



**ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA E POPULAÇÃO DE  
PROTOZOÁRIOS NO LÍQUIDO RUMINAL DE  
BORREGAS ALIMENTADAS COM CONCENTRADOS  
ALTERNATIVOS**

**JONAS DE JESUS SANTOS**

**2019**



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA E POPULAÇÃO DE  
PROTOZOÁRIOS NO LÍQUIDO RUMINAL DE  
BORREGAS ALIMENTADAS COM CONCENTRADOS  
ALTERNATIVOS**

**Autor: Jonas de Jesus Santos  
Orientador: Prof. D.Sc. Herymá Giovane de Oliveira Silva**

**ITAPETINGA  
BAHIA – BRASIL  
Março de 2019**

**JONAS DE JESUS SANTOS**

**ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA E POPULAÇÃO DE  
PROTOZOÁRIOS NO LÍQUIDO RUMINAL DE  
BORREGAS ALIMENTADAS COM CONCENTRADOS  
ALTERNATIVOS**

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

Orientador: Prof. Dr. Herymá Giovane de Oliveira Silva

Co-orientadores: Prof. Dr. Marcio dos Santos Pedreira  
Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Mara Lúcia Albuquerque Pereira

ITAPETINGA  
BAHIA – BRASIL  
Março de 2019

636.085 Santos, Jonas de Jesus.  
S235a Análise físico-química e população de protozoários no líquido ruminal de borregas alimentadas com concentrados alternativos. / Jonas de Jesus Santos. - Itapetinga: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2019.  
39fl.

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Sob a orientação do Prof. D. Sc. Herymá Giovane de Oliveira Silva e coorientação do Prof. D.Sc. Márcio dos Santos Pedreira e Profª. D.Sc. Mara Lúcia Albuquerque Pereira.

1. Borregas – Alimentos alternativos. 2. Borregas – Parâmetros ruminais. 3. Ovelhas – Microbiologia - Protozoários. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. II. Silva, Herymá Giovane de Oliveira. III. Pedreira, Márcio dos Santos. IV. Pereira, Mara Lúcia Albuquerque. V. Título.

CDD(21): 636.085

Catálogo na fonte:

Adalice Gustavo da Silva – CRB/5-535

Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para Desdobramento por Assunto:

1. Borregas – Alimentos alternativos
2. Borregas – Parâmetros ruminais
3. Ovelhas – Microbiologia - Protozoários

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA - UESB  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA - PPZ  
Área de Concentração: Produção de Ruminantes

Campus Itapetinga-BA

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

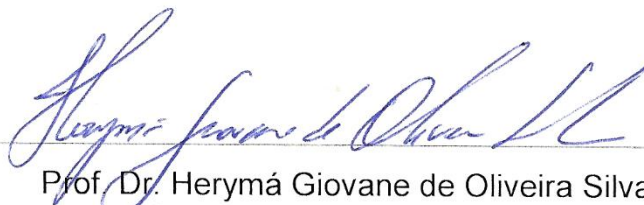
Título: "Análise físico-química e população de protozoários no líquido ruminal de borregas alimentadas com concentrados alternativos".

**Autor (a):** Jonas de Jesus Santos

**Orientador (a):** Prof. Dr. Herymá Giovane de Oliveira Silva

**Co-orientador (a):** Prof. Dr. Márcio dos Santos Pedreira  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Mara Lúcia Albuquerque Pereira

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM ZOOTECNIA, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PRODUÇÃO DE RUMINANTES, pela Banca Examinadora:



Prof. Dr. Herymá Giovane de Oliveira Silva – UESB  
Orientador



Prof. Dr. Eduardo Robson Duarte – UFMG



Dr<sup>a</sup>. Taiala Cristina de Jesus Pereira – PNP/UFBA

Data de realização: 11 de março de 2019.

*“O êxito da vida não se mede pelo caminho que você conquistou, mas sim pelas dificuldades que superou no caminho.”*

*Abraham Lincoln*

## DEDICATÓRIA

Dedico a Deus em primeiro lugar, pela oportunidade de estar completando essa fase importante em minha vida. À minha família, por sempre me apoiar e mesmo distante estar presente incentivado para que todo esse trabalho fosse concretizado com êxito. Obrigado!!!

*“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar., mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota.”*

*Madre Teresa de Calcutá*

...

## AGRADECIMENTOS

*A Deus, por me permitir estar vivo e com saúde para disfrutar desta conquista.*

*À minha família, em especial à minha avó, tias e minha mãe (in memorian), que sempre se mantiveram presentes em minhas orações e pedidos de força para alcançar esse sucesso.*

*À minha namorada Alessandra Vieira, que sempre me apoiou e incentivou a ir em frente e buscar meus objetivos.*

*Aos amigos de república (Vinicius, Alexandre, Claudio, Fernando, Ivan e Junior) que compartilharam um pouco desta história.*

*Aos amigos e amigas que fiz na UESB, Carol, Rebeka, Deiyse, Carolzinha, Yara, Kássio, Reginaldo; e aos amigos do grupo de pesquisa, que tanto contribuíram para o experimento, Weiber, Samantha, Ted, Diogo, Gleidson, Lucinéia, Marco, Luan, Dometília, Gleyse, Aymara, Iuri, sem vocês eu não teria conseguido.*

*Ao meu orientador, Prof. Dr. Herymá, que dedicou seu tempo e conhecimento para minha orientação, meu muito obrigado.*

*À minha Co-orientadora, Prof. Dr<sup>a</sup>. Mara Lúcia Albuquerque Pereira, pela orientação e incentivo.*

*Ao professor Eduardo Robson Duarte da UFMG, que dedicou um pouco do seu tempo para que eu conseguisse realizar análises, meu muito obrigado pela paciência e colaboração.*

*À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, por ter me possibilitado desenvolver este trabalho. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos e o incentivo a pesquisa.*

*Aos funcionários da UESB; Louro, Arnaldo, Aroldo, George, Jansen, pela contribuição nas análises químico-bromatológica e na condução do experimento.*

**Meu muito obrigado a todos!**



## **BIOGRAFIA**

Jonas de Jesus Santos, filho de Maria Lucia de Jesus Santos, nasceu em Duque de Caxias - RJ, no dia 01/10/1990. Em fevereiro de 2016, concluiu o curso de bacharelado em Zootecnia, no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano *Campus* Santa Inês.

Em março de 2017, iniciou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado, área de concentração Produção de Ruminantes, na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, realizando estudos na área de produção e nutrição de pequenos ruminantes, sob a orientação do Prof. Dr. Herymá Giovane de Oliveira Silva.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS.....	viii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	x
I - REFERENCIAL TEÓRICO.....	1
1.1 Introdução geral .....	1
1.2 Revisão de literatura.....	2
1.2.1 Utilização de alimentos alternativos na dieta de ruminantes.....	2
1.2.2 Parâmetros físico-químicos do líquido ruminal.....	4
1.2.3 Principais produtos gerados pela fermentação ruminal (AGV's e metano) ..	5
1.2.4 Protozoários ciliados do rúmen.....	6
1.3 Referências Bibliográficas .....	9
II - OBJETIVOS .....	16
2.1 Objetivo geral .....	16
2.2 Objetivos específicos .....	16
III - MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1 Localização e caracterização do clima.....	17
3.2 Dietas, animais e delineamento .....	17
3.3 Análises Química Bromatológicas.....	18
3.4 Coleta do líquido ruminal .....	20
3.5 Análise dos ácidos graxos.....	23
3.6 Análises estatísticas .....	24
IV- RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	25
V- CONCLUSÕES .....	34
VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	35

## LISTA DE FIGURAS

	Página
<b>Figura 1.</b> Punção do líquido ruminal.....	20
<b>Figura 2.</b> Análises físico-química do líquido rumina .....	21
<b>Figura 3.</b> Protozoário do Gênero <i>Entodinum</i> proveniente de borregas alimentadas com diferentes concentrados alternativos, visualizado após coloração com lugol. Objetiva 40x.....	22
<b>Figura 4.</b> Protozoário do Gênero <i>Charonina</i> proveniente de borregas alimentadas com diferentes concentrados alternativos, visualizado após coloração com lugol. objetiva de 40x.....	22
<b>Figura 5.</b> Protozoário do Gênero <i>Dasytricha</i> do líquido ruminal de borregas alimentadas com diferentes concentrados alternativos, visualizado após coloração com lugol. objetiva de 40x.....	22
<b>Figura 6.</b> Protozoário do Gênero <i>Diplodinium</i> do líquido ruminal de borregas alimentadas com diferentes concentrados alternativos, visualizado após coloração com lugol. objetiva de 40x.....	22
<b>Figura 7.</b> Protozoário do Gênero <i>Isotricha</i> do líquido ruminal de borregas alimentadas com diferentes concentrados alternativos, visualizado após coloração com lugol. objetiva de 40x.....	23

## LISTA DE TABELAS

	Página
<b>Tabela 1.</b> Proporção e composição química dos ingredientes das dietas experimentais, com base na matéria seca (%MS), valores calculados de proteína (PB) e nutrientes digestíveis totais (NDT).....	19
<b>Tabela 2.</b> Composição bromatológica dos alimentos utilizados nas dietas experimentais.....	20
<b>Tabela 3.</b> Análise macroscópica e físico-química do fluido ruminal de borregas alimentada com diferentes concentrados.....	25
<b>Tabela 4.</b> Concentrações de ácidos graxos voláteis (AGV's) individuais e totais, expressos em mmol/L e em percentual do total (%), razão acetato: propionato (A:P), metano em mmol/L (CH <sub>4</sub> ) e nitrogênio amoniacal (N-NH <sub>3</sub> , mg. dL <sup>-1</sup> ) do fluido ruminal de borregas alimentadas com diferentes fontes concentrados.....	27
<b>Tabela 5.</b> Contagem média de protozoários ruminais (x 10 <sup>5</sup> /mL) do líquido ruminal de borregas alimentadas com diferentes concentrados alternativos.....	29
<b>Tabela 6.</b> Distribuição percentual e total (x 10 <sup>5</sup> /mL) dos gêneros de protozoários ruminais em borregas alimentadas com diferentes concentrados alternativos.....	30

## RESUMO

SANTOS, J. de J. **Análise físico-química e população de protozoários no líquido ruminal de borregas alimentadas com concentrados alternativos.** Itapetinga, BA: UESB, 2019. 39 p. (Dissertação – Mestrado em Zootecnia, Área de Concentração em Produção de Ruminantes). \*

O Objetivo do presente estudo foi avaliar as características físico-químicas e a população de protozoários ciliados no líquido ruminal de borregas alimentadas com diferentes concentrados alternativos. Utilizou-se 16 borregas com idade aproximada 100 dias, com peso corporal de  $26,20 \pm 5,26$ . O experimento teve duração de 31 dias, com os animais submetidos às dietas contendo (torta de licuri, torta de dendê, torta do caroço de algodão e dieta padrão: milho e soja) e como fonte de volumoso o feno de capim tifton-85 (*Cynodon* spp.). Foi realizada a coleta do líquido ruminal 4 horas após alimentação de todos os animais, 10 ml do conteúdo ruminal foram puncionados com o auxílio de um cateter, para a quantificação de ácidos graxos voláteis (AGV's), nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) e as avaliações físico-químicas de: pH, cor, odor, viscosidade e potencial de redução do azul de metileno (PRAM). Para a identificação e contagem dos protozoários, 1 ml das amostras foram coletadas e diluídas em 9 mL de solução de formaldeído a 10%. Posteriormente, foram realizadas diluições decimais em solução salina para a contagem dos pequenos, médios e grandes protozoários. Os animais foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado (DIC). Não foi observada alterações do líquido ruminal: Ph, cor, odor, viscosidade para os parâmetros físico-químico do fluido ruminal, o pH do líquido ruminal apresentou média de 6,8 entre as deitas, as concentrações de nitrogênio amoniacal também não modificaram em função das dietas, garantindo assim, um crescimento microbiano adequado e uma maior eficiência na utilização de energia. Houve diferença significativa para as concentrações do ácido acético com uma concentração de 24,51 mmol/L, para a dieta com torta de licurí e o ácido butírico com a menor concentração de 2,59 mmol/L para a dieta à base de torta de caroço de algodão, o ácido propiônico não sofreu alterações em suas proporções. Para a classificação dos protozoários houve a maior concentração de microrganismos de tamanho médio, sendo identificados cinco gêneros: *Dasytricha*, *Charonina*, *Entodinium*, *Diplodinium*, *Isotricha*, além disso, a espécie *Entodinium Caudatum*. Para os gêneros de protozoários, não foram observadas diferença entre as dietas. O gênero *Entodinium* predominou, com uma variação de 56,60 a 77,77% da concentração total, quanto à espécie o *E. Caudatum* teve uma maior concentração na deita à base da torta do caroço de algodão. O uso dos concentrados alternativos não alterou os parâmetros físico-químicos do fluido ruminal, não influenciando também no perfil dos gêneros de protozoários ciliados, no entanto, houve diferença para as concentrações dos ácidos acético, butírico e isobutírico influenciando no AGV's totais.

