

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

JANIELE TIBURTINO DE LIRA
Zootecnista

**PALMA FORRAGEIRA E UREIA EM SUBSTITUIÇÃO AO FENO DE TIFTON
NA ALIMENTAÇÃO DE OVINOS**

RECIFE - PE

FEVEREIRO / 2013

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

JANIELE TIBURTINO DE LIRA
Zootecnista

**PALMA FORRAGEIRA E UREIA EM SUBSTITUIÇÃO AO FENO DE TIFTON
NA ALIMENTAÇÃO DE OVINOS**

RECIFE - PE

FEVEREIRO / 2013

JANIELE TIBURTINO DE LIRA

**Palma forrageira e ureia em substituição ao feno de tifton na alimentação de
ovinos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Nutrição Animal

Comitê de orientação:

Profa. Dra Ângela Maria Vieira Batista – orientador principal

Prof. Dr. Kléber Régis Santoro – Coorientador

Prof. Dra. Adriana Guim – Coorientadora

**RECIFE - PE
FEVEREIRO - 2013**

Ficha catalográfica

L768p Lira, Janiele Tiburtino de
Palma forrageira e ureia em substituição ao feno de tifton
na alimentação de ovinos / . Janiele Tiburtino de Lira – Recife,
2013.
46 f. : il.

Orientadora: Ângela Maria Vieira Batista
Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade
Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Zootecnia,
Recife, 2013.
Referências.

1. AGV 2. Biofilme 3. Comunidade de ciliados
4. Consumo 5. Digestibilidade 6. Nitrogênio I. Batista,
Ângela Maria Vieira, orientadora II. Título

CDD 636.0852

JANIELE TIBURTINO DE LIRA

**Palma forrageira e ureia em substituição ao feno de tifton na alimentação de
ovinos**

Dissertação defendida e aprovada pela Comissão Examinadora em 26 de fevereiro de
2013

Comissão Examinadora:

Profa. Dra. Ângela Maria Vieira Batista
Departamento de Zootecnia
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Presidente

Prof. Dr. Francisco Fernando Ramos de Carvalho
Departamento de Zootecnia
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Profa. Dra. Adriana Guim
Departamento de Zootecnia
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. Evaristo Jorge Oliveira de Souza
Unidade Acadêmica de Serra Talhada
Universidade Federal Rural de Pernambuco

**RECIFE - PE
FEVEREIRO - 2013**

Ao **Deus**, meu amigo de todas as horas, aquele que faz com que todas as coisas cooperem para o bem daquele que o ama. Toda honra e glória seja dada a ele.

À minha maravilhosa mãe **Maria Cleonice Tiburtino de Lira**, pelo exemplo de vida, amor e dedicação.

Ao meu pai, **Izídio Cordeiro de Lira**, pela vida, orientação e carinho.

Aos meus irmãos, **Nadjaine, Jaqueline, Givanildo, Clênio, Wellington e Ericlis**, pelo apoio e incentivo.

Aos meus sobrinhos, **Áquiles, Iara, Helton, Natália, Wlisses e Ionny**, por serem minha fonte de ternura e paz.

Às minhas cunhadas, **Andrea, Yrielma e Rubiana**, pelo apoio e carinho.

Ao meu grande companheiro, **Silvio José da Silva**, por estar ao meu lado em todos os momentos com alegria e amor, pelos conselhos, apoio, carinho e amizade.

A **todos os familiares**, tios, tias e primos por todo incentivo.

DEDICO

Ao meu amado marido, **Silvio José da Silva**, em quem encontro felicidade e incentivo
para prosseguir nesta jornada...

À minha mãe, **Maria Cleonice Tiburtino**, por estar ao meu lado, não importa as
circunstâncias, pois tem amor verdadeiro por mim...

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, que em nenhum momento saiu de dentro de mim, mesmo quando eu esquecia que Ele estava trabalhando a meu favor.

À professora, **Ângela Maria Vieira Batista**, pelo apoio, ensinamentos e dedicação durante esta jornada.

À professora, **Adriana Guim**, pelas contribuições e apoio durante esta jornada.

