

## PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS DO FLUIDO RUMINAL DE OVINOS CONFINADOS SUBMETIDOS A CRESCENTES NÍVEIS DE MISTURA MINERAL ENERGÉTICO-PROTÉICA

NAIDA CRISTINA BORGES<sup>1</sup>, GEISA FLEURY ORSINE<sup>2</sup>, LUIZ ANTÔNIO FRANCO DA SILVA<sup>1</sup>, KAROLLINA MORAES BERNARDES<sup>3</sup>, MÁRCIO EDUARDO PEREIRA MARTINS<sup>4</sup>, MARIA CLORINDA SOARES FIORAVANTI<sup>1</sup>

<sup>1</sup> – Professores Doutores, Departamento de Clínica Escola de Veterinária e Zootecnia da UFG – Goiânia, GO – naidaborges@yahoo.com.br

<sup>2</sup> – Professora Doutora, Departamento de Produção Animal, Escola de Veterinária e Zootecnia UFG– Goiânia, GO

<sup>3</sup> – Graduanda em Medicina Veterinária, Escola de Veterinária e Zootecnia - UFG– Goiânia, GO

<sup>4</sup> – Pós-graduando da Escola de Veterinária e Zootecnia da UFG– Goiânia, GO.

### RESUMO

Com objetivo de avaliar a microbiota ruminal de ovinos confinados submetidos a diferentes níveis de suplementação, quatro animais machos adultos, castrados, dotados de cânula ruminal, foram distribuídos em um delineamento de blocos casualizados num esquema de parcelas subdivididas. Foram alimentados com feno de braquiária e níveis crescentes (0,5; 1,0 e 2,0 g/kg de PV) de uma mistura à base de milho, farelo de soja, uréia e núcleo mineral. Procedeu-se a colheita de amostras de fluido ruminal nos tempos 0 (jejum), 2, 4 e 6h após alimentação, sendo analisados: pH, redução do azul de metileno, digestão de celulose, atividade e contagem de protozoários ciliados (cel/mL). Valores de pH menores que 7,0 foram obtidos no jejum (0h) e os maiores, 2h após

alimentação. A população de protozoários ciliados e sua atividade foram superiores no nível mais alto de suplementação ( $P < 0,05$ ). No nível de suplementação 0,5 g/kg de PV, a população de protozoários reduziu-se com aumento do pH, registrando no jejum maior número de protozoários por mL de fluido ruminal. Os parâmetros digestão de celulose e tempo de redução do azul de metileno não foram influenciadas pelos tratamentos ou tempo após a alimentação ( $P > 0,05$ ). Concluiu-se que, no jejum, os níveis crescentes de suplementação influenciaram positivamente a população de protozoários ciliados do rúmen, mas não influenciaram a atividade bacteriana.

**PALAVRAS-CHAVE:** alimentação; carneiros; infusórios; pH; rúmen.

### PHYSICAL-CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL PARAMETERS OF RUMEN FLUID OF CONFINED SHEEP SUBMITTED TO INCREASING LEVELS OF SUPPLEMENTATION

### ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate rumen microbiota of four adult male sheep, castrated with rumen cannula, allotted in a randomized split-plot block design. The animals were fed *Brachiaria decumbens* hay based diet, with increasing levels (0.5, 1.0 and 2.0 g/kg BW) of supplement with maize, soybean meal, urea and mineral mixture. The rumen fluid samples were collected from

animals during fasting and at 2, 4 and 6h after feed, and analyzed immediately after the collection, for the parameters pH, methylene-blue reduction, cellulose digestion, activity and tally of ciliate protozoa (cel/mL). The pH values lower and higher than 7.0 were found during fasting (0h) and 2h after feed, respectively. The population of ciliated protozoa and its activity were higher

at the highest supplementation level ( $P < 0.05$ ). At 0.5 g/kg BW level of supplementation, the population of protozoa decreased with the increase of pH, and greater number of protozoa /mL in rumen fluid was observed during fasting. Cellulose digestion and methylene-blue reduction were

not affected by the treatments or after-feed hours ( $P < 0.05$ ). It was concluded that, during fasting, the increasing levels of supplementation affected positively the population of ciliated protozoa in the rumen but did not influence the bacterial activity.

**KEYWORDS:** feeding; sheep; infusorians; pH; rumen.

## INTRODUÇÃO

O ambiente do rúmen favorece o desenvolvimento contínuo da população microbiana, atuando como câmara de fermentação, devido aos seguintes fatores: 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; matéria seca entre 10 a 15% e pressão osmótica constante (LANA, 2005).

