

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
CAMPUS DOIS VIZINHOS  
CURSO DE BACHARELADO EM ZOOTECNIA

PAOLA CARZINO

**QUANTIFICAÇÃO DE PROTOZOÁRIOS PRESENTES NO  
RÚMEN DE BÚFALOS – ESTUDO DE CASO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

DOIS VIZINHOS  
2016

PAOLA CARZINO

## **QUANTIFICAÇÃO DE PROTOZOÁRIOS PRESENTES NO RÚMEN DE BÚFALOS – ESTUDO DE CASO**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado ao Curso de Zootecnia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos, como requisito parcial à obtenção do título de Zootecnista.

Orientador: Prof. Dra. Emilyn Midori Maeda

DOIS VIZINHOS

2016



Ministério da Educação  
**Universidade Tecnológica Federal do Paraná**  
Campus Dois Vizinhos  
Gerência de Ensino e Pesquisa  
**Curso de Zootecnia**



**TERMO DE APROVAÇÃO**  
**TCC**  
**QUANTIFICAÇÃO DE PROTOZOÁRIOS PRESENTES NO**  
**RÚMEN DE BÚFALOS– ESTUDO DE CASO**

Autor: Paola Carzino

Orientador: Prof. Dra. Emilyn Midori Maeda

TITULAÇÃO: Zootecnista

APROVADA em 09 de Dezembro de 2016.

---

Profa. Dra. Magali Floriano

---

Letícia Wlodarski

---

Prof. Dra. Emilyn Midori Maeda

Dedico á todos da família que durante o meu período de formação contribuíram com ensinamentos e incentivos. A minha gratidão, em especial a minha mãe, por todo apoio prestado.



## RESUMO

CARZINO, Paola. Quantificação de protozoários presentes no rúmen de Búfalo (*Bubalus bubalis*) – Estudo de caso. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso – Programa de Graduação em Bacharelado em Zootecnia. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2016.

A bubalinocultura atual vem se destacando na pecuária como uma atividade promissora. O búfalo (*Bubalus bubalis*) é um ruminante com alto potencial produtivo de carne e leite, adaptável nas diferentes regiões. Entretanto, há necessidade de maiores conhecimentos de suas características nutricionais, incluindo os hábitos alimentares, capacidade do trato digestivo e caracterização da microbiota ruminal. Atualmente encontram-se escassos os estudos relacionados a protozoologia do rúmen dos búfalos e a relação destes microrganismos com a digestibilidade. O presente trabalho tem por objetivo quantificar o número de protozoários ciliados presentes no líquido ruminal de búfalos submetidos ao pastejo de grama missioneira espécie da família Gramineae, gênero *Axonopus*. A obtenção das amostras do líquido ruminal foram realizadas logo após o abate dos animais, os períodos de coleta das amostras foram de setembro 2015 a julho de 2016. As amostras foram fixadas em solução formalina 30%, e quantificadas em câmara de contagem Sedgwick Rafter, com 1mL da amostra diluída. Foram realizadas análises bromatológica da pastagem grama missioneira em que os animais eram submetidos á pastejo. Os resultados obtidos apresentaram maior quantidade de protozoários nas amostras de setembro de 2015 ( $5,22 \times 10^5$  e  $4,45 \times 10^5$ ), e isso se deve a fatores relacionados com a menor proporção de partículas de fibra nas amostras de julho de 2016. A partir da quantificação de protozoários de búfalos conclui-se que mesmo sob dietas de baixas qualidades nutricionais, estes possuem uma população significativa de protozoários ciliados em seu líquido ruminal, os quais possuem importantes funções na degradação da fibra e processos de digestão.

**Palavras - Chave:** Microbiologia Ruminal. Grama Missioneira. Fibra Detergente Neutro.

## ABSTRACT

CARZINO, Paola. Quantification of protozoa presents in the rumen of buffaloes (*bubalus bubalis*) – Case study. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso – Programa de Graduação em Bacharelado em Zootecnia. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2016.

The current buffalo is stading out in livestock as a promising activity. The buffalo (*Bubalus bubalis*) is a ruminant with high productive potential of meat and milk, adaptable in different regions. However, there is a need for greater knowledge of their nutritional characteristics, including dietary habits, digestive tract capacity, rumen microorganisms. Currently there are few studies related to the protozoology of buffalo rumen and the relationship of these microorganisms with digestibility. The present work had the objective of quantifying the number of ciliate protozoa present in the ruminal liquid of buffalos submitted to grazing of missional grass. The ruminal liquid samples were collected immediately after slaughter of animals, and the sample collection period was from september 2015 and July 2016. The samples were fixed in formalin 30% solution and quantified in sedgwick rafter counting chamber with 1mL of the diluted sample. There were bromatological analyzes of the pasture missionary grass epecies of the family Gramineae, genus Axonopus in which the animals were submitted to grazing. The results obtained showed a higher amount of protozoa in the samples of september 2015 ( $5.22 \times 10^5$  and  $4.45 \times 10^5$ ), and this is due to factors related to the lower proportion of fiber particles in the samples of July 2016. From the quantification of the buffalo protozoa, it is concluded that even under diets of low nutritional qualities, they have a significant population of ciliate protozoa in their ruminal fluid, which have important functions in fiber degradation and digestion processes.

**Key - Words:** Rumen Microbiology. Missioneira grass. Neutral detergent fiber

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	6
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	7
2.2 OBJETIVO GERAIS .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
2.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	7
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	8
3.1 PANORAMA DA BUBALINOCULTURA NO BRASIL.....	8
3.2 CARACTERIZAÇÃO DO SISTEMA DIGESTÓRIO	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
3.3 MICROBIOLOGIA DO RÚMEN .....	10
3.3.1 Fatores que influenciam os protozoários no Rúmen .....	12
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	16
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	18
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	22
<b>8 REFERÊNCIAS</b> .....	23



## 1. INTRODUÇÃO

A bubalinocultura é uma atividade que se encontra em expansão no Brasil, atualmente o rebanho efetivo de búfalos é de 1.183, 103 de cabeças (IBGE, 2015), onde a maior população se concentra na região norte do país e também se distribuem nas diferentes regiões do país e o estado do Paraná possui cerca de 29.139 mil cabeças (IBGE, 2015). A bubalinocultura brasileira vêm se desenvolvendo devido ao maior consumo dos seus produtos, portanto houve o aumento populacional desses animais nas diferentes regiões do país, tanto para carne ou produção de leite, comercialização de matrizes ou reprodutores (RODRIGUES et al., 2008). Com o crescimento da população, e conseqüentemente do consumo de proteína de origem animal, a carne de búfalo vem ganhando destaque por apresentar qualidade e benefícios à saúde como, por exemplo, seu baixo colesterol.