Palavras-chave: alimentos alternativos, parâmetros ruminais, microbiologia, borregas

---

\* Orientador: Herymá Giovane de Oliveira Silva D.Sc., UESB. Co-orientadora: Mara Lúcia Albuquerque Pereira, D.Sc UESB.

## ABSTRACT

SANTOS, J. de J. **Physical-chemical analysis and protozoa population in the ruminal fluid of lambs fed with alternative concentrates.** Itapetinga, BA: UESB, 2019. 39 p. (Dissertation - Master in Animal Science, Area of Concentration in Ruminant Production). \*

The aim was to evaluate the physicochemical characteristics and population of ciliate protozoa in the ruminal fluid of lambs fed with different alternative concentrates. 16 lambs, female, approximately 100 days old, with a body weight of  $26.20 \pm 5.26$ , were used. The experiment had a duration of 31 days, the diets contained (licuri cake, palm kernel, cotton seed cake and standard diet: corn and soybean) and tifton-85 hay (*Cynodon* spp.). The ruminal fluid was collected 4 hours after feeding. 10 ml of the ruminal fluid were punctured using a catheter to the quantification of volatile fatty acids, ammoniacal nitrogen and physicochemical evaluations: pH, color, odor, viscosity and reduction potential of methylene blue. For the identification and counting of protozoa, 1 ml of the samples were collected and diluted in 9 mL of 10% formaldehyde solution. Subsequently, decimal dilutions were carried out in saline solution for the counting of small, medium and large protozoa. The animals were distributed in a completely randomized design. No changes were observed in the physicochemical parameters of the ruminal fluid. The ruminal fluid pH presented a mean of 6.8 among the diets. The ammoniacal nitrogen concentrations did not change in function of the diets, thus guaranteeing adequate microbial growth and greater efficiency in the energy use. There was a significant difference for the concentrations of acetic acid with a concentration of 24.51 mmol / L for the diet with licori cake and butyric acid with the lowest concentration of 2.59 mmol / L for the diet with cotton seed cake. The propionic acid did not change in its proportions. For the classification of protozoa there was the highest concentration of microorganisms of medium size, being identified five genera: *Dasytricha*, *Charonina*, *Entodinium*, *Diplodinium*, *Isotricha*, in addition the species *Entodinium Caudatum*. For protozoan genera, no difference was observed among diets. The genus *Entodinium* predominated, with a variation of 56.60 to 77.77% of the total concentration. The species *E. Caudatum* had a higher concentration in the diets with cotton seed cake. The use of the alternative concentrates did not alter the physicochemical parameters of the ruminal fluid. Also, did not influence the profile of the ciliate protozoan genera. However, there were differences in the concentrations of acetic, butyric and isobutyric acids influencing the total VFA.

Key words: alternative foods, ruminal parameters, microbiology, lambs

---

\* Advisor: Herymá Giovane de Oliveira Silva. D.Sc. UESB. Co-Advisor Mara Lúcia Albuquerque Pereira, D.Sc UESB.

## I - REFERENCIAL TEÓRICO

### 1.1 Introdução geral

O Brasil apresenta condições edafoclimáticas favoráveis à produção de pequenos ruminantes. A ovinocultura se destaca como uma atividade econômica que se encontra em crescimento na maioria dos estados brasileiros, pois a criação de ovinos surge como alternativa de viabilização social e econômica para pequenas e médias propriedades rurais (CUNHA et al., 2007). A ovinocultura cresceu significativamente na última década, possuindo um contingente de 18.410.000 cabeças, com destaque para a região Nordeste, que detém o maior rebanho brasileiro com 60,6%, onde a Bahia dispõe com 17,2% do rebanho nacional (IBGE, 2017).

Para um bom desenvolvimento da cadeia produtiva, a nutrição animal entra com uma importante ferramenta para otimização e manipulação dos microrganismos presente no ecossistema ruminal, com a finalidade de garantir um melhor desempenho produtivo e atender as necessidades nutricionais dos animais (MORGAVI et al., 2013). Entre os microrganismos do rúmen a uma relação específicas e interespecíficas, provendo energia ao hospedeiro e, sobretudo, no metabolismo de nutrientes através da degradação da dos nutrientes dos alimentos. (CHOUDHURY et al., 2012).

O ecossistema ruminal é considerado estável, por possuir uma população microbiana bem estabelecida, capaz de produzir proteínas de alto valor nutricional a partir de compostos de qualidade inferior. Há fatores que afetam as populações microbianas como: dieta, idade e condições de saúde do animal, os hospedeiros se classifica como os mais relevantes (WELKIE et al., 2010).

A busca por alimentos alternativos para pequenos ruminantes visa auxiliar com os problemas de escassez de forragem durante períodos críticos, reduzir custos com alimentação, principalmente em sistema de confinamento, uma vez que, a nutrição de ovinos neste sistema representa cerca de 60% dos custos de produção (LEITE e VASCONCELOS, 2000). A mudança na dieta impõe ao animal um período de transição na população microbiana do rúmen, com alterações nas proporções entre as distintas

espécies para promover um novo equilíbrio e uma melhor adaptação à nova dieta (Williams, 1986).

Tendo em vista a importância da comunidade ruminal e suas relações com os pequenos ruminantes, o objetivo desse estudo foi avaliar o perfil da população de protozoários ciliados do rúmen em borregas alimentadas com diferentes fontes de alimentos concentrado.

## **1.2 Revisão de literatura**

### 1.2.1 Utilização de alimentos alternativos na dieta de ruminantes

As avaliações de alimentos alternativos com potencial de uso na dieta de ruminantes devem ser avaliadas com intuito de prever os efeitos sobre o consumo, a digestibilidade e o desempenho animal (SANTOS et al., 2010). Entende-se por alimentos alternativos, os produtos de um processo de produção com importância secundária e de baixo valor agregado, podendo até mesmo ser rejeitado pela indústria, por ser inviável para o comércio (PIRES et al., 2006).

Preferencialmente esses alimentos devem imprimir qualidade aos produtos (carne e leite), e possibilitar a redução dos custos com alimentação e aumento da rentabilidade dos sistemas de produção (OLIVEIRA et al., 2012a).

A base da nutrição de ruminantes está relacionada no aumento da capacidade de ingestão de alimento, com o intuito de manter as exigências nutricionais sem alterar as condições fisiológicas do compartimento ruminal, garantindo assim uma boa atividade de ruminação e adequado consumo de volumoso (VELHO et al., 2007). Os componentes principais da ração: proteína e energia disponibiliza uma adequada mastigação, ruminação e demais condições para o funcionamento do rúmen (CASTAGNARA et al., 2012).

A torta de licuri é um alimento oriundo da extração do óleo é utilizado como alimento para os ruminantes caracterizando-se uma fonte de proteína (QUEIROGA et al., 2010). O licuri (*Syagrus coronata*) pode ser encontrado no território brasileiro desde o Norte de Minas Gerais, ocupando toda porção oriental e central da Bahia, até o sul de Pernambuco, incluindo também os estados de Sergipe e Alagoas (NOBLICK, 1986).



A sua composição química vem sendo estudada em relação e suas respostas quanto ao consumo e desempenho animal, tornando-se uma excelente opção para alimentação animal. Tem apresentado valores de proteína bruta (PB) entre 18,92 a 23,6%, extrato etéreo (EE) entre 10,1% a 16,92, fibra em detergente neutro (FDN) entre 51,5% a 58,7% e lignina de 11,47%, (BORJA, et al., 2010; COUTO et al., 2010; GOÉS et al., 2010; CARRERA et al., 2012; NOGUEIRA, 2013; SANTOS, 2014; SILVA, et al., 2015;).

A torta de dendê é outro alimento que se destaca como alternativa na alimentação de ruminantes, classificada como alimento energético, capaz de atender aos requerimentos da maioria dos ruminantes (PIMENTEL, 2014; OLIVEIRA et al., 2015). Um dos subprodutos oriundo da extração do óleo de dendê é um produto resultante da polpa seca, depois da moagem e extração do óleo, que pode ser utilizado como fertilizante ou como componente de ração para animais (EMBRAPA 2009).

Em relação à sua composição químico-bromatológica, a torta de dendê tem apresentado valores de matéria seca (MS) entre 88,11 e 97,7%, proteína bruta (PB) entre 13,01 e 18,21%, extrato etéreo (EE) entre 5,7 e 13,55%, fibra em detergente neutro (FDN) entre 64,09 e 81,85%, fibra em detergente ácido (FDA) entre 41,29 e 56,02% e matéria mineral (MM) entre 3,01 e 7,82% (BRINGEL et al., 2011; MACIEL et al., 2012).

Para Vasconcelos (2010), a composição química bromatológica da torta do dendê pode ser bastante variável, devido à falta de padronização na extração do óleo, afirmando também que as variações encontradas no teor de nutrientes da torta de dendê são decorrentes da origem dos frutos do dendê, e do tipo de processamento aplicados para a extração do óleo.

Quanto ao algodão (*Gossypium hirsutum*), uma das culturas oleaginosas mais cultivadas mais no setor da agricultura pertencente à família Malvacea. Destaca-se principalmente pela produção de fibra, destinada à indústria têxtil. Do algodão origina-se a torta, caroço e o farelo obtido após a extração do óleo de forma mecânica, representando uma excelente fonte de proteína (GERON et al., 2011). Pode ser utilizado na alimentação de ruminantes como alimento de alto valor nutritivo, sendo equiparado com outros ingredientes tradicionais de custo consideravelmente mais elevado (VIANA et al., 2009; VIANA, 2012).

Quanto à composição bromatológicas, o caroço de algodão possui 23,0% de proteína bruta (PB), 17,8% de extrato etéreo (EE), 47,0% de fibra em detergente neutro

(FDN), 39% de fibra em detergente ácido (FDA) e 95% de nutrientes digestíveis totais (NDT) (NRC, 2007). PESCE (2008), detectou valores para a composição química do caroço de algodão semelhantes, destacando suas qualidades aliadas ao baixo custo, caracterizando esse co-produto como uma excelente alternativa proteica e energética para a produção e alimentação animal.

### 1.2.2 Parâmetros físico-químicos do líquido ruminal

O rúmen atua como uma câmara de fermentação, favorecendo um ambiente contínuo para população microbiana, com uma temperatura ideal média de 39°C; anaerobiose; pH tampão médio de 6,8; presença de bactérias, protozoários e fungos; suplemento de nutriente e contínua remoção de digesta e dos produtos de fermentação (LANA, 2005).

As análises do fluido ruminal são importantes, pois favorecem no diagnóstico de enfermidades do aparelho digestivo, sendo que a microbiota é altamente sensível às alterações externas que os animais são submetidos (BORGES et al, 2002). A população microbiana é influenciada pelas características ruminais, sendo estas influenciadas pelo animal hospedeiro, processo de mastigação e ruminação, produtos oriundos da fermentação, características químicas da saliva, pH e temperatura (MORGAVI et al., 2013).

Para uma avaliação do conteúdo do líquido ruminal alguns aspectos físicos podem ser estudados como a cor, odor, consistência e tempo de sedimentação e flotação. Para às características químicas são avaliadas o pH, fermentação de glicose, e o tempo de redução do azul de metileno e para os parâmetros biológicos, a avaliação dos microrganismos mais populosos como bactérias e protozoários. (SOUZA ,1990; COSTA 1992; RINGS & RINGS 1993; DIRKSEN 1993; BORGES, 2002).

A cor do líquido ruminal será influenciada até certo ponto pelo alimento ingerido, onde tonalidades como: verde, verde oliva, castanho claro, escuro esverdeada e branco leitoso acinzentada podem ser encontradas nas avaliações (RADOSTITS et al. 2002).

O odor do fluido ruminal em condições normais apresenta-se como aromático embora um tanto forte. Quando o odor é muito forte em geral indica putrefação de proteína, gerando um cheiro desagradável, é indicio de formação excessiva de ácido láctico decorrente de sobrecarga por carboidratos ou grãos. Quando inodoro indica suco ruminal inativo (OLIVEIRA et al.,1993).

O valor do pH está diretamente relacionado com o tipo de alimentação e de suas respectivas produções de AGV's, e também com a taxa de crescimento dos microrganismos ruminais (Homem Junior et al. 2010). No entanto, o ambiente ruminal tende a se manter neutro em virtude da remoção dos ácidos pela fermentação, que são influenciados pela ação tamponante da saliva e com a baixa quantidade de oxigênio presente no rúmen (TEIXEIRA, 2001; LANA, 2005; KOZLOSKI, 2011).

O valor normal do pH do conteúdo ruminal oscila entre 5,5 e 7,4 ao longo do dia, de acordo com a alimentação administrada e com o intervalo de tempo da última alimentação (DIRKSEN, 1993). O pH abaixo de 6,0 pode interferir na ação das bactérias fermentadoras de celulose e diminuir significativamente a eficiência da síntese de proteína bruta microbiana (STROBEL & RUSSELL, 1986). O decréscimo do pH também pode reduzir a população dos protozoários quando ocorre um consumo excessivo de concentrados da dieta. Quando o pH atinge valores abaixo de 5,5 concentrações de *Isotrichia* e *Entodinium* decrescem (YOKOAMA e JOHNSON, 1988).