As bactérias e protozoários ciliados do rúmen são responsáveis pela digestão de 70% a 85% da matéria seca digestível da ração. Esses microrganismos são adaptados para se desenvolver na ausência de oxigênio à temperatura de 39°C a 40°C. A partir da digestão dos alimentos, produzem os ácidos graxos voláteis, que servem como fonte de energia, além de dióxido de carbono, metano e amônia. Outro aspecto, é que os microrganismos são fonte de proteína natural para os ruminantes. A síntese de proteína microbiana no rúmen depende do crescimento e da eficiência dos microrganismos na utilização dos substratos energéticos e nitrogenados, sendo o principal constituinte corporal do animal e, portanto, vital para os processos de manutenção, crescimento e reprodução (SILVA et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2007).

Estima-se que os ciliados, que constituem a maioria dos protozoários presentes no rúmen, respondam por cerca de 2% do peso do conteúdo ruminal, 40% do nitrogênio microbiano e proporcionem 60% dos produtos da fermentação microbiana nesse órgão (YOKOYAMA & JOHNSON, 1988). O pH do conteúdo ruminal é fator determinante na concentração e composição da população bacteriana e de protozoários (FRANZOLIN et al., 2000; KAMRA, 2005). Portanto, os excessos ou deficiências de substratos alimentares produzem desequilíbrios na população microbiana e no ambiente ruminal. Essas anormalidades nutricionais podem resultar em mudanças, demasiadamente rápidas, sem que haja tempo para adaptação microbiana. Consequentemente, tem-se o crescimento excessivo de determinados tipos de bactérias, com a hiperprodução de certos produtos finais da digestão

microbiana, ou a insuficiente degradação do substrato e a inatividade da microflora. Os efeitos dessas anormalidades sobre o animal variam desde a disfunção da motilidade ruminal, crescimento e desempenho deficientes, até total toxidez e lesão nos diferentes organismos (DIRKSEN, 1993; FRAZOLIN et al., 2000).

Para BORGES et al. (2002) e COSTA et al. (2008), a análise do fluido ruminal é de indiscutível valor no diagnóstico de enfermidades ligadas ao aparelho digestivo dos ruminantes, especialmente aquelas dos compartimentos pré-gástricos, pois a microbiota do rúmen é altamente sensível às alterações externas e internas às quais rotineiramente estão submetidos os animais. A manipulação do ambiente ruminal, considerando as múltiplas inter-relações entre dieta e microrganismos, tem sido objeto de estudos na expectativa de encontrar meios de melhorar a eficiência do sistema de produção (PEREIRA, et al. 2000; KAMRA, 2005; VIEIRA et al., 2007; SOUZA et al., 2007; MATOS et al., 2008). Segundo DONATO et al. (1999), o conteúdo do rúmen pode ser verificado quanto aos aspectos físicos (cor, odor, consistência, tempo de sedimentação e flotação) e quanto às características químicas (pH, fermentação de glicose, redução de nitritos e prova de redução do azul de metileno). Os parâmetros biológicos devem constar da avaliação de bactérias e de protozoários.

O presente trabalho teve por finalidade estudar as alterações físico-químicas e microbiológicas no fluido ruminal do compartimento pré-gástrico de ovinos confinados submetidos à dieta básica de feno de *Brachiaria decumbens* e suplementados com níveis crescentes de mistura mineral-energético-protéica.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado na Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, adotando-se três períodos consecutivos de 17 dias, sendo 16 dias de adaptação às dietas e um dia de colheita de líquido ruminal. Quatro ovinos adultos, machos castrados, dotados de cânula ruminal foram utilizados. Os animais foram distribuídos em um delineamento de blocos

casualizados em parcelas subdivididas, sendo os tratamentos as parcelas e o tempo de colheita as subparcelas.

Os animais foram tratados com endoparasiticidas pesados e mantidos em baias ripadas individuais dotadas de comedouro e bebedouro, sendo alimentados com feno de *Brachiaria decumbens* complementado com mistura mineral-energético-

protéica. Os suplementos que constituíram os tratamentos foram elaborados à base de milho, farelo de soja, uréia e núcleo mineral, ministrados nas quantidades de 0,5; 1,0 e 2,0g/kg de peso vivo, os quais forneceram níveis semelhantes de minerais e nitrogênio não protéico, porém diferentes de proteína verdadeira e energia (Tabela 1).

