

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

CÂNDIDA CAMILA DOS REIS

**PROTOZOÁRIOS CILIADOS NO RÚMEN DE BOVINOS NELORE E
CRUZADOS NELORE x EUROPEU SOB DIFERENTES SISTEMAS DE
ALIMENTAÇÃO**

DISSERTAÇÃO

DOIS VIZINHOS

2015

CÂNDIDA CAMILA DOS REIS

**PROTOZOÁRIOS CILIADOS NO RÚMEN DE BOVINOS NELORE E
CRUZADOS NELORE x EUROPEU SOB DIFERENTES SISTEMAS DE
ALIMENTAÇÃO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *campus* Dois Vizinhos, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Zootecnia – Área de Concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientação: Prof^a Dr^a Emilyn Midori Maeda

Co-Orientação: Dr^a Isabel Martinele Corrêa

Dois Vizinhos
2015

R375p Reis, Cândida Camila dos.
Protozoários ciliados no rúmen de bovinos Nelcre e Cruzados Nelore x Europeu sob diferentes sistemas de alimentação – Dois Vizinhos: [s.n], 2015.
62 f.:il.

Orientadora: Emilyn Midori Maeda
Co-orientadora: Isabel Martinele Corrêa.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Programa de Pós-graduação em Zootecnia. Dois Vizinhos, 2015.
Inclui bibliografia

1.Bovinos de corte 2. Forragem 3. Rúmen- microbiologia
I.Maeda, Emilyn Midori, orient. II.Corrêa, Isabel Martinele, co-orient. III.Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Dois Vizinhos.IV.Título.

CDD: 636.213



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Dois Vizinhos
Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia



TERMO DE APROVAÇÃO

Título da Dissertação n° 046

Protozoários ciliados no rúmen de bovinos Nelore e Cruzados Nelore x Europeu sob diferentes sistemas de alimentação

Candida Camila dos Reis

Dissertação apresentada às quatorze horas do dia um de abril de dois mil e quinze, como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, Linha de Pesquisa – Produção e Nutrição Animal, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (Área de Concentração: Produção animal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *Câmpus* Dois Vizinhos. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho.

Banca examinadora:

Emilyn Midori Maeda
UTFPR-DV

Isabel Martinele Corrêa
UFJF - MG

Magali Floriano da Silveira
UTFPR-DV

Prof. Dr. Ricardo Yuji Sado
Coordenador do PPGZO

*A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.

Ao meu pai Luiz Carlos dos Reis.

À minha mãe Diocélia dos Santos Reis.

Aos meus irmãos Anderson Rafael dos Reis (*in memoriam*) e

Luiz Eduardo dos Reis.

Ao meu amado esposo Rafael.

Dedico...

“A vida é feita de escolhas.
Não podemos escolher o que a vida vai colocar à nossa frente, mas podemos escolher como
agimos diante do que ela apresenta...”

(Trecho do livro Atitudes Vencedoras – Carlos Hilsdorf)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por todas as bênçãos proporcionadas nessa longa caminhada. Pelo dom da vida, pela saúde e proteção.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná, em especial ao departamento de Zootecnia, pela oportunidade de realização do curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos concedida.

À Miolar Alimentos Ltda por ter possibilitado as coletas e a todos os colaboradores envolvidos, pela presteza com que me atenderam quando precisei.

Ao meu esposo, por ter se mostrado um companheiro ímpar. Estando ao meu lado, incondicionalmente, sempre me fazendo acreditar que chegaria ao final desta difícil, porém gratificante etapa. Sou grata por cada gesto carinhoso, cada sorriso... Por todo incentivo, não só afetivo, mas financeiro. Sem você não teria sido possível.

Especial agradecimento à colega Franciane Cedrola, (mestranda da UFJF e perita em protozoários ruminais), por ter me acolhido em Juiz de Fora, por toda sua paciência e tempo dedicado em repassar todo conhecimento que tens, por não medir esforços para que em um curto período de tempo eu conseguisse fazer a minha dissertação. Sem teu auxílio e dedicação, eu não teria conseguido. Serei eternamente grata a Deus por ter colocado uma pessoa como você em minha vida.

A professora, Dra. Emilyn por ter me encorajado a assumir novos desafios. Pela orientação, amizade e agradável convívio. Por todas as críticas e sugestões sempre bem vindas, pela presteza que me atendeu quando precisei.

A Dra. Isabel Martinele Corrêa, pela Co-Orientação, pelo incentivo em trabalhar com protozoários ruminais e por acreditar no desenvolvimento desse trabalho.

Ao professor Dr. Elias Nunes Martins pela presteza que me atendeu nos momentos em que precisei e pela contribuição no desenvolvimento e esclarecimento da análise estatística.

Aos meus pais, por me apoiarem e me incentivarem a nunca desistir. Pelos sábios conselhos e palavras de carinho nos momentos necessários. Por todo incentivo dado, minha eterna gratidão.

Ao meu irmão Dudu, que simplesmente pelo fato de existir me faz querer ser uma pessoa melhor. Teu amor e teu carinho são fundamentais em minha vida.

As minhas tias (também chamadas de tia-mãe) Marlene e Lourdes, por toda contribuição em minha vida, desde a minha infância. O amor e o exemplo de vocês foram fundamentais para chegar onde cheguei.

Aos avós do meu esposo, Seu Dinair e Dona Gema, por me “adotarem” como neta. Por toda ajuda, pelo carinho, pelas conversas sempre proveitosas... e é claro, pelos deliciosos almoços da vó! É um privilégio poder conviver com pessoas assim.

A minha grande amiga e agora comadre Edimara, pela amizade, companheirismo e incentivo. Mesmo longe fisicamente, sempre se fez presente nos momentos que precisei, fossem eles bons ou ruins. Poder conviver com pessoas como você, torna a caminhada muita menos árdua!

A minha comadre Tânia, pela agradável companhia nos finais de semana. Por todos os bons momentos de descontração, risadas e longas conversas. Pela amizade construída nesses anos.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para realização desse trabalho, meu eterno carinho!

RESUMO

REIS, Cândida C. dos: Protozoários ciliados no rúmen de bovinos Nelore e Cruzados Nelore x Europeu sob diferentes sistemas de alimentação, 2015, 64 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de Pós Graduação em Zootecnia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2015.

O objetivo do presente trabalho foi identificar e quantificar os protozoários ciliados do rúmen de dois grupos genéticos de bovinos de corte (Nelore e Cruzados Nelore x Europeu), sob três sistemas de alimentação (confinado, à pasto e à pasto com suplemento). Amostras de conteúdo ruminal foram obtidas do centro da massa ruminal, após o abate dos animais. A quantificação e identificação dos gêneros de ciliados foram realizadas em câmara de contagem Sedgewick-Rafter em microscopia ótica. Foi determinado o conteúdo de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), matéria mineral (MM), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) dos alimentos analisados. Os dados foram submetidos a análise por meio da metodologia de Modelos Lineares Generalizados, com distribuição Poisson (1%). Adicionalmente os dados foram submetidos a análise dos Componentes Principais. Houve efeito da interação ($P < 0,001$) para as dietas e as raças analisadas. Verificou-se a ocorrência de 14 gêneros, sendo o gênero *Entodinium* o predominante em todos os animais analisados. Os ciliados pertencentes à ordem Entodiniomorpha, *Eodinium*, *Epidinium*, *Eremoplastron*, *Eudiplodinium*, *Metadinium* e *Ostracodinium* apresentaram maior prevalência nos animais da raça Nelore, quando comparados com o grupo racial cruzado Nelore x Europeu. Protozoários da família Isotrichidae (*Dasytricha* e *Isotricha*) foram observados em maior quantidade nos animais à pasto e a pasto recebendo suplemento. Em relação ao tipo de alimentação, animais alimentados exclusivamente a pasto apresentaram maior densidade de ciliados em relação aos animais confinados e/ou a pasto recebendo suplemento. Registrou-se a ocorrência do gênero *Buestchlia*, em um animal (prevalência de 1,66%) sendo este um dos poucos registros deste gênero em ruminantes.

Palavras-chave: Isotrichidae. Ophryoscolecidae. Forragem. Suplementação a pasto. Confinamento.

ABSTRACT

REIS, Cândida C. dos: Rumen ciliated protozoa in Nellore cattle and Crossbred Nellore x European under different feeding systems in southwestern Paraná. 2015. 64 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de Pós Graduação em Zootecnia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2015.

The aim of this study was to identify and quantify the rumen ciliated protozoa of two genetic groups cattle (Nellore and crossbred Nellore x European) under three feeding systems (confined, pasture and pasture with supplement). The rumen fluid samples were obtained from the center of the rumen mass, after ... The quantification was done in Sedgewick-Rafter counting chambre in light microscopy. It was determined the content of dry matter (DM), mineral matter (MM), ether extract (EE), crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF) to determine the chemical quality of the feed supplied to the animals. The data were submitted to analysis by Generalized Linear Models methodology, assuming Poisson distribution with logarithmic link function, with significance level of 1%. In addition, data were submitted to principal component analysis. The first two principal components were analyzed by least squares. There was a significant interaction ($P < 0.001$) for diets and analyzed races. Occurrence of 14 ciliate genera was observed, being *Entodinium* the predominant in all animals analyzed. The ciliates belonging to order Entodiniomorpha, *Eodinium*, *Epidinium*, *Eremoplastron*, *Eudiplodinium*, *Metadinium* e *Ostracodinium* had a higher prevalence in Nellore cattle, compared with the racial group crossbred Nellore x European. Protozoa of the family Isotrichidae (*Dasytricha* e *Isotricha*) were observed in greater quantities in animals to pasture and pasture with supplement. Regarding the type of food, animals on pasture had higher ciliates density compared to confined animals and pasture with supplement. Occurrence of gender *Buestchlia* only one animal (prevalence 1,66%), which is one of the few records of this kind in ruminants.

Keywords: Isotrichidae. Ophryoscolecidae. Forage. Supplementation at pasture. Confinement.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- FIGURA 1.** DESENHOS ESQUEMÁTICOS DE PROTOZOARIOS CILIADOS ENCONTRADOS EM RUMINANTES DOMÉSTICOS.....24
- FIGURA 2.** PRICIPAIS GÊNEROS DE PROTOZOARIOS CILIADOS NO RÚMEN DE BOVINOS NELORE E CRUZADO NELORE x EUROPEU, SOB TRÊS SISTEMAS DE ALIMENTAÇÃO.....46

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1.** COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ALIMENTOS FORNECIDOS NO CONFINAMENTO, A PASTO E A PASTO COM SUPLEMENTO PARA ANIMAIS NELORE E CRUZADO NELORE x EUROPEU.....43
- TABELA 2.** ORDEM, FAMÍLIA E GÊNERO DE PROTOZOÁRIOS CILIADOS REGISTRADOS EM BOVINOS DAS RAÇAS NELORE E CRUZADO ½ NELORE x ½ EUROPEU SUBMETIDOS A DIFERENTES DIETAS (N= 60).....47
- TABELA 3.** MÉDIAS ($\times 10^4 \text{ mL}^{-1}$) ESTIMADAS PARA OS GÊNEROS *DASYTRICHA*, *ISOTRICHA* E *ENTODINIUM* EM BOVINOS DAS RAÇAS NELORE E CRUZADOS ½ NELORE X ½ EUROPEU MANTIDOS EM CONFINAMENTO, À PASTO E À PASTO COM SUPLEMENTAÇÃO, SEGUINDO DISTRIBUIÇÃO POISSON.....50
- TABELA 4.** TABELA 1. MÉDIAS ($\times 10^4 \text{ ML}^{-1}$) ESTIMADAS PARA OS GÊNEROS *DIPLODINIUM*, *DIPLOPLASTRON* E *EODINIUM* EM BOVINOS DAS RAÇAS NELORE E CRUZADOS ½ NELORE X ½ EUROPEU MANTIDOS EM CONFINAMENTO, À PASTO E À PASTO COM SUPLEMENTAÇÃO, SEGUINDO DISTRIBUIÇÃO POISSON.....51
- TABELA 5.** TABELA 1. MÉDIAS ($\times 10^4 \text{ ML}^{-1}$) ESTIMADAS PARA OS GÊNEROS *EPIDINIUM*, *EREMOPLASTRON* E *EUDIPLODINIUM* EM BOVINOS DAS RAÇAS NELORE E CRUZADOS ½ NELORE X ½ EUROPEU MANTIDOS EM CONFINAMENTO, À PASTO E À PASTO COM SUPLEMENTAÇÃO, SEGUINDO DISTRIBUIÇÃO POISSON.....52

TABELA 6. MÉDIAS ($\times 10^4$ ML ⁻¹) ESTIMADAS PARA OS GÊNEROS <i>METADINIUM</i> , <i>OSTRACODINIUM</i> E <i>POLYPLASTRON</i> EM BOVINOS DAS RAÇAS NELORE E CRUZADOS ½ NELORE X ½ EUROPEU MANTIDOS EM CONFINAMENTO, À PASTO E À PASTO COM SUPLEMENTAÇÃO, SEGUINDO DISTRIBUIÇÃO POISSON.....	54
TABELA 7. CORRELAÇÕES DOS GÊNEROS DE PROTOZOÁRIOS COM OS COMPONENTES PRINCIPAIS Y ₁ E Y ₂	56

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
2.1 Diversidade Microbiana do Rúmen	13
2.1.1 Microbiologia do Rúmen.....	13
2.1.1.1 Bactérias.....	14
2.1.1.2 Fungos.....	17
2.1.1.3 Interação entre microrganismos no rúmen.....	19
2.2 Protozoários Ruminais.....	20
2.2.1 Sistema de alimentação, raça e/ou espécie animal nas populações de protozoários ruminais	23
3 REFERÊNCIAS MATERIAL E MÉTODOS	29
4 ARTIGO COMPLETO.....	39

1. INTRODUÇÃO

O rúmen representa um complexo ecossistema, composto principalmente por microrganismos anaeróbios, como bactérias, fungos e protozoários, os quais desempenham funções bioquímicas e fisiológicas importantes para os ruminantes, principalmente no metabolismo dos nutrientes, pois produzem enzimas capazes de degradar a celulose das plantas, fornecendo energia ao hospedeiro em uma relação mutualística (Arcuri et al., 2006). As espécies componentes e sua densidade populacional são influenciadas pelo tipo, quantidade e frequência de alimento fornecido ao hospedeiro, além do estado fisiológico, a raça dos animais (Hungate, 1966), pH do conteúdo ruminal e pelas relações que estabelecem entre si e com a população bacteriana (MOURA MARINHO, 1982).

A maioria dos estudos em microbiologia ruminal são voltados às bactérias, no entanto, os protozoários podem utilizar uma porção significativa dos carboidratos solúveis, amidos e carboidratos da parede celular para seu crescimento, além de estarem associados à maior reciclagem de nitrogênio microbiano no rúmen e à redução no suprimento de aminoácidos ao intestino (IVAN et al., 2001).

Os protozoários podem variar de 10^4 até 10^6 ciliados por mililitro de conteúdo ruminal (Kamra, 2005), são micro-organismos unicelulares, anaeróbios, não patogênicos, que variam em tamanho de 20 a 200 μm (portanto, cerca de 10 a 100 vezes maiores que as bactérias) (Dehority, 1993), representando de 40 a 60% da biomassa microbiana total do rúmen (EZEQUIEL, 2002).

Grande parte dos resultados experimentais tem mostrado que o gênero *Entodinium* representa cerca de 90% da concentração total dos protozoários ruminais em bovinos e ovinos, embora em algumas situações, outros gêneros podem predominar, em virtude de fatores individuais dos hospedeiros e aspectos relacionados à dieta, tais como o tipo, a quantidade e o tempo após a alimentação (D'Agosto e Santa-Rosa, 1998). Algumas espécies de protozoários possuem a capacidade de digestão de carboidratos estruturais da parede celular das plantas. Conforme demonstrado por Jouany & Senaud (1979), que observaram aumento significativo da digestibilidade da lignocelulose de 3 a 10%, devido a presença de ciliados no rúmen, especialmente da ordem Entodiniomorpha.

Em animais submetidos a dietas de baixo valor nutritivo e ricas em fibras, observa-se aumento no número de protozoários, sendo que a ingestão reduzida de alimentos ocasiona menor taxa de passagem dos nutrientes pelo rúmen, favorecendo o estabelecimento e crescimento dos protozoários (CHRISTIANSEN et al., 1964).

Determinações da densidade e composição da microbiota ruminal em ruminantes, sob diversos tipos de alimentação, são importantes para elucidação dessas relações com o hospedeiro e o seu real papel no metabolismo.

A busca de novos conhecimentos sobre a microbiota ruminal, especialmente dos protozoários ciliados trata de uma demanda mundial por conhecimentos que sejam aplicados, por exemplo, na redução da metanogênese, na melhoria da produtividade dos rebanhos e no desenvolvimento de biotecnologia de processos degradativos de biomassa por microorganismos do rúmen. Varga & Kolver (1997) destacaram a necessidade de se avaliar a importância dos protozoários na digestão de fibras. Complementando, Itabashi (2004) destaca que o papel dos protozoários na produção animal é um importante problema e que merece ser destacado nas pesquisas de microbiologia do rúmen. Por isso, é de relevante importância que estudos desta natureza sejam conduzidos no Brasil, pois o estudo da microbiota ruminal é uma importante área de pesquisa estratégica (Russel & Rychlick, 2001), para o incremento da produtividade na pecuária brasileira.