### 1.2.3 Principais produtos gerados pela fermentação ruminal (AGV's e metano)

Os ácidos graxos voláteis (AGV's) são produzidos no rúmen pela fermentação microbiana de carboidratos e, em alguns casos, da proteína, sendo o acético, propiônico e butírico seus principais produtos, representando a principal fonte de energia para os ruminantes (BERCHIELLI et al., 2006). O desempenho produtivo dos ruminantes está relacionado diretamente ao consumo de nutrientes, que depende do consumo de matéria seca e de disponibilidade nutricional, especialmente de energia e proteína (JUNIOR et al., 2015).

Segundo Van Soest (1994), os AGV's são produzidos pelos microrganismos do rúmen, suprem 85% das exigências de energia dos ruminantes. As proporções relativas desses ácidos estão relacionadas à natureza do alimento ingerido (BERGMAN, 1990). A ação dos microrganismos do rúmen permite a fermentação de carboidratos estruturais e, conseqüentemente, o uso de ácidos graxos voláteis pelos ruminantes como fonte de energia (DUARTE et al., 2018).

A ingestão de alimentos rapidamente fermentáveis, aumenta a atividade microbiana, causando flutuação nos produtos finais da fermentação (ácidos graxos e amônia) e o pH ruminal, o que pode refletir no aproveitamento dos demais nutrientes da dieta (COSTA et al., 2008).

Há possibilidade de se manipular o tipo e quantidade de AGV produzido, levando em consideração o carboidrato utilizado na dieta, manipulando assim o rendimento na composição do leite e no crescimento corporal (JUNIOR et al., 2016). A dieta dos ruminantes é constituída de 70 a 80% de carboidratos, oriundo das plantas forrageiras (BERCHIELLI et al., 2012). Bianchini et al., (2007) citam que aumentando a celulose e hemicelulose em relação ao amido e carboidratos solúveis, aumenta-se a relação acetato – propionato.

Em dietas ricas em carboidratos fibrosos, as proporções molares de acetato:propionato:butirato representa valores de 75:15:10, já em dietas ricas em carboidratos não fibrosos essas proporções é de até 40:40:20, com o total de AGV entre 60 e 150mM/ml de líquido ruminal (GOULARTE et al., 2011).

Desta forma, o tipo de dieta (forragem vs concentrado) é um dos principais determinantes da população microbiana, que será residente e afetará o perfil de AGV's em conformidade (OLIVEIRA et al., 2016). O ácido acético se apresenta com maior predominância no rúmen, ainda que o butirato e o propionato estejam presentes em grandes concentrações (SCHWAIGER et al., 2014).

Junto com os processos de fermentação ruminal, ocorre também produção de CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub>; a produção de CH<sub>4</sub> é influenciada principalmente pelos carboidratos da dieta, representando perdas energia pelos ruminantes (SANTOS et al., 2015). Medidas para reduzir essas emissões são tomadas com a inclusão de fontes lipídicas e ionóforos na dieta para melhor a eficiência na produção (BEAUCHEMIN et al., 2008).

#### 1.2.4 Protozoários ciliados do rúmen

O rúmen é considerado um ecossistema aberto e contínuo, que proporciona um ambiente ideal para a sobrevivência de uma população microbiana estável, pela evolução de milhões de anos de seleção (KOZLOSKI, 2002). Seu meio é anaeróbico, com temperatura em torno de 39-42°C, pH entre 6,0 e 7,0, e com presença permanente de substratos e de atividade fermentativa (KOZLOSKI, 2011).

O rúmen apresenta diferentes reinos e classes de microrganismos, destacando os protozoários, fungos, bactérias e vírus, os quais estabelecem diversas interações em um

complexo ecossistema (DEHORITY, 1984; DEHORITY & TIRABASSO 1989; KAMRA, 2005).

A microbiota ruminal atua sinergicamente para bioconverter substâncias menos aproveitáveis como a celulose, a hemicelulose e a amônia em compostos utilizáveis pelo ruminante, como os AGV's, os aminoácidos, as vitaminas e outras substâncias necessárias ao crescimento e à produção de carne, leite e lã (KAMRA, 2005; OLIVEIRA et al., 2007).

Os protozoários foram os primeiros microrganismos a serem descritos neste nicho, podendo representar cerca de 2% de peso do conteúdo ruminal, 40% do nitrogênio total e 60% do produto final da fermentação, são unicelulares, anaeróbios, não patogênicos e cujo tamanho varia de 20 a 200  $\mu\text{m}$ , com densidade aproximada de 104 ciliados por mililitro de conteúdo ruminal (KAMRA, 2005). Entre os microrganismos colonizadores do rúmen, os protozoários são caracterizados pelo maior tamanho, assim, representam significativa fração da microbiota ruminal (MONÇÃO et al., 2013).

Os protozoários ciliados do rúmen são divididos geralmente em dois grupos (subclasses): Holotricha e Entodiniomorpha. Na sub-classe Holotricha, encontram-se os gêneros *Isotricha*, *Dasytricha*, *Buetschlia* e *Charonina*, que utilizam principalmente carboidratos solúveis; já na sub-classe Entodiniomorpha aparecem os gêneros *Diplodinium*, *Diploplastron*, *Elitroplastron*, *Entodinium*, *Enoploplastron*, *Eodinium*, *Epidinium*, *Eremoplastron*, *Eudiplodinium*, *Metadinium*, *Ophryoscolex*, *Ostracodinium* e *Polyplastron*, que ingerem e fermentam materiais fibrosos (VAN SOEST, 1994; WILLIAMS, 1986).

Essas características conferem esses eucariotos às habilidades em digerir a maioria dos componentes dos alimentos, participando do processo de fermentação ruminal de forma bem ativa e sendo responsáveis por 34% da digestibilidade da fibra (MONÇÃO et al., 2013). Outra capacidade está em poder ingerir e utilizar grãos de amido, proteína insolúvel e também fermentar hidratos de carbono e produzir produtos finais, como formato, acetato, propionato, butirato,  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2$  (ABRAR et al., 2016).

Predam e digerem as bactérias produzindo diminuição da biomassa bacteriana, podendo reduzir a taxa de colonização das partículas do alimento pelas bactérias (SERRANO et al., 2011). Após os protozoários ingerir as bactérias, ocorre também à transformação da proteína microbiana em proteína oriunda de protozoários, e com a morte

dos protozoários o nitrogênio originado passa a ser utilizado pelas bactérias (RUIZ.,1992).

Os protozoários apresentam uma habilidade que é o quimiotactismo, que seria facilidade de locomoção em gradientes de concentração contendo açúcares. (ARCURI et al., 2006). E atuação direta sobre a fermentação do rúmen, na digestibilidade e na síntese de proteína microbiana, também é uma característica dos protozoários (BELANCHE et al., 2011).

Sendo a saliva uma das principais vias de transmissão para os protozoários, esse contato direto já ocorre nas primeiras semanas de vida do animal, onde na presença de animais faunados acontece a migração destes microrganismos até o compartimento ruminal, como também podem ser encontrados em maior quantidade (74%) retidos no espaço retículo-rúmen (FOULKES; LENG, 1989). O perfil de protozoários apresenta variação em relação ao período do dia, sendo a espécie e número de protozoário, influenciados pela ingestão de alimento e água, característica física e nutricional da dieta e produção de saliva (ARCURI et al., 2006).

Os protozoários apresentam uma característica comum a todos, que consiste em armazenar grande quantidade de amido, que é usado como fonte de energia (Teixeira, 2001). A população de protozoários é influenciada diretamente pela dieta oferecida, sendo importante quantificar e avaliar a sua atividade em resposta a essas dietas, uma vez que, têm uma grande participação nas atividades hemicelulolítica e celulolítica (LIMA et al., 2012).

### 1.3 Referências Bibliográficas

ABRAR. A.; WATANABE. H.; KITAMURA.T.; KONDO. M.; BANTOKUDA T.; MATSU. H.; Diversity and fluctuation in ciliate protozoan population in the rumen of cattle, Graduate School of Bioresources, Mie University, Tsu, Japan. **Animal Journal Science** (2016) 87, 1188 – 1192.

ARCURI, P. B.; LOPES, F. C. F.; CARNEIRO, J. C. **Microbiologia do rúmen**. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. de. **Nutrição de Ruminantes**, Jaboticabal: Funep, p. 111-116, 2006.

BELANCHE. A; FUENTE. G; NEWBOLD .C J. Study of the effect of presence or absence of protozoa on rumen fermentation and microbial protein contribution to the chyme. Institute of Biological, **Environmental and Rural Sciences**, Aberystwyth University *J Anim Sci* 89: 4163–4174 2011.

BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006.

BIANCHINI, W.; RODRIGUES, E.; JORGE, A. M.; ANDRIGHETO, C. importância da fibra na nutrição de bovinos. **REDEVET – revista eletrônica de veterinária** 2007. Volume VIII - número 2.

BORJA, M.S.; OLIVEIRA, R.L.; RIBEIRO, C.V.D.M.; BAGALDO, A.R.; CARVALHO, G.G.P.; SILVA, T.M.; LIMA, L.S.; BARBOSA, L.P. Effects of feeding licury (*Syagrus coronate*) cake to growing goats. **Asian Australasian Journal of Animal Science**. Seoul, v. 23, n. 11, p. 1436-1444, 2010.

BRINGEL L.M.L, NEIVA, J.N.M, ARAÚJO, V.L.; BOMFIM, M.A.D.; RESTLE, J, FERREIRA, A.C.H.; LÔBO, R.N.B.; Consumo, digestibilidade e balanço de nitrogênio em borregos alimentados com torta de dendê em substituição à silagem de capim-elefante. **Revista Brasileira de Zootecnia**. 2011.

BEAUCHEMIN, K.A.; KREUZER, M.; O'MARAC, F.; McALLISTER, T.A. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.48, p.21-27, 2008.

BORGES, N. C.; SILVA, L. A.F.; FIORAVANTI, M. C. S., CUNHA, P.H.J, MORAES, R. R, GUIMARÃES, P. L.; MARTINS, M E. P. Avaliação do Suco Ruminal de Bovinos “A Fresco” E Após 12 Horas de Conservação. **Ciência Animal Brasileira** v. 3, n. 2, p. 57-63, jul./dez. 2002

BERGMAN, E. N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. **Physiological Reviews**, 70:567, 1990.

BERCHIELLI, T. T.; MESSANA, J. D.; CANESIN, R. C. Produção de metano entérico em pastagens tropicais. **Revista de Saúde e Produção Animal**, v. 13, n. 4, p. 954-968, 2012. <http://dx.doi.org/10.1590/S151999402012000400010>

CARRERA, R.A.B.; VELOSO, C.M.; KNUPP, L.S.; JÚNIOR, A.H.S.; DETMANN, E.; LANA, R.P.; FIGUEIREDO, M.R.P. Protein co-products and by-products of the biodiesel industry for ruminants feeding. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa, v. 41, n. 5, p. 1202-1211, 2012.

CHOUDHURY, P.K. et al. **Harnessing the diversity of rumen microbes using moleculares approaches**. In: Sirohi SK, Walli TK, Singh B, Singh N (eds) *Livestock Green House Gases: emission and options for mitigation*. Satish Serial Publishing House, Delhi, Section-B, Chapter-6, pp 65–82. ISBN 978-93-81226-52-065, 2012.

CASTAGNARA, D. D. et al. Effect of boron and zinc fertilization on white oats grown in soil with average content of these nutrients. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 41, n. 7, p. 1598 - 1607, 2012.

COSTA, D. A. da; LOURENÇO JUNIOR, J. de B.; FERREIRA, G. D. G.; SANTOS, N. de F. A. dos; GARCIA, A. R.; MONTEIRO, E. M. M. Avaliação nutricional da torta de dendê para suplementação de ruminantes na Amazônia Oriental. **EMBRAPA – 2009**.

COUTO, G.S.; SILVA FILHO, J.C; CORREA, A.D.; SILVA, E.A.; PARDO, R.M.P. Degradabilidade ruminal da matéria seca de coprodutos da indústria do biodiesel. **In: Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia**, 2010, Salvador. **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, 47, v. 1. p. 1-3, 2010.

COSTA, S.F.; PEREIRA, M.N.; MELO; L.Q. et al. Alterações morfológicas induzidas por butirato, propionato e lactato sobre a mucosa ruminal e epiderme de bezerras. II. Aspectos ultra estruturais. **Arquivos Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, p.10-18, 2008.

COSTA, N. A. **Estudo clínico do suco de rúmen de bovinos normais em diferentes manejos de arraçamento com palma forrageira (Palma gigante-Opuntia ficus indican)**. 1992, 57p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.1992.