Ao professor, **Kléber Regis**, pelo apoio, ensinamentos e encorajamento.

Aos meus colegas de mestrado, **Barbara, Janaína, Marta, Denea e Amância**, que são grandes companheiros de viagem.

À minha colega de experimento, **Alessandra Oliveira**, pela incomparável contribuição depositada neste trabalho.

As colegas de experimento, **Enidene Christina Moraes**, pela grande contribuição na execução da nossa pesquisa.

À **Soraya e Igor Santos**, por sempre estarem disponíveis para me ajudar.

Ao **Vitor**, pela paciência e ajuda nas atividades de laboratório.

Ao meu esposo e amigo, **Silvio José da Silva**. Presente de Deus, o companheiro de todas as horas, de onde brotavam as palavras de força e apoio para eu seguir em frente.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Zootecnia** da UFRPE, pela oportunidade do crescer e aprimorar meus conhecimentos.

À **CAPES**, pela concessão da bolsa de estudo, sem a qual não seria possível a realização deste projeto.

Aos **animais**, todo meu respeito por cada vida e momentos dedicados a pesquisa.

Aos meus pais, **Maria Cleonice Tiburtino e Izídio Cordeiro**, pela vida, educação, carinho e exemplo de vida. Eles são os meus pilares e porto seguro nos momentos difíceis.

Aos meus irmãos, **Givanildo, Wellington, Clênio, Ericlis, Nadjaine e Jaqueline**, pelo apoio e carinho.

Aos meus queridos professores, **Silvia Kurtz, Denise Figueiredo, Edilma, Jeandson e Daniele Oliveira**, pela amizade e palavras de incentivo durante esta jornada.

Às minhas amigas, **Keila França e Barbara Silveira** pelo apoio, respeito, amizade e por compartilharmos nossas vidas como verdadeiras amigas.

Enfim, a todos que contribuíram para a realização deste trabalho.

*“Não te mandei eu?
Esforça-te, e tem bom ânimo;
Não te atemorizes, nem te espantes;
Porque o Senhor teu Deus está contigo por onde quer que andares.”*

Josué 1: 9

“As pessoas que marcam a história são pessoas comuns com uma quantidade extraordinária de persistência. Elas simplesmente permanecem e nunca desistem”.

Rick Warren

BIOGRAFIA DA AUTORA

JANIELE TIBURTINO DE LIRA, filha de Izídio Cordeiro de Lira e Maria Cleonice Tiburtino de Lira, natural de Jurema – PE, iniciou o curso de graduação em Zootecnia na Universidade Federal Rural de Pernambuco – Unidade Acadêmica de Garanhuns UAG/UFRPE, no ano de 2006. Em fevereiro de 2011 concluiu a graduação, em seguida, em março do mesmo ano de 2011, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração Nutrição Animal, da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

SUMÁRIO

	Páginas
Lista de Tabelas	
Palma forrageira e ureia em substituição ao feno de tifton na alimentação de ovinos	
RESUMO.....	10
ABSTRACT.....	11
1. INTRODUÇÃO.....	12
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
2.1. Local do experimento.....	17
2.2. Animais.....	17
2.3. Dietas.....	18
2.4. Coleta de material para análise.....	19
2.5. Cálculo do consumo e digestibilidade.....	20
2.6. Análise dos parâmetros ruminais.....	21
2.7. Análise estatística.....	24
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
3.1. Consumo e digestibilidade.....	24
3.2. Dinâmica ruminal e população de ciliados.....	28
4. CONCLUSÕES.....	39
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Composição química dos ingredientes (com base na MS) das dietas experimentais.....	18
Tabela 2 – Composição percentual e química das dietas experimentais, com base na matéria seca (MS).....	19
Tabela 3 – Consumo e coeficiente de digestibilidade dos nutrientes por ovinos alimentados com palma forrageira e ureia em substituição parcial ao feno de tifton e ao farelo de soja.....	25
Tabela 4- Coeficiente de Digestibilidade dos nutrientes em ovinos recebendo palma forrageira e ureia.....	27
Tabela 5 – Tempo de Sedimentação e Flotação (TSF) e Reação de Azul de Metileno (RAM) no fluido ruminal, em função da dieta.....	29
Tabela 6 – Produção de Biofilme e concentração do N nas frações bactéria, protozoários e no líquido livre de células no fluido ruminal de ovinos, em função da dieta.....	30
Tabela 7 – Concentração de matéria seca (MS) e proteína bruta (PB) no conteúdo total, fração fibrosa e no fluido ruminal, em função da dieta.....	32
Tabela 8 – Fracionamento do N (mg/100mL e %) no rúmen de ovinos, em função da dieta.....	33
Tabela 9 – Concentração de ácidos graxos voláteis (acetato, propionato, butirato e total), N-NH ³ , relação acetato:propionato (Ac:prop) e pH no fluido ruminal.....	35
Tabela 10 – Concentração de protozoários ciliados (x10 ³ /mL) em ovinos alimentados com palma forrageira e ureia.....	38