Visando contribuir para o conhecimento das relações entre bovinos e ciliados do rúmen que ocorrem naturalmente em rebanhos de corte no Brasil, objetivou-se com o presente trabalho identificar e quantificar as populações de protozoários ciliados do rúmen de 60 bovinos, de diferentes grupos raciais (Nelore e Nelore x Cruzado) sob diferentes sistemas de alimentação (pasto, pasto com suplemento e confinado), no estado do Paraná.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Diversidade microbiana do rúmen

2.1.1 Microbiologia do rúmen

A celulose e outros polissacarídeos, constituintes da parede celular vegetal, representam a maior fonte potencial de energia para os animais herbívoros. A degradação da parede celular pelos ruminantes é consequência da simbiose entre o hospedeiro e uma diversidade, ainda não definida, de micro-organismos presentes no rúmen. O rúmen pode ser definido como uma câmara de fermentação estável (temperatura, pressão osmótica, equilíbrio iônico), capaz de fornecer substratos a microbiota, e, ainda, remover os subprodutos da fermentação (AGCC, células microbianas, resíduos não digeridos) (ARCURI et al. 2002).

As pesquisas em microbiologia do rúmen associadas à produção animal têm como objetivo final a maximização do uso dos alimentos, através da geração de conhecimentos sobre a biodiversidade e as interações das diferentes populações microbianas do rúmen que permitam fornecer condições especiais para o seu funcionamento, resultando na otimização da fermentação e da digestão da dieta.

Devido às inúmeras espécies de micro-organismos que podem ser encontradas no rúmen, sua classificação como parte da microbiota ruminal não segue um padrão universal, sendo seguidos critérios diferentes, de acordo com cada autor, para Stewart et al. (1997) uma espécie é considerada da microbiota ruminal ao apresentar capacidade de efetivo crescimento no rúmen, ser anaeróbia e produzir subproduto(s) encontrado(s) no rúmen, isto é, metabolismo compatível com as reações que ocorrem no ambiente ruminal normal.

A colonização do trato digestivo pelos micro-organismos implica num conjunto de fenômenos simultâneos (Pedersen & Tannock, 1989). A colonização bacteriana é mais rápida dentre as populações ruminais. As primeiras espécies a colonizarem o trato gastrointestinal são os *Lactobacilos* (Chaves et al., 1999) e várias outras relacionadas intimamente com a presença do leite materno (Stewart et al., 1988), pois um dos primeiros contágios dos bezerros com micro-organismos é via mamada, contato com o teto, pelos etc.

Vários estudos estão sendo realizados visando descobrir como os micro-organismos transformam e sintetizam os alimentos durante o processo de digestão. A quantidade de N exigida é função da quantidade de energia disponível no rúmen, visto que os micro-organismos, em especial os protozoários e as bactérias, precisam de N e energia para que ocorra a proliferação desejável (MARTIN et al., 1990).

Os micro-organismos ruminais que interagem com as partículas de alimento podem ser funcionalmente descritos em três sub populações distintas: livres, associados ao fluido

ruminal; fracamente associadas a partículas; e fortemente aderidos a partículas de alimentos (MCALLISTER et al., 1994).

2.1.1.1 Bactérias

A identificação e o estudo do metabolismo das espécies bacterianas ruminais foram viabilizados somente após a Segunda Guerra Mundial (meados do século XX), pelo desenvolvimento de técnicas de cultivo bacteriano em meio anaeróbio. Antes disto, pouco se sabia sobre a fermentação ruminal.

Vários tipos de bactérias são ativas na degradação da celulose, hemicelulose, lignina, amido e proteína. As interações que elas estabelecem entre si e com os outros micro-organismos ruminais são responsáveis pelo efeito sinérgico na produção de ácidos graxos voláteis e proteína microbiana no rúmen.

A população de bactérias é a mais diversa dentre os micro-organismos ruminais, tanto em quantidade quanto em capacidade metabólica. Variam em tamanho de 1 a 5 μm e são observadas em valores de 10^{10} células/g de conteúdo ruminal (Raskin et al., 1997; Stewart et al., 1997). Segundo Krause & Russel (1996), o número total de espécies de bactérias ainda é desconhecido, no entanto já foram isoladas mais de 400 espécies no trato digestivo de diferentes animais. Essa enorme diversidade pode ser atribuída a diversos fatores: elevada atividade metabólica desses micro-organismos (Russel & Hino, 1985); diversidade de nutrientes ingerida pelo animal hospedeiro, em diferentes formas físicas (Arcuri, Lopes & Carneiro *in* BERCHIELLI et al., 2011); a especialização e por consequência a seleção de alguns micro-organismos para “máximo rendimento bioquímico” (Hungate, 1966); e, a repetição desses ciclos, criando novas oportunidades para outras espécies, uma vez que a espécie melhor adaptada supera todas as outras na competição por um nicho trófico, alterando o ambiente (MACKIE et al., 1997).

As bactérias são usualmente classificadas de acordo com a atuação de cada grupo no processo fermentativo: As celulolíticas têm como habilidade bioquímica produzir a enzima extracelular celulase, através de hidrólise da celulose. Essas enzimas estão associadas a células aderidas firmemente às partículas fibrosas do conteúdo ruminal. A adesão inicial é feita através do glicocálice, à medida que a celulase vai degradando a fibra, fragmentos do envelope celular passam a compor a matriz de glicocálice, dentro das quais as celulases continuam a digerir a celulose (Costerton & Cheng, 1982). As espécies celulolíticas, produzem principalmente, acetato, propionato, butirato, succinato, formato, CO_2 e H_2 . São liberados também etanol e lactato (Hungate, 1966). A eficiente quebra da celulose no rúmen

necessita de certo número de glicosil hidrolases, incluindo endoglucanases, exoglucanases e β -glicosidases, as quais trabalham sinergicamente para hidrolisar a celulose. O produto final da degradação da celulose é a glicose, sendo que ocorre também a liberação de produtos intermediários, como celodextrinas e celobiose. A degradação da hemicelulose libera como produto final a xilose, e é catalisada por endozilanases e β -xilosidades (Krause et al., 2003). As principais espécies celulolíticas são *Ruminococcus flavefaciens*, *Ruminococcus albus*, *Bacteroides succinogenes* e *Butyrivibrio fibrisolvens* (DEHORITY, 2003; VAN SOEST, 1981).

O baixo pH ruminal (< 6,0) diminui a atividade, e em boa parte dos casos, o número de micro-organismos celulolíticos, e até mesmo uma modesta redução no pH ruminal pode inibir a digestão da celulose. Trabalhos demonstram que bactérias celulolíticas não conseguem crescer com um baixo pH intracelular, e quando há redução do pH extracelular ocorre um desequilíbrio no gradiente de pH, a nível de membrana, acarretando uma toxicidade por acúmulo de ânions no interior da célula bacteriana (RUSSEL & WILSON, 1996).

Outro fator capaz de inibir a atividade celulolítica no rúmen é a adição de amido à dieta, estimulando o crescimento das bactérias amilolíticas e inibindo as celulolíticas, afetando negativamente a digestão da fibra, devido à competição entre os diferentes grupos (STEENBAKKERS *et al.*, 2008).

As bactérias amilolíticas por sua vez, são responsáveis pela degradação do amido, através da enzima amilase, sendo fermentado por espécies do gênero *Bacteroides*, dentre as quais podem ser citadas as *Bacteroides amylophilus*, que utiliza amido, mas é incapaz de utilizar glicose ou outros monossacarídeos; a *Streptococcus bovis* e *Salenomonas ruminantium*, que fermentam amido e açúcares solúveis, quando esses carboidratos são abundantes, porém mudam para acetato, formato e etanol, ou acetato e propionato quando a concentração de substratos prontamente degradáveis decresce. Essas últimas rotas metabólicas são responsáveis pela máxima produção de ATP em um ambiente anaeróbio (RUSSEL, 1990).

A maioria das bactérias que fermentam aminoácidos no rúmen são incapazes de crescerem em ambientes que tem como único substrato os aminoácidos (Nocek, 1988). Na década de 80, foram isoladas três espécies de bactérias fermentadoras estritas de aminoácidos (*Peptostreptococcus sp.*, *Clostridium aminophilum* e *C. stiklandii*), que não utilizam carboidratos como fonte de energia e desaminam aminoácidos em taxas 20 vezes superiores às observadas em outras bactérias (Lima et al., 2009). A importância desse grupo se deve ao fato da proteína dietética liberar amônia e AGCC, ao ser degradado pelos micro-organismos

no rúmen. Por consequência, se a taxa de desaminação excede a taxa de utilização de amônia para síntese microbiana, pode ocasionar perda da eficiência na conversão alimentar (TEDESCHI et al., 2000).

O grupo de micro-organismos responsáveis pela hidrólise de lipídios no rúmen, não é tão numeroso devido ao baixo potencial de oxidoredução do ambiente ruminal (Dehority, 2003). Todavia, um processo metabólico importante para pecuária, ocorre quando moléculas de lipídios são alteradas através do fenômeno da lipólise e biohidrogenação. Nesse processo, os lipídios insaturados de cadeia longa servem como “dreno” de parte do hidrogênio gerado pela fermentação de carboidratos (Kim et al., 2005; Nam et al., 2007; Or-Rashid et al., 2008). A espécie *Anaerovibrio lipolytica* hidrolisa lipídios e concomitantemente utiliza ribose, frutose, glicerol e lactato como fonte de energia (Stewart et al., 1997). Esses substratos são fermentados a acetato, propionato e CO₂, enquanto o glicerol é fermentado a propionato e succinato.

As metanogênicas (anaeróbias estritas), atualmente classificadas como Archaeas, são especialmente importantes para o ecossistema ruminal, pois tem um papel importante na regulação de fermentação pela remoção das moléculas de H₂ (Teixeira, 1991). São os mais sensíveis a mudança no ambiente ruminal e são afetados por muitos fatores dietéticos. Possui efetiva importância como utilizadores de hidrogênio e o equilíbrio de sua população afeta diretamente o metabolismo ruminal e o balanço de carbono (VALADARES FILHO & PINA, 2002).

No rúmen, as archaeas são encontradas intimamente associadas com protozoários ciliados e em justaposição com as bactérias. Podem estar aderidas tanto na superfície celular dos protozoários, como na fase intracelular dos mesmos (Ushida & Jouany, 1996). Se considerado o fato de que os protozoários ciliados têm um grande potencial de produção de hidrogênio no rúmen, a associação somática das metanogênicas com estes ciliados indica uma relação simbiótica, em que as metanogênicas, por utilizarem o hidrogênio produzido pelos ciliados, favorecem a manutenção de um ambiente ruminal adequado ao desenvolvimento destes micro-organismos (VAN SOEST, 1994).

Praticamente todo metano é produzido pelas reações de redução de CO₂ acoplada ao fornecimento de elétrons pelo H₂. O metano (CH₄) é um importante subproduto da fermentação ruminal, devido ao fato de, ao ser produzido, viabilizar o funcionamento do rúmen por servir como principal “dreno” de hidrogênio (Johnson & Johnson, 1995). O gênero *Methanobacterium* desempenha importante papel no equilíbrio do ecossistema ruminal ao utilizar H₂ presente no meio, contribuindo para regeneração de co-fatores, como NAD + e

NADP⁺ (ARCURI, 1992). Conseqüentemente, são fundamentais para a manutenção de todo conjunto de processos fermentativos do rúmen.

Condições ruminiais favoráveis ao crescimento microbiano e o ajuste nas rações para que exista o correto balanço de nutrientes absorvidos, permitem que o ruminante demonstre seu potencial de produção e, ao mesmo tempo, contribua para a estabilização do efeito estufa pela redução da emissão de metano.

2.1.1.2 *Fungos*

Na década de 70, Colin Orpin observou pequenos organismos flagelados no rúmen, classificando-os erroneamente como protozoários flagelados. Logo em seguida observou que esses micro-organismos apresentavam ciclo reprodutivo típico de fungos. Contatando que os flagelados eram zoósporos de fungos que colonizavam a superfície das plantas, criando o micélio. O micélio por sua vez, dá origem a mais esporos que liberam mais zoósporos, repetindo o ciclo constantemente. Os zoósporos são pequenos, variando de 6 a 10 μm , os esporângios podem atingir até 100 μm . Os micélios podem atingir até 450 μm (Russel, 2002). Os zoósporos dos fungos crescem dentro de micelas, após se transformam para estágio reprodutivo de rizoídes com zoosporângios. Devido a queda de pH do líquido ruminal na presença de altas concentrações de açúcares, pode ocorrer a inibição da germinação de zoósporos no tecido das plantas e por consequência inibir a produção de zoósporos no rúmen (BERCHIELLI et al., 2011)

Os fungos, assim como as bactérias, são transmitidos por contato com animais adultos, via saliva, pelo ar, ou ainda ingeridos juntamente com alimentos contaminados. Após a ingestão, apenas algumas células sobrevivem, sendo suficiente para colonização do ambiente ruminal (Theodorou et al., 1993; 1996). A colonização do trato digestivo ocorre com a adesão do zoósporo a uma partícula de alimento, iniciando assim a fase vegetativa do fungo (Edwards et al., 2008). A colonização por fungos ruminiais é mais eficiente do que a de protozoários. As populações de diferentes espécies fúngicas foram detectadas por diversos autores no espaço de duas semanas, desde o nascimento, e tornam-se estáveis em níveis de populações de animais adultos entre 6 e 8 semanas (Davies et al., 1993). O ciclo de vida dos fungos ruminiais apresenta uma fase de vida livre, representado por zoósporos recém liberados de esporângios que são encontrados na fase líquida. A permanência nessa fase líquida dura poucos minutos, até que ocorra adesão à uma partícula de alimento. A partir da adesão ao alimento, o crescimento do micélio acontece com o fungo intimamente ligado ao substrato. A distribuição dos zoósporos de fungos no rúmen é bem variada e seu crescimento é estimulado

por aminoácidos (Onoda et al., 1996), AGCC (Guliye et al., 2007), baixas concentrações de ácidos graxos de cadeia longa e por várias vitaminas (ORPIN e JOBLIN, 1997).

A maior população fúngica no rúmen é observada em animais adultos e que ingerem maior proporção de fibras vegetais (Grenet et al., 1989). A principal espécie destacada em bovinos é *Neocallimastix variabilis*, que é ciclo monocêntrico, com zoósporos poliflagelados e filamentos com rizomicélio abundante. A espécie *Anaeromyces elegans* é também isolada no trato digestório desses animais, apresentando por sua vez, ciclo policêntrico, zoósporos uniflagelados e filamentos com rizomicélio (Ho et al., 1993). Existem evidências de que esses fungos, e também *Sphaeromonas communis* e *Piromonas communis* degradam os carboidratos estruturais e são capazes de atacar os tecidos vasculares lignificados. Portanto participam ativamente do rompimento das fibras por meio rizóides ou hifas (Theodorou et al., 1996) durante o processo de degradação da forragem.

Lee et al. (2000), em trabalho pioneiro sobre fungos ruminais, demonstrou que a adição de micro-organismos vivos (200 mL de cultura de fungos, que continha tanto enzimas quanto tecidos de fungos), com atividade fibrolítica elevada, aumentou a utilização de nutrientes por ruminantes, através do aumento da digestibilidade de diferentes componentes da dieta.

As importâncias dos fungos ruminais está em sua capacidade de colonizar e penetrar tecidos vegetais, através da ação de seus rizóides, que rompem fisicamente as células vegetais, aumentando a área de superfície das partículas dos alimentos, facilitando a adesão de outros micro-organismos, além de produzirem enzimas importantes para degradação de vários polissacarídeos da parede celular vegetal (Ximenes, 2003). Os fungos podem constituir até 8% da biomassa microbiana do rúmen de animais que recebem dietas ricas em fibras e estão envolvidos na degradação da parede celular lignificada (AKIN, 1987).

2.1.1.3 Interação entre micro-organismos no rúmen

A microbiota ruminal possui elevada atividade metabólica, tendo como efeito final a degradação contínua, em extensão variável, do alimento ingerido pelo animal hospedeiro. Se considerado a importância de cada espécie de microrganismo no rúmen e suas afinidades específicas na ação dos substratos para fermentação ruminal, o estudo aprofundado da ecologia do rúmen, se torna de extrema importância, afim de permitir a demonstração de interações interespecíficas entre os micro-organismos, que no futuro poderão promover incrementos na degradação da fração fibrosa de forrageiras e no uso de substratos da agroindústria (Russel & Mantovani, 2002). Ao se analisar como cada população de

microrganismo interage com outras, vários tipos de interação são observados, dentre os quais podemos citar a predação, competição, mutualismo e antibiose. Se tratando de protozoários ruminais, a predação e a competição são as mais envolvidas com esses micro-organismos, e portanto as mais destacadas nesta revisão.

A predação é uma característica fortemente atribuída aos protozoários. Atuam na redução da biomassa bacteriana livre no conteúdo ruminal (Hsu et al., 1991), aumenta a reciclagem intraruminal e a perda de N pelo hospedeiro, e reduz o fluxo de proteína microbiana para o intestino delgado do hospedeiro, tanto pela redução da população microbiana quanto pela retenção dos protozoários no rúmen (Kernati et al., 2009). Existe ainda a predação entre protozoários, onde espécies menores (*Entodinium*) são presas de espécies maiores (por exemplo: *Polyplastron*, *Diplodinium*, *Ostracodinium*). De forma semelhante, os protozoários predam fungos ruminais, conforme demonstrado por Sakurada et al. (1994) em trabalhos realizados *in vitro*.

Esse comportamento predatório pode ser considerado fundamental para o surgimento de populações distintas de protozoários no rúmen de diferentes ruminantes, conforme observado por vários autores (KUDO et al., 1990; DEHORITY & ORPIN, 1997; FRANZOLIN & DEHORITY, 1999).

A predação de bactérias por protozoário é bastante acentuada, já que as bactérias se constituem na maior fonte de compostos nitrogenados para os protozoários. Diversos estudos que comparam animais faunados e defaunados, demonstram que a concentração de bactérias em animais faunados é menor do que em animais defaunados. Esse tipo de predação não é específica, ocorrendo, dependendo do tipo e da densidade das populações de bactérias. As bactérias metanogênicas utilizam o H₂ liberado da degradação dos polímeros das plantas como fonte de energia na redução de CO₂ em CH₄. Podem ser encontradas livres no rúmen ou como endossimbiontes no citoplasma de protozoários ciliados. (FINLAY *et al.*, 1994).