DUARTE, E.R.; VIEIRA, A. E. A.; SILVA, A. C. N. K. L.; VIRGÍNIO JÚNIOR, G. F.; Silene BARRETO, M. P.; GERASEEV, L. C. Rumen protozoa of different ages of beef cattle raised in tropical pastures during the dry season, **Journal of Applied Animal Research**, 46: 1, 1457-1461, 2018.

DIRKSEN, G Sistema digestivo. In: Dirksen,G; Grunder,HD.; Stober, M (Ed.). Rosenberger: **Exame Clínico dos Bovinos**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 1993. p.167-169.

GERON, L.J.V.; ZEOULA, L.M.; PAULA, E.J.H.; RUPPIN, R.F.; RODRIGUES, D.N.; MOURA, D.C. Inclusão do caroço de algodão em rações de alto concentrado constituído de co-produtos agroindustriais sobre o desempenho animal em tourinhos confinados. **Archives of Veterinary Science**, v.16, n.3, p.14-24, 2011.



GOULARTE, S.R, ÍTAVO, L.C.V, SANTOS G.T., OLIVEIRA, L.C.S.; FAVARO, S.P.; DIAS, A.M.; TORRES JUNIOR, R.A.A.; BITTAR, C.M.M. Ácidos graxos voláteis no rúmen de vacas alimentadas com diferentes teores de concentrado na dieta. **Arquivos Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.63, n.6, p.1479-1486, 2011.

GOÉS, R.H.T.B.; SOUZA, K.A.; PATUSSI, R.A.; CORNELIO, T.C.; OLIVEIRA, E.R.; BRABES, K.C.S. Degradabilidade in situ dos grãos de crambe, girassol e soja, e de seus coprodutos em ovinos. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**. Maringá, v. 32, n. 3, p. 271-277, 2010.

IBGE. Pesquisa Pecuária Municipal 2017. Tabela 3939: efetivo dos rebanhos, por tipo de rebanho, 2008 a 2017. Disponível em: < <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939#resultado>> Acesso em 25 de março de 2019.

IVAN, M.; MIR, P. S.; KOENIG, K. M. et al. Effects of dietary sunflower seed oil on rumen protozoa population and tissue concentration of conjugated linoleic acid in sheep. **Small Ruminant Research**, v.41, p.221-227, 2001

JÚNIOR, HOMEM, A. C.; EZEQUIEL, J.M.B.; FÁVARO, V.R.; OLIVEIRA, P.S.N.; D'AUREA, A.P.; SANTOS, V.C.; GONÇALVES, J.S. Fermentação ruminal de ovinos alimentados com alto concentrado e grãos de girassol ou gordura protegida. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.1, p.144-153. 2010.

JUNIOR, J., GUEDES, D., GOMES, J., da, L., JANUÁRIO, J., DIVINO, M., QUEIROZ, T., SOARES, A. y Quenoizoré, J. Carvão de algodão em dietas sem volumoso para cordeiros confinados. **Semina: Ciências Agrárias**. 36 (4): 2727-2738, 2015.

JÚNIOR, M. B. C.; CAETANO, G.A.O.; OLIVEIRA, M. D. A influência da dieta no desenvolvimento ruminal de bezerros. **Nutri-time Revista Eletrônica**. Vol. 13, Nº 06, nov./ dez.de 2016 ISSN: 1983-9006

KAMRA, D.N. **Rúmen microbial ecosystem**. Current Science, v.89, p.124-134, 2005.

KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. 1 ed. Santa Maria: UFSM. 2002, 140p.

KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. 3ª Ed. UFSM, Santa Maria, 212 p. 2011.

LIMA, M. E. et al. Alterações na população de protozoários ruminais , quantificados a partir da adaptação da técnica de Dehority , de ovinos submetidos a uma dieta de confinamento. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 40, n. November 2011, p. 1–6, 2012.

LANA, R.P. **Nutrição e alimentação animal**. 1 ed. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. 2005. 343p.

LEITE, E.R., VASCONCELOS, V.R. 2000. Estratégias de alimentação de caprinos e ovinos em pastejo no Nordeste do Brasil. In: Simpósio Internacional sobre Caprinos e Ovinos de Corte, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: EMEPA-PB, p. 71-80.

MACIEL, R.P.; NEIVA, J.N.M.; ARAUJO, V.L.; CUNHA, O.F.R.; PAIVA, J.; RESTLE J.; MENDES, Q.C.; LÔBO, R.N.B. Consumo, digestibilidade e desempenho de novilhas leiteiras alimentadas com dietas contendo torta de dendê. **Revista Brasileira de Zootecnia**. 2012

MONÇÃO, F. P. P.; OLIVEIRA, E.R.; MOURA, L.V.; GÓES, R.H.T.B. Desenvolvimento da microbiota ruminal de bezerros: revisão de literatura. **R Unim Cient**, 2013, 15(1):1-14

MORGAVI DP, MARTIN C, JOUANY J-P; RANILLA J. M; Rumen protozoa and methanogenesis: not a simple cause-effect relationship. **British Journal of Nutrition** 107: 388–397. 2013.

MAPA-Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento-Mapa. Instituto Nacional de Meteorologia – Inmet. **Estação Meteorológica Automática de Itapetinga/Ba**. Ano 2017

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and New World camelids. Washington: **National Academic Press**, 2007. 362p.

NOBLICK, L.R. Palmeiras da Caatinga da Bahia e suas potencialidades econômicas. Simpósio sobre a Caatinga e sua exploração racional. Brasília-DF. **EMBRAPA**, p. 99-115, 1986.

NOGUEIRA, A.S. **Torta de licuri na alimentação de ovinos**. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, 2013.

OLIVEIRA, M.V.; FERREIRA, I.C.; JUNIOR, G.L.M.; SOUSA, L.F.; SOUSA, J.T.L.; SANTOS, R.P. Consumo e digestibilidade de nutrientes da torta de dendê na dieta de ovinos. **Ciências animal brasil**. v.16, n.2, p.179-192 abr./jun. 2015.

OLIVEIRA, M.D.S.; VIEIRA, P.F.; SOUZA, A. et al. Efeito de métodos de coleta de fluido ruminal sobre a digestibilidade "in vitro" de alguns nutrientes de ração para bovinos. **Rev. Soc. Bras. Zootec.**, v.22, p.794-800, 1993.

OLIVEIRA, R.L.; CÂNDIDO, E.P.; LEÃO, A.G. A nutrição de ruminantes no Brasil. In: Tópicos Especiais Em Ciência Animal I - **Coletânea da I Jornada Científica da Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Espírito Santo**, 2012a, 169p.

OLIVEIRA, V. S.; NETO, J. A. S.; VALENÇA, R. L.; SILVA, B. C. D.; SANTOS, A. C. P. Carboidratos fibrosos e não fibrosos na dieta de Ruminantes e seus efeitos sobre A Microbiota Ruminal. **Revisão. Vet. Not.**, Uberlândia, v.22, n. 2, p.1-18, jul./dez. 2016.

OLIVEIRA, J. S.; ZANINE, A. M.; SANTOS, E. M. Diversidade microbiana no ecossistema ruminal. **Revista eletrônica de Veterinaria (REDVET)**, v. 8, 2007.

PESCE, D.M.C. **Efeito da dieta contendo caroço de algodão no desempenho, característica quantitativa de carcaça e qualitativa da carne de novilhos Nelore confinados.** Tese (doutorado em Zootecnia). Curso de Pós-Graduação em Zootecnia. Universidade de São Paulo – USP. 2008.

PIMENTEL, L.R. **Torta De Dendê Em Dietas De Vacas Lactantes Em Confinamento.** Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2014.

PIRES, A. J. V.; CARVALHO, G. G. P.; DUTRA, G. S. **Resíduos e subprodutos da agroindústria na alimentação de ruminantes no Nordeste:** tratamentos e utilização. X SNPA - Simpósio Nordestino de Alimentação de Ruminantes, 2006.

PIONA, M.N.M.; CABRAL, L. S.; ZERVOUDAKIS, J.T.; ABREU, J.G.; GALATI, R.L.; CAETANO, G.G.G.P.; SILVA, A.R. Níveis de Caroço de algodão na dieta de cordeiros confinados. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal.** v.13, n.1, p.110-122, 2012.

POSSAMAI, A.P.S. LALA, B. PEREIRA, V.V. GOMES, L.C. SILVA, S.C.C. Modificadores da Fermentação Ruminal: **REVISÃO.** BioEng, Tupã, v.5 n.2, p. 108-116, Mai/ago., 2011

QUEIROGA, R.C.R.E.; MAIA, M.O.; MEDEIROS, A.N.; et al., Produção e composição química do leite de cabras mestiças Moxotó sob suplementação com óleo de licuri ou de mamona. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal,** v.39, n.1, p.204-209, 2010

RADOSTITS, O.M.; MAYHEW, I.G.J.; HOUSTON, D.M. **Exame clínico e diagnóstico em veterinária.** 1 ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 332–338, 2002

RINGS, D. M.; RINGS, M. B. **Rumen fluid analysis.** *Agri-Practice*, v. 14, n. 9, p. 26-29, 1993.

RUIZ, R. L. **Microbiologia zootécnica.** São Paulo: Ed. Roca, 1992. 314p.

SANTOS, E.J.; PEREIRA, M. L.D.A.; ALMEIDA, P. J.P.; MOREIRA, J.V.; SOUZA, A.C.S.; PEREIRA, C.A.R. Mesquite pod meal in sheep diet: intake, apparent digestibility of nutrients and nitrogen balance. **Acta Scientiarum. Animal Sciences,** 37(1), 55-59. 2015.

SANTOS, V.C., EZEQUIEL, J.M.B., A.C. Homem Junior, PINHEIRO, R.S.B. Quantification of ruminal microbiota and production of methane and carbonic dioxide from diets with inclusion of glycerin. **Arquivos Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia.**, v.67, n.1, p.205-210, 2015.

SANTOS, J.W.; CABRAL, L.S.; ZERVOUDAKIS, J.T.; ABREU, J.G.; SOUZA, A.L.; PEREIRA, G.A.C.; REVERDITO, R. Farelo de arroz em dietas para ovinos. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal** [online], v.11, n.1, p.193-201, 2010.

STROBEL, H.J.; RUSSELL, J.B. Effect of pH and energy spilling on bacterial protein synthesis by carbohydrate-limited cultures of mixed rumen bacteria. **Journal of Dairy Science**. v.69, n.11, p.2941-2947, 1986.

SERRANO, R. D. C, SIERRA, L. M. P.; **Quantification techniques of the protein microbial synthesis in rumen: a review**, 2011.

SCHWAIGER, T. BEAUCHEMIN, K. A.; PENNER, G. B. Duration of time that beef cattle are fed a high-grain diet affects the recovery from a bout of ruminal acidosis: Short-chain fatty acid and lactate absorption, saliva production, and blood metabolites. **Journal of Dairy Science**. 91. p. 5743–5753, 2013.

SOUZA, P. M. **Conservação de suco de rúmen avaliação das características macroscópicas, microscópicas e de determinadas provas funcionais**. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 1990.

TEIXEIRA, J.C. **Nutrição de ruminantes**. Lavras: UFLA/ FAEPE, 182 p. Curso de Pós-Graduação Lato Sensu (Especialização) à distância: Produção de Ruminantes, 2001.

VAN SOEST, P.J. Nutritional ecology of the ruminant. 2 ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994, 476p

TEIXEIRA, J. C. **Nutrição de Ruminantes**. UFLA/FAEPE. Lavras-MG, 2001. 239 p.

VELHO, J.P.; MUHLBACH, P.R.F.; NÖRNBERG, J.L.; VELHO, I.M.P.H.; GENRO, T.C.M.; KESSLER, J.D.; Composição bromatológica de silagens de milho produzidas com diferentes densidades de compactação. **Revista Brasileira Zootecnia**, 2007, 36(5):1532-1538.

VIANA, P.T. **Avaliação nutricional da torta de algodão proveniente da extração do óleo sob diferentes condições de processamento**. Itapetinga. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, 2012.

VIANA, P.T. **Caroço de algodão associado ao lignosulfonato de cálcio em dietas de alto concentrado para ovinos**. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2016.

VASCONCELOS, H. G. R. **Potencial nutritivo da torta de dendê na alimentação de ruminantes no Estado do Pará**. Dissertação, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Pará, Belém-PA: UFPA, 2010.

VIANA, P.T.; SANTANA JÚNIOR, H.A. de; ALVES, E.M.; PIRES, A.J.V. Composição e utilização dos coprodutos do algodão na alimentação de bovinos. **PUBVET**, Londrina, v.3, n. 29, Ed. 90, Art. 645, 2009.

YOKOYAMA, M.T. e JOHNSON, K.A. Microbiología del rumen e intestino. In: CHURCH, D.C. (ed.). **El Ruminant Fisiología Digestiva e Nutrición**. Zaragoza: Editorial Acribia, S.A. 1988. cap.7, p. 137-157.