Os búfalos são considerados animais dóceis, apresentam versatilidade adaptando-se em diferentes latitudes e longitudes desde planícies a áreas montanhosas e sob diferentes condições climáticas ( MARQUES, 2006).

Em pesquisas científicas relacionadas a potencialidade de produção dos búfalos, se destaca como uma produção alternativa na pecuária pois os bubalinos diferente dos bovinos se adaptam em regiões tropicais e subtropicais, em solos inférteis e em áreas alagada, o manejo é mais facilitado devido a rusticidade e a resistência á doenças, e também os custos com a produção são relativamente menores devido ao maior aproveitamento da fibra das forragens em que estes apresentam (COURA et al., 2011).

Sabendo do desenvolvimento da produção da espécie, estudos relacionados a nutrição e qualidade da produção são importantes fatores para se obter maior conhecimento em relação ao potencial de produção dos búfalos. Apesar do grande potencial produtivo em que os búfalos apresentam tanto para a produção de carne ou de leite os estudos na bubalinocultura encontram-se escassos. Portanto, pesquisas devem ser realizadas a fim de estimar a importância dos microrganismos ruminais e suas relações com a digestibilidade da fibra, e a relação dos protozoários ciliados com a dieta fornecida ao animal e sua real função no rúmen.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.2 Geral**

Quantificar a concentração de protozoários ciliados presentes no líquido ruminal de búfalos (*Bubalus bubalis*), submetidos a dieta a pasto.

### **2.3 Específico**

- Avaliar a concentração média de protozoários por mL de líquido ruminal;
- Determinar a qualidade bromatológica do alimento fornecido aos animais (Matéria Seca, Proteína Bruta e Fibra Detergente Neutro).

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Panorama da Bubalinocultura no Brasil

As pesquisas com búfalos tiveram início no Brasil há aproximadamente 50 anos atrás (RAMOS, 2003; MARQUES et al., 2006; PEREIRA, 2007).

As primeiras pesquisas realizadas com bubalinos segundo a literatura foram em 1958 que se obteve o ganho de peso de búfalos na estação experimental de criação de Sertãozinho (VILARES et al., 1979).

O búfalo apresenta características peculiares para a produção animal e com isso, vem se destacando na pecuária como atividade promissora. São animais que apresentam grande versatilidade, pois se adaptam em diferentes condições climáticas, são animais dóceis e apresentam rusticidade. No Brasil, as raças mais comuns são Mediterrâneo, Murrah, Jafarabadi e Carabao.

Em relação a produtividade de carne, os búfalos se destacam segundo Miranda (1986) por serem animais mais precoces que os bovinos, sendo abatidos em média com 15 a 16 arrobas de carne em animais criados a pasto, com idade inferior a 2,5 anos. Além disso, a carne de búfalo é benéfica a saúde dos consumidores por apresentar 40% menos de colesterol, 12 vezes menos gordura, 55% menos de calorias, 11% a mais de proteínas, 10% a mais de minerais (MARQUES, 2003).

A criação de bubalinos no Brasil ocorreu em meados do século XIX no estado do Pará (AMORIM JUNIOR et al., 2002). Atualmente, o rebanho efetivo de bubalinos no Brasil é de 1.183,103 de cabeças (IBGE, 2015), onde se distribuem nas diferentes regiões do país.

A região Norte do país predomina com cerca de 66% do rebanho, a região Sul vem em segundo lugar com cerca de 12% do total de cabeças do Brasil, e o estado do Paraná possui em torno de 45 mil cabeças (ANUALPEC, 2008). Na região norte, a criação é voltada para corte, já a produção de leite se concentra no Sudeste e Sul, sendo principalmente em São Paulo e no Paraná.

Apesar do grande potencial produtivo em que os búfalos (*Bubalus bubalis*) apresentam, tanto para a produção de carne ou leite, sendo estes produtivos em

diferentes trópicos devido a sua grande adaptabilidade, há uma falta de estudos relacionados à espécie.

A bubalinocultura apresenta atualmente grande evolução científica em relação ao início da criação e domesticação. Porém, quando comparada às pesquisas em outras espécies como os bovinos, por exemplo, seu avanço se mostra simplório e escasso, tanto para aspectos nutricionais, metabolismo, hábitos alimentares, digestibilidade e microrganismos dos búfalos.

Sabe-se, que para a produção animal é muito importante o conhecimento sobre o metabolismo dos animais, para que se tenha uma produção eficiente. Conhecer a exigência nutricional do animal, é um fator fundamental para se obter melhores resultados e ganhos na produção.

### **3.2 Caracterização do Sistema Digestório**

A nutrição animal pode ser definida como o estudo dos processos de digestão e absorção dos alimentos, onde posteriormente serão fontes de energia e manutenção proporcionando crescimento, produção e reprodução animais.

Na produção animal, procura-se produzir com eficiência, onde evidentemente visa-se o lucro. Para isso ser possível, é necessária uma alimentação adequada. A nutrição animal prevê como objetivo principal a elaboração de princípios básicos referentes a alimentação dos animais, considerando a espécie animal, as condições fisiológicas dos mesmos, condições ambientais em que são submetidos, entre outros fatores no qual interferem na produção.

Portanto, ao estabelecer uma alimentação correta, atendendo as exigências do animal, resultará em uma eficiente conversão dos ingredientes fornecidos em produtos e subprodutos de origem animal de qualidade, e com baixos níveis de poluição ambiental (FLACHOWSKY, 1999).

Os bubalinos apresentam comprimento total do trato digestivo entre 50 e 60 metros. O intestino mede cerca de 40 metros, e o ceco dos búfalos é relativamente menor que o do bovino. O volume total do rúmen, retículo, omaso e abomaso é maior na espécie bubalina, ocupando cerca de 88% do volume total. O rúmen dos bubalinos apresenta capacidade de armazenamento de alimento até 10% a mais que o bovino, já o omaso e abomaso são menores. A frequência ruminal nos búfalos é inferior, sendo assim, ocorrendo uma menor taxa de passagem dos alimentos,

resultando num maior tempo de retenção e ação dos microrganismos sobre a fibra . O pH ruminal dos búfalos varia de 5,7 a 6,0, porém pode apresentar variações em virtude da alimentação oferecida ao animal. A produção de saliva é significativamente maior nos bubalinos em relação aos bovinos e zebuínos (ZICARELII, 2001).