A predação de fungos por protozoários são baseadas no aumento da concentração de fungos quando animais são defaunados. Entretanto, estudos indicam que a defaunação não representa nenhum acréscimo na concentração de fungos. Embora seja reconhecida a atividade predatória de protozoários sobre fungos, ela apresenta menor intensidade quando comparada a atividade predatória destes organismos sobre bactérias (DEHORITY, 1998).

2.2 Protozoários ruminais

Os protozoários ciliados, em conjunto com os fungos e bactérias constituem uma importante fração microbiana do ecossistema ruminal, desempenhando funções bioquímicas e

fisiológicas importantes para os ruminantes, principalmente no metabolismo dos nutrientes (DEHORITY, 2003).

Os protozoários são classificados como micro-organismos unicelulares, anaeróbios, não patogênicos, que variam em tamanho de 20 a 200 μm (portanto de 10 a 100 vezes maior que as bactérias) (Dehority, 1993) e seu estabelecimento depende especialmente do contato com outros animais que possuam protozoários no seu rúmen. Sua população é de 100.000 a 1.000.000 células/mL de conteúdo ruminal (TEIXEIRA, 1991).

No rúmen, os protozoários foram observados pela primeira vez por Gruby & Delafond (1843), e devido a sua aparência foram considerados importantes para o metabolismo e nutrição do hospedeiro. Colin (1954) mencionou a existência desses micro-organismos trazendo figuras de algumas espécies. Stein, (1858, 1859) descreveu algumas espécies de ciliados encontrados no estômago de bovinos e carneiro, sendo descritas como *Isotricha intestinalis*, *Ophryoscolex purkynjei*, *Ophryoscolex inermis*, *Entodinium bursa*, *Entodinium dentatum* e *Entodinium caudatum*. Mais tarde, o mesmo autor, completando o estudo sobre *Isotricha*, identificou mais uma espécie e a classificou como *Isotricha prostoma*. Com o passar do tempo novas pesquisas surgiram e os estudos em relação aos protozoários foram se aperfeiçoando. Schuberg (1888), além de estudar minuciosamente as espécies já descobertas, criou os novos gêneros *Buetschlia* e *Dasytricha*, além de desdobrar o gênero *Entodinium* em *Entodinium* e *Diplodinium*.

Mais tarde, os ciliados que apresentavam cutícula firme e cílios situados na região oral, foram agrupados em Entodinomorphida. Diferente dos Entodinomorphida, os isotriquídeos apresentam películas mais flexíveis e são cobertos de cílios em torno de todo o corpo. Os entodinomorfos são bem adaptados ao ambiente ruminal e se aderem às partículas dos alimentos. Ao contrario, os isotriquídeos preferem alimentos solúveis e são menos tolerantes ao ambiente ruminal e são capazes de se fixarem à parede do retículo e migrar em direção ao rúmen logo após a alimentação do hospedeiro, possivelmente em função do aparecimento de açúcares solúveis (Dehority & Tirabasso, 2000). Através deste mecanismo, são seletivamente retidos no rúmen, o que permite a estes organismos sobreviver neste ambiente, uma vez que têm um tempo de geração muito longo (LENG & NOLAN, 1984).

Os protozoários ciliados do rúmen (Alveolata, Ciliophora) são classificados no filo Ciliophora, e estão presentes na classe Litostomatea, subclasse Trichostomatia e distribuídos em duas ordens: Vestibuliferida e Entodiniomorphida.

A ordem Vestibuliferida compreende cinco famílias de ciliados endossimbiontes, sendo que, em mamíferos ruminantes está representada principalmente pela família

Isotrichidae, que inclui três gêneros de ciliados: *Dasytricha*, *Isotricha* e *Oligoisotricha*. (LYNN, 2008).

Gênero *Dasytricha*: Cílios cobrindo o corpo em cinécias oblíquas. Abertura do vestíbulo localizado na região posterior do corpo. Comprimento: 60-100 μm ; largura: 38-53 μm .

Gênero *Isotricha*: Cílios cobrindo o corpo em cinécias longitudinais. Abertura do vestíbulo localizada em diferentes posições dependendo da espécie. Comprimento: 105-207 μm ; 73-128 μm .

Gênero *Oligoisotricha*: Ciliatura somática ausente na região posterior do corpo. Uma única espécie *Oligoisotricha bubali*. Comprimento: 16-22 μm ; largura: 13-20 μm .

A ordem Entodiniomorpha compreende três subordens. As duas primeiras, Archistomatina e Blepharocorythina são representadas pelas famílias Buetschliidae e Blepharocorythidae que incluem os gêneros *Buetschlia* e *Charonina*, respectivamente.

Gênero *Buetschlia*: Corpo oval com duas zonas ciliares, anterior e posterior, com uma coroa ciliada anterior. Macronúcleo elíptico com vacúolo contrátil na região posterior e vacúolo de concreção na região posterior. Comprimento: 30-35 μm ; largura: 20-30 μm .

Gênero *Charonina*: Ciliatura somática reduzida. Zonas ciliares presentes apenas na região anterior e posterior do corpo. Vestíbulo proeminente. Comprimento: 28-46 μm ; largura: 9-15 μm .

A terceira subordem, Entodiniomorpha, compreende 10 famílias de ciliados endossimbiontes, incluindo a família Ophryoscolecidae. Os membros desta família são muito comuns em ruminantes e caracterizam-se por apresentar zonas de ciliatura retrátil e um macronúcleo alongado. Compreende os gêneros: *Entodinium*, *Eodinium*, *Diplodinium*, *Diploplastron*, *Eremoplastron*, *Eudiplodinium*, *Ostracodinium*, *Metadinium*, *Enoploplastron*, *Elytroplastron*, *Polyplastron*, *Epidinium* e *Ophryoscolex* (LYNN, 2008).

Gênero *Entodinium*: Única zona ciliar retrátil envolvendo a abertura vestibular. Comprimento: 22-115 μm ; largura: 14-90 μm .

Gênero *Diplodinium*: Duas zonas ciliares retráteis localizadas em um mesmo plano corporal. Placas esqueléticas ausentes, macronúcleo com o terço anterior inclinado à região ventral. Dois vacúolos contráteis. Comprimento: 30-120 μm ; largura: 20-80 μm .

Gênero *Eodinium*: Duas zonas ciliares retráteis localizadas em um mesmo plano corporal. Placas esqueléticas ausentes, macronúcleo em formato de bastão localizado na região dorsal. Vestíbulo proeminente. Dois vacúolos contráteis. Comprimento: 40-70 μm ; largura: 20-40 μm .

Gênero *Eremoplastron*: Duas zonas ciliares retráteis localizadas em um mesmo plano corporal. Única placa esquelética estreita, macronúcleo em formato de bastão levemente inclinado à região ventral. Dois vacúolos contráteis. Comprimento: 35-110 μm ; largura: 25-70 μm .

Gênero *Eudiplodinium*: Duas zonas ciliares retráteis localizadas em um mesmo plano corporal. Única placa esquelética alongada, alargada na região anterior localizada próxima ao macronúcleo. Macronúcleo em forma de gancho. Dois vacúolos contráteis. Comprimento: 120-200 μm ; largura: 80-50 μm .

Gênero *Diploplastron*: Duas zonas ciliares retráteis localizadas em um mesmo plano corporal. Duas placas esqueléticas delgadas, macronúcleo em formato de bastão. Dois vacúolos contráteis. Comprimento: 90-128 μm ; largura: 65-87 μm .

Gênero *Polyplastron*: Duas zonas ciliares retráteis localizadas em um mesmo plano corporal. Presença de cinco placas esqueléticas, sendo duas localizadas na superfície esquerda e três localizadas na superfície direita. Cinco vacúolos contráteis. Comprimento: 122-210 μm ; largura: 97-130 μm .

Gênero *Ostracodinium*: Duas zonas ciliares retráteis localizadas em um mesmo plano corporal. Única placa esquelética larga localizada na superfície esquerda. Macronúcleo lobado. Vacúolos contráteis variam em número de acordo com a espécie. Comprimento: 50-128 μm ; largura: 36-70 μm .

Gênero *Elytroplastron*: Duas zonas ciliares retráteis localizadas em um mesmo plano corporal. Presença de quatro placas esqueléticas, sendo duas localizadas na superfície esquerda e duas na superfície direita. Macronúcleo em formato de bastão. Quatro vacúolos contráteis. Comprimento: 100-160 μm ; largura: 76-100 μm .

Gênero *Metadinium*: Duas zonas ciliares retráteis localizadas em um mesmo plano corporal. Duas placas esqueléticas largas unidas ou não na região posterior. Macronúcleo em formato de 'E' ou 'F'. Dois vacúolos contráteis. Comprimento: 110-210 μm ; largura: 80-140 μm .

Gênero *Enoploplastron*: Duas zonas ciliares retráteis localizadas em um mesmo plano corporal. Três placas esqueléticas separadas ou parcialmente unidas. Macronúcleo em formato de bastão. Dois vacúolos contráteis. Comprimento: 80-110 μm ; largura: 60-78 μm .

Gênero *Ophryoscolex*: Duas zonas ciliares retráteis localizadas em planos corporais distintos. Três placas esqueléticas. Coroa de espinhos partindo da região mediana até a região posterior do corpo. Vacúolos contráteis numerosos. Comprimento: 140-190 μm ; largura: 80-110 μm .

Gênero *Epidinium*: Duas zonas ciliares retráteis localizadas em planos corporais distintos. Três placas esqueléticas. Espinhos podem estar presentes na região posterior. Dois vacúolos contráteis. Comprimento: 80-150 μm ; largura: 40-70 μm .

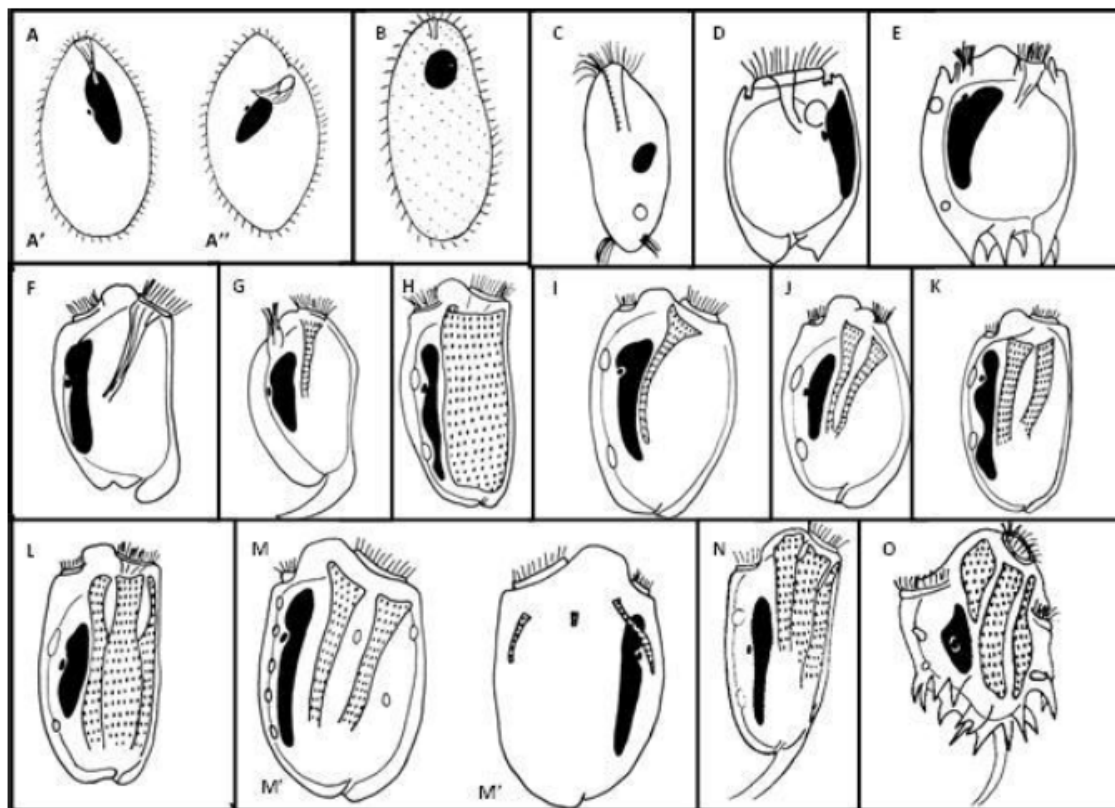


Figura 1. Desenho 1. Desenhos esquemáticos de protozoários ciliados encontrados em ruminantes domésticos. Ordem Vestibuliferida: Gêneros **A**: *Isotricha* (**A'**- *Isotricha prostoma*; **A''**- *Isotricha intestinalis*), **B**: *Dasytricha*. Ordem Entodiniomorpha: Gêneros: **C**: *Charonina*; **D**: *Entodinium*; **E**: *Diplodinium*; **F**: *Eodinium*; **G**: *Eremoplastron*; **H**: *Ostracodinium*; **I**: *Eudiplodinium*; **J**: *Diploplastron*; **K**: *Metadinium*; **L**: *Enoploplastron*; **M**: *Polyplastron* (**M'**: Lado esquerdo; **M''**: Lado direito); **N**: *Epidinium* e **O**: *Ophryoscolex*. Desenhos: D'AGOSTO (1995).

2.2.1 Efeito do sistema de alimentação, raça e/ou espécie animal nas populações de protozoários ruminais

Dentre os fatores que interferem sobre a quantidade e proporções relativas das distintas espécies de protozoários no rúmen, a dieta parece ser um dos principais. Mudanças na dieta impõem ao animal um período de transição na população microbiana do rúmen, com mudanças nas proporções entre as distintas espécies, prevalecendo as que melhor se adaptam a nova dieta (WILLIAMS, 1986).

Em geral, a presença de protozoários aumenta diretamente a digestão da celulose e hemicelulose (Fondevila & Dehority, 2000). Protozoários ciliados da ordem Entodiniomorpha, principalmente das subfamílias Diplodiniinae e Ophryoscolecinae tem preferência por dietas fibrosas. São muito suscetíveis a reduções no pH ruminal, promovido por dietas ricas em concentrado, sendo prejudicial aos ciliados dessas subfamílias, por isso são encontrados em maior número em dietas fibrosas (WILLIAMS e COLEMAN, 1992).

Hungate (1966) relatou que protozoários da família Isotrichidae são encontrados em grande número no rúmen de animais em regime de pastejo, ou em dietas contendo quantidades consideráveis de feno, pois tem capacidade de degradar os polissacarídeos não estruturais e carboidratos solúveis das plantas, ao passo que os da família Ophryoscolecidae não são detectados em quantidades maciças em animais ingerindo elevada quantidade de grãos.

Bonhomme-Florentin *et al.* (1978) estudaram os efeitos de variações sazonais sobre a populações de ciliados do rúmen de *Bos indicus* e verificaram que estas populações apresentam maior densidade durante a estação úmida. Estas variações entre as estações foram atribuídas à estreita relação que há entre os fatores sazonais e alimentares, já que a qualidade nutritiva das pastagens oscila em função da estacionalidade.

O fornecimento de forragem em diferentes estádios de crescimento vegetativo também influencia as populações de protozoários ciliados no rúmen de bovinos, conforme demonstrado por Nogueira Filho *et al.* (1992) que verificaram que o número total de ciliados, bem como os dos gêneros *Entodinium* spp., *Diplodinium* spp. e *Polyplastron* spp. diminuíram com o avançar da idade da planta forrageira. Atribuindo a redução dos protozoários à diminuição de açúcares solúveis e ao aumento da fibra conforme a maturação da planta.

O principal efeito das variações estacionais sobre os protozoários ciliados está relacionado às modificações das características da vegetação (Manella & Lourenço, 2004; Martinele *et al.*, 2010). Tais modificações podem resultar em alterações no valor nutritivo das espécies utilizadas como forragem, o que está associado a variações no seu ciclo fenológico, podendo ocorrer flutuações no conteúdo de nutrientes e de matéria seca (ARAÚJO FILHO *et al.*, 2002).

O alimento ingerido pelo ruminante passa inicialmente pelos pré-estômagos, sendo os nutrientes primeiramente disponibilizados à microbiota desses órgãos, gerando compostos que serão posteriormente utilizados pelo animal hospedeiro em uma relação reciprocamente benéfica. Essas reações ocorrem com maior intensidade no interior do rúmen, assim, toda e qualquer modificação na dieta pode alterar a interação entre os micro-organismos ruminais e

destes com o animal hospedeiro, afetando assim os processos digestivos, a eficiência alimentar e a produção animal. Um dos parâmetros de elevado interesse científico e grande potencial modificador dos processos fermentativos é a quantidade e as espécies de protozoários ruminais (VIEIRA, 1986).

De acordo com Franzolin & Dehority (1996), a densidade das populações de ciliados amilolíticos, como por exemplo, *Entodinium*, aumenta à medida que o concentrado é adicionado à dieta em ruminantes, enquanto a densidade das populações de ciliados celulolíticos decresce expressivamente. D'Agosto *et al.* (1998) observaram que em dieta para bovinos à base de silagem de milho com 30% de concentrado o número total de ciliados aumentou significativamente, principalmente *Entodinium*.

Entretanto, Martinele *et al.* (2008a) verificaram que as populações de *Entodinium* não se alteraram com a adição de concentrado em dietas à base de capim-elefante em níveis de 20 e 40% para vacas mestiças holandês-zebu. Contudo, podem ocorrer mudanças nas populações de ciliados no rúmen de bovinos submetidos à mesma quantidade de concentrado e, segundo Michalowski (1977), isto se deve a outros fatores, tais como o tempo de retenção da digesta, pH e até mesmo a características metabólicas individuais do hospedeiro. Sob condições normais, o pH ruminal apresenta valores médios em torno de 5,5 a 7,0, sendo que seus menores valores são observados de duas a seis horas após a alimentação, correspondendo ao pico de produção de ácidos resultantes da atividade fermentativa, a qual desencadeia decréscimo na concentração de protozoários (Dehority, 2003). De acordo com Oliveira *et al.* (1987), a concentração de ciliados no rúmen de ovinos mantidos em pastagem tende a se tornar estável com pH em torno de 6,9.