WILLIAMS, A. G.; Coleman, G. S. Hemicellulose-degrading enzymes in rumen ciliate protozoa. **Journal Current Microbiology**, v.12, n.2, p. 85-90, 1986.

WELKIE, D.G.; STEVENSON, D.M.; WEIMER, P.J. analysis of ruminal bacterial community dynamics in lactating dairy cows during the feeding cycle. *Anaerobe*, London, v.16, n.2, p.94–100, 2010.

## **II - OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar os efeitos de diferentes fontes de alimentos concentrados alternativos sobre o perfil da população de protozoários ciliados no rúmen de borregas.

### **2.2 Objetivos específicos**

1. Identificar e quantificar o perfil da população de protozoários ciliados do rúmen;
2. Quantificar os produtos da fermentação ruminal;
3. Avaliar os parâmetros físico-químico do fluido ruminal.

### III - MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Localização e caracterização do clima

O experimento foi conduzido no setor de Ovinocultura, do *Campus* Juvino Oliveira, da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, UESB, na cidade de Itapetinga, BA. Localizada a 15°14'56"S de latitude sul, 40°13'52"W de longitude oeste, precipitação média anual de 708 mm, temperatura média anual de 28°C e com altitude média 269 metros.

#### 3.2 Dietas, animais e delineamento

Foram avaliadas 16 borregas, (Santa Inês x SRD), com idade aproximada de 100 dias, peso corporal inicial médio de  $26,20 \pm 5,26$  kg, os animais foram alojados em baias individuais de 1,5 m x 1,0 m, com piso ripado, providos de cocho e bebedouro recebendo água *ad libitum* e as quatro dietas; dieta padrão (milho e soja) torta de licuri (TL), torta de dendê (TD) e torta do caroço de algodão (TA) e como volumoso feno de capim Tifton – 85 (*Cynodon spp.*). As dietas foram formuladas para serem isoproteicas e isoenergéticas (Tabela 1), para o ganho de peso de 200 g de animal/dia, de acordo com as equações de predição do NRC (2007). Os alimentos foram ofertados duas vezes ao dia em comedouros às (07:00 as 16:00 horas), fornecendo 70% da dieta no período da manhã e 30 % no período da tarde, na relação volumoso/concentrado de 50:50, com base na matéria seca. O consumo voluntário diário foi calculado pela diferença entre a dieta total oferecida e as sobras que foram colhidas e pesadas em balança digital.

O período experimental foi de 31 dias, sendo 21 dias para adaptação das dietas e 10 dias para as coletas dos dados. Os animais foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro dietas e quatro animais como repetição.

Todo procedimento experimental envolvendo animais foi realizado após aprovação pelo Conselho de Ética do Uso de Animais - CEUA da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB, Protocolo N°153/2017.

### 3.3 Análises Química Bromatológicas

As amostras das dietas foram coletadas, identificadas, armazenadas em embalagem de sacos plásticos diariamente e mantidas em freezer de -10° a -20°C para posteriores análises. As amostras foram pré-secas em estufas de circulação forçada, por 24h a 55° de temperatura e depois homogeneizadas em temperatura controlada a 60°C por 72 horas e, posteriormente, triturada em moinho tipo Wiley (peneira de 1mm) para posteriores análises. As análises das amostras foram realizadas no Laboratório de Métodos e Separações Químicas – LABMESQ, na UESB. As concentrações médias dos componentes nutricionais do feno de capim Tifton – 85 e concentrados estão descritos nas Tabelas (1 e 2).

As análises de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente ácido (FDA), fibra em detergente neutro (FDN) e matéria mineral (MM) foram realizadas de acordo procedimentos descritos por Detmann et al. (2012). A lignina, celulose e hemicelulose foi obtida a partir da metodologia descrita por Detmann et al. (2012), com o resíduo da (FDA) tratado com ácido sulfúrico a 72%. A porcentagem de carboidratos totais (CT) foi obtida pela equação (Sniffen et al., 1992):

$$CT = 100 - (\%PB + \%EE + \%MM)$$

Em que: CT = carboidratos totais (%MS); PB= teor de PB (%MS); EE = teor de EE (%MS); MM = teor de MM (%MS).

O teor de fibra em detergente neutro (FDN) corrigido para cinza e proteína foi obtido segundo recomendações de Licitra et al., (1996). A matéria orgânica (MO) foi obtida pela formula: MO (%) = 100 – MM (%).

Os teores de carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados de acordo ao modelo proposto por Hall (2003), utilizando o FDN<sub>cp</sub>, onde:

$$CNF = MO - (\%FDN_{cp} + \%PB - \%EE - \%MM)$$

Os nutrientes digestíveis totais (NDT) serão calculados segundo Weiss (1999), mas utilizando a FDN e os CNF corrigidos para cinza e proteína, pela seguinte equação:

$$NDT (\%) = PBD + FDN_{cpD} + CNF_{cpD} + 2,25EED$$

Em que: PBD = PB digestível; FDN<sub>cpD</sub>= FDN<sub>cp</sub> digestível; CNF<sub>cpD</sub>= CNF<sub>cp</sub> digestíveis; e EED= EE digestível.



**Tabela 1.** Proporção e composição química dos ingredientes das dietas experimentais, com base na matéria seca (%MS), valores calculados de proteína (PB) e nutrientes digestíveis totais (NDT).

<b>Ingredientes</b>	<b>Dietas*</b>			
	<b>DC</b>	<b>TD</b>	<b>TL</b>	<b>TCA</b>
Milho	62,0	57,0	53,0	54,0
Farelo de Soja	36,0	25,0	29,0	24,0
Uréia + Sulfato de Amônia	0,0	1,0	0,0	0,0
Minerais	2,0	2,0	2,0	2,0
Torta de Dendê	0,0	15,0	0,0	0,0
Torta de Licuri	0,0	0,0	16,0	0,0
Torta de Carçoço de Algodão	0,0	0,0	0,0	20,0
Total (Kg)	100,0	100,0	100,0	100,0
	<b>Nutrientes na Matéria Seca</b>			
PB <sup>1</sup>	19,7	20,0	19,9	20,1
NDT <sup>2</sup>	71,7	70,8	71,3	72,5
<b>Composição Química<sup>3</sup></b>				
Matéria Seca	94,35	94,78	95,19	95,60
Matéria orgânica	95,57	95,80	95,00	96,64
Matéria mineral	4,43	4,20	5,00	4,36
Proteína bruta	18,9	19,1	19,28	20,1
Extrato etéreo	5,08	5,77	6,64	9,12
Carboidratos não fibrosos	49,21	41,36	40,05	42,52
Fibra em detergente neutro	17,95	25,37	24,03	20,54
Fibra em detergente ácido	9,67	14,72	15,18	11,97
Hemicelulose	8,28	10,65	8,85	8,57
Lignina	0,44	2,93	2,28	1,52
Carboidratos totais	71,59	70,93	69,08	66,51

Dietas\*: DC= dieta controle (milho e soja); TD: torta de dendê; TL: torta de licuri; TCA: torta do carçoço do algodão. Ingredientes separados e composição química<sup>3</sup> em porcentagem da matéria seca. MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; MM matéria mineral; PB<sup>1</sup>: proteína bruta; EE: extrato etéreo; CNF: Carboidratos não fibrosos; FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido; HEM: hemicelulose; LIG: lignina; CT: carboidratos totais; NDT<sup>2</sup> Nutrientes digestíveis totais de acordo com o com equação do NRC (2001).

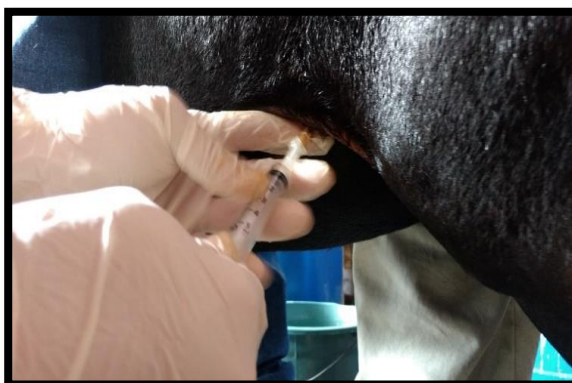
**Tabela 2.** Composição bromatológica dos alimentos utilizados nas dietas experimentais

Nutrientes (%)*	Feno Capim Tifton 85	Milho	Soja	TD <sup>1</sup>	TL <sup>2</sup>	TCA <sup>3</sup>
MS	90,91	88,92	88,59	91,79	92,97	93,85
MO	93,85	98,51	93,55	96,50	93,7	95,75
MM	6,15	1,49	6,45	3,50	6,30	4,25
PB	12,67	8,90	43,91	14,96	25,64	34,66
EE	4,40	8,90	1,96	9,01	15,65	25,68
FDNcp	78,50	14,45	31,28	80,76	61,78	37,05
FDA	51,80	5,81	20,27	52,93	48,60	25,95
HEM	26,70	8,65	11,01	27,83	13,12	11,10
CEL	42,9	5,29	19,8	34,35	35,75	19,7
LIG	8,90	0,52	0,47	18,58	12,85	6,25
CT	76,78	81,52	47,68	72,53	52,41	35,41

TD<sup>1</sup>= torta de dendê; TL<sup>2</sup>= torta de licuri; TCA<sup>3</sup>= torta do caroço de algodão. \*Nutrientes em porcentagem da matéria seca. MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; MM matéria mineral; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; FDNcp: fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína; FDA: fibra em detergente ácido; HEM: hemicelulose; CEL: celulose; LIG: lignina; CT: carboidratos totais.

### 3.4 Coleta do líquido ruminal

A coleta das amostras ocorreu 4 horas após alimentação, utilizando da prática da tricotomia e assepsia na região ventral do abdômen esquerdo, abaixo da fossa paralombar e cranialmente à articulação do joelho, uma área de aproximadamente 5 cm<sup>2</sup> onde foi lavada e higienizada com solução de Iodo-PVPI (1%). Com o auxílio de cateter humano, 10 ml de fluido ruminal foram puncionados e acoplado a seringas estéreis (Figura 1). As análises físico-químicas de: pH, cor, odor, viscosidade e potencial de redução de azul de metileno (figura 2), foram realizadas logo após a coleta de acordo as metodologias descritas por (Dirksen, 1993).



**Figura 1.** Punção do líquido ruminal.

Fonte: Arquivo de pesquisa



**Figura 2.** Análises físico-química do líquido ruminal.

Fonte: Arquivo de pesquisa

Para identificação e contagem dos protozoários, 1 ml das amostras do líquido ruminal de cada animal foram coletadas e diluídas em 9 ml de solução de formaldeído a 10 % para que a conservação das estruturas morfológicas dos protozoários fosse mantida (Dehority, 1993). A identificação e contagem foi realizada seguindo a metodologia descrita por Dehority (1984), porem com a substituição do verde brilhante pela solução de lugol como descrito por (D'agosto, Carneiro, (1999).

Foram realizadas diluições decimais de 1 ml da solução de formaldeido em tubos, contendo 9 ml de solução salina em seguidas cinco alíquotas de 10 microlitros de cada amostra na diluição  $10^1$  foram adicionadas respectivamente em 5 laminas de microscopia, e logo após uma gota de lugol juntamente com as lamínulas. Os ciliados foram visualizados sob a luz da microscopia óptica, utilizando-se das objetivas de  $10\times$  e  $40\times$  para observação das microestruturas dos protozoários (Figuras 3,4, 5, 6 e 7) e realização da classificação dos seus gêneros de acordo com a chave descrita em (Dehority, 1993).



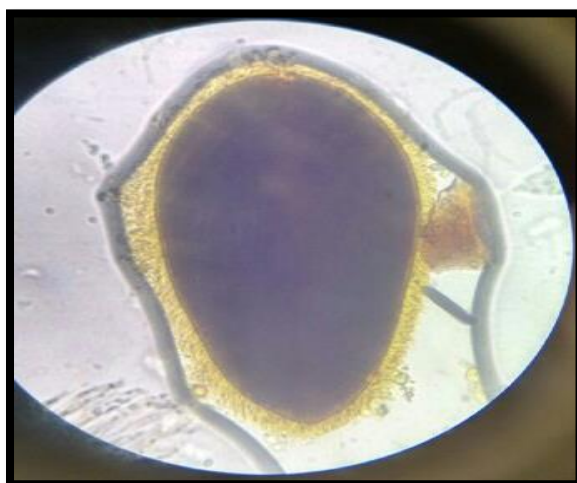
**Figura 3.** Protozoário do Gênero *Entodinium* proveniente de borregas alimentadas com diferentes concentrados alternativos, visualizado após coloração com lugol. objetiva de 40x

Fonte: arquivo de pesquisa.



**Figura 4.** Protozoário do Gênero *Charonina* proveniente de borregas alimentadas com diferentes concentrados alternativos, visualizado após coloração com lugol. objetiva de 40x

Fonte: arquivo de pesquisa.