RESUMO

Com o objetivo de avaliar o consumo e o coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca, matéria orgânica, fibra em detergente neutro, proteína bruta e energia bruta, fracionamento de nitrogênio microbiano no rúmen; produção de biofilme, parâmetros ruminais, bem como identificar e quantificar a comunidade de ciliados em ovinos alimentados com palma forrageira e ureia, foram utilizados doze ovinos adultos, fistulados no rúmen, com peso vivo médio de $44,50 \pm 6,83$ kg. Inicialmente, os animais receberam uma dieta basal composta por 60% de feno, 24% grão de milho triturado, 15% farelo de soja e 1% de sal mineral. Após avaliação do consumo e dos parâmetros ruminais, os animais foram alocados nos tratamentos com palma forrageira e quatro níveis de ureia na ração (0,0; 0,7; 1,4 e 2,1%) e as avaliações foram novamente efetuadas. Para a avaliação dos parâmetros ruminais, fracionamento de nitrogênio e produção de biofilme do fluido ruminal, foram coletados 500 mL de fluido ruminal. Houve menor consumo de matéria seca, matéria orgânica e energia digestível (kcal/dia) para os animais submetidos à dieta palma contendo 2,1% de ureia. A digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica e energia bruta aumentaram com palma contendo 0,7 e 1,4% de ureia. A produção de biofilme e ácidos graxos voláteis totais aumentou com a inclusão da palma e nível de ureia. O pH diminuiu nas dietas com palma e ureia. O tempo de sedimentação e flotação aumentou com a inclusão da palma e foi influenciado de forma linear positiva pela ureia, e a reação de azul de metileno não se alterou. A população de ciliados total e o gênero *Entodinium sp.* diminuiu com palma contendo 0,0 e 2,1% de ureia e o gênero *Ophryoscolex sp.* aumentou com palma contendo 1,4% de ureia. A ureia influenciou de forma quadrática o gênero *Entodinium sp.* (protozoários/mL e %) e a população total de ciliados. É possível substituir até 71,67% do feno de tifton por palma forrageira e utilizar até 1,2% de uréia na ração a base de palma, substituindo parcialmente o farelo de soja e o milho, sem alterar a dinâmica ruminal e a população de ciliados no fluido ruminal.

Palavras-chaves: AGV, biofilme, comunidade de ciliados, consumo, digestibilidade, nitrogênio