Tabela 1. Composição centesimal e química do feno de *Brachiaria decumbens* e das misturas energético-protéicas que constituíram os tratamentos, fornecidas a ovinos confinados, canulados, utilizados para determinar os parâmetros físico-químicos e microbiológicos do fluido ruminal

Ingredientes (%)	Suplemento 1 (0,5 g/kg PV)	Suplemento 2 (1,0 g/kg PV)	Suplemento 3 (2,0 g/kg PV)	Feno
Milho	3,50	46,177	69,98	-
Farelo de soja	3,29	7,712	6,96	-
Núcleo mineral	62,35	31,111	15,56	-
Uréia	30,00	15,000	7,50	-
Enxofre	0,87	-	-	-
MS (%)	90,00	90,00	90,00	80,00
PB (%)	86,06	49,32	29,80	8,22
EM (kcal/kg)*	160,52	1439,48	2091,61	1645,61
NDT (%)*	5,40	43,41	62,11	45,61
FDN (%)	-	-	-	65,35
FDA (%)	-	-	-	46,23

\* Valores calculados

Para colheita do líquido ruminal, através da cânula ruminal implantada, foi utilizada uma bomba a vácuo, obtendo-se amostras individuais de, aproximadamente, 200 mL. Colheram-se as amostras no 17º dia do início de cada período experimental, nos tempos 0h (jejum), 2, 4 e 6 horas pós-alimentação, sendo as mesmas filtradas e analisadas imediatamente. De cada animal foram obtidas quatro amostras por dia de colheita, totalizando 12 amostras por animal. Os seguintes parâmetros foram analisados: pH (aferido por potenciômetro), provas organolépticas (cor, odor e consistência), prova de redução do azul de metileno (PRAM), densidade, motilidade e viabilidade dos protozoários, digestão de celulose, avaliação morfo-tintorial das bactérias pelo método de Gram, contagem (cel/mL de fluido ruminal) e classificação de infusórios em pequenos, médios e grandes, segundo metodologia descrita por DEHORITY (1977).

Os dados obtidos foram interpretados para determinação da análise de variância e as médias

comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de significância e algumas variáveis foram expressas em valores absolutos e percentuais e outras por meio de estatística descritiva (SAMPAIO, 2007).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As provas organolépticas no fluido ruminal do compartimento pré-gástrico de ovinos confinados submetidos à dieta básica de feno de *Brachiaria decumbens* e suplementados com níveis crescentes de mistura mineral-energético-protéica revelaram semelhanças entre as amostras, sendo que a cor variou entre tonalidades de verde, o odor predominou aromático e a consistência levemente viscosa (Tabela 2). Portanto, esses achados encontram-se dentro dos padrões de normalidade e são respaldados pelos relatos de DIRKSEN (1993).

Tabela 2. Aspectos físicos do fluido ruminal de ovinos confinados, canulados, recebendo diferentes níveis de mistura mineral energético-protéica (0,5, 1,0 e 2,0g da mistura/kgPV)

Tratamentos/Hora	Variáveis			
	Cor	Odor	Consistência	
T1	0h	Verde amarelado	Levemente pútrido	Viscosa
	2h	Verde amarelado	Aromático	Levemente viscosa
	4h	Verde acastanhado	Aromático	Levemente viscosa
	6h	Verde oliva	Aromático	Levemente viscosa
T2	0h	Verde acastanhado	Levemente pútrido	Viscosa
	2h	Verde acastanhado	Aromático	Levemente viscosa
	4h	Verde acastanhado	Aromático	Levemente viscosa
	6h	Verde acastanhado	Aromático	Levemente viscosa
T3	0h	Verde acastanhado	Levemente pútrido	Viscosa
	2h	Verde acastanhado	Levemente pútrido	Levemente viscosa
	4h	Verde acastanhado	Aromático	Levemente viscosa
	6h	Verde oliva	Aromático	Levemente viscosa

VIEIRA et al. (2007) estudaram o líquido ruminal de ovinos criados em pasto de *Brachiaria decumbens* e constaram que no período seco a cor do fluido predominou castanha, já no período chuvoso foi a cor verde oliva, sendo as colheitas de fluido realizadas 4 a 6 horas após a alimentação matinal. Ainda de acordo com os autores, o odor foi aromático, estando mais pronunciado no período chuvoso, e a consistência levemente viscosa em ambas as estações, com maior frequência no período chuvoso. As semelhanças entre os resultados de VIEIRA et al. (2007), que corroboram em parte com os achados do presente estudo, são compreensíveis pela base da alimentação volumosa, estando a diferença observada na cor relacionada ao fornecimento de concentrado.