O pH do conteúdo ruminal está estreitamente ligado a composição química da dieta, sendo que em dietas com grande quantidade de amido ou carboidratos solúveis, o valores de pH diminuem (Coalho *et al.*, 2003; Guan *et al.*, 2006). Quando se adiciona concentrado a dieta, ocorre aumento de micro-organismos amilolíticos, principais responsáveis pela produção de ácidos graxos voláteis no rúmen, provocando redução nos valores do pH ruminal (Burger *et al.*, 2000). Já em dietas com maior quantidade de celulose e outros carboidratos insolúveis, a redução do pH não é tão acentuada devido ao fato do crescimento das principais bactérias celulolíticas ser comprometido em pH ruminal em torno 6,0 a 6,1, e totalmente inibido em valores abaixo de 5,9 (RUSSEL & DOMBROWSKI, 1980).

Outro fator importante que influencia diretamente o número e a composição dos protozoários ciliados do rúmen é o tempo de amostragem após a alimentação (Marinho, 1983). Segundo Nogueira Filho *et al.* (1998) e Franzolin Neto *et al.* (1991), as populações de

ciliados no rúmen de bovinos e bubalinos apresentam aumento de densidade no momento do fornecimento do alimento, seguido de um decréscimo nas horas subsequentes e tornando a aumentar antes do fornecimento da próxima alimentação. As populações de protozoários ciliados no rúmen de ovinos e caprinos apresentaram menor número de protozoários logo após a alimentação, entretanto há um abrupto aumento de protozoários isotríquídeos duas horas após a alimentação, o que é atribuído ao comportamento de escape e migração apresentado por estes ciliados (SANTRA & KARIM, 2002).

A importância desses ciliados e o papel que desempenham na fisiologia dos ruminantes são controversos. Clarke *et al.* (1982) sugeriram que a densidade e biomassa características de cada espécie de protozoários, provavelmente indicam diferenças na contribuição destes organismos para a fermentação ruminal.

A defaunação - que nutricionalmente é definida como a eliminação dos protozoários do rúmen - pode trazer alguns benefícios. Em alguns programas de alimentação, como em dietas com alta energia e ricas em nitrogênio não protéico a ausência dos protozoários resulta numa melhoria da performance do animal. No entanto, a presença de protozoários no rúmen pode ser um fator fundamental para o processo fermentativo, pois através da ingestão de partículas alimentares e pelo armazenamento de amido, eles podem controlar o nível de substrato disponível, uniformizando a fermentação entre os intervalos de alimentação. Os protozoários podem servir também como uma fonte contínua de nitrogênio para as bactérias após sua morte e degradação, pois grande parte da proteína do protozoário é formada a partir da proteína das bactérias (TEIXEIRA, 1991).

Em ovinos defaunados foi observado que as taxas de acetato, butirato e amônia decrescem, enquanto as taxas de propionato e ácido láctico aumentam, bem como a eficiência na síntese de proteína microbiana (Kayouli *et al.*, 1984; Orpin & Letcher, 1984). Além das alterações citadas, pode ainda ocorrer redução na digestibilidade de fibras, o que está relacionado ao decréscimo na atividade de degradação atribuída aos micro-organismos (Kayouli *et al.*, 1984; Santra & Karim, 2002) e ao menor tempo de retenção da digesta no rúmen (KAYOULI *et al.*, 1984).

Santra & Karim (2002) observaram que há maior eficiência na utilização de energia e proteína em ovinos defaunados quando comparados aos faunados, devido ao aumento de AGV e nitrogênio total. Lopes *et al.* (2002) ressaltaram que os protozoários podem desempenhar um importante papel ecológico no ambiente ruminal por controlarem a intensidade da fermentação, mantendo a estabilidade necessária para o processo de digestão *in situ* dos componentes da parede celular. Isto resultaria em aumento da taxa de passagem e

redução do efeito das fibras em detergente neutro sobre a repleção ruminal, permitindo maior consumo de nutrientes e de carboidratos solúveis.

A defaunação pode ser também relacionada com o aumento da eficiência da síntese microbiana, o fluxo de proteína de origem microbiana para o duodeno, a produção de propionato, a degradação ruminal de amido, o volume do conteúdo ruminal e as populações fúngicas no rúmen. Há relatos da redução da metanogênese e da degradação de fibras, além de alterações no fluxo de saída de partículas e/ou líquidos ruminais (JOUANY *et al.*, 1988; JOUANY, 1991; WILLIAMS & COLEMAN, 1992; WILLIAMS *et al.*, 1993).

Em contra ponto aos benefícios mostrados nos estudos sobre defaunação, Nargaraja *et al.*, (1992) ressaltam a importância dos protozoários por exercerem efeito moderador na fermentação do amido, contribuindo para elevação do pH ruminal e decréscimo de AGV. A moderação da atividade fermentativa do amido resulta em benefícios para o hospedeiro, quando consideramos, por exemplo, a redução nos quadros de acidose ruminal comum em animais submetidos a dietas ricas em grãos e concentrados (RUSSEL & RYCHLIK, 2001).

Os protozoários podem ainda atuar ativamente na biohidrogenação de ácidos graxos insaturados e na fermentação do lactato produzido pelas bactérias. Quanto à proteína consumida pelos ciliados, mais da metade desta retorna para o fluido ruminal após ser excretada na forma de amônia, aminoácidos ou peptídeos (Kozloski, 2002).

Fonseca & Dias da Silva (2001) constataram, ao revisarem os efeitos da eliminação dos protozoários do rúmen no desempenho produtivo de ruminantes, que no geral o fluxo de proteína para o duodeno aumenta e a digestibilidade da fibra tende a diminuir, podendo melhorar significativamente o desempenho produtivo de ruminantes em situações de subalimentação proteica. Entretanto, estes autores apontam para a necessidade de mais estudos a respeito dos efeitos da eliminação dos protozoários do rúmen de forma que estes possam ser descritos de forma segura.

Estas considerações indicam que o papel dos ciliados na nutrição dos seus hospedeiros parece depender de diversos fatores, dentre estes, a natureza da dieta e a composição das populações de protozoários.

A busca de novos conhecimentos sobre a microbiota ruminal, especialmente dos protozoários ciliados, trata de uma demanda mundial por conhecimentos que sejam aplicados, por exemplo, na redução da metanogênese, na melhoria da produtividade dos rebanhos e no desenvolvimento de biotecnologia de processos degradativos de biomassa por microorganismos do rúmen. Varga & Kolver (1997) ressaltaram a necessidade de se avaliar a importância dos protozoários na digestão de fibras e complementando, Itabashi (2004) frisa

sobre a importância dos protozoários na produção animal e que merece destaque nas pesquisas de microbiologia do rúmen.

Como ainda não existe um consenso na literatura sobre o real papel dos protozoários, bem como informações sobre o isolamento e classificação de protozoários sob diferentes sistemas de alimentação e em diferentes regiões do país torna-se importante a realização de novos estudos a fim de classificar os principais protozoários ruminais e suas relações com o sistema de alimentação ao qual o animal é submetido, despertando novos interesses sobre os possíveis benefícios desses micro-organismos para o desenvolvimento da microflora ruminal e do desempenho animal.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKIN, D.E. Association of rumen fungi with various forage grasses. *Anim. Feed Science Technology*, v.16, p. 273-285, 1987.

ARAÚJO-FILHO, J.A.; F.C. CARVALHO & N.L. SILVA. Fenologia y valor nutritivo de follajes de algunas especies forrajeras de la Caatinga. *Agroforestía en las Américas*, Costa Rica, **9**: 33-37. 2002.

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.

ARCURI, P. B.; LIMA, J.R.; BRAVO, C. E. C. Isolamento de fungos do conteúdo ruminal de bovinos leiteiros. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife. *Anais...* Recife: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2002 (CD-ROM)

ARCURI, P. B. ; MATOS, L. L. Microbiologia do Rúmen. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, MG, v. 16, n. 175, p. 5-8, 1992

BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. *Nutrição de ruminantes: Microbiologia do rúmen*. Cap. 5, p.115-160, 2011.

BONHOMME-FLORENTIN, A.; J. BLANCOU & B.LATTEUR . E'tude des variations saisonnières de la microfaune du rumen de zebus. *Protistologica*, **14** (3): 283-289. 1978.

BÜRGER, P. J.; PEREIRA, J. C.; VALADARES FILHO, S. C.; SILVA, J. F. C.; QUEIROZ, A. C.; CECON, P. R.; MAGIERO, D. Fermentação ruminal e eficiência microbiana em bezerros holandeses alimentados com dietas contendo diferentes níveis de concentrado. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.29, n.1, p.215-224, 2000.

CHAVES, A. H. *et al.* Seleção de isolados de *Lactobacillus acidophilus* usados como probiótico em bezerros. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 28:1093, 1999.

CHRISTIANSEN, W.C., WOODS, W., BURROUGHS, W. Ration characteristics influencing rumen protozoal population. *J. Anim. Sci.*, 23(4):984-988. 1964.

CLARKE, R.T.J.; M.J. ULYATT & A. JOHN. Variation in numbers and mass of ciliate protozoa in the rumens of sheep fed chaffed alfafa (*Medicago sativa*). *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, **43** (5): 1201-1204. 1982.

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

COLIN, 1954. In: *Cellular domains*. NABI, I. R. Wiley-Blackwell, 2011.

COSTERTON, J. W.; CHENG, K. J. Autochthonous populations: colonization of tissue surfaces by autochthonous bacteria. In: SCHLESSINGER, D. (Ed.). *Microbiology*. Washington: A. S. M., p. 266-273, 1982.

D'AGOSTO, M. & M.R. SANTA ROSA. Influência do hospedeiro no perfil populacional e nas populações de ciliados no rúmen de bovinos. **Revista Bras. Zool.** **15**:389-396, 1998.

D'AGOSTO M.; SANTA-ROSA, M. R.; AROEIRA, L. J. M.; LOPES, F. C. F. Influência da dieta no comportamento das populações de ciliados no rúmen. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, **50**: 153 – 159. 1998.

DAVIES, D. R. *et al.* Distribution of anaerobic fungi in the digestive tract of cattle and their survival in faeces. *Journal of General Microbiology*, 193:1395, 1993.

DEHORITY, B.A. (2003) *Rumen Microbiology*, Nottingham University Press, Nottingham, 372 pp.

DEHORITY, B. A.; TIRABASSO, P.A. Antibiosis between Ruminant Bacteria and Ruminant Fungi. **APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY**, n. 7, v. 66, p. 2921-2927, 2000.

DEHORIY, B. A.; ORPIN, C. G. Development of, and natural fluctuations in, rumen microbial populations. In: HOBSON, P. N.; STEWART, C. S. (Eds.). *The rumen microbial ecosystem*, 2 ed. London: Blackie Academic, p. 196-245, 1998.

DEHORITY, B. A. *Laboratory manual for classification and morphology of rumen ciliate protozoa*. Boca Raton, Fla: CRC Press, 325p, 1993.

EDWARDS, J. E. *et al.* Dynamics of initial colonization of nonconserved perennial ryegrass by anaerobic fungi in the bovine rumen. **FEMS Microbiology and Ecology**, **66**:537, 2008.

EZEQUIEL, J. M. B.; MELÍCIO, S. P. J.; SANCANARI, J. B. D.; FERREIRA, R. N.; FEITOSA, J. V. Quantificação das Bactérias Sólidos-Aderidas, Bactérias e Protozoários Líquido-Associados do Rúmen de Bovinos Jovens Alimentados com Amiréia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.707-715, 2002.

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

FONDEVILA M., DEHORITY B.A., In vitro culture of *Entodinium exiguum* and *E. caudatum*, with or without rumen bacteria, **Journal Animal Science**. 78 Suppl. 1 290, 2000.

FONSECA, A.J.M & A.A. DIAS-DA-SILVA. Efeitos da eliminação dos protozoários do rúmen no desempenho produtivo de ruminantes-Revisão. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, **96** (538): 60-64. 2001.

FRANZOLIN, R. & DEHORITY, B. A. Effect of prolonged high-concentrate feeding on ruminal protozoa concentrations. **Journal Animal Science**, v.74, p. 2803-2809, 1996.

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

FRANZOLIN NETO, R. *et al.* Efeitos de dietas com diferentes níveis de proteína sobre os protozoários ciliados no rúmen de búfalo e bovino. **Pesq. Agropecu. Bras.**, Brasília, v. 26, n. 4, p. 487-493, 1991.

GRENET, E.; JAMONT, J.; FONTY, G. et al. Kinetics study of the degradation of wheat straw and maize stem by pure cultures of anaerobic fungi observed by scanning electron microscopy. **Asian-Aust. J. Anim. Sci.**, v.2, p.456-457, 1989.

GRUBY & DELAFOND, 1843. *In: Cellular domains*. NABI, I. R. Wiley-Blackwell, 2011.

GUAN, L.; SMIRNOVA, I. N.; VERNER, G.; NAGAMORI, S.; KABACK, H. R. Manipulating phospholipids for arystallization of a membrane transport protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. N. 15, v. 103, p. 1723-1726, 2006.

GULIYE, A. Y.; WALLACE, R. J. Effects of aromatic amino acids, phenylacetate and phenylpropionate on fermentation of xylan by the rumen anaerobic fungi, *Neocallimastix frontalis* and *Piromyces communis*. **Journal Applied Microbiology**, 103:924, 2007.

HO, Y.W.; BARR, D.J.S.; ABBULAH, N. *et al.* *Anaeromyces*, an earlier name for *Ruminomyces*. *Mycotaxon*, v. 47, p.283-293, 1993.

HSU, J. T. *et al.* Effects of defaunation and various nitrogen supplementation regimens on microbial numbers and activity in the rumen of sheep. **Journal of Animal Science**, 69:1279, 1991.

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

ITABASHI, H. Recent topics in rumen microbiology with particular reference to animal production in Japan. **Microbes and Environments**, 19 (4): 270-275. 2004.

IVAN, M.; MIR, P. S.; KOENIG, M. K.; RODE, L. M.; NEILL, L.; ENTZ, T.; MIR, Z. Effects of dietary sunflower seed oil on rumen protozoa population and tissue concentration of conjugated linoleic acid in sheep. **Small Ruminant Research**. 41, 215-227, 2001.

JOHNSON, K. A.; JOHNSON, D. E. Methane emissions from cattle. *Journal of Animal Science*, 73:2483, 1995.

JOUANY, J.P. Defaunation of the rumen. **In: JOUANY, J.P. Rumen Microbial metabolism and ruminant digestion**. Paris, INRA Editions. P. 239-261. 1991.

JOUANY, J.P., D.I. DEMEYER & J. GRAIN. Effect of defaunating the rumen. **Animal Feed Science Technology**, Netherlands, 21: 229-265. 1988.

JOUANY J. P.; SENAUD J. Rumen ciliates of sheep given cellulose, lactose, sucrose or starch diets. **Proceedings of the nutrition society**, 36 (2): a72-a72 1979.

KAMRA, D. N. Rumen microbial ecosystem. *Current Science*, v. 80, n. 1, 2005.

KAYOULI, C.; D.I. DEMEYER; C.J. Van NEVEL & R. DENDOOVEN. Effect of defaunation on straw digestion in sacco and on particle retention in the rumen. **Animal Feed Science and Technology**, Netherlands, 10: 165-172. 1984.

KERNATI, S. K.; YU, Z.; FIRKINS, J. L. Investigating unsaturated fat, monensin, or bromoethanesulfonate in continuous cultures retaining ruminal protozoa. II. Interaction of treatment and presence of protozoa on prokaryotic communities. **Journal of Dairy Science**, 92:3861, 2009.

KIM, E. J. *et al.* Fatty acid profiles associated with microbial colonization of freshly ingested grass and rumen biohydrogenation. **Journal of Dairy Science**, 88:3220, 2005.

KOZLOSKI, G.V. 2002. **Bioquímica dos ruminantes**. Ed. UFSM, Santa Maria, 140 p.

KRAUSE, D. O.; DENMAN, S. E.; MACKIE, R. I.; MORRISON, M.; RAE, A. L.; ATTWOOD, G. T.; MCSWEENEY, C. S. Opportunities to improve fiber degradation in the rumen: microbiology, ecology and genomics. **FEMS Microbiology Reviews**. 27, 663-693, 2003.

KRAUSE, D. O.; RUSSEL, J. B. How many ruminal bacteria are there? **Journal of Dairy Science**, 79: 1467, 1996.

KUDO, H. *et al.* Effects of feed on the composition of the rumen ciliate protozoal population in cattle and its relationship to cellulolytic ciliate protozoa. **Animal Feed Science and Technology**, 29:159, 1990.

LEE, S. S.; Ha, J. K.; CHENG, K. J. Influence of an anaerobic fungal culture administration on *in vivo* ruminal fermentation and nutrient digestion. **Animal Feed Science and Technology**, 88:201, 2000.

LENG, R. A.; NOLAN, J.V. Nitrogen metabolism in the rumen. **Journal of Dairy science**, Champaign, V.67, p.1072, 1984.

LIMA, J. R. *et al.* Bovicin HC5 inhibits wasteful amino acid degradation by mixed ruminal bacteria *in vitro*. **FEMS Microbiology Letters**, 292:78, 2009.

LOPES, F.C.F.; L.J.M. AROEIRA; P.B. ARCURI; M.S. DAYRELL & A. VITTORI. Efeitos da defaunação em ovinos alimentados com cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*, L.) adicionada de uréia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, 54 (2): 180-188. 2002.

LYNN, D.H. **The ciliated protozoa. Characterization, classification and guide to the literature**, 3rd ed. Springer, Dordrecht, 2008.