### **3.3 Microbiologia do rúmen**

O rúmen é considerado de acordo com suas características como uma câmara de fermentação, onde ocorre uma série de mecanismos fisiológicos (VAN SOEST, 1982). Sendo assim, nesse ambiente anaeróbio algumas espécies de microrganismos se instalaram e vivem em simbiose, e as mesmas dependem do tipo e quantidade da dieta fornecida ao animal. Os microrganismos são os principais responsáveis pela degradação de celulose e outros polissacarídeos presentes na parede vegetal. A microbiota ruminal basicamente é composta por bactérias, fungos e protozoários ( VAN SOEST, 1982).

As bactérias ruminais se apresentam como os microrganismos mais ativos nas atividades enzimáticas do rúmen, dentre sua população apresentam mais de 20 espécies diferentes de bactérias, com a população variando de 1.000.000.000 a 10.000.000.000 de células/g de conteúdo ruminal. A função das bactérias no rúmen vai variar de acordo com o substrato utilizado (TEIXEIRA, 1991).

Os fungos são um grupo de ficomicetos anaeróbios, produtores de zoósporos flagelados. Pouco ainda é elucidado sobre a importância dos fungos no processo de fermentação, porém se sabe que eles são importantes no processo de associação e degradação da fibra, e estão presentes em grande quantidade quando a dieta é rica em forragens. Os zoósporos móveis aderem-se aos fragmentos das forragens, invadindo os tecidos vegetais a partir de talos e rizóides (BAUCHOP, 1981).

Os protozoários estão relacionados em geral na degradação da celulose e hemicelulose e carboidratos presentes na parede do vegetal. São organismos unicelulares, anaeróbios, não patogênicos, sendo de 10 a 100 vezes maiores que as bactérias. Sua concentração varia de acordo com o tipo da dieta do animal, em

búfalos alimentados com gramíneas, calcula-se em média 11,80 x 10<sup>4</sup> totais / por mL de líquido ruminal (FRANZOLIN et al., 1991).

Franzolin e Dehority (1999) observaram a composição da fauna ruminal em bovinos e bubalinos e obtiveram resultados com maior concentração de protozoários do gênero *Entodinium* para bovinos, em relação aos bubalinos. Porém, ao observar o gênero *Diplodiniium*, ele se encontra em maior concentração no rúmen de bubalinos comparado a bovinos. Ambos os animais eram alimentados com dieta a base de forragem e cana de açúcar. As concentrações encontradas foram de 79,2% e 32,0% de *Entodínios* e 6,2% e 54,9% da subfamília *Diplodiniinae* em bovinos e búfalos, respectivamente.

A população e a composição de protozoários ciliados presentes no rúmen se diferem em populações observadas das espécies ruminantes. Franzolin, (2000), ao comparar a população de ciliados no rúmen de bovinos e búfalos, observou que na maioria dos casos os búfalos apresentam menor número de ciliados comparados aos bovinos, mas este fator depende da dieta do animal.

A classe dos Ciliados é o mais representado no rúmen, dentre eles dividem-se em dois grupos, sendo os entodiniomorfidas, que ingerem preferencialmente partículas insolúveis suspensas no fluido ruminal, sendo encontrados em maior número quando a dieta é à base de forragem, e os isotriquídeos, que têm maior capacidade de ingerir carboidratos solúveis e grânulos de amido, sendo abundantes em dietas ricas em cereais (KOZLOSKI, 2002) ou à base de cana-de-açúcar (FRANZOLIN et al., 2000).

Os protozoários são classificados de acordo com a morfologia em que a célula apresenta, pois possuem suas estruturas celulares características, permitindo assim, serem visualizados com facilidade (CHURCH, 1974). O filo *Ciliophara* representa o maior e mais homogêneo entre os principais grupos de protozoários já identificados. Estes apresentam como característica a presença de cílios que tem como função principal organelas para locomoção ou para obter alimentos (BARNES, 1984). Os ciliados representam cerca de 2% do conteúdo ruminal (YOKAYAMA e JOHNSON, 1988). Os principais pontos a serem estudados em protozoologia do rúmen, é o papel principal da população dos ciliados (FRANZOLIN,FRANZOLIN, 2000). Alguns autores como Jouany et al., (1988), Santra e Jakhmola (1998) Lopes et al., (2002), após realizarem estudos quanto ao efeito da desfaunação do rúmen, observaram menor digestibilidade da fibra nesses animais desfaunados.

Borhani et al. (1967) após realizarem experimento em que comparavam o rúmen de bubalinos faunados e desfaunados, observaram que há uma relação nas quantidades de ácidos graxos voláteis produzidos no rúmen, e de nitrogênio amoniacal menores nos animais que se apresentavam defaunados.

### **3.3.1 Fatores que influenciam os protozoários no rúmen**

Há vários fatores que alteram ou afetam a composição da microbiota ruminal, tanto em relação ao número de protozoários, quanto às espécies existentes (CHURCH,1974).

A qualidade e tipo de alimentação são fatores determinantes e que estão diretamente envolvidos na composição e manutenção da fauna ruminal.

Esses fatores estão subdivididos em primários como metabolismo, sexo, espécie, idade, pH e fatores externos secundários, relacionando o tipo da dieta, localização geográfica, quantidade de alimento, frequência alimentar, dentre outros (MARINHO 1982). Sendo assim, se estabelece uma relação direta entre o ambiente que o animal é submetido, o hospedeiro e a concentração dos ciliados (MARINHO 1982).

Alguns experimentos demonstraram a influência da frequência de alimentação sob a concentração da população de protozoários. Moir e Somers (1957) observaram um aumento na população de protozoários no rúmen de ovinos, quando alimentados quatro vezes ao dia comparados a ovinos alimentados apenas uma única vez.

Já Purser (1961), verificou uma constante diminuição da flora ruminal quando os ovinos foram alimentados uma única vez ao dia em relação àqueles que receberam alimento três vezes ao dia. Tais autores sugerem que o número de protozoários possa estar relacionado a fatores físicos como, por exemplo, a diluição do conteúdo ruminal ou consumo de água diário.