O pH permaneceu próximo à neutralidade (6,74 a 7,40) não havendo diferenças entre os tratamentos ( $P > 0,05$ ) como mostrado na Tabela 3. HOFIREK & HAAS (2001), comparando dois métodos de colheita de líquido ruminal, por sonda oroesofágica e por punção percutânea, encontraram valores de pH mais elevados no primeiro método e relacionaram tal achado ao fato de o tubo oral alcançar apenas o saco cranial do rúmen, mais rico em saliva e soluções tamponantes. Essa alteração não foi observada nos animais do presente estudo, provavelmente pelo fato de a colheita ter sido realizada a partir de animais canulados. Não houve diferença ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos, após alimentação, quanto às provas de digestão de

celulose e redução do azul de metileno; no entanto, para o menor nível de suplementação, no pH mais ácido (jejum), verificou-se o maior tempo de redução do azul de metileno, diminuindo no pico de alcalinidade (de 17 para 7 minutos), ocorrido por volta de duas horas após a alimentação. O momento de maior acidez exerceu influência negativa sobre atividade bacteriana de acordo com os achados de FRANZOLIN et al. (2000).

SOUZA et al. (2007) também não observaram diferenças nos valores médios de pH do líquido ruminal, nos períodos 0, 2, 8 e 10 horas após a alimentação, em búfalos submetidos a crescentes níveis de fósforo (8, 12, 15 e 18 g diárias/animal, mantendo-se a relação volumoso:concentrado de 85:15) na dieta total à base de cana-de-açúcar.

Embora os valores do pH ruminal observados tenham permanecido próximos à neutralidade, não havendo diferenças entre tratamentos ( $P > 0,05$ ), no menor nível de suplementação (0,5 g/kg de PV), momento 0h - jejum, registrou-se o pH mais ácido e em 2h, o mais alcalino ( $P < 0,05$ ), coincidindo com o aumento da viabilidade dos protozoários, que permaneceu estável até 6h pós-alimentação (Tabela 3). No maior nível de suplementação (2,0 g/kg de PV), apesar de não ter ocorrido diferença entre horas de colheita ( $P > 0,05$ ), no momento do jejum, esse nível apresentou-se superior aos demais tratamentos, em percentagem (%) de protozoários viáveis ( $P < 0,05$ ).

TABELA 3. Influência dos níveis de mistura mineral energético-protéica (0,5; 1,0 e 2,0g da mistura/kg de PV) e da hora de colheita de líquido ruminal sobre os aspectos físico-químicos e microbiológicos do fluido ruminal de ovinos confinados

Nível de suplementação (g/kg de peso vivo)	Horário das Colheitas			
	0h	2h	4h	6h
	pH			
0,5	6,74 <sup>B</sup>	7,23 <sup>A</sup>	7,02 <sup>AB</sup>	6,78 <sup>B</sup>
1,0	6,80	7,17	7,09	7,03
2,0	7,00	7,40	7,40	7,32
	Protozoários Viáveis (%)			
0,5	77,50 <sup>Bb</sup>	98,80 <sup>A</sup>	99,50 <sup>A</sup>	99,80 <sup>A</sup>
1,0	77,50 <sup>Bb</sup>	86,20 <sup>A</sup>	91,80 <sup>A</sup>	93,80 <sup>A</sup>
2,0	92,80 <sup>a</sup>	96,00	98,20	94,50
	Tempo para digestão da celulose em horas			
0,5	48,50	45,00	47,00	47,00
1,0	44,80	43,00	41,00	41,80
2,0	54,00	59,50	48,50	51,00
	Tempo para redução do azul de metileno em minutos			
0,5	17,98 <sup>Aa</sup>	7,40 <sup>B</sup>	7,50 <sup>B</sup>	6,80 <sup>B</sup>
1,0	8,50 <sup>b</sup>	5,98	7,80	6,50
2,0	11,20 <sup>b</sup>	11,70	10,20	12,60
	Número médio de protozoários por mL de fluido ruminal			
0,5	17968,80 <sup>c</sup>	10937,50 <sup>b</sup>	20312,50 <sup>b</sup>	46093,80
1,0	146093,80 <sup>b</sup>	42968,80 <sup>b</sup>	76562,50 <sup>ba</sup>	48437,50
2,0	375781,20 <sup>Aa</sup>	267968,80 <sup>Ba</sup>	128906,20 <sup>Ca</sup>	101562,50 <sup>C</sup>
	Infusórios pequenos (%)			
0,5	92,50	86,20	86,20	90,50
1,0	99,20	88,20	92,00	90,00
2,0	98,00	92,80	93,50	92,00
	Infusórios médios (%)			
0,5	6,20	12,80 <sup>a</sup>	12,00 <sup>a</sup>	7,00
1,0	1,20	7,80 <sup>ab</sup>	5,20 <sup>b</sup>	7,20
2,0	1,80	3,80 <sup>b</sup>	4,00 <sup>b</sup>	3,80
	Infusórios grandes (%)			
0,5	2,00	2,50	2,00	3,20
1,0	1,20	4,00	3,00	3,50
2,0	1,20	3,50	3,00	4,20