MACKIE, R. I.; WHITE, B. A.; ISAACSON, R. E. (eds.) *Gastrointestinal Microbiology: gastrointestinal microbes and host interactions*. Chapman & Hall Microbiology Series. New York: Chapman & Hall, v.2, p. 665, 1997.

MANELLA, M.Q. & A.J. LOURENÇO. População de protozoários ciliados no rúmen de bovinos nelore em pastos de *Brachiaria brizantha* Marandu recebendo suplemento protéico

ou com livre acesso a banco de proteína de *Leucaena leucocephala* nas diferentes estações do ano. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, **61** (1): 01-11. 2004.

MARINHO, A. A. M. Ciliate protozoa in the rumen of grazing sheep. **Rev. Port. Cienc. Vet.**, v. 78, p. 157-165, 1983.

MARTIN, S. A. *Influence of Aspergillus oryzae fermentation extract (Amaferm) on ruminal microorganisms*. In: BIOZYME TECH. SYMPOSIUM, 1990, Rochester. *Proceedings...* Rochester, p. 2-19, 1990.

MARTINELE, I.; SANTOS, G. R. A.; MATOS, D. S.; BATISTA, A. M. V.; D'AGOSTO, M. Diet botanical composition and rumen protozoa of sheep in Brazilian Semi-Arid área. **Archivos de Zootecnia**, v. 59, p. 226-245, 2010.

MARTINELE, I., SIQUEIRA-CASTRO, I.C.V. & D'AGOSTO, M. Protozoários ciliados no rúmen de bovinos alimentados com dietas de capim-elefante com dois níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Saúde e Produção e Animal**, 9, 74-81, 2008.

MCALLISTE, K. A., Lennon, F., Bowles-Biesecker, B., McKinnon, W. C., Helmbold, E. A., Markel, D. S., Jackson, C. E., Guttmacher, A. E., Pericak-Vance, M. A., Marchuk, D. A. Genetic heterogeneity in hereditary haemorrhagic telangiectasia: possible correlation with clinical phenotype. **J. Med. Genet.** 31: 927-932, 1994.

MICHALOWSKI, T. Diurnal changes in concentration of rumen ciliates and in occurrence of dividing forms in water buffalo (*Bubalus bubalus*) fed once daily. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, **33** (4): 802-804. 1977.

MOURA MARINHO, A.A. de. Ciliados do rúmen - sua dinâmica e importância no metabolismo digestivo dos ruminantes. revisão. *Rev. Port. Cienc. Veter.*, 77(464):241-259. 1982.

NAM, I. S.; GARNSWORTHY, P. C. Factors influencing biohydrogenation and conjugated linoleic acid production by mixed rumen fungi. **Journal of Microbiology**, 45:199, 2007.

NAGARAJA, T.G., G. TOWNE & A.A. BEHARKA. Moderation of ruminal fermentation by ciliated protozoa in cattle fed a high-grain diet. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, **58** (8): 2410-2414. 1992.

NOCEK, J. E. In situ and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: a review. **Journal of Dairy Science**, 71:2051, 1988.

NOGUEIRA-FILHO, J.C.M.; M.E.M. OLIVEIRA; L.R.A. TOLEDO & L. VELLOSO. Protozoários ciliados no rúmen de zebuínos e bubalinos submetidos a dietas com volumosos e concentrados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, **33** (6): 993-999. 1998.

NOGUEIRA-FILHO, J. C. M.; LUCCI, C. S.; OLIVEIRA, M. E. M.; MELOTTI, L.; VALVASORI, E.; LIMA, C. G.; CUNHA, J. A. 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.

OLIVEIRA, M.E.M.; J.C.M. NOGUEIRA-FILHO; C.S. LUCCI; W. DUPAS & C.G. LIMA. Desenvolvimento de populações de protozoários ciliados no rúmen de ovinos (*Ovis Aires* L.) criados em Itapetininga, São Paulo. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, São Paulo, **24** (2): 225-232. 1987.

ONODA, A.; KOBAYASHI, Y.; HOSHINO, S. Effects of amino acids on the growth of an anaerobic rumen fungus *Neocallimastix* sp N 13. *Reproduction Nutrition Developmend*, 36:311, 1996.

ORPIN, C. G.; JOBLIN, K. N. The rumen anaerobic fungi. In: HOBSON P. N.; STEWART, C. S. (Eds.). **The rumen Microbial Ecosystem**. 2 ed. London: Blackie Academic, p. 140-195, 1997.

ORPIN, C.G. & A.J. LETCHER. Effect of absence of ciliate protozoa on rumen fluid volume, flow rate and bacterial populations in sheep. **Animal Feed Science and Technology**, Netherlands, **10**: 145-153. 1984.

OR-RASHID, M. M.; ALZAHAL, O.; MCBRIDE, B. W. Studies on the production of conjugated linoleic acid from linoleic and vaccenic acids by mixed rumen protozoa. *Applied Microbiological and Biotechnology*, 81:533, 2008.

PEDERSEN, K.; TANNOCK, G. W. Colonization of the porcine gastrointestinal tract by Lactobacilli. *Applied and Environmental Microbiology*, 55:179, 1989

RASKIN, L. et al. Molecular ecology of gastrointestinal ecosystems. In: MACKIE, R. I.; WHITE, B. A.; ISAACSON, R.E. (Eds.). *Gastrointestinal Microbiology: gastrointestinal microbes and host interactions*. New York: Chapman & Hall, International Thompson Publishing, v. 2, p. 243-298, 1997.

RUSSEL, J. B.; MANTOVANI, H. C. The Bacteriocins of ruminal bacteria and their potencial as na alternative to antibiotics. **Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology**, 4:347, 2002.

RUSSEL, J. B. Rumen microbiology and its role in ruminant nutrition. Ithaca, NY: *Cornell University Press*, p. 121, 2002.

RUSSEL, J. B.; J.L. RYCHLIK. Factors that alter rumen microbial ecology. **Science**, Washington, **292** (5519): 1119-1122. 2001.

RUSSEL, J. B.; WILSON, D. B. Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at low pH? **Journal of Dairy Science**, 79:1503, 1996.

RUSSEL, J. B. Low-affinity, high-capacity system of glucose transport in the ruminal bacterium *Streptococcus bovis*: evidence for a mechanism of facilitated diffusion. **Applied and Environmental Microbiology**, 56:3304, 1990.

RUSSEL, J. B.; HINO, T. Regulation of lactate production in *Streptococcus bovis*: A spiraling effect that leads to lactic acidosis. **Journal of Dairy Science**, 68:1712, 1985.

RUSSELL, J.B.; DOMBROWSKI, D.B. Effect of pH on the efficiency of growth by pure cultures of rumen bacteria in continuous culture. **Applied Environmental Microbiology**, v.39, p.604-610, 1980.

Sakurada et al. 1994. In: **The Rumen Microbial Ecosystem**. HOBSON, P. N & STEWART, C. S. Eds.. 1997.

SANTRA, A. & S.A. KARIM. Influence of ciliate protozoa on biochemical changes and hydrolytic enzyme profile in the rumen ecosystem. **Journal of Applied Microbiology**, Washington, **92**: 801-811. 2002.

SCHUBERG, 1888. In: *Cellular domains*. NABI, I. R. Wiley-Blackwell, 2011.

STEENBAKKERS, P. J. et al. A serpin in the cellulosome of the anaerobic fungus *Piromyces* sp. Strain E2. *Mycological Research*, 112:999, 2008.

STEIN, 1858 e 1859. In: Kıbrıs Evcil Keçilerinde Yaşayan İşkembe Siliyatı *Ophryoscolex Purkynjei* Stein, 1858 (Ciliophora: Entodiniomorphida)'de Morfometrik Varyasyonlar. MERMER, A.; GÖÇMEN, B.; ÇİÇEK, K.; ERGEN, G.; SEZGİN, Y.; YILDIZ, M. Z. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 30 (3): 252-257, 2006.

STEWART, C. S.; FONTY, G.; GOUET, P. The establishment of rumen microbial communities. **Animal Feed Science and Technology**, 21:69, 1988.

STEWART, C. S.; FLINT, H. J.; BRYANT, M. P. The rumen bacteria. In: HOBSON, P. N.; STEWART, C. S. (Eds.). **The Rumen Microbial Ecosystem**. London: Blackie Academic, v. 2, p. 10:72, 1997.

TEDESCHI, L. O. et al. Accounting for the effects of a ruminal nitrogen deficiency within the structure of the Cornell Net Carbohydrate and Protein System. **Journal of Dairy Science**, 78: 1648, 2000.

TEIXEIRA, J. C. **Nutrição dos Ruminante**, Lavras, MG: ESAL/ FAEPE, 1991.

THEODOROU, M. K. et al. Anaerobic fungi in the digestive tract of mammalian herbivores and their potential for exploitation. **Proceedings of the Nutrition Society**, 55:913, 1996

THEODOROU, M. K. et al. Comparison of anaerobic fungi in faeces and rumen digesta of newly born and adult ruminants. **Mycology Research**, 97:1245, 1993.

USHIDA, K.; JOUANY, J.P. Methane production associated with rumen-ciliated protozoa and its effect on protozoan activity. **Letters Applied Microbiology**, Oxford, v.23, p.129-132, 1996.

VALADARES FILHO, S.C.; PINA, D.S. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, v.1, 583p. 2006.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. Ithaca: Cornell University Press, 476p. 1994.

VAN SOEST, P. J. Limiting factors in plant residues of low biodegradability. **Agriculture and Environment**, 6:135, 1981.

VARGA, G.A. & E.R.S. KOLVER. Conference: new developments in forage science contributing to enhanced fiber utilization by ruminants. **Journal of Nutrition**, 127:819S-823S. 1997.

VEIRA, D.M. The role of ciliate protozoa in nutrition of the ruminant. **Journal Animal Science**, Champaign, 63: 1547-1560. 1986.

WILLIAMS, A.G., K.N. JOBLIN, R.D. BUTLER, G. FONTY & R. BERNALIER. Interactions Bactéries - Protiste dans le Rumen. **Ann. Biol.**, 32: 14-29. 1993.

WILLIAMS, A.G. & G.S. COLEMAN. **The Rumen Protozoa**. London: Springer-Verlag, New York Inc, 423 p. 1992.

WILLIAMS, A.G. *Rumen holotrich ciliate protozoa*. Microbiology Reviews, 50:25, 1986.

XIMENES E. **Fungos Anaeróbios**. *Rev. Ciênc. Med. Biol.*, 2:269-275, 2003.

4.0 ARTIGO COMPLETO

Protozoários ciliados no rúmen de bovinos Nelore e Cruzados Nelore x Europeu sob diferentes sistemas de alimentação

Cândida Camila dos Reis ⁽¹⁾, Emilyn Midori Maeda ⁽¹⁾, Franciane Cedrola ⁽²⁾, Isabel Martinele ⁽²⁾, Elias Nunes Martins ⁽³⁾ e Fabiana Luiza Matielo De Paula ⁽¹⁾

⁽¹⁾Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Programa de Pós Graduação em Zootecnia (PPGZOO), Estrada saída para Boa Esperança, Km 4, CEP 85660-000, Dois Vizinhos, PR, Brasil. E-mail: candidareis@zootecnista.com.br, maedazoo@yahoo.com.br, fabianadepaula3@hotmail.com ⁽²⁾ Universidade Federal de Juiz de Fora, Pós Graduação em Ciências Biológicas – Comportamento e Biologia Animal, Juiz de Fora, MG, Brasil. E-mail: francedrola@gmail.com, isabelmartinele@yahoo.com.br ⁽³⁾ Pesquisador sênior da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Estrada saída para Boa Esperança, Km 4, CEP 85660-000, Dois Vizinhos, PR, Brasil. E-mail: enmartins@uem.com.br

O objetivo do presente trabalho foi identificar e quantificar os protozoários ciliados do rúmen de dois grupos genéticos de bovinos de corte (Nelore e Cruzados Nelore x Europeu), sob três sistemas de alimentação (confinado, à pasto e à pasto com suplemento). Amostras de conteúdo ruminal foram obtidas do centro da massa ruminal, após o abate dos animais. A quantificação e identificação dos gêneros de ciliados foram realizadas em câmara de contagem Sedgewick-Rafter em microscopia ótica. Foi determinado o conteúdo de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), matéria mineral (MM), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) dos alimentos analisados. Os dados foram submetidos a análise por meio da metodologia de Modelos Lineares Generalizados, com distribuição Poisson (1%). Adicionalmente os dados foram submetidos a análise dos Componentes Principais. Houve efeito da interação ($P < 0,001$) para as dietas e as raças analisadas. Verificou-se a ocorrência de 14 gêneros, sendo o gênero *Entodinium* o predominante em todos os animais analisados. Os ciliados pertencentes à ordem Entodiniomorpha, *Eodinium*, *Epidinium*, *Eremoplastron*, *Eudiplodinium*, *Metadinium* e *Ostracodinium* apresentaram maior prevalência nos animais da raça Nelore, quando comparados com o grupo racial cruzado Nelore x Europeu. Protozoários da família Isotrichidae (*Dasytricha* e *Isotricha*) foram observados em maior quantidade nos animais à pasto e a pasto recebendo suplemento. Em relação ao tipo de alimentação, animais alimentados exclusivamente a pasto apresentaram maior densidade de ciliados em relação aos animais confinados e/ou a pasto recebendo suplemento. Registrou-se a ocorrência do gênero *Buestchlia*, em um animal (prevalência de 1,66%) sendo este um dos poucos registros deste gênero em ruminantes.

Termos para indexação: Isotrichidae, Ophryoscolecidae, pastagem, pastagem com suplemento, confinamento.

Rumen ciliated protozoa in Nelore cattle and Crossbred Nelore x European under different feeding systems in southwestern Paraná

The aim of this study was to identify and quantify the rumen ciliated protozoa of two genetic groups cattle (Nelore and crossbred Nelore x European) under three feeding systems (confined, pasture and pasture with supplement). The rumen fluid samples were obtained from the center of the rumen mass, after ... The quantification was done in Sedgewick-Rafter counting chamber in light microscopy. It was determined the content of dry matter (DM), mineral matter (MM), ether extract (EE), crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF) to determine the chemical quality of the feed supplied to the

animals. The data were submitted to analysis by Generalized Linear Models methodology, assuming Poisson distribution with logarithmic link function, with significance level of 1%. In addition, data were submitted to principal component analysis. The first two principal components were analyzed by least squares. There was a significant interaction ($P < 0.001$) for diets and analyzed races. Occurrence of 14 ciliate genera was observed, being *Entodinium* the predominant in all animals analyzed. The ciliates belonging to order Entodiniomorpha, *Eodinium*, *Epidinium*, *Eremoplastron*, *Eudiplodinium*, *Metadinium* e *Ostracodinium* had a higher prevalence in Nellore cattle, compared with the racial group crossbred Nellore x European. Protozoa of the family Isotrichidae (*Dasytricha* e *Isotricha*) were observed in greater quantities in animals to pasture and pasture with supplement. Regarding the type of food, animals on pasture had higher ciliates density compared to confined animals and pasture with supplement. Occurrence of gender *Buestchlia* only one animal (prevalence 1,66%), which is one of the few records of this kind in ruminants.

Index terms: Isotrichidae, ophryoscolecidae, pasture, pasture with supplement, confinement.

Introdução

A população microbiana do rúmen é caracterizada por diversas espécies de bactérias, fungos e protozoários. Desempenham funções bioquímicas e fisiológicas importantes pra os ruminantes, principalmente no metabolismo do hospedeiro, pois produzem enzimas capazes de degradar a celulose das plantas, fornecendo energia ao hospedeiro em uma relação mutualística (Vidal et al., 2007). As proporções das várias espécies podem ser influenciadas pelo tipo de alimento da dieta, pela quantidade e frequência de alimento fornecido ao hospedeiro, pela raça dos animais (Hungate, 1966), pH do conteúdo ruminal e pelas relações que estabelecem entre si e com a população bacteriana (WILIANMS E COLEMAN, 1991).

Dietas de forragens podem variar extensivamente na disponibilidade de seus nutrientes para o uso microbiano. A maior parte da energia em dietas com volumoso está disponível na forma de carboidratos estruturais presente na parede celular da planta, a qual é atacada concomitantemente por bactérias e protozoários ciliados (NOGUEIRA FILHO et al., 1999).

A maioria dos estudos em microbiologia ruminal são voltados às bactérias, no entanto, os protozoários podem utilizar uma porção significativa dos carboidratos solúveis, amidos e carboidratos da parede celular para seu crescimento, além de estarem associados à maior reciclagem de nitrogênio microbiano no rúmen e a redução no suprimento de aminoácidos ao intestino (IVAN et al., 2001).

Entre os protozoários, os da espécie *Epidinium* são os mais eficientes no ataque e ingestão de paredes celulares de plantas forrageiras (Akin, 1981). Já os da família Isotrichidae, destacando-se em ruminantes os gêneros *Isotricha* e *Dasytricha*, aparecem em maior número nos ruminantes em regime de pastejo, recebendo feno ou cana de açúcar,

devido a sua capacidade de degradar os polissacarídeos não estruturais e carboidratos solúveis das plantas (WILIANMS e COLEMAN, 1991; JOUANY, 1996).

Em animais submetidos a dietas de baixo valor nutritivo e ricas em fibras, observa-se aumento no número de protozoários, sendo que a ingestão reduzida de alimentos ocasiona menor taxa de passagem dos nutrientes pelo rúmen, favorecendo o estabelecimento e crescimento dos protozoários (Christiansen, 1964). Segundo Akin (1981), a anatomia das lâminas dos volumosos e os tipos de tecidos que os constituem influenciam a degradação microbiana, devido a maior ou menos presença de celulose, hemicelulose, lignina e ácidos fenólicos, afirmando que a digestão de forragens é resultado de uma complexa interação de micro-organismos do rúmen com a estrutura da parede celular.

Determinações da densidade e composição da microbiota ruminal em ruminantes, sob diversos tipos de alimentação, são importantes para elucidação dessas relações com o hospedeiro e o seu real papel no metabolismo.

