANZOLIN NETO; VELLOSO⁸, 1986).

A técnica de sacos de náilon suspensos no rúmen de animais fistulados por determinados períodos de tempo tem sido utilizada para a determinação da degradação de nutrientes pelos microrganismos no rúmen como avaliação da forma de disponibilidade de nutrientes pelos animais (ORSKOV et al.¹⁶, 1980; NOCEK¹⁵, 1988).

Este trabalho descreve uma avaliação da degradabilidade

ruminal da proteína da leucaena e do desdobramento da mimosina em búfalos alimentados com diferentes níveis de proteína bruta na ração.

MATERIAL E MÉTODO

Quatro búfalos (*Bubalus bubalis* L.), machos castrados, sem raça definida, apresentando peso médio de 430 kg e fístulas no rúmen, foram utilizados num experimento em quadrado latino (Q.L. 4 x 4). Os tratamentos consistiram de quatro rações formuladas com níveis crescentes de proteína bruta na matéria seca: 8,7%; 10,5%; 12,3% e 14,9%. As rações foram compostas de capim sempre verde (*Panicum maximum* var gongyloides) picado como volumoso (70% MS) e com milho e soja tostada em grãos como concentrado (30% MS). Os animais foram alimentados duas vezes ao dia e receberam cerca de 50 g de uma mistura completa comercial de sal mineral. As composições bromatológicas das rações podem ser observadas no Quad. 1.

Nos últimos dois dias de cada período do Q.L., foram colocados suspensos no rúmen de cada búfalo, 5 sacos de náilon contendo leucaena desidratada (*Leucaena leucocephala* cv Peru), sendo retirados após 3, 6, 12, 24 e 48 horas, conforme técnica descrita por ORSKOV et al.¹⁶ (1980). A leucaena foi colhida manualmente e desidratada em estufa de circulação forçada de ar a 65°C durante 72 horas (pré-secagem), sendo depois moída em moinho com peneira de 1,0 mm. A composição bromatológica da leucaena utilizada encontra-se apresentada no Quad. 1. Os sacos de náilon foram preparados com tecido de pára-quadras e cortados na forma retangular (7,5 x 17,0 cm), colocando-se aproximadamente 7,0 g de leucaena em cada saco. Após a retirada dos saquinhos do rúmen, eles eram lavados um a um em água corrente até que a água

1-Professor Doutor - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP

2-Professor Titular - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP - Campus de Jaboticabal

3-Professor Associado - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP

QUADRO 1

Composições bromatológicas das rações e da leucaena utilizadas (% na MS).

Nutrientes	Rações				Leucaena
	A	B	C	D	
Proteína bruta	8,73	10,51	12,33	14,90	25,44
Fibra bruta	32,24	32,88	33,31	33,56	15,93
Extrato etéreo	5,12	5,67	6,24	6,89	4,62
Extrato não nitrogenado	49,10	45,93	42,94	39,90	45,11
Cinzas	4,80	5,00	5,18	5,34	7,47

Os métodos analíticos usados foram: Proteína bruta-kjeldahl; fibra bruta - A.O.A.C. (1970), extrato etéreo - Soxhlet; cinzas - A.O.A.C. (1970).

escorresse límpida do interior dos mesmos, sendo posteriormente submetidos à pré-secagem e analisados para matéria seca total, cinzas e proteína bruta.

As concentrações de mimosina nas amostras de leucaena e nas suspensas no rúmen foram determinadas segundo adaptação do método colorimétrico descrito por MATSUMOTO; SHERMAN¹⁴ (1951) e ALLISON et al.² (1990). A digestão das amostras foi feita com HCl 0,1 N durante uma hora a frio, sem agitação. Para determinação da curva padrão, mimosina pura (Sigma Chemical Co.) foi dissolvida em HCl 0,1 N e o reagente de cloreto férrico (FeCl₃ · 6H₂O) utilizado foi preparado como uma solução a 0,5% também em HCl 0,1 N. As leituras das amostras foram realizadas em espectrofotômetro (Beckman, DU-70) em 535 nm.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferenças significativas (P>0,01) nas degradabilidades ruminal da matéria seca, matéria orgânica e proteína bruta da leucaena entre os tratamentos, em todos os tempos de incubação estudados. Os valores médios obtidos podem ser observados no Quad. 2. Assim, a degradabilidade da MS, MO e PB da leucaena no rúmen de búfalos não foi influenciada pelo nível de proteína bruta na dieta dos animais. FARIA e HUBER⁴ (1984) não observaram efeitos significativos do nível de proteína bruta na ração (8,1; 11,3 e 13,3%) sobre a degradabilidade ruminal da matéria seca de feno de alfafa e de gramíneas em bovinos. FRANZOLIN NETO⁷ (1990) também não verificou o efeito do teor de proteína na ração sobre a degradabilidade ruminal da MS, MO, PB e FDN do capim sempre verde em búfalos.