\* Médias na mesma coluna seguidas de letras minúsculas iguais e na mesma linha seguidas de letras maiúsculas iguais, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Pelo Gram observou-se uniformidade em 100% das amostras, com predomínio de cocos e bastonetes Gram-negativos, independente do nível de suplementação. Algumas das características comuns de bactérias encontradas no rúmen de animais consumindo dietas ricas em forragens são (KAMRA, 2005): maioria das bactérias Gram são negativas; o número de bactérias Gram positivas tende a aumentar com a elevação da energia na dieta; pH ótimo de crescimento entre 6,0 e 6,9. UNDERWOOD (1992) relatou que nos casos agudos de acidose ruminal pode-se notar reduções severas no pH, decréscimo ou não na atividade dos protozoários, predomínio das bactérias Gram-positivas sobre as Gram-negativas e diminuição no tempo de sedimentação e flotação. No entanto, neste estudo, o pH permaneceu próximo à neutralidade,

estando os padrões encontrados, no exame morfo-bacteriológico realizado por meio do esfregaço de suco ruminal corado pelo método de Gram, de acordo com as descrições de DISKSEN (1993) em bovinos a pasto.

O perfil bacteriológico encontrado nos ovinos deste estudo, apesar de confinados e alimentados com feno de *Brachiaria decumbens*, assemelha-se ao que foi descrito em um estudo com caprinos criados em regime de pasto, conduzido por SILVA et al. (1994). Os autores constataram valor médio de pH ao redor de 7,0, sendo que o controle microbiológico do líquido ruminal revelou a predominância dos microrganismos Gram negativos sobre os Gram positivos em 100% das amostras e a presença de cocos isolados, estreptococos, bastonetes, sarcinas, rosetas e bacilos. Já o tempo para digestão de

celulose e a redução do azul de metileno, variou, respectivamente, de 41 a 59,5 horas e de 6 a 12 minutos. No trabalho desenvolvido em caprinos por esses autores, o tempo de redução de azul de metileno foi  $6,21 \pm 0,65$  minutos e a digestão de celulose ocorreu em  $50,84 \pm 2,58$  horas, semelhante aos valores observados no presente estudo empregando ovinos confinados.

A população de protozoários ciliados apresentou-se superior no nível mais alto de suplementação ( $P < 0,05$ ), sendo na ordem dos 100 mil e nos demais tratamentos na ordem dos 10 mil (cel/mL). Os pequenos protozoários prevaleceram sobre os médios e grandes, apresentado, na grande maioria dos casos, frequência igual ou superior a 90%, o que sugere o predomínio do gênero *Entodinium*. O predomínio dos pequenos protozoários foi também relatado por FRANZOLIN et al. (2000). O grande tamanho de protozoários pode afetar seus fluxos no rúmen, pois as espécies menores são, provavelmente, mais resistentes à fermentação ruminal. Esse aspecto, segundo LENG (1982), implica o baixo aproveitamento de proteína microbiana produzida pelos protozoários do hospedeiro, devido ao menor fluxo para as porções inferiores do trato gastrointestinal.

No presente estudo, os resultados relacionados à população de protozoários corroboram com as observações de MATOS et al. (2008), que estudaram a população de protozoários do rúmen de ovinos criados em pastagem nativa da caatinga de Pernambuco e verificaram predominância do gênero *Entodinium* em torno de 90%. De acordo com esses autores, houve diferença significativa no número total de protozoários e concentração média do gênero *Entodinium*, quanto ao horário de coleta das amostras ruminais, sendo maior antes da alimentação, semelhante ao verificado neste estudo.