A busca de novos conhecimentos sobre a microbiota ruminal, especialmente dos protozoários ciliados trata de uma demanda mundial por conhecimentos que sejam aplicados, por exemplo, na redução da metanogênese, na melhoria da produtividade dos rebanhos e no desenvolvimento de biotecnologia de processos degradativos de biomassa por micro-organismos do rúmen. Varga & Kolver (1997) destacaram a necessidade de se avaliar a importância dos protozoários na digestão de fibras. Complementando, Itabashi (2004) destaca que o papel dos protozoários na produção animal é um importante problema e que merece ser destacado nas pesquisas de microbiologia do rúmen. Por isso, é de relevante importância que estudos desta natureza sejam conduzidos no Brasil, pois o estudo da microbiota ruminal é uma importante área de pesquisa estratégica (Russel & Rychlick, 2001), para o incremento da produtividade na pecuária brasileira.

Visando contribuir para o conhecimento das relações entre bovinos e ciliados do rúmen que ocorrem naturalmente em rebanhos de corte no Brasil, objetivou-se com o presente trabalho identificar e quantificar as populações de protozoários ciliados do rúmen de 60 bovinos, de diferentes grupos raciais (Nelore e Nelore x Cruzado) sob diferentes sistemas de alimentação (pasto, pasto com suplemento e confinado), no estado do Paraná.

Material e Métodos

Amostras do conteúdo ruminal foram obtidas de dois grupos genéticos de bovinos (Nelore e Cruzado Nelore x Europeu) oriundos de diferentes propriedades no Sudoeste do Paraná, no período de junho a setembro de 2014 e sob três sistemas de alimentação: confinado

(silagem de milho e concentrado à base de milho e soja para ambos os grupos genéticos, na proporção 70:30 volumoso:concentrado), a pasto (nelore: capim estrela africana; Cruzado Nelore-Europeu: Azevém) e a pasto com suplemento (2% do peso vivo)(Nelore: estrela africana + suplemento; Cruzado Nelore x Europeu: Aveia e Azevém + suplemento). O clima da região é do tipo subtropical úmido mesotérmico (Cfa), segundo a classificação de Köppen, com temperatura média de 18,1 e 16,9 °C (máxima e mínima) e precipitação média de 194,8 mm para os meses de junho a setembro de 2014 (GEBIOMET, 2014).

Tabela 1. Composição química dos alimentos fornecidos no confinamento, a pasto e a pasto com suplemento para bovinos Nelore e Cruzados Nelore x Europeu

Confinamento (%MS)				
Composição	Alimentos (%MS)			
	Concentrado		Silagem de milho	
Matéria seca	86,98		32,87*	
Proteína bruta	16,06		9,86	
Extrato etéreo	1,96		3,63	
Matéria mineral	5,30		4,46	
FDN	25,85		44,90	
FDA	14,06		18,63	
Pasto (%MS)				
Composição	Alimentos (%MS)			
	Cruzados		Nelore	
	Azevém		Estrela africana	
Matéria seca*	20,14		36,36	
Proteína bruta	19,33		10,05	
Estrato etéreo	2,85		2,12	
Matéria mineral	8,38		9,55	
FDN	57,51		75,23	
FDA	29,96		38,20	
Pasto com suplemento (%MS)				
Composição	Alimentos (%MS)			
	Cruzados		Nelore	
	Aveia + Azevém	Suplemento	Estrela africana	Suplemento
Matéria seca	20,32*	90,32	34,05*	87,26
Proteína bruta	11,68	17,31	10,65	17,61
Extrato etéreo	2,71	2,94	2,53	1,90
Matéria mineral	7,12	7,45	8,61	6,72
FDN	62,30	29,95	65,16	34,79
FDA	33,81	12,82	33,02	13,55

*Valor com base na matéria seca ao ar

As coletas foram feitas em animais abatidos em frigorífico comercial, Miolar Alimentos Ltda, situado no Município de Dois Vizinhos, Sudoeste do Paraná, após 12 horas de jejum alimentar. As amostras foram obtidas do centro da massa ruminal, homogeneizadas e fixadas em formalina 18,5% (Dehority, 1984).

A quantificação foi feita na câmara de contagem Sedgewick-Rafter, conforme procedimentos descritos por Dehority (1984) seguindo a modificação proposta por D'Agosto e Carneiro (1999). A identificação genérica foi feita conforme Ogimoto & Imai (1981).

Foram realizadas simulação de pastejo e coleta dos alimentos fornecidos aos animais para determinação da composição bromatológica da pastagem. As amostras foram pré-secadas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 72 horas, para posterior análise bromatológica de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente ácido (FDA) e fibra em detergente neutro (FDN), de acordo com Silva & Queiroz (2004).

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em bifatorial 2 x 3, sendo dois grupos genéticos de bovinos de corte (Nelore e Cruzado Nelore x Europeu), três sistemas de alimentação (confinamento, pasto e pasto com suplemento), com 10 repetições para cada tratamento.

Os dados foram submetidos a análise por meio da metodologia de Modelos Lineares Generalizados, assumindo distribuição Poisson com função de ligação logarítmica, com nível de significância 1% (SAS, 2001), conforme modelo:

$$Y_{ijk} = e^{\eta} + \varepsilon_{ijk}$$

em que:

Y_{ijk} : é a observação da contagem do número de espécimes no animal da raça j, submetido a dieta i;

e: base do logaritmo neperiano;

η : função linear dos parâmetros na fórmula $\mu + d_i + r_j + d_{rj} + \varepsilon_{ijk}$ em que:

μ : é o intercepto,

d_i : é o efeito da dieta i; i = 1;2;3;

r_j : efeito da raça j; j=1;2;

d_{rj} : efeito da interação entre os níveis da dieta e raça;

ε_{ijk} : erro aleatório associado a cada observação Y_{ijk} .

Adicionalmente, os dados foram submetidos à análise de componentes principais (SAEG, 2007). Os dois primeiros componentes principais foram analisados por meio de quadrados mínimos, assumindo o modelo já definido anteriormente:

$$Y_{ijk} = \mu + d_i + r_j + d_{rj} + O_{ijk}$$

Resultados e Discussão

Os protozoários ciliados observados neste estudo estão distribuídos nas ordens Vestibuliferida e Entodiniomorphida. Na ordem Vestibuliferida, registrou-se a ocorrência de protozoários ciliados da família Isotrichidae, com os gêneros *Dasytricha* e *Isotricha*, e na ordem Entodiniomorphida, foram observados protozoários ciliados da família Ophryoscolecidae com os gêneros *Diplodinium*, *Diploplastron*, *Elytroplastron*, *Entodinium*, *Eodinium*, *Epidinium*, *Eremoplastron*, *Eudiplodinium*, *Metadinium*, *Ostracodinium* e *Polyplastron* e da família Buestchliidae com o gênero *Buestchlia* (Tabela 2; Figura 1).

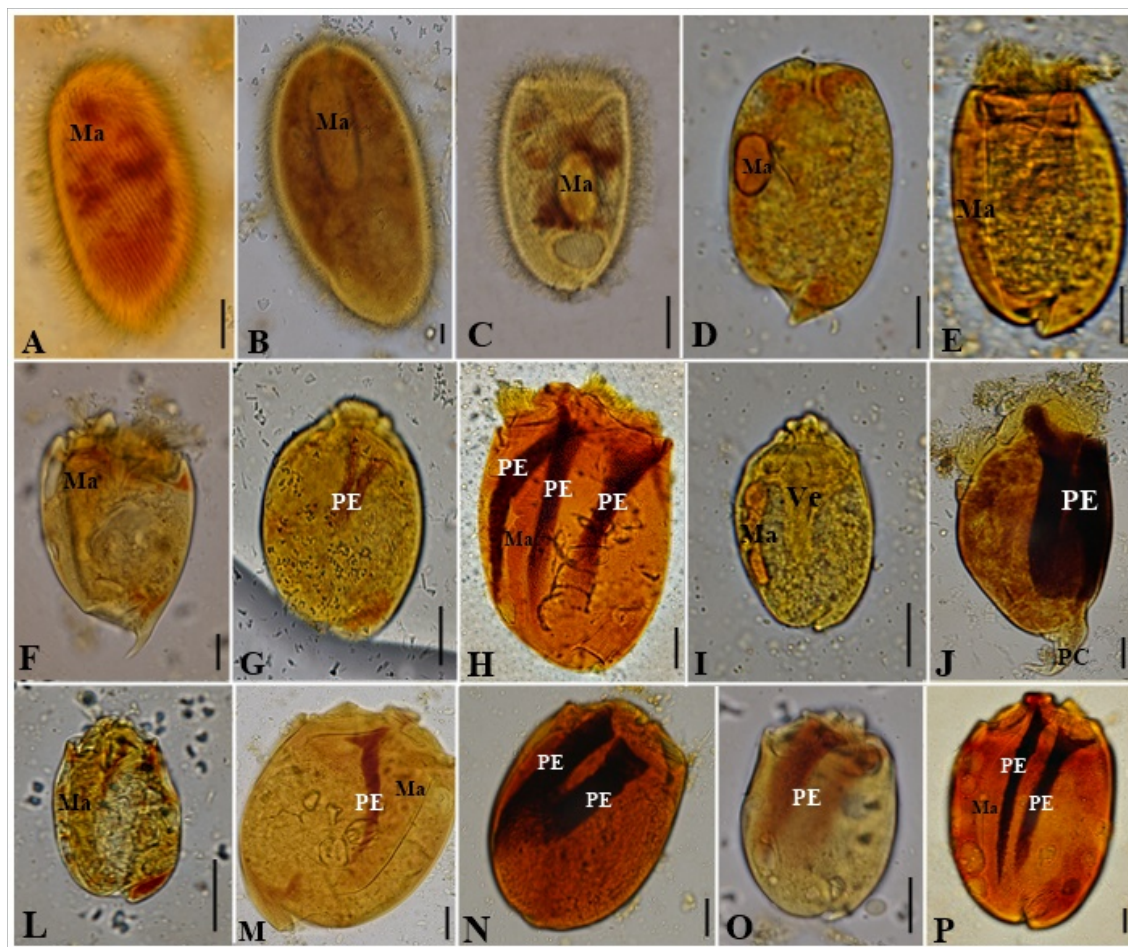


Figura 1. Protozoários ciliados do rúmen registrados neste estudo. **A-B:** Família Isotrichidae; **A.** *Dasytricha*; **B.** *Isotricha*; **C:** Família Buestchliidae, gênero *Buestchilia*; **D-P:** família Ophryoscolecidae; **D-E:** *Entodinium*; **F:** *Diplodinium*; **G:** *Diploplastron*; **H:** *Elytroplastron*; **I:** *Eodinium*; **J:** *Epidinium*; **L:** *Eremoplastron*; **M:** *Eudiplodinium*; **N:** *Metadinium*; **O:** *Ostracodinium*; **I:** *Polyplastron*. Ma: Macronúcleo; PE: Placas esqueléticas; Ve: Vestíbulo; PC: Processo caudal. Barras: 20 μ m.

Tabela 2. Protozoários ciliados registrados em bovinos das raças Nelore e Cruzado Nelore x Europeu submetidos a diferentes dietas (n= 60)

Protozoários ciliados	Hospedeiros/Tratamentos					
	Cruzado			Nelore		
	Confinado	Pasto/		Confinado	Pasto/	
Pasto		Suplemento	Pasto		Suplemento	
Vestibuliferida						
Isotrichidae						
<i>Dasytricha</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Isotricha</i>	+	+	+	+	+	+
Entodinimorphida						
Buestchliidae						
<i>Buestchlia</i>					+	
Ophryoscolecidae						
<i>Entodinium</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Diplodinium</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Diploplastron</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Elytroplastron</i>	+			+	+	
<i>Eodinium</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Epidinium</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Eremoplastron</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Eudiplodinium</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Metadinium</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Ostracodinium</i>		+	+	+	+	+
<i>Polyplastron</i>		+	+	+	+	+

+: presença do gênero em pelo menos um animal

O gênero *Elytroplastron* foi observado em quatro dos sessenta animais analisados e o gênero *Buestchlia* foi encontrado em apenas um animal, dessa forma estes gêneros não foram

incluídos nas análises estatísticas. Este é um dos poucos registros do gênero *Buestchlia* em ruminantes, sendo comumente reportado em outros mamíferos herbívoros, como equinos (Ogimoto & Imai, 1981; Williams & Coleman, 1992).

Os gêneros *Ostracodinium* e *Polyplastron* não foram observados em nenhum dos animais do grupo racial Cruzado Nelore x Europeu mantidos em confinamento. Este fato pode estar relacionado a fatores inerentes aos hospedeiros, visto que esses gêneros foram observados nos animais da raça Nelore que eram mantidos no mesmo confinamento, recebendo a mesma dieta. Demonstrando que além da dieta, há influência individual na ocorrência e no número de ciliados ligados ao metabolismo do hospedeiro (GÖÇMEN et al. 2002; MARTINELE et al., 2008).

O gênero *Entodinium* foi observado em todos os animais, corroborando com grande parte dos levantamentos realizados sobre a ciliatofauna ruminal, os quais relatam elevada prevalência deste gênero em ruminantes domésticos (Martinele et al., 2008; Ríspoli et al., 2009; Martinele et al., 2010; Martinele et al., 2014; Cedrola et al., 2014). Segundo Martinele et al. (2008) a predominância do gênero *Entodinium* pode ser explicada pelo fato desse gênero possuir um grande número de espécies, muitas das quais de ampla distribuição, e que também se caracterizam por serem espécies colonizadoras do rúmen.

Os ciliados pertencentes à ordem Entodiniomorpha e caracterizados como preferencialmente celulolíticos, *Eodinium*, *Epidinium*, *Eremoplastron*, *Eudiplodinium*, *Metadinium*, *Ostracodinium* e *Polyplastron* foram observados em maior densidade nos animais mantidos à pasto. Segundo Kozloski (2002), estes ciliados são encontrados em maior densidade em dietas ricas em material fibroso, pois tais dietas estimulam a ruminação e a secreção de saliva, o que mantém o pH ruminal equilibrado e favorável ao estabelecimento de espécies celulolíticas (Williams & Coleman, 1992; Hobson & Stuart, 1997; Dehority, 2003). Ampla representatividade de ciliados entodiniomorfos em animais mantidos à pasto foi também relatada por Martinele et al. (2010) em estudo sobre a ciliatofauna de ovinos mantidos em pastagens naturais de caatinga no semi-árido de Pernambuco.

Como houve efeito da interação ($P < 0,001$) entre as dietas e os grupos genéticos, os gêneros foram analisados separados pelo método de Modelos Lineares Generalizados, assumindo distribuição Poisson. O gênero *Dasytricha* foi observado em todos os animais à pasto e a pasto recebendo suplemento, sendo que a concentração deste gênero foi maior para os animais a pasto (Tabela 3). Para os animais confinados, o maior número de protozoários *Dasytricha* foi observado nos animais da raça Nelore ($0,54 \times 10^4/\text{mL}$), em relação aos Cruzados Nelore x Europeu ($0,08 \times 10^4/\text{mL}$), ficando evidente que fatores metabólicos

individuais do hospedeiro podem influenciar a composição de ciliados no rúmen, tendo em vista que os animais vieram da mesma propriedade e recebiam a mesma dieta.

O gênero *Isotricha* apresentou diferença no número de protozoários em relação aos dois grupos raciais para os animais à pasto com suplemento, sendo a maior concentração observada nos animais Cruzados Nelore x Europeu ($3,74 \times 10^4/\text{mL}$). Porém, na média geral os animais da raça Nelore ($15,65 \times 10^4/\text{mL}$) apresentaram maior quantidade de *Isotricha* que os animais Cruzados Nelore x Europeu ($4,25 \times 10^4/\text{mL}$), e em relação a dieta, a maior concentração foi para os animais à pasto ($25,19 \times 10^4/\text{mL}$), estando de acordo com as informações encontradas na literatura, que relatam a preferência deste gênero por carboidratos não estruturais, normalmente encontrados na parede celular das plantas. Marinho (1983) trabalhando com ovinos oriundos de pastagem, também observou os gêneros *Isotricha* e *Dasytricha* em número relativamente elevado no líquido ruminal após abate, sendo condizente com as informações encontradas neste estudo.

Os protozoários mais envolvidos na degradação de carboidratos não estruturais e açúcares solúveis são os da família Isotrichidae, destacando-se em ruminantes os gêneros *Dasytricha* e *Isotricha*, sendo que estes gêneros foram observados em maior quantidade nos animais à pasto e à pasto com suplementação. Os *Isotricha* e *Dasytricha* são encontrados em grande número no rúmen de animais em regime de pastejo ou dietas contendo quantidade consideráveis de feno, devido à sua capacidade de degradar os polissacarídeos não estruturais e carboidratos solúveis das plantas (HUNGATE, 1966; WILLIAMS e COLEMAN, 1992; OLIVEIRA et al., 1992; JOUANY, 1996).

Além disso, não foram observados indícios do comportamento de escape ao retículo desempenhado por ciliados isotríquidos em ruminantes submetidos a jejum, visto a grande representatividade dos gêneros *Dasytricha* e *Isotricha* em grande parte dos animais analisados (ANKRAH et al., 1990; MARTINELE et al., 2007).

Considerando a prevalência do gênero *Entodinium* para cada dieta e grupo racial (Tabela 3) pôde-se observar que para os animais Cruzados Nelore x Europeu o maior número de ciliados foi encontrado nos animais à pasto ($68,43 \times 10^4/\text{mL}$) e os menores valores para os animais confinados ($33,69 \times 10^4/\text{mL}$). Já os animais da raça Nelore apresentaram quantidades bem expressivas deste ciliado em todos os tratamentos em relação ao outro grupo racial, com exceção apenas dos animais à pasto recebendo suplemento. Na média geral, os ciliados do gênero *Entodinium* foram observados em maior densidade nos animais confinados ($133,53 \times 10^4/\text{mL}$), estando em acordo com outros estudos sobre este gênero, visto que grande parte das espécies que compõem o gênero sejam amilolíticas (WILLIAMS & COLEMAN, 1992).