Baseando nas pesquisas dos autores Purser e e Moir e Somers são apontadas que ocorrem variações diurnas sob a concentração total da população de protozoários ciliados no líquido ruminal em diferentes espécies de hospedeiros. Porém, há vários fatores que podem estar envolvidos nessa variação, que podem

alterar desde a fisiologia do ruminante hospedeiro, até o manejo alimentar do mesmo.

A partir de experimentos realizados sob diferentes tipos de dieta em ovinos, (WARNER, 1962) observou que as concentrações de microrganismos alteradas podem estar relacionadas a fatores como período de alimentação, taxa de divisão dos ciliados, hospedeiro e a dieta fornecida.

Michalowski (1975), após testar diferentes tipos de dietas, relatou que o fator dieta exerce pouca influência na concentração dos ciliados, e ressaltou os efeitos citados por Warner (1966), onde a taxa de multiplicação e divisão dos ciliados foram os fatores de maior significância.

A taxa de diluição do conteúdo ruminal, sofre uma relação direta à ingestão de água, a taxa de salivacão e passagem do conteúdo alimentar pelo rúmen, sendo esses os principais agentes relacionados às variações diurnas dos protozoários ciliados (MICHALOWSKI, 1977).

Ao compararem o conteúdo ruminal de zebuínos e bubalinos, observaram diferenças no comportamento dos gêneros de ciliados presentes nas espécies, onde há variação diurnas na concentração dos mesmos, quando são fornecidas as refeições diárias com intervalos de oito horas. Os autores (NOGUEIRA FILHO et. al, 1998), ressaltaram diferenças existentes entre as duas espécies diferentes de ruminantes relacionando a capacidade de aproveitamento da fibra, em que os bubalinos apresentam maior aproveitamento em relação aos zebuínos, esse fator pode estar relacionado a determinação da concentração de ciliados no líquido ruminal.

Em experimento realizado com búfalos e zebuínos confinados e alimentados em baias individuais sob dieta de grãos inteiros e silagem de sorgo "ad libitum", observou-se que a concentração de protozoários por/ml de líquido ruminal foi representada em maior concentração em zebuínos. Além disso, foi possível identificar maior concentração de ciliados digestores de fibra nos zebuínos em relação aos bubalinos (NOGUEIRA et al., 1991).

Já em trabalho realizado por Nogueira Filho (1997) avaliando a concentração de protozoários entre zebuínos e búfalos submetidos à dieta de concentrado e volumoso, em que os zebuínos apresentam maior concentração dos ciliados, melhores condições de adaptação ruminal comparado aos búfalos. Destacou também a influência do intervalo entre as alimentações com a concentração dos



protozoários, onde detectou maior concentração dos gêneros *Entodinium*, *Epidinium*, *Diplodinium* e *Isotricha*, com intervalos de quatro a seis horas após as refeições.

De acordo com Franzolin Neto et al., (1991) após coletar amostras de líquido ruminal de búfalos canulados submetidos ao pastejo de grama batatais, em três dias consecutivos, as concentrações totais de *Entodinium spp* alcançaram valores mínimos e máximos somente após 12 horas do pastejo, Franzolin coletou em horários respectivos de 6,12,18 e zero horas. As concentrações encontradas foram respectivamente de (4,03 x 10<sup>4</sup>/mL e 7,52 x 10<sup>4</sup>/mL, em *Entodinium spp.*, e 7,14 x 10<sup>4</sup>/mL e 11,20 x 10<sup>4</sup>/mL, no volume total de ciliados).

Clarke (1965), observou valores médios de 2 x 10<sup>9</sup> protozoários totais/mL, onde após duas horas a concentração foi de 3 x 10<sup>9</sup>/mL, havendo um decréscimo após 14 horas.

Dehority & Mattos (1978) avaliaram bovinos alimentados duas vezes ao dia com volumosos. Foi observado que o gênero *Entodinium* teve um aumento significativo nas suas concentrações após duas horas de alimentação, decrescendo após 12 horas. Foram observadas também variação diurnas por Abe et al., (1981), com *Holotricha*, onde também concorda com os resultados do experimento de Dehority & Mattos, pois foram observados por tais autores valores de 0,8 x 10<sup>4</sup> protozoários ciliados/mL às 9h30; 2,6 x 10<sup>4</sup>/mL, uma hora depois, diminuindo em seguida até a última observação feita às 13h30, que foi de 1,3 x 10<sup>4</sup>/mL.

Franzolin Neto et al. (1991) verificaram em búfalos, valores totais de concentração de ciliados no momento da alimentação, e logo após um período de 12 horas, onde houve uma diminuição, sendo respectivamente de (10,3 x 10<sup>4</sup>/mL/6,4 x 10<sup>4</sup>/mL). Franzolin Neto et al. (1991) notaram em que búfalos sob pastejo apresentaram valores mínimos e máximos de *Entodinium* de 4,03 x 10<sup>4</sup>/mL e 7,52 x 10<sup>4</sup>/mL, e totais de ciliados de 7,14 x 10<sup>4</sup>/mL e 11,20 x 10<sup>4</sup>/mL, respectivamente, que foram comparados às 12 e zero horas. Com búfalo e bovino mestiço, Franzolin Neto et al. (1990), observando números elevados de ciliados antes da primeira refeição 22,1 x 10<sup>4</sup>/mL e 24,7 x 10<sup>4</sup>/mL respectivamente.

De acordo com Franzolin e Franzolin (2000), as concentrações de ciliados presentes no rúmen de búfalos e bovinos submetidos à dieta a base de cana de açúcar, relataram que houve maior concentração média de protozoários em bovinos, de 4,85 x 10<sup>5</sup>/mL que em búfalos, de 3,82 x 10<sup>5</sup>/mL, Assim, concordando com outras pesquisas relacionadas ao estudo de protozoologia dos ciliados comparativas para

diferentes espécies de ruminantes, sob diferentes manejos alimentares. (SRIVASTAVA e CHATURVEDI, 1973; FRANZOLIN et al., 1990; NOGUEIRA FILHO, 1995).

Para que ocorra o processo de fermentação e a ação dos microrganismos no rúmen, é necessário que o pH esteja em torno de 5,7 a 6,0 (DEHORITY, 2003).

As variações apresentadas no pH do rúmen, podem ser alteradas ou estarem relacionadas a dieta fornecida ao animal, porém de acordo com Franzolin e Dehority (1996) as alterações apresentadas nas curvas de pH ruminal influenciadas sob efeito de uma mesma dieta, indicam que o pH pode ser influenciado não somente por fatores fisiológicos, mas também pela dieta. Os autores observaram menor índice de concentração de ciliados quando o pH se encontra inferior a 5,5, embora ainda alguns organismos do gênero *Entodinium* consigam sobreviver, ou sofrem uma certa adaptação.