MARTINELE et al. (2008) verificaram não haver diferenças significativas no número total de protozoários ciliados do rúmen de vacas alimentadas com capim-elefante e dois crescentes níveis de concentrado (apenas capim-elefante, 80% capim-elefante e 20% de concentrado e 60% de capim-elefante e 40% de concentrado). No referido estudo, o gênero *Entodinium* predominou nas três dietas em 73,5%, 76,9% e 72,2% do total de ciliados e os níveis de 20 e 40 % de concentrado (à base de milho em grão, farelos de algodão e de trigo e uréia) na dieta também não produziram efeitos no pH do líquido ruminal.

Registrou-se, no momento do jejum, o maior número de protozoários por mL de fluido ruminal, em 100% dos tratamentos, sendo que a população cresceu significativamente com o aumento da quantidade de suplemento fornecida ( $P < 0,05$ ).

Contudo, a população destes tendeu a se reduzir com o passar do tempo transcorrido da alimentação, fato esse observado no maior nível de suplementação. FRANZOLIN NETO et al. (1991) detectaram níveis mais elevados de ciliados no momento do arraçamento, decrescendo até 12 horas depois, mas aumentando em seguida até o momento imediatamente anterior à oferta da dieta. De acordo com o mostrado na Tabela 4, as análises de motilidade e densidade dos protozoários revelaram para os níveis 0,5 e 1,0 g/kg de PV, uma alteração gradativa, sugerindo o aumento na atividade dos protozoários, do jejum até às 4h, seguido de uma redução às 6h após alimentação. Mas no nível 2,0 g/kg de PV, a população de protozoários demonstrou comportamento mais estável e ativo

Tabela 4. Avaliação do fluido ruminal de ovinos submetidos a diferentes níveis de mistura mineral energético-protéica (0,5; 1,0 e 2,0g da mistura/kg de PV) quanto aos aspectos motilidade e densidade dos protozoários

Tratamentos/Horas	VARIÁVEIS		
	Motilidade dos Protozoários	Densidade dos Protozoários	
0,5	0h	++	+ ± <sup>1</sup>
	2h	++ ±	++ <sup>2</sup>
	4h	+++	++ ± <sup>3</sup>
	6h	++ ±	++
1,0	0h	+ ±	+ ±
	2h	++	++
	4h	+++	+++ <sup>4</sup>
	6h	++ ±	++
2,0	0h	++	++ ±
	2h	+++	++ ±
	4h	+++	+++
	6h	++	++ ±

Legenda: <sup>1</sup> + ± → fraca; <sup>2</sup> ++ → boa; <sup>3</sup> ++ ± → muito boa; <sup>4</sup> +++ → excelente.

Ao comparar o nível de suplementação 0,5g/kg de PV com 1,0 g/kg de PV, pode-se notar um comportamento similar dos protozoários mesmo tratando-se de quantidades diferentes de suplemento. Entretanto, observou-se para o tratamento 2,0g/kg de PV que a população de protozoários parece ter sido influenciada pela quantidade de suplemento fornecida. Essa impressão é reforçada quando se considera que foram avaliados os mesmos animais

em T1, T2 e T3. Como pode ser visto nas Tabelas 2, 3 e 4 os valores das variáveis estudadas tenderam a serem superiores para o tratamento com 2,0g/kg de PV, nos quatro momentos de colheita. De acordo com SIQUEIRA & D'AGOSTO (2003), o comportamento e a distribuição dos protozoários ciliados podem ser influenciados por vários fatores, tais como dieta ingerida pelo hospedeiro, pH ruminal, intervalo de tempo após alimentação e pelas relações estabelecidas entre eles e deles com as bactérias e fungos.