All e STOBBS¹ (1980) não verificaram interações entre diferentes dietas em novilhos sob pastejo de *Panicum maximum* e de leucaena sobre a taxa de desaparecimento da proteína de amostras de *Panicum maximum*, *Leucaena leucocephala* e *Desmodium intortum* em sacos de náilon do rúmen. Porém, variações acentuadas na dieta de ruminantes, principalmente em função da relação volumoso: concentrado e nível de ingestão de matéria seca, promovem diferenças na degradabilidade de nutrientes devido a variações nas taxas de "turnover" ruminal (CHURCH³, 1974; VARGA; PRIGGE²⁰, 1982).

As taxas de degradabilidade da matéria seca e proteínas foram semelhantes, entretanto, não houve diferença significativa na degradabilidade da proteína bruta até 12 horas no rúmen. All e STOBBS¹ (1980) observaram valores mais baixos para o desaparecimento da proteína bruta da leucaena em sacos de náilon no rúmen de bovinos após 12 horas de suspensão (16,1%) e também

até 72 horas (63,4%). Apesar disso, a lenta degradação ruminal da proteína verificada principalmente até 12 horas (Tab. 1), permite corroborar com a observação feita por esses pesquisadores de que o tempo prolongado de degradação ruminal da proteína da leucaena pode ser de considerável importância prática, já que leguminosas apresentam menor tempo de retenção no rúmen que gramíneas (THORNTAN; MINSON¹⁹, 1973) e portanto, maior quantidade de proteínas não degradáveis no rúmen poderá ser hidrolisada e absorvida no intestino delgado com maior benefício para produção animal.

TABELA 1

Degradabilidade média da matéria seca (DRMS), matéria orgânica (DRMO) e proteína bruta (DRPB) da leucaena em diversos tempos de suspensão dos sacos de náilon no rúmen. Pirassununga, 1991.

Horas no rúmen	DRMS (%)	DRMO (%)	DRPB (%)
3	37,49 a	34,88 a	30,92 a
6	39,67 a	36,82 a	31,87 a
12	43,10 b	40,33 b	34,48 a
24	57,41 c	55,24 c	50,47 b
48	71,77 d	70,63 d	71,70 c

Letras distintas na mesma coluna diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Houve evidência de um rápido desdobramento da mimosina nas amostras de leucaena colocadas em sacos de náilon no rúmen de búfalos (Tab. 2). Após 3 horas de permanência no rúmen o teor de mimosina diminuiu drasticamente de 1,2% na MS para 0,15% na MS; a partir daí, os teores de mimosina diminuíram gradativamente até atingir o valor de 0,02% MS com 48 horas de suspensão. Houve provavelmente uma marcada ação no rúmen dos microrganismos que atuam no desdobramento da mimosina, transformando-a em DHP e/ou outros compostos conforme citado por FRANZOLIN NETO; VELLOSO⁹ (1987) e HAMMOND et al.¹⁰ (1988). Existem vários fatores que influem no desdobramento da mimosina, particularmente a temperatura (LOWRY et al.¹³, 1983), porém, no presente trabalho, tanto as amostras de leucaena retidas dos sacos de náilon suspensos no rúmen, como as amostras da leucaena fresca, foram pré-secadas em estufas de circulação forçada de ar à 65°C por 72 horas.

TABELA 2

Desdobramento da mimosina nos diversos tempos de permanência das amostras de leucaena no rúmen de búfalos. Pirassununga, 1991.

Horas no rúmen	Mimosina (% MS)	Desdobramento (%)
0	1,20	0,0
3	0,15 a	87,5
6	0,11 ab	90,8
12	0,11 ab	90,8
24	0,07 ab	94,2
48	0,02 b	98,3

Letras distintas diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo Teste de Tukey.

CONCLUSÕES

1. Níveis crescentes de matéria bruta na ração (8,73; 10,51; 12,33 e 14,90%) não promoveram diferenças significativas (p>0,01) na degradabilidade ruminal da proteína bruta da *Leucaena leucocephala* em búfalos.
2. Houve uma degradação lenta da proteína bruta principalmente durante as 12 primeiras horas de suspensão da leucaena no rúmen.

3. Houve evidência de um acentuado desdobramento da mimosina dentro de sacos de náilon suspensos no rúmen de búfalos.

SUMMARY

The ruminal suspended nylon bags technique was used to study the degradability of crude protein and disintegration of mimosin of *Leucaena leucocephala* in water buffaloes. The experimental design was in a 4 x 4 Latin square, with variable levels of crude protein (8.8, 10.5, 12.5, and 14.9% of dry matter). The diets did not cause significant differences on the ruminal degradation of crude protein of *Leucaena* ($P > 0.01$), that ranged from 30.92 to 71.70% in, respectively, 3 or 48 hours of ruminal exposition. There was observed a slow ruminal protein degradation and a strong desingration of mimosin on the samples of *Leucaena* exposed in nylon bags to the rumen of water buffaloes.