Em dados mais atualizados, Dehority, (2005) a partir de um experimento constatou que o gênero *Entodinium* não apresenta maior tolerância a pH baixo em relação as demais espécies de gêneros como afirmava em seu trabalho anterior. Tal autor, após realizar amostragens *in vitro* de concentrações no pH ruminal, observou os efeitos dos mesmos sobre as espécies de protozoários ciliados, onde apresentaram concentrações menores quando o pH estava em torno de 5,6 e concentrações maiores quando o pH se encontrava em média de 5,8.

Outros autores observaram a partir de experimento conduzido em bovinos, que o pH e os protozoários sofreram influências a partir dos níveis de proteína não degradável onde apresentam variações de oito em oito horas após a o consumo de alimento. Coelho et al. (2003), estabeleceram relações das variações de tempo de alimentação e pH com o número de protozoários e a dieta fornecida. De acordo com os autores, o pH atinge o nível mais baixo no período de duas a seis horas após a alimentação, dependendo da degradação do alimento no rúmen.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado nos Laboratórios de Microscopia e Análise de Alimentos da UTFPR-DV (Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Dois Vizinhos). As coletas do líquido ruminal dos búfalos foram realizadas em abatedouro comercial localizado em Dois Vizinhos durante os meses de setembro de 2015 e julho de 2016. As amostras obtidas foram oriundas do conteúdo do líquido ruminal de quatro Búfalos (*Bubalus bubalis*) machos, sem raça definida com média 2,5 anos de idade, no qual foram submetidos ao pastejo da Grama Missioneira *Axonopus jesuiticus*. Os materiais utilizados para quantificação dos protozoários ciliados foram a partir de amostras do conteúdo ruminal fixadas em formalina e coradas em solução de lugol (100 mL de água destilada, 5 gramas de iodo e 10 gramas de iodeto de potássio).

A técnica que foi utilizada para fixação e quantificação dos ciliados do rúmen foi baseada por Dehority (1984). A partir de 20 mL de líquido ruminal em volume aproximado de 20 cm<sup>3</sup>, bem homogêneos, obteve-se as amostras, das quais 20 mL foram fixados em igual volume (1:1) de formalina a 18,5%. As amostras foram mantidas em frascos vedados. Posteriormente, foi realizada a quantificação de todas as amostras, administrando 1,0 mL da amostra formalizada com a pipeta e transferida para tubo de ensaio. A seguir acrescentou-se 9,0mL de solução de glicerol a 30% e três gotas de solução de lugol após cerca de 15 minutos antes do início da contagem. Posteriormente 1 mL da solução foi transferido para as placas adaptadas ao modelo de Sedgwick-rafter onde foi realizado a quantificação por meio do microscópio com aumento de 10x.

A técnica para quantificar os protozoários baseia-se na contagem diferencial dos ciliados, sendo observados primeiramente em 50 campos, e posteriormente a uma rotação de 180<sup>o</sup>, outros 50 campos. Para obter o resultado do total de protozoários ciliados por mililitro de conteúdo ruminal foi utilizado os valores da média das duas contagens.

Os resultados obtidos foram comparados aos já estabelecidos na literatura.

A coleta da pastagem foi realizada de forma aleatória, selecionando 15 áreas diferentes do piquete onde os animais permaneciam. Posteriormente as amostras foram homogêneas formando uma só amostra, e em seguida realizado o

procedimento de pré-secagem em estufa a 55°C, durante 72 horas, e posteriormente as amostras foram moída em moinho tipo willey com peneira de 1mm e secagem em estufa a 105°C, para a determinação dos teores de matéria seca.

As amostras foram encaminhadas ao laboratório de análise de alimentos para determinação e avaliação da pastagem para determinação de Matéria Seca, Proteína Bruta, e Fibra em Detergente Neutro baseadas por Silva e Queiroz (2002) (Tabela 1).

Tabela 1: Análise Bromatológica de Grama Missioneira no município Cruzeiro do Iguaçu-Paraná;

Meses		
<i>Período de Coleta</i>	<b>Setembro 2015</b>	<b>Julho 2016</b>
MS %	25,79	25,39
PB %	13,92	13,95
FDN %	67,00	68,00

*MS ( Matéria Seca, PB ( Proteína Bruta ), FDN ( Fibra Detergente Neutro ).*

*Axonopus jesuiticus* denominada popularmente como grama missioneira é conhecida como uma pastagem nativa na qual se adapta em qualquer região tropical, sendo esta muito utilizada e adaptada na região sul do país (MIRANDA, 2010).

A grama missioneira é uma gramínea perene, de crescimento prostrado, característica de cor verde-claro-brilhante, os colmos são eretos com cerca de 15 a 60 cm de altura, suas folhas são compridas e as lâminas com 4 a 15 cm de comprimento. Apresenta teores máximos de proteína de 14 % (MIRANDA, 2010). Possui elevada palatabilidade e aceitabilidade pelos bubalinos, onde aproveitam os teores de fibras presente na pastagem para promover maiores ganhos, boa resistência ao frio e alto valor nutricional, com capacidade média de suporte de 3 a 4 unidade animal por hectare. Os autores THALLER et al., (2006) observaram em 14

cortes realizados uma produção total de 7.355 Kg de MS/há apresentando teores nutricionais de 25,39% de MS, 14,58 % de PB e 64,84 % de NDT.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve maior concentração de ciliados /mL de líquido  $5,22 \times 10^5$  e  $4,45 \times 10^5$  respectivamente nas amostras 1 e 2 coletadas no mês de setembro de 2015, provavelmente isso se deve á fatores como idade dos animais, disponibilidade de pastagem, tempo de ruminação e coleta mais homogênea contendo maior partículas de fibras e conteúdo ruminal mais pastoso. A quantidade de partículas de fibras está diretamente associada á quantidade de ciliados, que por sua vez, permite maior contato desses microrganismos na parede da fibra, permitindo assim melhor ação desses microrganismos, resultando na maior digestibilidade do alimento.

A segunda amostra (coletada em julho de 2016) observou-se em seu conteúdo maior fração líquida no momento da coleta no frigorífico, o que provavelmente pode estar relacionado ao maior tempo de jejum dos animais submetidos somente a uma dieta hídrica pré-abate, ou também os animais foram submetidos á uma menor oferta de alimento.