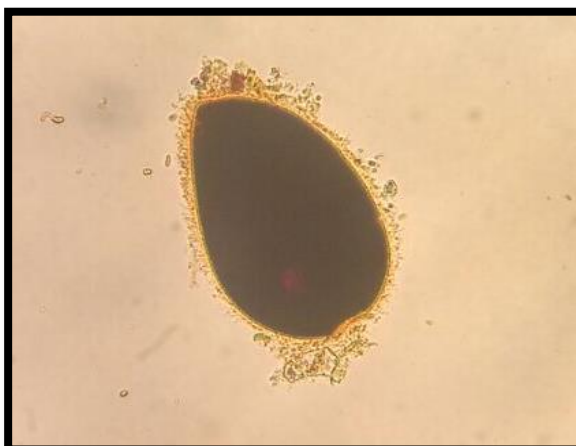
**Figura 5.** Protozoário do Gênero *Dasytricha* do líquido ruminal de borregas alimentadas com diferentes concentrados alternativos, visualizado após coloração com lugol. objetiva de 40x

Fonte: arquivo de pesquisa.



**Figura 6.** Protozoário do Gênero *Diplodinium* do líquido ruminal de borregas alimentadas com diferentes concentrados alternativos, visualizado após coloração com lugol. objetiva de 40X

Fonte: arquivo de pesquisa.



**Figura 7.** Protozoário do Gênero *Isotricha* do líquido ruminal de borregas alimentadas com diferentes concentrados alternativos, visualizado após coloração com lugol. Objetiva de 40x

Fonte: arquivo de pesquisa.

### 3.5 Análise dos ácidos graxos

Para análise dos ácidos graxos voláteis (AGV's), 2 ml do líquido ruminal foram retiradas e adicionadas a 200  $\mu$ l de ácido metafosfórico a 25% e por meio de cromatografia gasosa foram analisados no laboratório da Universidade Federal de Viçosa Minas Gerais (UFV), utilizando cromatografo a gás modelo CG – 17A marca SHIMADZU, equipado com detector FID. Para registro e análise dos cromatogramas, o aparelho é acoplado a um microcomputador, utilizando - se o programa GC Solution. Os compostos foram separados e identificados em uma coluna capilar DB1 (30 m x 0,25 mm). A produção de metano foi estimada utilizando a equação proposta por Moss et al. (2000), onde leva em consideração os ácidos graxos voláteis:  $CH_4 = (\text{ácido acético} \times 0,45) - (\text{ácido propiônico} \times 0,275) + (\text{ácido butirico} \times 0,40)$ .

### 3.6 Análises estatísticas

Após análise exploratória dos gêneros de protozoários, as concentrações médias obtidas foram transformadas em  $\log_{10}(x+10)$ , onde foram interpretados para determinação da análise de variância (ANOVA). Para análise das ocorrências dos gêneros as médias foram comparadas pelo teste de Newman-Keuls a ( $P < 0,05$ ), obtendo algumas variáveis expressas em valores absolutos e percentuais, utilizando o sistema de análises de dados o SAS (Modelo 9.0). Os valores referentes de pH ruminal e (AGV's) foram comparados entre as dietas aplicando-se o teste tukey ( $P < 0,05$ ).

O modelo matemático  $Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$

Onde:  $Y_{ij}$  = ao valor observado na parcela que recebeu o tratamento na repetição  $\mu$  = a média geral do experimento;  $T_i$  = ao efeito devido ao tratamento, que foi aplicado à parcela;  $\varepsilon_{ij}$  = ao efeito dos fatores não controlados na parcela que recebeu o tratamento  $i$  na repetição  $j$ .

## IV- RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a análise físico-química do líquido ruminal de borregas alimentadas com diferentes concentrados demonstraram semelhanças ( $P>0,05$ ) nos valores de pH, potencial de redução do azul de metileno (PRAM), odor, viscosidade e cor como é visto na (Tabela 3).

**Tabela 3** - Análise macroscópica e físico-química do fluido ruminal de borregas alimentadas com diferentes concentrados.

Dieta	Variáveis					CV <sup>5</sup>
	pH	PRAM	Odor	Viscosidade	Cor	
<b>DC<sup>1</sup></b>	6,73 <sup>a</sup>	< 3min (100%)	Aromático (100%)	Espesso (100%)	Castanho Oliva (75%) Castanho Escuro (25%)	2,19
<b>TL<sup>2</sup></b>	6,87 <sup>a</sup>	< 3min (100%)	Aromático (100%)	Espesso (100%)	Castanho Oliva (100%)	3,93
<b>TD<sup>3</sup></b>	6,84 <sup>a</sup>	< 3min (100%)	Aromático (100%)	Espesso (100%)	Castanho Oliva (100%)	3,87
<b>TCA<sup>4</sup></b>	6,80 <sup>a</sup>	< 3min (100%)	Aromático (100%)	Espesso (100%)	Castanho Oliva (75%) Castanho Escuro (25%)	3,01

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey ( $p>0,05$ ) para o pH, CV: <sup>5</sup>Coefficiente de variação do pH. <sup>1</sup>DC: Controle (concentrado padrão); <sup>2</sup>TL: Torta de Licuri <sup>3</sup>TD: Torta de Dendê; <sup>4</sup>TCA: Torta de caroço de algodão.

O pH do fluido ruminal não apresentou diferença significativa entre dietas ofertadas, demonstrando um valor médio de 6,8. Segundo Dirksen (1993), o valor normal do pH no conteúdo ruminal oscila entre 5,5 e 7,4 ao longo do dia, de acordo com a alimentação administrada e com o intervalo de tempo da última alimentação. Uma vez que, a dieta apresentou uma relação volumoso: concentrado (50:50), possibilitou um maior tempo de ruminação e, conseqüentemente, maior produção de saliva como é repostado por Dirksen, (2008).

Segundo Jesus et al. (2012), à medida que o pH aumenta, ocorre um aumento no número de protozoários totais. Os mesmos autores citam que o pH abaixo de 6,0 promove uma queda significativa na concentração de protozoários. Franzolin & Dehority (2010) afirmam que longos períodos de baixo pH ruminal, provavelmente, são mais prejudiciais

para a sobrevivência dos protozoários ciliados no rúmen que outros fatores. As características do alimento e o estado fisiológico dos animais pode contribuir também para o equilíbrio de pH no rúmen (VASCONCELOS et al., 2010).

No presente estudo, o tempo encontrado para a variável (PRAM) foi menor que 3 minutos, demonstrando como muito ativo esse tempo de redução, indicativo de que todas as dietas supriram os nutrientes necessários para o alto crescimento da população microbiana. O PRAM é um teste usado para determinar o tempo necessário para a que a população de bactérias possa realizar o metabolismo da fermentação anaeróbica (DIRKSEN, 1993). O tempo normal considerado é de (3 a 6 minutos) classificando como microflora normal (BARBOSA et al.2003).

Para a cor do líquido ruminal, as amostras apresentaram uma maior proporção para tonalidade do castanho oliva, tendo variações entre o castanho escuro. De acordo com Dirksen, (2008), a cor do fluido ruminal é estabelecida em função do tipo alimentação ofertada sendo: feno, silagem, palhada ou grãos. Vieira et al. (2007) em um estudo com ovinos criados em pasto de *Urochloa* (Brachiaria) *decumbens* constataram que no período seco a cor do fluido ruminal predominante era castanha, já no período chuvoso o verde oliva se destacava.

Para as avaliações de odor do líquido ruminal não foi identificado variações, não demonstrando odores desagradáveis indicando qualquer tipo de putrefação ou produções excessivas de ácido láctico. Segundo Feitosa (2008), o odor pode ser classificado em aromático, ácido, repugnante, amoniacal ou inodoro e pode contribuir para o diagnóstico de alterações na fisiologia do ecossistema ruminal.

Já a viscosidade do líquido ruminal se manteve bem espessa nas avaliações, sugerindo que os microrganismos estavam em um ambiente bem ativo para sua sobrevivência, caso contrário em um ambiente de consistência aquosa a ação desses microrganismos seria comprometida. Feitosa (2008) relatou que a boa viscosidade do meio ruminal indica a ação e contaminação da saliva, já a ausência de viscosidade demonstra um jejum prolongando no animal e inatividade em sua microbiana.

O estudo sobre os parâmetros físico-químicos do líquido ruminal é de suma importância no diagnóstico de enfermidades do aparelho digestório dos ruminantes, especialmente aquelas dos compartimentos pré-gástricos. A microbiota do rúmen é altamente sensível às alterações externas e internas, às quais rotineiramente estão submetidos os animais (BORGES et al., 2002; COSTA et al., 2008).



Na tabela 4 são apresentados os dados relativos a produção de ácidos graxos voláteis (AGV's), do fluido ruminal de borregas alimentadas com diferentes fontes de concentrados alternativos, onde é apresentada as proporções dos principais ácidos produzidos no processo de fermentação ruminal sendo: 64 a 68% ácido acético, 17 a 19% ácido propiônico e 14 a 16% butírico, valores esses semelhantes ao encontrados por (Teixeira e Teixeira, 2001).

Os ácidos graxos voláteis (AGV'S) são produzidos no rúmen pela fermentação microbiana de carboidratos e em alguns casos da proteína, se tornando a principal fonte de energia para os ruminantes (Berchielli et al., 2006). No processo de fermentação microbiana do rúmen ocorre a produção de ácidos graxos de cadeia curta, como: acético, propiônico, butírico, isobutírico, valérico, isovalérico, 2-metilbutírico, hexanoico, ácidos fracos, compostos por até sete carbonos (Tagang et al., 2010).

**Tabela 4** - Concentrações de ácidos graxos voláteis (AGV's) individuais e totais, expressos em mmol/L e em percentual do total (%), razão acetato: propionato (A:P), metano em mmol/L (CH<sub>4</sub>) e nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>, mg. dL<sup>-1</sup>) do fluido ruminal de borregas alimentadas com diferentes fontes concentrados.

AGV's	Dietas*					
	DC	TL	TD	TCA	DP <sup>1</sup>	P <sup>2</sup>
Isobutírico	0,86 a	0,89 a	0,86 a	0,71 b	0,02	0,0044
Acético (A)	18,26 a b	24,51a	20,22 a b	11,95 b	1,64	0,0323
Propiônico (P)	5,65	6,30	5,62	3,06	0,53	0,1151
Butírico (B)	4,40 a	5,03 a	4,22 a b	2,59 b	0,30	0,0082
AGV's totais	28,30 a b	35,82 a	30,04 a b	17,59 b	2,39	0,0330
A % Total	64,04	68,45	67,32	68,36	0,76	0,1224
P% Total	19,96	17,50	17,93	17,11	0,62	0,3999
B % Total	16,00	14,05	14,75	14,53	0,53	0,6462
A:P	3,20	3,99	3,90	4,05	0,18	0,2986
CH <sub>4</sub>	8,42 a b	11,30 a	9,24 a b	5,56 b	0,72	0,0196
N-NH <sub>3</sub>	76,70	65,56	68,75	73,20	2,38	0,3949

Dietas\*: DC= dieta controle (milho e soja); TL: torta de licuri; TD: torta de dendê; TCA: torta do caroço do algodão. Médias seguidas de letras minúsculas distintas na linha diferem entre si pelo teste Tukey ( $p>0,05$ ). <sup>1</sup>Desvio padrão e <sup>2</sup>Probabilidade de erro.

As concentrações do ácido acético, butírico e isobutírico sofreram influência das dietas, a torta de licuri apresentou em sua concentração 24,51% de ácido acético e a torta do caroço de algodão 2,59 do ácido butírico, mesmo com as menores concentrações o isobutírico foi significativo para a torta de caroço de algodão. Vargas et al., (2001) cita

que concentrações de isobutirato são indicativos de fermentação de aminoácidos, os quais quando em altos teores, favorecem o acúmulo de tais AGVs, destacando como principal fator de redução do pH, o que não foi observado no presente trabalho, onde o pH se permaneceu estável entre as dietas.

Dietas que apresentam um teor de extrato etéreo acima de 6% (Tabela 3), pode influenciar na redução e produção de acetato e butirato e estimular as bactérias ruminais para produção do propionato (JUNIOR et al., 2010; NEVEL et al., 1988). Nesse sentido, a produção de propionato não sofreu alterações em relação as dietas ofertadas. A produção de AGV's totais foi significativo, a torta de licurí demonstrou uma maior concentração de 35,82 em relação as demais dietas. Van Soest (1994), destaca que a maior produção dos ácidos graxos, pode estar relacionado as concentrações dos carboidratos não fibrosos presente nas dietas e por isso eles são mais rapidamente degradáveis no rúmen.

A proporção de cada produto final vai depender do tipo de alimento, como dito anteriormente, das espécies de microrganismos envolvidas e do ambiente ruminal durante a fermentação (Valadares Filho & Pina, 2006).

Os protozoários se alimentam de carboidratos e celulose (FINDLEY et al., 2011) e por consequência liberam  $H_2$  no ambiente, o qual é utilizado pelas metanogênicas (SKILLMAN et al., 2006; TYMENSEN et al., 2012). A dieta com torta do caroço do algodão apresentou em sua composição química 19,7% de celulose e 35,41% de carboidratos totais, valores esses que confirmam o que os autores acima falaram, a respeito da ação dos protozoários sobre determinados nutrientes do alimento, que influencia diretamente na ação das bactérias metanogênicas e na produção de metano.