Aparentemente, quando os ovinos receberam a maior quantidade de suplemento (2,0g/kg de PV), a população de protozoários ruminais foi mais sensivelmente alterada, o que pode ser verificado pelo aumento no número de infusórios (por mL de líquido ruminal), da motilidade e densidade dos protozoários. Pesquisas com dietas à base de milho e sorgo realizadas por TOWNE et al. (1990) e FRANZOLIN & DEHORITY (1996) demonstraram altas concentrações de protozoários no rúmen sob essas condições dietéticas. Contrariamente, FRANZOLIN et al. (2000), substituindo a silagem de milho por cana-de-açúcar na alimentação de ovinos, observaram o aumento linear do pH e redução do número de protozoários ciliados à medida que aumenta a porcentagem de cana-de-açúcar em detrimento da silagem de milho. Quando a cana foi fornecida como único volumoso, os autores encontraram uma população de protozoários no rúmen na ordem de  $2,0 \times 10^4$ /mL de fluido em pH 6,9, sendo que o número de protozoários diminuiu com o aumento do teor de energia. Resultados semelhantes foram verificados por LYLE et al. (1981) e DENNIS et al. (1983), pois os autores encontraram  $1,5$ ;  $2,5$ ; e  $4,1 \times 10^5$  protozoários/mL de líquido ruminal em dietas com alta, média e baixa energia, respectivamente.

Uma avaliação final dos resultados obtidos empregando-se ovinos confinados e suplementados com níveis crescentes de energia e proteína verdadeira permite inferir que a população de protozoários ciliados respondeu positivamente. No maior nível de suplementação (T3) os valores de pH mantiveram-se ao redor de 7,0 e o número de infusórios (cél/mL) maior que nos demais tratamentos (T1 e T2), sendo inicialmente da ordem dos  $3 \times 10^5$  e reduzindo em 6h após a alimentação para a ordem de  $1 \times 10^5$ . FRANZOLIN et al. (2000), observaram o maior número de protozoários quando os animais receberam menor energia na dieta, ou seja, a silagem de milho como único volumoso, sendo a população de protozoários constatada da ordem de  $5,0 \times 10^4$ /mL de líquido ruminal em pH 6,7. Portanto, diferindo dos achados de BIRD et al. (1979), que forneceram dieta à base de cana-de-

açúcar para ovinos e encontraram  $5,0 \times 10^5$  protozoários/mL de líquido ruminal.

## CONCLUSÃO

O pH, a prova de redução do azul de metileno e a digestão da celulose não foram influenciados pelo nível de suplementação e as características organolépticas – cor, odor e consistência – foram semelhantes para os crescentes níveis de suplementação. Na frequência de classificação dos protozoários ciliados, o quadro permaneceu estável com predomínio dos pequenos protozoários. Os níveis crescentes de suplementação influenciaram positivamente a população de protozoários ciliados do rúmen, mas não influenciaram a atividade bacteriana.

## REFERÊNCIAS

- BIRD, S. H.; HILL, M. K.; LENG, R. A. The effects of defaunation on the rumen on growth of lambs on low-protein-high-energy diets. Cambridge. **British Journal of Nutrition**, v.42, n.1, p. 81-87, 1979.
- 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.
- 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.
- DEHORITY, B. A. **Classification and morphology of rumen protozoa**. Ohio: Department of Animal Science, 1977, p. 81.
- DENNIS, S. M.; ARAMBEL, M. J.; BARTLEY, E. E. Effect of energy concentration and source of nitrogen on numbers and types of rumen protozoa. Champaign: **Journal of Dairy Science**, v.66, n.6, p. 1248-1254, 1983.
- DIRKSEN, G. Sistema Digestivo. In: ROSENBERGER, G. **Exame Clínico dos Bovinos**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993, cap. 7, p. 166-75.
- DONATO, I. V.; SORES, P. C.; BATISTA, A. M. V.; SILVA, E. P. da; COSTA, J. N. da.; MARQUES, C. T.; MAIA, F. C. L.; TEIXEIRA, M. N. Aspectos físico-químicos do fluido ruminal de dietas compostas de vagem de algaroveira (*Prosopis fuliflora* D. C.) e capim elefante (*Penisetum purpureum* Shum.) em diferentes proposições.