As concentrações médias de protozoários ciliados no rúmen de búfalos com dois anos de idade, submetidos ao pastejo da gramínea grama missioneira constam na Tabela 2. Após realizada a quantificação dos 100 campos independentes de cada amostragem obteve-se os resultados das amostras a partir da média das contagens sendo esses valores respectivamente:

Tabela 2: Concentração média de protozoários ciliados no rúmen de Búfalos (por mL de conteúdo ruminal)

Amostra de conteúdo ruminal	Concentração /mL 10 <sup>5</sup>
Setembro 1	5,22
Setembro 2	4,45
Julho 1	2,45
Julho 2	3,45

Coletas A 1 Setembro 2015 – A 2 Setembro 2015 – A 3 Julho 2016 – A 4 Julho 2016

A concentração de protozoários ciliados no rúmen de búfalos quantificadas no presente trabalho condiz com o encontrado por FRANZOLIN (2000), onde a concentração por mL encontrada foi de  $3,81 \times 10^5$  protozoários ciliados em búfalos submetidos ao consumo de cana de açúcar fracionado com o fornecimento de concentrado, onde o resultado do presente experimento consta numericamente uma maior concentração de protozoários a partir de dieta de baixa qualidade nutricional comparado ao encontrado por Franzolin (2000).

Os búfalos tendem a apresentar em seu rúmen uma maior diversidade na sua microbiota ruminal. Tal fator se deve segundo a literatura, ao processo evolutivo onde os bubalinos foram submetidos ao maior consumo de alimentos fibrosos e de baixa qualidade (FRANZOLIN, 2004).

Em alguns trabalhos realizados onde comparam a microbiota ruminal de bubalinos e bovinos sob diferentes manejos alimentares, como por exemplo, citado por (FRANZOLIN et.al., 1997; FRANZOLIN; FRANZOLIN, 2000) com dieta submetidas á cana de açúcar ou de dietas à base de capim (FRANZOLIN; DEHORITY, 1999), onde descrevem que a concentração de protozoários ciliados é relativamente maior em bovinos apresentando de  $4,85 \times 10^5$  /mL do que em bubalinos porém o presente trabalho contradiz com os resultados, baseando nos resultados encontrados.

Segundo a afirmativa de Franzolin (1997), os búfalos possuem maior capacidade de digerir a fibra, e garantir um melhor aproveitamento dos alimentos de

baixa qualidade devido á ação dos microrganismos presentes no rúmen, sendo estes em maior concentração os protozoários ciliados.

Segundo VARLYAKOV et al. (1994), ao analisar o comportamento alimentar de búfalos durante o processo de ruminação, verificaram o índice de ruminação , onde os búfalos desde o tempo de ingestão ao tempo de ruminação são maiores, apresentando essa razão pela qual os búfalos aproveitam melhor as forragens.

Portanto, associando o comportamento alimentar da espécie juntamente com a maior concentração de protozoários ciliados digestores de fibra, permite-se afirmar que os búfalos possuem maior digestibilidade da fibra (FDN e FDA) quando alimentados com volumosos de baixa qualidade (PRADHAN et al., 1997).

Os bubalinos possuem além da rusticidade, uma maior atividade celulolítica e melhor aproveitamento dos alimentos fibrosos (TEWATIA e BHATIA, 1998). O grupo mais representativo de protozoários ciliados nos bubalinos é da subfamília *Diplodiniinae*, sendo estes responsáveis pela fermentação de carboidratos estruturais no rúmen.

Dehority & Odenyo (2003) compararam a população de protozoários de ruminantes africanos e domésticos, submetidos ao pastejo e concentrado respectivamente, afirmam que em dietas á base de forragem aumenta a população de protozoários pertencentes ao gênero dos grandes digestores de fibra, esse fato pode-se estar relacionado á menor taxa de passagem do alimento no trato gastrointestinal ou a elevação do pH ruminal dos búfalos.

Os animais do presente experimento eram mantidos em pastagem somente com suplementação mineral, e a qualidade bromatológica da grama missioneira *Axonopus jesuiticus* está apresentada na Tabela 1. Pode-se observar que a forragem que é considerada nativa mantém-se estável durante os diferentes períodos, não diferindo na sua qualidade e porcentagem de matéria seca nas diferentes estações.

Os níveis de fibra detergente neutro não apresentaram muita variação de um ano para outro, com valores médios de 67% e 68%, justificando assim que a qualidade da forragem permaneceu semelhante as coletadas em períodos estacionais diferentes, no qual se justifica também que a alimentação teve pouca influência sob o resultado da segunda amostra de concentração de protozoários em termos de qualidade de alimentação.

Sendo assim, outros fatores poderiam ter sido os responsáveis pela menor concentração encontrada. Fatores tais como comportamento digestivo do animal em si, relacionados ao tempo de ruminação, período de permanência na pastagem, período de restrição alimentar pré-abate, fatores predisponentes ao estresse pré-abate, entre outros fatores relacionados ao comportamento.



## **6 CONCLUSÃO**

A partir da quantificação de protozoários ciliados do líquido ruminal de búfalos conclui-se que mesmo em dietas de baixas qualidades nutricionais, os búfalos possuem uma população significativa, os quais estes possuem importantes funções na degradação da fibra e processos de digestão.

## 7 REFERÊNCIAS

ABE, M.; IRIKI, N.T.; SHIBUI, H. Sequestration of holotrich protozoa in the retículo-rumen of cattle. **Applied and Environmental Microbiology**, v.41, n.3, p.758-765, 1981.

ANUALPEC. **Anuário estatístico da pecuária de corte**. Instituto FNP. São Paulo, 380p, 2008.

AMORIM JÚNIOR, A. A.; MIGLINO, M. A.; AMORIM, M. J. A. A. L.; SANTOS, T. C. Sistematização da veia cava cranial em búfalos (*Bubalus bubalis bubalis* Simpson, 1945). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 39, n. 6, p. 306-10, 2002.

BARNES, R. D. **Zoologia dos Invertebrados**. São Paulo: 4 edição Rocca p.1179, 1984.

BORHANI, D. W. Crystal Structure of truncated human apolipoprotein A-I suggests a lipid-bound conformation. **Proc Natl. Acad. Sci. USA**. v.94 p.12291-12296, 1997.

CLARKE, R. T. J. Diurnal variation in the numbers of rumen ciliate protozoa in cattle. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v.8, p.1-9, 1965.