ABSTRACT

Aiming to evaluate the intake and apparent digestibility of dry matter, organic matter, neutral detergent fiber, crude protein and gross energy, fractionation of microbial nitrogen in the rumen; biofilm production, ruminal as well identify and quantify the community ciliates in sheep fed cactus and urea were used twelve adult sheep, rumen, with average weight of 44.50 ± 6.83 kg. Initially, the animals received a basal diet consisting of 60% hay, 24% ground corn, 15% soybean meal, 1% of mineral salt. After evaluating consumption and ruminal parameters, animals were allocated to treatment with cactus and four levels of urea in the diet (0.0, 0.7, 1.4 and 2.1%) and the evaluations were performed again. To evaluate the ruminal, fractionation of nitrogen and biofilm production of ruminal fluid were collected 500 mL of ruminal fluid. There was a lower intake of dry matter, organic matter and digestible energy (kcal / day) for animals undergoing palm diet containing 2.1% urea. The digestibility of dry matter, organic matter and gross energy increased with palm containing 0.7 and 1.4% urea. The biofilm production and total volatile fatty acids increased with the inclusion of palm and urea level. The pH decreased in diets with palm and urea. The time of sedimentation and flotation increased with the addition of palm and was influenced positively by linearly urea and the reaction of methylene blue was unchanged. The overall population of ciliates and gender *Entodinium* sp. decreased with palm containing 0.0 and 2.1% urea and gender *Ophryoscolex* sp. increased with palm containing 1.4% urea. Urea quadratically influenced the genre *Entodinium* sp. (Protozoa / mL and%) and the total population of ciliates. You can replace up to 71.67% of Tifton by cactus and use up to 1.2% dietary urea-based palm, partially replacing soybean meal and corn, without altering rumen dynamics and population of ciliates in ruminal fluid.

Keywords: AGV, biofilm ciliates community, intake, digestibility, nitrogen

INTRODUÇÃO

Ao contrário de outras forragens, a palma forrageira possui baixo percentual de parede celular e alta concentração de carboidratos não fibrosos, possuindo aproximadamente 28% de fibra em detergente neutro, 48% de carboidratos não estruturais, 7,4% de ácido galacturônico e 12% de amido (Batista et al., 2003a). Devido a estas características, a matéria seca é altamente degradável (Batista et al., 2003b), o que resulta em maior produção de ácidos graxos voláteis e maior proporção de propionato no rúmen de ovinos e bovinos (Bem Salen et al., 1996; Neiva, 1996; Silva et al., 1997), além de reduzir o pH ruminal em caprinos e ovinos (Vieira et al., 2007; Bispo et al., 2007).

O uso de palma forrageira na dieta reduz a concentração de amônia no rúmen (Bispo et al., 2007), a concentração de ureia no sangue e aumenta a excreção fracional de ureia (Vieira et al., 2007; Oliveira et al., 2007) embora reduza a excreção total. A redução na concentração de amônia ruminal e consequente redução na ureia plasmática pode ser devido à alta degradabilidade da matéria seca (MS) da palma, que aumentaria a síntese microbiana ruminal. Por outro lado, mudança na população microbiana, devido aos carboidratos que compõem a palma, poderia aumentar a utilização de aminoácidos na síntese protéica microbiana, reduzindo a deaminação e, conseqüentemente, a concentração de amônia ruminal.

A atividade dos microrganismos do rúmen permite que os diversos componentes de uma dieta sejam gradativamente degradados no rúmen, produzindo massa microbiana, AGV e outros gases da fermentação, bem como a amônia.

No rúmen, a amônia é convertida em outros compostos nitrogenados para manter o metabolismo dos microrganismos e do seu hospedeiro. Os microrganismos do rúmen têm grande importância como fonte de nitrogênio (N) para a síntese de proteínas

para o hospedeiro. As principais fontes de nitrogênio para síntese protéica consistem na proteína verdadeira e nitrogênio não protéico (NNP) da dieta e do nitrogênio reciclado através do ciclo da ureia que será reutilizado no rúmen (Santos et al., 2006). A importância do metabolismo de nitrogênio no rúmen se deve às alterações qualitativas e quantitativas dos aminoácidos das proteínas ingeridas (Silva et al., 2005).

A habilidade dos microrganismos ruminais em utilizar a amônia para síntese protéica, permite a utilização de fontes de NNP na dieta de ruminantes. A ureia apresenta-se como a fonte de NNP efetivamente utilizada devido as suas propriedades físico-químicas e pelo aspecto econômico (Santos et al., 2001). No entanto, o uso de ureia pelos ruminantes é limitado devido à baixa palatabilidade, sua segregação quando misturada com farelos e sua toxicidade quando em doses mais elevadas (Salman et al., 1996).

A utilização de tecnologias de produção de espécies adaptadas ao estresse hídrico, como é o caso da palma, bem como a utilização destas forrageiras para alimentação animal, têm sido objeto constante de pesquisas, embora se identifique limitações de informações científicas a respeito da associação da palma forrageira à ureia na alimentação de ruminantes.