UNTERMS: *Leucaena*; Proteins; Mimosine; Rumen, digestibility; Buffalo

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 01-AII, T.; STOBBS, T. H. Solubility of the protein of tropical pasture species and the rate of its digestion in the rumen *Anim. Feed Sci. Techn.*, v. 5, p.183-92, 1980.
- 02-ALLISON, M. J.; HAMMOND, A. C.; JONES, R. J. Detection of ruminal bacteria that degrade toxic dihydroxypyridine compounds produced from mimosine *Appl. Env. Microbiol.*, v. 56, p. 590-4, 1990.
- 03-CHURCH, D. C. Fisiologia digestiva Y nutrición de los ruminantes. Acribia, Zaragoza, 1974. v. 1.
- 04-FARIA, V. P.; HUBER, J. T. Influence of dietary protein and energy on disappearance of dry matter from different forage types from dracon bags suspended in the rumen. *J. anim. Sci.*, v. 59, p. 246-52, 1984.
- 05-FLORES, J. F.; STOBBS, T. H.; MINSON, D. J. The influence of the legume *Leucaena leucocephala* and formal-casein on the production and composition of milk from grazing cows. *J. agric. Sci.*, v. 92, p. 351-7, 1979.
- 06-FRANZOLIN NETO, R. Valor nutritivo e toxicidade da *Leucaena leucocephala* (Lam.) de wit determinados em ovinos. São Paulo, 1984. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.
- 07-FRANZOLIN NETO, R. Efeitos de rações com diferentes níveis de nitrogênio degradável no rúmen sobre os desaparecimentos in situ da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta e fibra em detergente neutro em búfalos. Jaboticabal, 1990. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Universidade Estadual Paulista.
- 08-FRANZOLIN NETO, R.; VELLOSO, L. *Leucaena leucocephala* (Lam.) de wit em rações para ovinos. 2. Toxicidade *Rev. Soc. Bras. Zootec.*, v. 15, p. 415-24, 1986.
- 09-FRANZOLIN NETO, R.; VELLOSO, L. Aspectos tóxicos da *Leucaena leucocephala* (Lam.) de wit. *Comum. Cient. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, v. 11, p. 37-47, 1987.
- 10-HAMMOND, A. C.; ALLISON, M. J.; WILLIAMS, M. J.; PRINE, G. M.; BATES, D. B.; ADAMS, M. S. Ruminal degradation of toxic constituents in *Leucaena* and potential as a forage legume. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON LIVESTOCK IN THE TROPICS. Florida, 1988. *Proceedings*. p. A-27-A-35.
- 11-JONES, R. J. El valor de *Leucaena leucocephala* como pienso para ruminantes en los trópicos. *Rev. mund. Zootec.*, v. 31, p. 13-23, 1979.
- 12-KUDO, H.; CHENG, K. J.; MAJAK, W.; HALL, J. W.; COSTERTON, J. W. Degradation of mimosine in rumen fluid from cattle and sheep in Canada. *Canad. J. anim. Sci.*, v. 64, p. 937-42, 1984.
- 13-LOWRY, J. B.; MARYANTO; TANGENDJAJA, B. Autolysis of mimosine to 3-hydroxy-4-(1H)pyridone in green tissues of *Leucaena leucocephala*. *J. Sci. Food Agric.*, v. 34, p. 529-33, 1983.
- 14-MATSUMOTO, H.; SHERMAN, G. D. A rapid colorimetric method for the determination of mimosine. *Arch. Biochem. Biophys.*, v.33. p. 195-200, 1951.
- 15-NOCEK, J. E. In situ and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: a review. *J. Dairy Sci.*, v. 71, p. 2051-69, 1988.
- 16-ORSKOV, E. R.; DeB HOVELL, F. D.; MOULD, F. Uso de la técnica de la bolsa de nylon para valuación de los alimentos. *Prod. anim. Trop.*, v. 5, p.213-33, 1980.
- 17-QUIRK, M. F.; BUSHELL, J. J.; JONES, R. J.; MEGARRITY, R. G.; BUTLER, K. L. Live-weight gains on leucaena and native grass pastures after dosing cattle with rumen bacteria capable of degrading DHP, a ruminal metabolite from leucaena. *J. Agric. Sci. Camb.*, v. 111, p. 165-70, 1988.
- 18-SOBALE, B. N.; KHARAT, S. T.; PRASAD, V. L.; JOSHI, A. L.; RANGNEKAR, D. V.; DESHMUKH, S. S. Nutritive value of *Leucaena leucocephala* for growing bull calves. *Trop. Anim. Hlth. Prod.*, v. 10, p. 237-41, 1978.
- 19-THORNTON, R. F.; MINSON, D. J. The relationship between apparent retention time in the rumen, voluntary intake and apparent digestibility of legume and grass diets in sheep. *Aust. J. agric. Res.*, v. 24, p. 889-98, 1973.
- 20-VARGA, G. A.; PRIGGE, E. C. Influence of forage species and level of intake on ruminal turnover rates. *J. anim. Sci.*, v. 55. p.1498 - 504, 1982.

Recebido para publicação em 21/11/1991
Aprovado para publicação em 16/06/1992