CHURCH, D. C. Microbiologia del Rúmen In. Fisiologia Digestiva y Nutricion de los Ruminantes. **Zaragoza: Acribia**, p.184-224, 1974.

COALHO, M. R. J. C. M.; NOGUEIRA FILHO, J. A.; CUNHA, C. G. L. Estudo dos protozoários ciliados em bovinos consumindo dietas com diferentes níveis de proteína não degradável no rúmen. **Acta Scientiarum**. Maringá- PR, n.25, v.1, p.193-199, 2003.

COCKRILL, W. R. **Evolution of Domesticated Animals**. New York: Longman, p. 52-53, 1984.

COURA et al., Produção de búfalos no Brasil. In: **Semana de Ciência e Tecnologia do IFMG- Jornada Científica**, v.4,Bambu. Bambuí: IFMG, 2011. v.4, p.1012, 2011.

DEHORITY, B.A. 1984. Evaluation of subsampling and fixation procedures used for counting rumen Protozoa. **Applied Environmental Microbiology** **48**: 182-185.

DEHORITY, B. A. Effect of pH on viability of *Entodinium caudatum*, *Entodinium exiguum*, *Epidinium caudatum*, and *Ophryoscolex purkynjei* in vitro. **The Journal of Eukaryotic Microbiology**. n.52, v.4, p.339-342, 2005.

DEHORITY, B. A.; MATTOS, W. R. S. Diurnal changes and effect of ration on concentrations of the rumen ciliate *Charon ventriculi*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.36, n.6, p.953-958, 1978.

DEHORITY, B. A. Rumen Microbiology: An Introduction to the Micro-Organisms in the Rumen, Their Activities and Interactions in the Digestion of Plant Materials. **Nottingham Univ Pr**, p.372, 2003.

Dehority, B.A. & Odenyo, A.A.; 'Influence of diet on the rumen protozoal fauna of indigenous African wild ruminants', **Journal of Eukaryotic Microbiology**, vol 50. p.220–223, 2003.

DEHORITY, B. A. Protozoa of the digestive tract of herbivorous mammals. **Insect Sci. Applic.**, n.7, p.279-296, 1986.

DUFLOTH, L. C. D. Missioneira gigante: Uma nova opção na produção do novilho precoce. **Agropecuária Catarinense**. Florianópolis- Santa Catarina, v.15, n.2, 2002.

FLACHOWSKY, G. Animal nutrition in conflict with current and future social expectations and demands. **Anim. Res. Develop.**, v.49, p.603-104, 1999.

FRANZOLIN, R.; COSTA, R. M.; FRANZOLIN, M. H. T.; NOGUEIRA FILHO, J. C. M.; SCHALCH, E. Avaliação da fauna e degradabilidade no rúmen de búfalos sob dietas exclusivas de silagem de sorgo e de feno de alfafa. **Arquivo Brasileiro de**

**Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte-Minas Gerais, v.49, n.6, p.709-718, 1997.

FRANZOLIN, R., DEHORITY, B. A. Efeitos do pH ruminal e ingestão alimentar na defaunação em ovinos sob rações concentradas. **Revista Sociedade Brasileira Zootecnia**, v.25, n.6, p.1207-1215, 1996.

FRANZOLIN, R.; FRANZOLIN, M. H. T. População de protozoários ciliados e degradabilidade ruminal em búfalos e bovinos zebuínos sob dieta à base de cana de açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.1853-1861, 2000.

FRANZOLIN NETO, R.; NOGUEIRA FILHO, J. C. M.; ZANETTI, M. A. Avaliação dos protozoários ciliados no rúmen de búfalo e bovino. **Congresso mundial de buiatria, Anais Salvador**, v.16, p.258-262, 1990.

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**, Brasília, v.26, n.4, p.487-493, 1991.

FRANZOLIN, R.; DEHORITY, B.A. Comparison of protozoal populations and digestion rates between water buffalo and cattle fed an all forage diet. **Journal of Applied Animal Research**, v.16, p.33-46, 1999.

FRANZOLIN, R.; SILVA, J.R. Níveis de energia na dieta para bubalinos em crescimento alimentados em confinamento. 2. Características de carcaça. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.6, p.1880-1885, 2001.

FRANZOLIN, R. A importância da nutrição de búfalos. **Boletim do Búfalo**, v.1, p.36-37, 2004.

GARCIA, et al, Eficiência da detecção de estros em fêmeas bubalinas (*Bubalus bubalis*) criadas na Amazônia. **Anais do 17o Congresso Estadual de Medicina Veterinária**, SOVERGS. Gramado, Brasil. p. 3051-3056. 2006,

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Banco de dados agregados Efetivos/Rebanhos**. Disponível em: [www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp?t=2&z=t&o=24&u1=28&u2=1&u3=1&u4=1&u5=1&u6=1&u7=1](http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp?t=2&z=t&o=24&u1=28&u2=1&u3=1&u4=1&u5=1&u6=1&u7=1). Acessado em 02/12/2016.

JOUANY, J. P. Effect of Defaunating the Rumen. **Animal Feed Science and Technology**, Uppsala, v.21, n. 1, p.229-265, 1988.

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

LOPES, F. C. F. Efeitos da Defaunação em Ovinos Alimentados com Cana-de-Açúcar (*Saccharum officinarum*, L.) adicionada a Uréia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária**, Belo Horizonte, v. 54, n. 2, p.180-188, 2002.

MARINHO, A. A. M. Ciliados do rúmen - sua dinâmica e importância no metabolismo digestivo dos ruminantes. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, v.77, n.464, p.241-259, 1982.

MARQUES, J. R. F. Búfalos: Produtor pergunta a Embrapa responde. Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA. **Embrapa Comunicação para transferência de tecnologia**, p.176, 2000.

MARQUES, J. R. F.; CAMARGO JUNIOR, R. N. C.; MARQUES, L. C. A. Bublinocultura no Brasil: criação, melhoramento e perspectivas. **Congresso Brasileiro de zootecnia**, Recife, v.16, 2006.

MICHALOWSKI, T. Diurnal changes in concentration of rumen ciliates and in occurrence of dividing forms in water buffalo (*Bubalus bubalis*) fed one daily. **Applied and Environmental Microbiology**, v.33, n.4, p.802- 804, 1977.

MICHALOWSKI, T. Effect of different diets on the diurnal concentrations of ciliate protozoa in the rumen of water buffalo. **Journal of Agricultural Science**, v.85, p.145-150, 1975.