Tabela 3. Médias ($\times 10^4 \text{ mL}^{-1}$) estimadas para os gêneros *Dasytricha*, *Isotricha* e *Entodinium* em bovinos das raças Nelore e Cruzados $\frac{1}{2}$ Nelore x $\frac{1}{2}$ Europeu mantidos em confinamento, à pasto e à pasto com suplementação, seguindo distribuição Poisson

	Confinado	Pasto	Pasto+Suplemento	Média
<i>Dasytricha</i>				
Cruzado	0,08	24,25	11,08	11,80
Nelore	0,54	21,57	1,45	7,86
Média	0,31	22,91	62,71	
<i>Isotricha</i>				
Cruzado	0,22	8,80	3,74	4,25
Nelore	5,26	41,58	0,11	15,65
Média	2,74	25,19	1,93	
<i>Entodinium</i>				
Cruzado	33,69	68,43	52,68	51,61
Nelore	233,37	130,76	24,190	129,44
Média	133,53	99,59	39,43	

A elevada densidade de espécies pertencentes ao gênero *Entodinium* em animais mantidos com dietas compostas por altos teores de concentrado energético é benéfica para o hospedeiro, visto que estes protozoários controlam a taxa de fermentação no rúmen podendo evitar acidose ruminal (Nagaraja et al., 1992; RUSSEL & Richlik, 2001), no presente trabalho os animais Nelore apresentaram maior quantidade deste gênero em relação aos Cruzados Nelore x Europeu, demonstrando a maior capacidade de adaptação da raça Nelore a diferentes dietas.

A população do gênero *Diplodinium* se manteve semelhante em ambos os grupos raciais para os animais à pasto (Tabela 4). Vanderwath & Myburgh (1941), em trabalho realizado com carneiros na África, observaram que a população de *Diplodinium spp.* aparece em maior concentração no inverno em gramíneas de baixa qualidade, podendo degradar com mais eficiência a fibra da forragem. O presente trabalho compreendeu um período de inverno, com utilização de pastagem típica para os animais Cruzados Nelore x Europeu, no entanto não foi observada diferença no aumento de protozoários deste gênero em relação ao grupo racial oriundo da pastagem de verão, tendo em vista que ambas apresentaram qualidade bromatológica semelhantes (Tabela 1).

A maior quantidade de protozoários do gênero *Diplodinium* foi observada nos animais da raça Nelore confinada ($9,77 \times 10^4/\text{mL}$). Os menores valores foram para os animais da raça Nelore à pasto com suplemento ($0,096 \times 10^4/\text{mL}$). Embora a diferença não tenha sido expressiva, os animais confinados ($6,10 \times 10^4/\text{mL}$) apresentaram maior quantidade de *Diplodinium* do que os animais à pasto ($5,45 \times 10^4/\text{mL}$), mesmo sendo animais confinados recebiam alta proporção de alimento volumoso, estando de acordo com vários autores, que descrevem o gênero *Diplodinium spp.*, por apresentarem consideráveis concentrações de celulase, como sendo degradadores de fibra, observando aumentos de suas populações em dietas fibrosas (HUNGATE, 1966; WILLIANMS e COLEMAN, 1992; JOUANY, 1996). Conforme relatado por Michalowski (1977) a taxa de divisão de ciliados *Diplodinium* é maior cerca de 8 horas após a alimentação, como os animais são oriundos de diferentes propriedades, essas diferenças no número de protozoários podem ser atribuídas ao fato de terem sido alimentados em diferentes períodos ou horários.

Tabela 4. Médias ($\times 10^4 \text{ mL}^{-1}$) estimadas para os gêneros *Diplodinium*, *Diploplastron* e *Eodinium* em bovinos das raças Nelore e Cruzados $\frac{1}{2}$ Nelore x $\frac{1}{2}$ Europeu mantidos em confinamento, à pasto e à pasto com suplementação, seguindo distribuição Poisson

	Confinado	Pasto	Pasto+ suplemento	Média
<i>Diplodinium</i>				
Cruzado	2,35	5,28	1,74	3,13
Nelore	9,77	5,65	0,096	5,19
Média	6,10	5,46	0,92	
<i>Diploplastron</i>				
Cruzado	0,62	2,73	1,42	1,59
Nelore	4,86	4,00	0,36	3,07
Média	2,74	3,36	0,89	
<i>Eodinium</i>				
Cruzado	0,19	1,26	0,61	0,68
Nelore	0,61	1,36	0,36	0,77
Média	0,39	1,31	0,49	

Com exceção do grupo de animais à pasto recebendo suplemento, o gênero *Diploplastron* foi observado em maior quantidade nos animais da raça Nelore (tabela 4). Nos animais confinados, pôde-se observar grande diferença no número de ciliados deste gênero para os animais Cruzados Nelore x Europeu ($0,62 \times 10^4/\text{mL}$), em relação aos Nelores ($4,86 \times$

$10^4/\text{mL}$). Entre as três dietas, na média geral, os animais à pasto apresentaram a maior concentração de *Diploplastron* ($3,36 \times 10^4/\text{mL}$).

Conforme descrito anteriormente, os ciliados pertencentes à ordem Entodiniomorpha, incluindo os gêneros *Diploplastron* e *Eodinium*, são encontrados em maior densidade nos animais mantidos à pasto (Williams & Coleman, 1992). Sendo o gênero *Eodinium* encontrado em quantidade bem expressiva ($1,31 \times 10^4/\text{mL}$) quando comparado aos animais a pasto com suplemento ($0,49 \times 10^4/\text{mL}$) e confinados ($0,39 \times 10^4/\text{mL}$) (Tabela 4), o que se justifica pela maior concentração de FDN encontrada nos alimentos volumosos (tabela 1), uma vez que protozoários deste gênero, juntamente com o gênero *Epidinium* (Tabela 5), tem habilidade em degradar a celulose e hemicelulose (Williams & Coleman, 1985). Para os animais a pasto, o número de protozoários não apresentou variação para ambas as raças, pode-se dizer que existe uma estabilidade maior para este gênero quando os animais são submetidos a dieta exclusivas a pasto, já que dietas ricas em material fibroso estimulam a ruminação e secreção de saliva, mantendo os níveis do pH favorável ao estabelecimento de espécies celulolíticas (DEHORITY, 2003).

Tabela 5. Médias ($\times 10^4 \text{ mL}^{-1}$) estimadas para os gêneros *Epidinium*, *Eremoplastron* e *Eudiplodinium* em bovinos das raças Nelore e Cruzados $\frac{1}{2}$ Nelore \times $\frac{1}{2}$ Europeu mantidos em confinamento, à pasto e à pasto com suplementação, seguindo distribuição Poisson

	Confinado	Pasto	Pasto + suplemento	Média
<i>Epidinium</i>				
Cruzado	0,47	7,61	5,68	4,58
Nelore	0	6,25	0,03	2,09
Média	0,23	6,93	2,85	
<i>Eremoplastron</i>				
Cruzado	0,39	1,93	0,54	0,95
Nelore	1,19	3,10	0	1,43
Média	0,80	2,52	0,27	
<i>Eudiplodinium</i>				
Cruzado	0,49	2,44	3,07	2,00
Nelore	0,67	4,03	0,14	1,61
Média	0,58	3,24	1,61	

No presente estudo, o gênero *Epidinium* foi observado em maiores quantidades nos animais mantidos à pasto, em ambas as raças (Tabela 5) seguido dos animais à pasto com suplemento ($2,85 \times 10^4/\text{mL}$), e as menores concentrações nos animais confinados ($0,23 \times 10^4/\text{mL}$), sendo que os Nelores não apresentaram ciliados deste gênero quando confinados, corroborando com relatos de outros autores, que citam o gênero *Epidinium* por participar ativamente na degradação de material rico em celulose (Manella & Lourenço, 2004; Williams & Coleman, 1992). Dietas ricas em forragem variam extensivamente na disponibilidade de seus nutrientes para o uso microbiano, sendo que os tipos de tecidos que os constituem influenciam a degradação microbiana, dependendo da maior ou menor concentração de celulose, hemicelulose e lignina (Nogueira Filho, et al., 1992). Dentre os ciliados deste gênero, os da espécie *Epidinium caudatum* são os que apresentam maior concentração de celulase no citoplasma para degradação da parede celular de plantas forrageiras (Williams & Coleman, 1992), podendo justificar assim as altas concentrações nos animais a pasto, sendo que a baixa concentração deste gênero para os animais Cruzados Nelore x Europeu e a ausência para os Nelores confinados podem ser atribuídas a fermentação ruminal pela adição de concentrado a dieta.

Trabalhos realizados com ovinos mostram que o gênero *Epidinium* tem sido observado na ausência de *P. multivesiculatum* (Franzolin Neto *et al.*, 1988; Franzolin & Franzolin, 2000; Nogueira Filho *et al.*, 1984; Nogueira Filho *et al.*, 1998; Oliveira *et al.*, 1987; Valvassori *et al.*, 1996). Para bovinos não segue esse mesmo perfil, já que foi constatada a presença de populações desses dois gêneros coexistindo (Tabela 6), com exceção apenas dos animais confinados da raça Nelore. Este dado, além de controverso ao da literatura estudando ovinos, aponta a necessidade de mais estudos desta natureza na população de bovinos, a fim de se conhecer as relações que esses protozoários estabelecem com o hospedeiro e entre eles.

Os gêneros *Eremoplastron* e *Eudiplodinium* foram observados em maiores concentrações nos animais à pasto ($2,52$ e $3,24 \times 10^4/\text{mL}$ respectivamente). Tendo em vista que estes gêneros apresentam elevada atividade celulolítica e provavelmente devido ao hábito alimentar preferencialmente celulolítico da única espécie pertencente a este gênero, *Eudiplodinium maggii* (Williams & Coleman, 1992). Em relação ao grupo racial, para o gênero *Eremoplastron* as maiores concentrações foram observadas nos animais da raça Nelore ($1,43 \times 10^4/\text{mL}$) e o *Eudiplodinium* os Cruzados Nelore x Europeu ($2,00 \times 10^4/\text{mL}$) apresentaram maiores quantidades.

Os resultados deste estudo estão de acordo com o descrito na literatura para os gêneros *Metadinium*, *Ostracodinium* e *Polyplastron* (Tabela 6) visto que as maiores concentrações

para estes gêneros foram encontrados nos animais à pasto (1,85; 3,60 e 1,32 x 10⁴/mL, respectivamente). Estes gêneros são conhecidos por sua capacidade em ingerir e fermentar material fibroso (VAN SOEST, 1994; WILLIAMS, 1986).

Tabela 6. Médias (x10⁴ mL⁻¹) estimadas para os gêneros *Metadinium*, *Ostracodinium* e *Polyplastron* em bovinos das raças Nelore e Cruzados ½ Nelore x ½ Europeu mantidos em confinamento, à pasto e à pasto com suplementação, seguindo distribuição Poisson

	Confinado	Pasto	Confinado+Pasto	Média
<i>Metadinium</i>				
Cruzado	0,047	1,50	1,63	1,06
Nelore	1,05	2,20	0	1,08
Média	0,55	1,85	8160	
<i>Ostracodinium</i>				
Cruzado	0	2,76	4,99	2,58
Nelore	0	4,43	0,031	1,48
Média	0	3,60	2,51	
<i>Polyplastron</i>				
Cruzado	0	1,36	0,84	0,74
Nelore	2,09	1,29	0,048	1,14
Média	1,04	1,32	0,45	

Protozoários do gênero *Ostracodinium* são mais importantes na digestão da celulose do que do amido, sendo assim tendem a diminuir sua concentração quando adicionado concentrado a dieta (Williams e Coleman, 1991). Corroborando com essa informação, o presente estudo mostra que houve redução na média dos protozoários quando os animais recebiam suplemento em relação aos animais alimentados somente com pastagem. Considerando a maior concentração de FDN (61,86 vs 42,39%) e FDA (33,58 vs 22,37%) das dietas fornecidas para os animais a pasto em relação ao outro grupo, justifica-se a redução destes ciliados visto a sua preferência por alimentos fibrosos.

Outro fator importante a ser considerado sobre as variações dos protozoários no rúmen de bovinos em pastagem são as modificações das características da vegetação (Manella & Lourenço, 2004, Martinele et al. 2010), que podem resultar em alterações no valor nutritivo das espécies utilizadas como forragem, estando associado a variações no seu ciclo fisiológico, podendo ocorrer flutuações no conteúdo de nutrientes e de matéria seca (Araújo Filho et al.,

2002). As gramíneas utilizadas neste trabalho apresentaram qualidade bromatológica satisfatória, próximas a valores descritos na literatura (Caro-Costas et al., 1972; Van Soest, 1994). Mesmo trabalhando com uma gramínea de inverno (Azevém) e outra de verão (Estrela Africana), não foi observada diferenças nas populações de ciliados entre os dois grupos raciais alimentados a pasto, pode-se dizer que animais submetidos a regime de pastejo apresentam menor variação na concentração de protozoários no rúmen, já que apresentam habito de consumo constante de forragem ao longo do dia, mantendo o pH estável, diminuindo assim as variáveis que afetam a microbiota do rúmen.

A variação na concentração de protozoários no rúmen, está muito mais ligada a qualidade nutritiva da forragem e a variações sazonais, conforme constatado por Bonhomme-Florentin (1974) que verificaram maior densidade de protozoários ciliados no rúmen de *Bos indicus* durante a estação úmida, já que a qualidade nutritiva das pastagens oscila em função da estacionalidade e do ciclo produtivo, tendo em vista que pastagens no final do ciclo apresentam maior concentração de FDA, afetando assim a qualidade da forragem.

Para melhor explicar as correlações entre as características estudadas, os dados foram submetidos a Análise dos Componentes Principais (PCA), que tem por finalidade básica, a análise dos dados usados visando sua redução, eliminação de sobreposições e a escolha de formas mais representativas de dados a partir de combinações lineares das variáveis originais (VARELLA, 2008).

Das 12 variáveis, os dois primeiros componentes explicam 54,99% da variação total de todos os gêneros. Com base nisto, os outros 10 componentes foram ignorados. Os coeficientes dos Componentes Principais Y_1 e Y_2 que são dados por:

$$Y_1 = 0,09295 \text{ ENTODINIUM} + 0,01392 \text{ DASYTRICHA} + 0,17296 \text{ ISOTRICHA} + 0,08420 \text{ DIPLODINIUM} + 0,12819 \text{ DIPLOPLASTRON} + 0,13488 \text{ EPIDINIUM} + 0,10995 \text{ METADINIUM} + 0,13323 \text{ EREMOPLASTRON} + 0,17526 \text{ EUDIPLODINIUM} + 0,12407 \text{ POLYPLASTRON} + 0,15693 \text{ EODINIUM} + 0,13441 \text{ OSTRACODINIUM}$$

$$Y_2 = 0,31657 \text{ ENTODINIUM} - 0,13659 \text{ DASYTRICHA} + 0,00781 \text{ ISOTRICHA} + 0,25252 \text{ DIPLODINIUM} + 0,21387 \text{ DIPLOPLASTRON} - 0,23687 \text{ EPIDINIUM} - 0,9682 \text{ METADINIUM} + 0,07536 \text{ EREMOPLASTRON} - 0,14306 \text{ EUDIPLODINIUM} + 0,25221 \text{ POLYPLASTRON} + 0,03647 \text{ EODINIUM} - 0,26840 \text{ OSTRACODINIUM}$$

As correlações dos gêneros de protozoários com os componentes principais estão representados na Tabela 7.

Tabela 7. Correlações dos gêneros de protozoários com os Componentes Principais Y₁ e Y₂

Gêneros	Componentes Principais	
	Y ₁	Y ₂
<i>Entodinium</i>	0,41003	0,69264
<i>Dasytricha</i>	0,73540	-0,29885
<i>Isotricha</i>	0,76292	0,01708
<i>Diplodinium</i>	0,37141	0,55251
<i>Diploplastron</i>	0,56547	0,46795
<i>Epidinium</i>	0,59496	-0,51826
<i>Metadinium</i>	0,48498	-0,21184
<i>Eremoplastron</i>	0,58770	0,16489
<i>Eudiplodinium</i>	0,77307	-0,31300
<i>Polyplastron</i>	0,54727	0,55183
<i>Eodinium</i>	0,69223	0,07979
<i>Ostracodinium</i>	0,59287	-0,58724

Os gêneros *Dasytricha*, *Isotricha*, *Eudiplodinium* e *Eodinium* estão mais correlacionados com Y₁ (Tabela 7). A dieta apresentou efeito significativo ($P < 0,01$) para ambos os componentes, no entanto para o Y₁ a raça não teve efeito ($P > 0,01$). Mostrando neste caso, que a raça não tem efeito sozinha, sendo a população destes gêneros de protozoários muito mais influenciada pelas dietas. Foi observado efeito significativo ($P < 0,01$) para interação raça x dieta para os animais confinados e para os animais à pasto com suplemento. Tal efeito pode ser explicado, tendo em vista que os efeitos da adição de concentrado sobre os protozoários ruminais dependem do nível e da composição química do concentrado adicionado a dieta, das possíveis variações do pH ruminal em relação a composição do concentrado fornecido, do tempo decorrido após a alimentação e, sobretudo, dos gêneros que compõem essas populações de protozoários, já que respondem de forma diferenciada a natureza da dieta. Considerando que os animais confinados, consumindo a mesma dieta e oriundos da mesma propriedade apresentaram diferença significativa, fica evidente a influência do grupo racial na população de protozoários ruminais, chamando a atenção para importância de novos estudos confrontando diferentes grupos, uma vez que a maioria dos

estudos se concentra nos aspectos relacionados a dieta, tais como o tipo, a quantidade e intervalo após a alimentação.