Neste estudo, a média encontrada na produção de metano ( $CH_4$ ) foi de 5,56 mmol/L, para dieta a base torta do caroço de algodão. A maior produção desse gás está diretamente associada à formação de ácidos acético e butírico com a fermentação dos componentes estruturais do substrato (RIVERA et al., 2010).

A capacidade de fermentação da dieta varia de acordo com a concentração mínima de  $N-NH_3$  necessária para manter máxima taxa de crescimento microbiano, associada a fontes de energia. Van Soest (1994) citou como nível ótimo 10 mg de  $N-NH_3$ /dL no fluido ruminal, no entanto este valor não deve ser considerado como um número fixo, uma vez que, a capacidade de síntese de proteína e captação de amônia pelas bactérias depende da taxa de fermentação dos carboidratos.

O nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>), não apresentou valores significativos para as dietas avaliadas ( $p > 0,05$ ). O valor médio detectado de (N-NH<sub>3</sub>) foi de 71,05 mg. dL<sup>-1</sup> sendo superior ao limite mínimo citado por Van Soest (1994). Pode-se observar que, as concentrações de N-NH<sub>3</sub> presente no líquido ruminal, garantiram crescimento microbiano adequado e maior eficiência de utilização de energia provenientes da degradação dos carboidratos, onde a participação dos protozoários é muito importante na utilização da proteína microbiana de acordo com Leng (1990).

A quantidade de nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) presente no rúmen se torna um fator importante para os microrganismos, pois utilizam esse composto como fonte de N para a síntese proteica microbiana (SIMIONATTO et al., 2017). Contudo, a natureza dos alimentos (volumosos e concentrados), bem como seus níveis de nutrientes, podem influenciar de maneira decisiva no comportamento alimentar dos animais, promovendo efeitos sobre o desempenho e produtividade.

Em relação à quantidade total de protozoários, não houve alterações em relação às dietas ofertadas. Quanto à classificação dos protozoários, ocorreu a maior ocorrência de indivíduos de tamanho médio, seguido de pequenos e grandes ciliados (Tabela 5).

**Tabela 5** - Contagem média de protozoários ruminais ( $\times 10^5$ /mL) do líquido ruminal de borregas alimentadas com diferentes concentrados alternativos.

Classificação	Dietas*				CV <sup>1</sup>	P <sup>2</sup>
	DC	TL	TD	TCA		
Pequenos	146,0	187,5	84,5	150,5	57,96	0.4520
Médios	446,5	440,0	231,5	332,5	52,28	0.6836
Grandes	9,0	3,0	17,5	5,5	168,35	0.4516
Total	608,50	630,50	333,50	488,50	51,37	0.4043

Dietas\*: DC= dieta controle (milho e soja); TL: torta de licuri; TD: torta de dendê; TCA: torta do caroço do algodão. Considerou – se pequeno (até 40 x 60  $\mu$ m), médio (até 100 x 150  $\mu$ m) e grande (maior que 100 x 150  $\mu$ m). <sup>1</sup> Coeficiente de variação e <sup>2</sup>Probabilidade.

A partir dos resultados obtidos, pôde-se observar que os protozoários de tamanho médio foram os mais expressivos encontrado entre as dietas. A concentração total de protozoários encontrados está dentro dos valores normais que correspondem a 10<sup>4</sup> a 10<sup>6</sup> protozoários/mL de conteúdo ruminal, já citados por (DEHORITY, 1987; KAMRA, 2005). A quantidade de espécies de protozoários no ambiente ruminal é

influenciada diretamente pelo tipo de alimento ofertado, distribuição geográfica, raças, idade e frequência no fornecimento da alimentação (MONÇÃO et al., 2013).

De acordo com Borges et al. (2002), a presença de ciliados de tamanhos variados pode afetar o fluxo dentro do rúmen, onde indivíduos classificados como grandes protozoários tem a facilidade de engolfar os protozoários de tamanho pequeno e médio, já em relação a fermentação ruminal, as espécies menores são, provavelmente, mais resistentes a esse processo.

Em relação as características predatórias dos protozoários, autores indicam que esta seria a causa das distintas espécies existentes no ambiente ruminal e que os protozoários também realizam a predação de fungos ruminais (DERORITY; ORPIN, 1997).

Em relação aos protozoários ciliados do rúmen, foi observada a ocorrência dos ciliados nas ordens Vestibuliferida e Entodiniomorpha (Tabela 6). Na ordem Vestibuliferida, constata-se a presença da família Isotrichidae, composta pelos gêneros *Dasytricha*; *Isotricha* e *Charonina* e na ordem Entodiniomorpha, protozoários da família Ophryoscolecidae, caracterizada pelos gêneros *Diplodinium* e *Entodinium*.

**Tabela 6** – Distribuição percentual e total ( $\times 10^5/\text{mL}$ ) dos gêneros de protozoários ruminais em borregas alimentadas com diferentes concentrados alternativos.

Gêneros	DIETAS								P <sup>1</sup>
	DC		TL		TD		TCA		
	( $\times 10^5$ )	%	( $\times 10^5$ )	%	( $\times 10^5$ )	%	( $\times 10^5$ )	%	
<i>Entodinium</i>	384,5	64.90	478,0	77.77	198,0	65.31	278,0	56.60	0,0638
<i>E.caudatum</i> *	168,0	26.24b	92,0	12.6b	84,5	23.38b	150,0	31.23a	0,0284
<i>Charonina</i>	46,0	7.24	56,5	8.48	22,0	6.30	49,0	9.84	0,6652
<i>Dasytricha.</i>	2,0	0.31	1,0	0.13	15,0	2.81	25,0	0.56	0,1039
<i>Isotricha</i>	4,5	0.79	1,5	0.27	13,5	2.18	1,0	0.30	0,4828
<i>Diplodinium</i>	3,5	0.52	1,5	0.69	0	0,00	7,0	1.24	0,4915
<i>Não definido</i>	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	1,0	0.18	0,0919
Total	608,50	100	630,50	100	333,50	100	488,50	100	0.3905

Dietas: DC= dieta controle (milho e soja); TL: torta de licuri; TD: torta de dendê; TCA: torta do caroço do algodão. \* Espécie identificada. <sup>1</sup>Probabilidade do erro. As médias seguidas de letras minúsculas distintas na mesma linha diferiram entre si quando comparadas pelo teste Newman-Keuls ( $P < 0,05$ ).

Não foi detectada diferença significativa para os gêneros de protozoários ciliados ( $P > 0,05$ ). Dentre esses gêneros identificados, o *Entodinium* foi o encontrado em maior quantidade, apresentando uma média de 66,15% entre as dietas. Por lado foi possível no processo de identificação verificar a presença da espécie *Entodinium Caudatum sp*, tendo em vista a sua maior concentração na dieta à base de torta de caroço de algodão. Segundo Williamns e Coleman (1992), a espécie *Epidinium caudatum* possui elevada quantidade de celulase presente no citoplasma, o que auxilia na degradação do material fibroso.

A maior predominância desse gênero pode estar relacionada à variedade de espécies, que esses ciliados podem apresentar no ecossistema ruminal, uma característica já descrita por (CARVALHO et al. 2011; OGIMOTO & IMAI, 1981), para diferentes ruminantes domésticos e selvagens.

Sylvester et al. (2004) observaram que a dieta interfere diretamente na diversidade de protozoários no rúmen e no duodeno e identificaram a presença de várias espécies predominantes como *Epidinium caudatum*, *Entodinium caudatum*, e *Isotricha prostoma*.

Os protozoários do gênero *Entodinium* são descritos por alguns autores como predominantes (~90%) em animais alimentados a base de concentrado (HUNGATE, 1966; NOGUEIRA FILHO et al., 1992). Esses entodiniomorfos são capazes de aderirem-se às fibras dos alimentos e possuem atividade celulolítica e hemicelulolítica bem ativa (OLIVEIRA et al., 2007).

A distribuição e especificidade desses microrganismos estão relacionadas diretamente aos substratos utilizados nas dietas pelos seus hospedeiros (HUNGATE, 1966; NOGUEIRA et al., 2004; PINA et al., 2009). Esses resultados corroboram com as observações relatadas por Matos et al. (2008), que verificaram também a predominância do gênero *Entodinium* de 90% no rúmen de ovinos criados em pastagem nativa da caatinga em Pernambuco. Segundo Newbold et al. (2015), este gênero tem sido responsável por muitos do turnover de proteína bacteriana no rúmen.

Estudos apontam que protozoários ruminais apresentam-se em maior população quando a dieta é constituída de proporções mistas de volumoso/concentrado, quanto maior a proporção de concentrado, menor será sua concentração, devido à acidificação do meio (NIGRI et al. 2017). Neste estudo, a relação volumoso/concentrado foi de 50:50 contribuindo para o equilíbrio no ecossistema, não permitindo variações no pH levando uma acidose ruminal.

Kamra, (2005), cita em seu trabalho com novilhos, que quando alimentados exclusivamente com concentrado apresentaram característica físico-química de acidose ruminal subclínica com pH médio de 5,07, justificando a menor concentração dos protozoários ruminais para esses novilhos, uma vez que, quando há acidose ruminal, ocorre morte desses ciliados. As populações de *Entodinium* podem contribuir para fermentação de carboidratos prontamente fermentáveis, digerindo o amido mais lentamente do que as bactérias, assim esses ciliados desempenham um papel de moderadores da fermentação ruminal (NAGARAJA, 1997). O valor médio dos carboidratos totais das dietas foi de 69,52%, dando indicativo que a disponibilidade desses nutrientes favoreceu o crescimento desse gênero que apresenta características amilolíticas (WILLIAMS, COLEMAN, 1992).

Os grandes gêneros *Isotricha* e o *Daystricha* não foram representativos entre as dietas, mas foi possível identificar a presença desses holotríquios na dieta à base de torta de dendê, dando indícios que a composição química tenha favorecido a ocorrência e manutenção desses indivíduos, uma vez que, eles utilizam dos carboidratos solúveis em água, celulose e hemicelulose para sua sobrevivência (Williams, Coleman, 1992). A torta de dendê apresentou em sua composição química a média de 34,35% de celulose, justificando assim o aparecimento desses gêneros ciliados em relação as demais dietas.

Segundo Van Soest (1994), geralmente aparece maior número de protozoários no rúmen quando as dietas são mais digestíveis, além disso, o teor de energia é importante como fonte de reserva, uma vez que esses microrganismos armazenam grandes quantidades de polissacarídeos que são utilizados quando as fontes exógenas de energia se esgotam. Normalmente os protozoários ingerem bactérias como fonte de proteína, e, a proteína e outros nitrogênios bacterianos ingeridos são usados diretamente para a síntese celular. Em geral, os protozoários são anaeróbios restritos, e aproveitam diversos carboidratos para obtenção de energia. (CARVALHO et al. 2002).

No ambiente ruminal ocorre também a predação entre os próprios gêneros de protozoários, o *Entodinium* e a *Charonina* por ser de menor tamanho são por sua vez predados por gêneros como: *Diplodinium*; *Dasytricha*; *Isotricha*, protozoários ciliados de maior tamanho (FRANZOLIN et al., 2010). Apesar da dieta ter uma relevância na concentração das populações de protozoários ciliados do rúmen, alguns aspectos também podem ser atribuídos para explicar a ocorrência dos protozoários, como as características

individuais do hospedeiro em relação aos animais da mesma espécie e a taxa de passagem do alimento (FRANZOLIN, 2010; DEHORITY, 1996).

Verificou-se a correlação entre pH e os gêneros de protozoários, destacando sua importância para manutenção e a sobrevivência desses ciliados na microbiota ruminal, mas no presente estudo não foi identificada esse tipo de correlação.

## V- CONCLUSÕES

A utilização de diferentes fontes de concentrados alternativos (torta de licuri, torta de dendê e torta do caroço do algodão), na dieta de borregas não interfere nos parâmetros físico-químicos do líquido ruminal e não altera a frequência dos gêneros de protozoários, destacando a classificação dos médios protozoários, com participação do gênero Entodinium para todos os grupos de borregas avaliadas. A dieta com torta de caroço de algodão reduz as concentrações dos ácidos acético, butírico e isobutírico influenciando na produção final de AGV's totais.



## VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARBOSA, J. D.; ÁVILA, S. D.; DIAS, R. D. C.; PFEIFER, I. B.; OLIVEIRA, C. D. Estudo comparativo de algumas provas funcionais do fluido ruminal e de metabólitos sanguíneos de bovinos e bubalinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Seropédica, v. 23, n. 1, p. 33-37, 2003.
- BORGES, N. C.; SILVA, L. A. F.; FIORAVANTI, M. C. S.; CUNHA, P. H. J.; MORAES, R. R.; GUIMARÃES, P. L.; MARTINS, M. E. P.; Avaliação do suco ruminal de bovinos “a fresco” e após 12 horas de conservação. **Ciência Animal Brasileira**, v.3, n.2, p. 57-63, 2002
- BORGES, N., ORSINE, G., SILVA, L., BERNARDES, K., MARTINS, M.; FIORAVANTI, M. Parâmetros Físico-Químicos e Microbiológicos do Fluido Ruminal de Ovinos Confinados Submetidos a Crescentes Níveis de Mistura Mineral Energético-Proteica. **Ciência Animal Brasileira**, 12(3), 392-399. 2011.
- COSTA, D. P. B.; SILVA, J. C. G.; MOURÃO, R.C.; RODRIGUES, V. C.; COSTA, Q. P. B.; LIMA, E. S. Microrganismos do rúmen de bovinos e bubalinos castrados e inteiros. **PUBVET, Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 2, n. 34, p.1-11, 2008.
- CARVALHO, L. F. P. B.; AMORIM, G. L; MATOS, D. S; BATISTA, Â. M. V; MORAES, A. C. A; CABRAL, A.M. Duarte. Protozoários do rúmen de caprinos submetidos a dieta com casca de soja. **Revista Brasileira. Saúde Produção. Animal.**, Salvador, v.12, n.1, p.244-253 jan/mar, 2011.
- D’AGOSTO, M. & CARNEIRO, M.E. 1999. Evaluation of lugol solution used for counting rumen ciliates. **Revista Brasileira de Zoologia** 16: 725-729.
- DEHORITY, B.A. Evaluation of subsampling and fixation procedures used for counting rumen protozoa. **Applied and Environmental Microbiology**, v.48, p.182-185, 1984.
- DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ, A.C.; BERCHIELLI, T.T.; SALIBA, E.O.S.; CABRAL, L.S.; PINA, D.S.; LADEIRA, M.M.; AZEVEDO, J.A.G.- **Métodos para análises de alimentos** - INCT – Ciência Animal. Editora UFV. 214 p. 2012.
- DEHORITY, BA. **Rúmen microbiology**. Wooster: ohio state university; 1987. 239p.
- DEHORITY, B. A.; ORPIN, G.C. Development of, and natural fluctuations in, rumen microbial populations. The Rumen Microbial Ecosystem. P. N. Hobson and C. S. Stewart. **London, Blackie Academic**, v. 2, p.196-245, 1997.
- DIRKSEN, G Sistema digestivo. In: Dirksen,G; Grunder,HD.; Stober, M (Ed.). Rosenberger: **Exame Clínico dos Bovinos**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 1993. p.167-169.

DIRKSEN G. 2008. Sistema digestivo, p.166-228. In: Dirksen G., Gründer H. & Stöber M. (Eds), **Exame Clínico dos Bovinos**. 3ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.

FEITOSA, F. L. F. **Semiologia do sistema digestivo de ruminantes**. In.: *Semiologia veterinária: a arte o diagnóstico: cães, gatos equinos, ruminantes e silvestres*. 2. ed. São Paulo: Roca, 2008. p. 108-138.

FINLAY, B.J.; ESTEBAN, G.; CLARKE, K.J.; WILLIAMS, A.G. Some rumen ciliates have endosymbiotic methanogens. **FEMS Microbiology Letters**, 1994, 117:157-162.

FUJIHARA, T., ØRSKOV, E.R., REEDS, P.J. et al. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **J. Agric. Sci.**, 109:7-12 -b1987.

FRANZOLIN, D.; DEHORITY, B.A. The role of pH on the survival of rumen protozoa in steers. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.10, p.2262-2267, 2010.

FINDLEY, S.D.; MORMILE, M.R.; SOMMER-HURLEY, A.; ZHANG, X.C.; TIPTON, P.; ARNETT, K.; PORTER, J.H.; KERLEY, M.; STACEY, G. Activity-based metagenomic screening and biochemical characterization of bovine ruminal protozoan glycoside hydrolases. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 77, p. 8106-8113, 2011.

HUNGATE, R.E. The rumen and its microbes. New York: **Academic Press**, 1966. 533 p.

HALL, M.B. Challenges with non-fiber carbohydrate methods. **Journal of Animal Science**.v.81, n.12, p.3226-3232, 2003.

JUNIOR. A.C. H; EZEQUIEL J.M.B. FÁVARO. V.R.; OLIVEIRA P.S.N.; D'AUREA A.P.; SANTOS.V.C.; GONÇALVES J.S. **Fermentação ruminal de ovinos alimentados com alto concentrado e grãos de girassol ou gordura protegida**. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. vol.62 no.1 Belo Horizonte Fev. 2010.

JESUS, L. P.; CABRAL, L. S.; ESPINOSA, M. M.; ABREU, JOADIL, G.; ZERVOUDAKIS, J. T.; MORENZ, M. J. F. Simulação dos efeitos de fatores dietéticos sobre a população de protozoários ruminais. **Revista Brasileira Saúde Produção Animal. Salvador**, v.13, n.1, p.83-96 jan/mar, 2012.

KAMRA, DN. **Rumen microbial ecosystem**. Current Science. 2005;89:124-135.

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T.M.; VAN SOEST, P.J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feed. **Animal Feed Science Technological**, v.57, n.4, p.347-358, 1996.

LIMA, M. E. et al. Alterações na população de protozoários ruminais , quantificados a partir da adaptação da técnica de Dehority , de ovinos submetidos a uma dieta de confinamento. **Acta Scientiae Veterinariae**, 2012.

LENG, R. A. Factors affecting the utilization of “poorquality” forages by ruminants particularly under tropical conditions. **Nutrition Research Review**, Cambridge, v. 3, n. 3, p. 277-303, 1990.

MARTINELE, I.; EIFERT, E.C.; LANA, R.P. et al. Efeito da monensina e do óleo de soja sobre os protozoários ciliados do rúmen e correlação dos protozoários com parâmetros da fermentação ruminal e digestivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.6, p.1129-1136, 2008.

MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.85, p.1217-1240, 2002.

MATOS, D. S.; GUIM, A.; BATISTA, Â. M. V.; SANTOS, M. V. F.; CORREA, I. M.; SANTOS, G. R. A.; LOPES, C. R. A. População de protozoários ciliados no rúmen de ovinos criados na caatinga de Pernambuco. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.9, n.2, p.270-279, 2008.

MONÇÃO, F. P. P.; DE OLIVEIRA, E. R. R.; MOURA, L. V.; de TONISSI, R. H.; DE GÓES, B. Desenvolvimento da microbiota ruminal de bezerros: **revisão de literatura**. **Revista Unimontes Científica**, Montes Claros, v. 15, n. 1 - jan. 2013.

NAGARAJA, T.G.; NEWBOLD, C.J.; Van NEVEL, C.J. et al. Manipulation of ruminal fermentation. In: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. (Eds.). The rumen microbial ecosystem. 2.ed. London: **Blackie Academic & Professional**, 1997. p.523-632

NEVEL. V C; DEMEYER, D.I. Manipulation of rumen fermentation. In: HOBSON, H.D. (Ed.). **The rumen microbial ecosystem**. New York: Elsevier Science, 1988.

NIGRI.A.C.A.; RIBEIRO. I.C.O.; VIEIRA E.A.; SILVA. M.L.F.; JÚNIOR, G.F.V ABRÃO.F.O.; GERASEEV. L.C.; DUARTE. E.R. População de protozoários ruminais em novilhos zebuínos alimentados com ou sem volumoso. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia.**, v.69, n.5, p.1339-1345, 2017.

NOGUEIRA FILHO, J.C.M, OLIVEIRA, M.E.M, CUNHA, J.A, TOLEDO, L.R. Volume líquido e taxa de turnover no rúmen de zebuínos e bubalinos submetidos a dietas com volumosos e concentrados e sua relação com protozoários ciliados. **Ciência Animal Brasileira**, 2004.

NOGUEIRA-FILHO et al. Contagens diferenciais de protozoários ciliados em rúmen de bovinos arraçoados com capim elefante Napier (*Penisetum Purpureum* Schum), em

vários estádios de crescimento vegetativo. **Braz. J. vet. Res. Anim. Sci.**, São Paulo, v. 27, n 2, p 215-222, 1992.

NEWBOLD, C.J.; DE LA FUENTE, G.; BELANCHE, A. et al. The role of ciliate protozoa in the rumen. **Front. Microbiol.**, v.6, p.1-14, 2015.

OGIMOTO, K. & S. IMAI. Atlas of Rumen Microbiology. Tokyo, **Japan Scientific Societies Press**, VII+23 – 1981.

OLIVEIRA, J. S.; ZANINE, A. M, SANTOS E. M. Diversidade microbiana no ecossistema ruminal (Microbial diversity in the ecossistema ruminal). **Revista eletrônica de Veterinária** 1695-7504 2007.

OLIVEIRA, M. D. S.; MOTA, D. A.; BARBOSA, J. C.; STEIN, M.; BORGONOV, F. Composição Bromatológica e digestibilidade ruminal in vitro de concentrados contendo diferentes níveis de torta de girassol. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 8, n. 4, p. 629-638, 2007.

PEREIRA, E. P.; MIZUBUTI, I. Y.; VILLARROEL, A. B. S.; OLIVEIRA, S. M. P.; PIMENTEL, P. G. Variáveis ruminais em novilhos alimentados com feno de tifton 85 com diferentes tamanhos de partículas. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.30, n.1, p.243-250, 2009.

PINA, D. S., S. C. VALADARES FILHO, L. O. TEDESCHI, A. M. BARBOSA, AND R. F. D. VALADARES. Influence of different levels of concentrate and ruminally undegraded protein on digestive variables in beef heifers. **Journal of Animal Science**. 87: 1058-1067, 2009.

RIVERA. A.; BERCHIELLI. T.T; MESSANA. J. D.; VELASQUEZ P. T.; FRANCO.A.V. M.; FERNANDES.L. B. Fermentação ruminal e produção de metano em bovinos alimentados com feno de capim-tifton 85 e concentrado com aditivos **Revista Brasileira de Zootecnia.**, v.39, n.3, p.617-624, 2010.

SIMIONATTO, M.; MAEDA, E. M. Gordura protegida na dieta para ovinos - Protected fat on the diet for sheep. **Revista eletrônica de Veterinária**. 2017 - ISSN 1695-7504..

SATTER, L. D., & SLYTER, L. L. (1974). Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. **British Journal of Nutrition**, 32(02), 199.doi:10.1079/bjn19740073.

SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II – Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, n.12, p.3562-3577, 1992.

SKILLMAN, L.C.; TOOVEY, A.F.; WILLIAMS, A.J.; WRIGHT, A.D.G. Development and validation of a real-time PCR method to quantify rumen protozoa and examination of variability between Entodinium populations in sheep offered a hay-based diet. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 72, p. 200-206, 2006.

SYLVESTER, J.T.; KARNATI, S.K.R.; YU, Z.T.; MORRISON, M.; ANDFIRKINS, J.L. Development of an assay to quantify rumen ciliate protozoal biomass in cows using real-time PCR. **Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 134, p. 3378-3384, 2004.

TEIXEIRA, J.C.; TEIXEIRA, L.F.A.C. **Princípios de nutrição de bovinos leiteiros**. Lavras: UFLA/FAEP, 2001. 245p. (Textos acadêmicos).

TAGANG, A.; ISHAKU, K. P.; ABDULLAHI, A. Volatile fatty acids production in ruminants and the role of monocarboxylate transporters: A review. **African Journal of Biotechnology**. v. 9, n. 38. p. 6229-6232, 2010.

TYMENSEN, L.D.; BEAUCHEMIN, K.A.; McALLISTER, T.A. Structures of free-living and protozoa-associated methanogen communities in the bovine rumen differ according to comparative analysis of 16S rRNA and mcrA genes. **Microbiology**, New York, v. 158, p. 1808-1817, 2012.

VIEIRA, A. C. S.; AFONSO, J.A. B.; MENDONCA, C. L. Características do fluido ruminal de ovinos Santa Inês criados extensivamente em Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. [online]. 2007, vol.27, n.3, pp.110-114. ISSN 0100-736X

VARGAS, L.H.; LANA, R.P.; MÂNCIO, A.B. Influência de Rumensin®, óleo de soja e níveis de concentrado sobre o consumo e os parâmetros fermentativos ruminais em bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**., v. 30, p.1650-1658, 2001

VALADARES FILHO, S. DE C.; PINA, D. DOS S. Fermentação Ruminal. IN: BERCHIELLE, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. de. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. 583p.

WILLIAMS, A. G.; COLEMAN, G. S. Hemicellulose-degrading enzymes in rumen ciliate protozoa. **Journal Current Microbiology**, v.12, n.2, p. 85-90, 1986

WILLIAMS, A.G.; COLEMAN, G.S. **The Rumen Protozoa**. New York: Springer, 1992. 423p.

WEISS, W.P. Estimating the available energy content of feeds for dairy cattle. In: Symposium: energy availability. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.830-839, 1999.