- Recife, **Ciência Veterinária Tropical**, v.2, n.1, p. 01-06, 1999.
- FRANZOLIN, R.; DEHORITY, B. A. Effect of prolonged high-concentrate feeding on ruminal protozoa concentration. **Journal of Animal Science**, v. 74, n. 11, p.2803-2809, 1996.
- FRANZOLIN, M. H. T.; LUCCI, C. S.; FRANZOLIN, R. Efeitos de rações com níveis crescentes de cana-de-açúcar em substituição à silagem de milho sobre a população de protozoários ciliados no rúmen de ovinos. São Paulo, **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 5, p. 1452-1457, 2000.
- FRANZOLIN NETO, R.; NOGUEIRA FILHO, J. C. M. ; OLIVEIRA, M. E. M.. Efeitos de dietas com diferentes níveis de proteína sobre os protozoários ciliados no rúmen de búfalos (*Bubalus bubalis* L.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 26, n. 4, p. 487-493, 1991.
- HOFIREK, B.; HAAS, D. Comparative studies of ruminal fluid collected by tube or by puncture of the caudoventral ruminal sac. **Acta Veterinaria**, v. 70, n. 1, p. 27-33, 2001.
- KAMRA, D.N. Rumen microbial ecosystem. **Current Science**, v.89, n.1, p.124-134, 2005.
- LANA, R.P. **Nutrição e alimentação animal**. 1 ed. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. 2005, 343p.
- LENG, R. A. Dynamics of protozoa in the rumen of sheep. Cambridge: **British Journal of Nutrition**, v.48, n.2, p. 399-415, 1982.
- LYLE, R. R.; JOHNSON, R. R.; WILHITE, J. V. Ruminal characteristics in steers as affected by adaptation from forage to all concentrate diets. **Journal of Animal Science**, v.53, n.5, p. 1383-1390, 1981.
- MARTINELE, I., SIQUEIRA-CASTRO, I. C.V.; D'AGOSTO, M. Protozoários ciliados no rúmen de bovinos alimentados com dietas de capim-elefante e com dois níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.9, n.1, p.74-81, 2008.
- 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.
- OLIVEIRA, J. S.; ZANINE, A. M.; SANTOS, E. M. Diversidade microbiana no ecossistema ruminal. **REDVET Revista eletrônica de Veterinária**, v.8, n.6, p.1-12, 2007.
- PEREIRA, E. S; PAIVA, C. A; VONTIESENHAUSEN, I. M. E. V; POZZA, P. C; ARRUDA, A. M. V. Degradabilidade da matéria seca, proteína bruta e fibra em detergente neutro de silagens de capim-elefante adicionais de resíduos do beneficiamento do milho e da soja. Viçosa: **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 6, p. 2354-2358, 2000.
- SAMPAIO, I. B. M. Estatística aplicada à experimentação animal. 3 ed., 2007, 265p.
- SILVA, H. K.; VIANNA, L. G.; BARBOSA, J. D. Provas funcionais do suco de rúmen de caprinos criados extensivamente na baixada fluminense. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.14, n.213, p. 65-68, 1994.
- SILVA, L. D. F.; EZEQUIEL, J. M. B.; AZEVEDO, P. S.; CATTELAN, J. W.; BARBOSA, J. C.; RESENDE, F. D.; CARMO, R. G. Digestão Total e Parcial de Alguns Componentes de Dietas Contendo Diferentes Níveis de Casca de Soja e Fontes de Nitrogênio, em Bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.3, p.1258-1268, 2002.
- SIQUEIRA, I. C. V.; D'AGOSTO, M.; Comportamento e perfil de comunidade de protozoários ciliados no rúmen de bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Juiz de Fora, v. 5, n.2, p. 243-252, 2003.
- SOUZA, N.; FRANZOLIN, R.; SOARES, W. Efeitos de ingestões crescentes de fósforo em dietas à base de cana-de-açúcar sobre a digestibilidade e metabolismo ruminal em bubalinos. **Revista de La Asociación Latinoamericana de Producción Animal**, v.15, n.2, p.58-64, 2007.
- TOWNE, G.; NAGARAJA, T. G.; BRANDT JR, R. T.; KEMP, K. E. Ruminal ciliated protozoa in cattle fed finishing diets with or with-out supplemental fat. **Journal of Animal Science**, Savoy, v.68: p. 2150-2155, 1990.
- UNDERWOOD, W. J. Rúmen lactic acidosis. Part 2. Clinical signs, diagnosis, treatment and prevention. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.14, n.8, p.1127-33, 1992.
- VIEIRA, A. C. S.; AFONSO, J. A. B.; MENDONÇA, C. L. Características do fluído ruminal de ovinos Santa Inês criados extensivamente em Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.27, n3, p.110-114, 2007.
- YOKOYAMA, M. T.; JOHNSON, K. A. **Microbiología del rumen e intestino**. In: CHURCH, C.D. El Rumiante: fisiología digestiva e nutrición. Zaragoza: Editorial Acribia S.A., 1988. p.137-157.

---

Protocolado em: 14 set. 2007. Aceito em: 09 jun. 2011.