Para os animais a pasto não foi observado efeito ($P > 0,01$) em relação ao Y_1 . Animais mantidos em pastagem apresentam maior estabilidade dos protozoários ruminais, pois dietas ricas em material fibroso estimulam a ruminação e a secreção de saliva, mantendo o pH do rúmen equilibrado e favorável ao desenvolvimento de protozoários da família Isotrichidae (*Isotricha* e *Dasytricha*) e dos ciliados pertencentes a ordem Entodiniomorpha, dentre eles os do gênero *Eudiplodinium* e *Eodinium* (KOZLOSKI, 2002; WILLIAMS e COLEMAN, 1991).

O gênero *Diplodinium* é o que menos se correlaciona com o Y_1 , segundo Nogueira Filho (1992) nunca são detectadas populações deste gênero em quantidades maciças, tanto em animais ingerindo elevadas quantidades de grãos, como naqueles submetidos a condições de pastejo ou feno, embora seja descrito como preferencialmente degradadores de fibra (Williams & Coleman, 1991), provavelmente por serem pastagens de boa qualidade, com teor médio a alto de PB e fração fibrosa de boa qualidade (Tabela 1).

As raças não apresentaram efeito significativo ($P > 0,01$) em relação ao Y_1 . No entanto, quando analisado cada grupo racial entre as três dietas, foi observada diferença significativa ($P < 0,01$) tanto para os animais Cruzados Nelore x Europeu quanto para os da raça Nelore. Martinele et al. (2008) trabalhando com bovinos mestiços (holandês x zebu) não constataram diferenças individuais entre os animais, para a composição e concentração de protozoários ruminais. O que mostra que não houve influência de características inerentes ao hospedeiro, conforme já observado por outros autores, trabalhando com bovinos submetidos a tratamentos idênticos, cujas populações de ciliados variou em função da dieta e do animal (Franzolin e Dehority, 1996; D'Agosto et al., 1998). Evidenciando assim, a forte influência da dieta sobre a composição de protozoários no rúmen de bovinos.

O gênero *Entodinium* está mais correlacionado com o Y_2 , ao passo que os gêneros *Ostracodinium*, *Epidinium*, *Eudiplodinium*, *Dasytricha* e *Metadinium* apresentaram correlação negativa com o Y_2 . Foi observado efeito entre as raças apenas para os animais confinados ($P < 0,01$). Vários autores descrevem o gênero *Entodinium* como sendo protozoário predominante na contagem total, podendo chegar a 90%, especialmente quando a dieta é a base de concentrado (Hungate, 1966; Nogueira Filho et al., 1992; D'Agosto et al., 1996; D'Agosto & Guedes, 2000; Franzolin & Franzolin, 2000). Essa predominância do gênero *Entodinium* na composição dos ciliados do rúmen pode ser devido ao fato deste gênero

apresentar várias espécies de ampla distribuição e ocorrência dentre vários ruminantes domésticos e selvagens (OGIMOTO & IMAI, 1981).

Em contra ponto, ciliados do gênero *Ostracodinium*, *Epidinium*, *Eudiplodinium*, *Dasytricha* e *Metadinium*, são predominantes em animais recebendo dietas exclusivas de volumosos, podendo assim ser explicada a correlação negativa destes gêneros com o Y_2 . Quando rações exclusivas ou com elevados níveis de concentrado são oferecidas aos ruminantes, ocorre queda do pH ruminal para níveis próximos ou abaixo de 6, ocorrendo decréscimo de alguns gêneros de protozoários, prevalecendo o *Entodinium*, que são mais resistentes a pH ácido.

Para o Y_2 a raça apresentou efeito significativo ($P < 0,01$), no entanto, entre as dietas foi observado efeito para a raça Nelore. Mostrando maior estabilidade dos protozoários ruminais para os animais do grupo racial Cruzado Nelore x Europeu.

Sendo uma importante informação sobre a variação das populações dos protozoários em diferentes raças, tendo em vista que são poucos estudos que confrontam grupos raciais.

No Brasil, Nogueira Filho et al. (1991) identificaram 8 gêneros de protozoários em bovinos da raça Nelore e 10 em búfalos, com frequência de aparecimento do gênero *Entodinium* superior a 80 % em ambas as espécies, enquanto que Imai (1988), no Kênia, observou apenas 14,6%, e no Siri Lanka (Imai, 1986), 63,5%, em ambos apenas com animais zebuínos.

No presente trabalho o gênero *Entodinium* foi observado com frequência de 75,57 e 66,54% para os animais da Raça Nelore e Cruzado Nelore x Europeu, respectivamente. Estando de acordo com as observações feitas por outros autores, em raças zebuínas. D'Agosto et al. (1996), analisando o líquido de rúmen de bovinos mestiços Gir-Holandês, também observaram predominância do gênero *Entodinium* (50%).

O gênero *Polyplastron* tem forte correlação com o Y_1 e Y_2 (Tabela 7). O desenvolvimento de ciliados deste gênero depende da espécie, podendo se desenvolver em ambiente com a presença de amido e também em altas concentrações de celulose, como é o caso da espécie *P. multivesiculatum*.

Conclusão

Existem diferenças entre espécies de hospedeiros, quanto à fauna ciliada do rúmen, sendo que animais da raça Nelore apresentam maior quantidade de ciliados (66,54%), em relação ao grupo racial Cruzado Nelore x Europeu (33,46%). A dieta influencia a população de protozoários ciliados no rúmen. Alimento concentrado e volumoso fermentado inibe o

desenvolvimento dos gêneros *Epidinium*, *Ostracodinium* e *Polyplastron*. Alimento volumoso a base de pastagem mantém estável a concentração e as populações de ciliados ruminais. Animais alimentados à pasto apresentam maiores concentrações de ciliados (46,20%) em relação a animais Confinados (38,83%) e animais à pasto recebendo suplemento (14,96%). Comparações da fauna ciliada do rúmen de várias espécies de ruminantes em diferentes sistemas de alimentação oferecem importantes informações sobre as características entre os protozoários ciliados do rúmen, assim como de suas relações com os hospedeiros.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos concedida; à Empresa Miolar Alimentos Ltda pela permissão em realizar as coletas.

Referências Bibliográficas

AKIN, D. E. Microbial breakdown of feed in the digestive tract. In: HACKER, J. B. ed. **Nutritional limits to animal production from pastures**. Queensland, Commonwealth Agricultural Bureaux, p. 201 – 23, 1981.

ANKRAH, P.; LOERCH, S.C.; DEHORITY, B.A. Sequestration migration and lysis of Protozoa in the rumen. **Journal General Microbiology**, v.136, p. 1869-1875, 1990.

ARAÚJO-FILHO, J.A.; F.C. CARVALHO & N.L. SILVA. Fenologia y valor nutritivo de follajes de algunas especies forrajeras de la Caatinga. **Agroforestía en las Américas**, Costa Rica, **9**: 33-37. 2002.

BONHOMME-FLORENTIN, A. Contribution à l'étude de la physiologie des ciliés Entodiniomorphes endocommensaux des ruminants et des équidés. *An. Sci. Nat.*, v. 16, p. 155-283, 1974.

CARO-COSTAS, R.; ABRUM, F.; VICENT-CHANDLER, J. Comparison of pangola and stargrass pastures in terms of beef production and carrying capacity in the humid mountain region of Puerto Rico. **J. Agr. U. Puerto Rico**, 56: 104-109. 1972.

CEDROLA, F., MARTINELE, I., ROSSI, M. MEDEIROS, G.R., SANTOS, G.R.A., CARVALHO, F.F.R. & D'AGOSTO, M. Protozoários ciliados do rúmen de ovinos do nordeste brasileiro e infraciliatura de *Enoploplastron triloricaatum* (Dogiel, 1925). *Principia*, 17, 71-79, 2014.

COLEMAN, G.S. **The metabolism of rumen ciliate protozoa**. FEMS Microbiology Reviews, 39, 321-344, 1986.

D'AGOSTO, M.; GUEDES, P. M. M. Caracterização das populações de ciliados (Protista, Ciliophora) do rúmen de bovinos de corte no estado de Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Zootecias**, v.2, n.1, p.81-90, 2000.

D'AGOSTO, M. & CARNEIRO, M.E. Evaluation of lugol solution used for counting rumen ciliates. **Revista Brasileira de Zoologia**, v.16, p. 725-729, 1999.

D'AGOSTO, M.; M.R. SANTA-ROSA; L.J. M. AROEIRA & F.C.F. LOPES. Influência da dieta no comportamento da população de ciliados do rúmen. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, **50**: 153-159. 1998.

D'AGOSTO, M. & M.R. SANTA ROSA. Influência do hospedeiro no perfil populacional e nas populações de ciliados no rúmen de bovinos. **Revta bras. Zool.** **15**:389-396, 1998.

D'AGOSTO, M. ; M.E. CARNEIRO; C.M.M. NETTO & P.B. ARCURI. Avaliação de ciliados do rúmen de bovinos mantidos com duas dietas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, **48**: 353-361. 1996.

DEHORITY, B.A. *Rumen Microbiology*, Nottingham University Press, Nottingham, 372 pp. 2003.

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

FRANZOLIN, R.; FRANZOLIN, M. H. T. População de protozoários ciliados e degradabilidade em búfalos e bovinos zebuínos sob dieta à base de cana-de-açúcar. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.6, p.1853-1861, 2000.

FRANZOLIN, R. & DEHORITY, B. A. Effect of prolonged high-concentrate feeding on ruminal protozoa concentrations. **Journal Animal Science**, v.74, p. 2803-2809, 1996.

FRANZOLIN NETO, R., FRANZOLIN, M.H.T., VELLOSO, L., LIMA, C.G. Efeitos da *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit sobre a concentração de protozoários ciliados no rúmen de ovinos. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, **25** (2): 267-273. 1988.

© 2014 • GEBIOMET - Grupo de Estudos em Biometeorologia • UTFPR - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

GÖÇMEN, B.; DEHORITY, B.A.; RASTGELDI, S. The occurrence of rumen ciliate *Metadinium banksi* Dehority, 1985 (Ophryoscolecidae, Entodiniomorpha) from domestic goats (*Capra hircus* L.) in Southeastern Turkey. **Turk J Zool**, 26, 367-370, 2002.

HOBSON, P. N. & STEWART, C. S. **The Rumen Microbial Ecosystem**. 2nd ed. 719p. 1997.

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

IMAI, S. Ciliate protozoa in the rumen of Kenyan zebu cattle, *Bos Taurus indicus*, with the description of four new species. **Journal Protozool.** 130-136, 1988.

IMAI, S. Rumen ciliate protozoal faunae of the zebu cattle (*Bos indicus*) in Sri Lanka, with description of a new species, *Diplodinium sinhalicum* sp. nov. *Zoolog. Sci.*, 3(4):699-706, 1986.

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.

JOUANY, J. P. Effect of the rumen protozoa on nitrogen utilization by ruminants. *J. Nutr.*, Bethesda, v. 126 (suppl.), p. 1335-1346, 1996.

KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. Ed. UFSM, Santa Maria, 140 p. 2002.

MANELLA, M.Q. & A.J. LOURENÇO. População de protozoários ciliados no rúmen de bovinos nelore em pastos de *Brachiaria brizantha* Marandu recebendo suplemento protéico ou com livre acesso a banco de proteína de *Leucaena leucocephala* nas diferentes estações do ano. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, 61 (1): 01-11. 2004.

MARINHO, A. A. M. Ciliate protozoa in the rumen of grazing sheep. **Rev. Port. Cienc. Vet.**, v. 78, p. 157-165, 1983.

MARTINELE, I.; SILVA, L. F.; D'AGOSTO, M.; MUNIZ, E. N.; SÁ, J. L. de; SANTOS, G. R. A. *Short Communication*: Abundance and diversity of rumen protozoa in lambs fed *Gliricidia sepium* silage. **Revista Brasileira de Zootecnia**, *accept*: July, 2014.

MARTINELE, I., SANTOS, G.R.A., MATOS, D.S., BATISTA, A.M.V. & D'AGOSTO, M. Diet botanical composition and rumen protozoa of sheep in Brazilian semi-arid area. *Archivos de Zootecnia*, 59, 169-175, 2010.

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. **Rev. Bras. Saúde Prod. An.**, v.9, n.1, p. 74-81, 2008 (a).

MARTINELE, I., Protozoários ciliados no rúmen de ovinos mestiços mantidos em pastagem natural de caatinga. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.9, n.2, p. 280-292. 2008 (b).

MARTINELE, I. **Variação estacional das populações de protozoários ciliados (Protista, Ciliophora) do rúmen de ovinos (*Ovis aries* L.) mantidos em pastagens naturais no semiárido de Pernambuco, Brasil**. 2007. 81 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora.

MARTINELE, I.; DETONI, M. de L.; RUST, N. M.; D'AGOSTO, M. Protozoários ciliados (Protista, Ciliophora) no conteúdo do rúmen e do retículo de bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 9(1): 63-66, 2007.

MICHALOWSKI, T. Diurnal changes in concentration of rumen ciliates and in occurrence of dividing forms in water buffalo (*Bubalus bubalus*) fed once daily. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, 33 (4): 802-804. 1977.

NAGARAJA, T.G., G. TOWNE & A.A. BEHARKA. Moderation of ruminal fermentation by ciliated protozoa in cattle fed a high-grain diet. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, **58** (8): 2410-2414. 1992.

NOGUEIRA-FILHO, J. C. M.; LUCI, C. S.; OLIVEIRA, M. E. M.; MELOTTI, L.; VALVASORI, E.; LIMA, C. G.; CUNHA, J. A. 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.

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. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, 28:243-247, 1991.

NOGUEIRA-FILHO, J.C.M.; M.E.M. OLIVEIRA; L.R.A. TOLEDO, L. V. Protozoários ciliados no rúmen de zebuínos e bubalinos submetidos a dietas com volumosos e concentrados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, **33** (6): 993-999. 1998.

NOGUEIRA-FILHO, J.C.M.; M.E.M. OLIVEIRA; J.S.M. VEIGA & C.S. LUCI. Cronologia do aparecimento de protozoários ciliados no rúmen de bezerros do tipo "Mantiqueira" (*Bos taurus* L.), na região do Vale do Paraíba, S.P. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, São Paulo, **21** (2): 119-124. 1984.

OGIMOTO, K.; IMAI, S. **Atlas of rumen microbiology**. Tokyo: Japan Scientific Societies, 231p. 1981.

OLIVEIRA, M. E. M., WATANABE, I.; NOGUEIRA FILHO, J. C. M. Ultra estrutura de membrana celular de *Dasytricha ruminantium* encontrada no líquido ruminal de bubalinos *Bubalus bubalis* da raça Mediterrânea. In: **SIMPOSIO TÉCNICO ESP. ULTRAESTRUTURA DE MENBRANAS**, p. 63-64. 1992.

OLIVEIRA, M.E.M.; J.C.M. NOGUEIRA-FILHO; C.S. LUCI; W. DUPAS & C.G. LIMA. Desenvolvimento de populações de protozoários ciliados no rúmen de ovinos (*Ovis Aires* L.) criados em Itapetininga, São Paulo. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, São Paulo, **24** (2): 225-232. 1987.

RÍSPOLI, T.B., LOPES, I.R., NETO, R.G.M., KAZAMA, R., PRADO, O.P.P., ZEOULA, L.M. & ARCURI, P.B. Protozoários ciliados do rúmen de bovinos e bubalinos alimentados com dietas suplementadas com monensina ou própolis. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 44, 92-97, 2009.

RUSSEL, J. B.; J.L. RYCHLIK. Factors that alter rumen microbial ecology. **Science**, Washington, **292** (5519): 1119-1122. 2001.

SAEG Sistema para Análises Estatísticas, Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes - UFV - Viçosa, 2007.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análises de alimentos** (métodos químicos e biológicos). 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 235p. 2004.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. **System for Microsoft Windows**: release 8.2. Cary: 2001. 1 CD-ROM.

VALVASSORI, E.; LUCCI, C.S. ; NOGUEIRA FILHO, J.C.M.; OLIVEIRA, M.E.M.; ARCARO, J.R.P.; PIRES, F.L. ; ARCARO JUNIOR, I. Ensaio de digestibilidade aparente da silagem de milho e cana-de-açúcar com ovinos: efeitos na população de protozoários ciliados no rúmen. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, **33** (2): 97-101. 1996.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. Ithaca: Cornell University Press, 476p. 1994.

VAN DER WATH, J.G. & MYBURGH, S.J. 'Studies on the alimentary tract of merino sheep in South Africa. VI. The role of infusoria in ruminal digestion with some remarks on ruminant bacteria', *Onderstepoort Journal of Veterinary Science and Animal Industry* 17, 61–85, 1941.

VARGA, G.A. & E.R.S. KOLVER. Conference: new developments in forage science contributing to enhanced fiber utilization by ruminants. **Journal of Nutrition**, **127**:819S-823S. 1997.

VARRELA, C. A. A. **Análise de Componentes Principais**. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2008.

VIDAL, M. J.; PAIVA, A. C. P.; ARCURI, P. B. et al. Efeito de diferentes doses de enxofre no consumo voluntário e nas populações de protozoários do rúmen de novilhas mestiças alimentadas com capim-elefante de baixa qualidade. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 31, n. 1, p. 218-222, 2007.

WILLIAMS, A.G. & G.S. COLEMAN. **The Rumen Protozoa**. London: Springer-Verlag, New York Inc, 423 p. 1992.

WILLIAMS, A. G.; COLEMAN, G. S. The rumen protozoa. Springer-Verlag, New York Inc. 423p., 1991.

WILLIAMS, A.G. *Rumen holotrich ciliate protozoa*. Microbiology Reviews, 50:25, 1986.

WILLIAMS, A.G. & G.S. COLEMAN. **The Rumen Microbial Metabolism and Ruminant Digestion**. Ed. Por: JOUANY, J. P., Science Update, 263 p. 1985.

This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.
This page will not be added after purchasing Win2PDF.