MIRANDA, W. C. **Criação de Búfalo no Brasil**. São Paulo: Criadores, p.173, 1986..

MIRANDA, M. **Desempenho agrônômico da grama-missioneira-gigante em latossolo com uso de dejetos líquidos de suíno**. Tese de Doutorado em Agronomia, Faculdade de Agronomia, Universidade de Passo Fundo, p.111, 2010.

MOIR, R. J.; SOMERS, M. The Influence of Rate and Method of Feeding a Ration upon its Digestibility, upon Ruminant Function and upon the Ruminant Population. Ruminant flora studies. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.8, n.1, p.253-259, 1957.

NOGUEIRA FILHO, J. C. M. **Estudo da degradabilidade "in situ" e de protozoários ciliados com zebuínos da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) e de búfalos (*Bubalus bubalis*) submetidos a dietas com volumosos e concentrados**. Tese de Livre Docência. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, Pirassununga-SP, p.144, 1995.

NOGUEIRA FILHO, J. C. M.; OLIVEIRA, M. E. M.; FRANZOLIN NETO, R.; SCHALCH, E.; VELLOSO, L. Avaliação dos protozoários ciliados no rúmen de búfalos (*Bubalus bubalis* L.) e bovinos (*Bos indicus* L.) em regime de confinamento. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.28, n.2, p.243-7, 1991.

NOGUEIRA FILHO, J. C. M.; OLIVEIRA M. E. M.; TOLEDO L. R. A. Protozoários ciliados no rúmen de zebuínos e bubalinos submetidos a dietas com volumosos e concentrados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.33, n.6, p.993-999, 1997.

ORPIN, C.G. The Role of Ciliate Protozoa and Fungi in the Rumen Digestion of Plant Cell Walls. **Animal Feed Science and Technology**, Uppsala, v.10, n. 2, p.121-143, 1984.

PEREIRA, R. G. A. **Produção diária de leite e curva de lactação de búfalas mestiças sob dois sistemas de produção em Rondônia**. Tese de Doutorado em Zootecnia. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. p.67, 2007.

PIMENTEL, M. V. S.; Barbosa, M. M. M.; ANDRADE, S. C.; NASCIMENTO, W. G. Evolução da bubalinocultura no Nordeste brasileiro: uma revisão bibliográfica. **Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão**. UFRPE- UAG Anais Garanhuns v.10, 2010.

PRADHAN, K.; BHATIA, S.K.; SANGWAN, D.C. Feed consumption pattern, ruminal degradation, nutrient digestibility and physiological reactions in buffalo and cattle.

**Indian Journal of Animal Sciences**, New Delhi, v.67, n.2, p.149-151, 1997.

PURSE, D. B. A diurnal cycle for holotrich protozoa of the rumen. Instituto de Agricultura, Universidade de Western Austrália, Nedlands. **Nature**, v.190, p.831-832, 1961.

RAMOS, A. A. Contribuição ao estudo dos bubalinos: período de 1972-2001. **Anais UNESP: FAPESP: FMVZ**, Botucatu- São Paulo, p.318, 2003.

RODRIGUES, et al. Oportunidades e desafios da bubalinocultura familiar da região sudoeste paulista. **Revista tecnologia & Inovação Agropecuária**. v.1.p.100 – 109, 2008.

SANTRA, A.; JAKHMOLA, R. C. Effect of Defaunation on Animal Productivity. **Journal of Applied Animal Research**, Izatnagar, v.14, n. 1, p.103-116, 1998.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. Viçosa- MG, Universidade Federal de Viçosa, p.235, 2002.

SIVKOVA, K.; TRUFCHEV, H.; I Comparative studies on fermentation process in the rumen and blood content of calves and buffalo calves I. Effect on diet, containing alfafa haylage. **WORLD BUFFALO CONGRESS**, vol 5. p. 312-316, 1997.

SOEST, P. J. V. **Nutritional ecology of the ruminant**. Corvallis: **O e B Books**. Cornell University Press, 374p. 1982.

SRIVASTAVA, R. V. N.; CHATURVEDI, M. L. Studies on the microbes of cattle and buffalo. **Ind. J. Anim. Sci.**, v.43, p.615-619, 1973.

TEIXEIRA, J. C. **Nutrição dos Ruminante**. Lavras –Minas Gerais: ESAL/ FAEPE, p.239, 1992.

TEWATIA, B.S.; BHATIA, S.K. Comparative ruminal biochemical and digestion related physiological characteristics in buffaloes and cattle fed a fibrous diet. **Buffalo Journal**, v.14, p.161-170, 1998.

TCACENCO, F. A. Avaliação de forrageiras nativas e naturalizadas, no Vale do Itajaí, Santa Catarina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.29, n.3, p.475-489, 1994.

VARLYAKOV, I.; SIVKOVA, K.; TRUFCHEV, H. et al. Influence of structure of the diet on feeding behavior of buffalo-calves and calves. **In: WORLDBUFFALO CONGRESS**, 4, Sao Paulo, 363p. p.260-262, 1994.

VIEIRA, A. S.; FARRA, L. D.; ALTHOFF, D. A.; POLA, A. C. Avaliação do desempenho agrônômico das forrageiras Tifton 85 e missioneira gigante no litoral sul catarinense. **Revista Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v.12, n.1, p.11-14, 1999.

VIEIRA, D. M. The Role of Ciliate Protozoa in Nutrition of the Ruminant. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.63, n.5, p.1547-1560, 1986.

VILLARES, J. B.; DOMINGUES, C. A. C.; RAMOS, A. A. Prova de ganho de peso de bubalinos para fins de melhoramento genético. **Bubalinos Fundação Cargill**, Campinas- São Paulo, p.235-252, 1979.

WARNER, A. C. I. Periodic changes in the concentrations of micro-organisms in the rumens of a sheep fed limited ration every three hours. **Journal General Microbiology**, Great Britain, v.45, p.237-241, 1966.

WARNER, A. C. I. Some factors influencing the rumen microbial population. **Journal of General Microbiology**, v.28, p.129-146, 1962.

YOKAYAMA, M. T.; JOHSON, K. A. Microbiologia del Rumen e Intestino. **El Rumiente: Fisiología Digestiva e Nutrición**. Zaragoza: Acribia, p.137-157, 1988.

Zicarelli, L. **Congresso Nazionale Sull'Allevamento del Bufalo**, v.1. Itália. p.1-19, 2001.