Diversos fatores interferem na atividade microbiana, bem como na diversidade que a constitui. Um destes fatores consiste no teor de proteína bruta (PB), proteína degradada no rúmen (PDR) e a qualidade da PDR que podem afetar o crescimento microbiano, já que as principais fontes de nitrogênio para os microrganismos do rúmen são amônia, aminoácidos e peptídeos (Santos, 2006), onde as bactérias fermentadoras de carboidratos fibrosos (CF) utilizam exclusivamente amônia como fonte de nitrogênio, enquanto que as fermentadoras de carboidratos não fibrosos (CNF) utilizam aminoácidos, e peptídeos e amônia (Russel et al., 1992).

Para que as bactérias ruminais consigam sintetizar aminoácidos a partir da amônia, elas necessitam de energia de esqueletos carbônicos, dentre outros nutrientes. Os esqueletos carbônicos são ácidos graxos de cadeia ramificada, no caso, os ácidos n-valérico, isovalérico, isobutírico e 2-metilbutírico. O ácido n-valérico origina-se da deaminação dos AA prolina, lisina, arginina ou de CHO. Os demais ácidos, isovalérico, isobutírico e 2-metilbutírico, são originados da deaminação de AA de cadeia ramificada, valina, isoleucina e leucina, respectivamente. As bactérias fermentadoras de CF são altamente dependentes desses compostos, pois utilizam amônia como fonte de N e requerem esses esqueletos carbônicos para incorporarem a amônia e sintetizarem seus AA (Santos, 2006)

Os ciliados é a classe mais destacada dentre os protozoários encontrados no ecossistema ruminal, dividindo-se nas subclasses Isotricha (ou Holotricha, na qual os gêneros *Isotricha* e *Daystricha* prevalecem em maior quantidade no rúmen) e Entodimorfos (onde os gêneros *Entodinium* e *Diplodinium*, prevalecem). Os ciliados apresentam grande habilidade na degradação e fermentação de um número elevado de substrato, como celulose, hemicelulose, pectinas, amido, açúcares solúveis e lipídeos. Os protozoários apresentam uma característica comum a todos, que consiste em armazenar grande quantidade de amido, que é usado como fonte de energia (Teixeira, 2001).

Os Holotricha utilizam açúcar (*Isotricha* não utiliza maltose, mas utiliza amido); engolfam bactérias e possuem enzimas proteolíticas; e produzem CO₂, acetato, butirato, lactato, amônia e pouco propionato. Esse grupo apresenta maior capacidade de ingerir materiais solúveis, como grânulos de amido (Lana, 2005).

Os Entodimorfos são usualmente encontrados associados com partículas alimentares; utilizam poucos carboidratos solúveis, engolfando amido e partículas alimentares; além de utilizar celulose, engolfam bactérias e pequenos protozoários,

utilizando proteína como fonte de energia. Esses protozoários produzem CO₂, H₂, acetato, butirato, NH₃ e algum formato, propionato e lactato (Lana, 2005).

Alguns protozoários são celulolíticos, mas utilizam como fonte de energia os açúcares e amidos como principal substrato, sendo assimilados e estocados na forma de amilopectina ou amido protozoário (Williams, 1986). Portanto, os protozoários desempenham um efeito tamponante, pois as bactérias não têm acesso a uma quantidade excessiva de substratos rapidamente fermentáveis. Assim, a presença de protozoários no rúmen proporciona maior estabilidade da fermentação e do pH, bem como, maiores e estáveis concentrações de ácidos graxos voláteis e aumento na degradação da matéria seca. Outros fatores, como a concentração de ácido láctico, níveis de cobre no plasma sanguíneo e no fígado, bem como susceptibilidade à acidose por ácido láctico, diminuiu no rúmen faunado (Arcuri et al., 2006).

Diversos fatores interferem no crescimento dos ciliados, como ingestão de alimentos, teor de proteína e de concentrado na ração, pH ruminal (o pH ideal é próximo a neutralidade) e o tempo após a alimentação, pois diversos trabalhos têm mostrado que a ingestão de alimento fresco, água e o aumento na produção de saliva, bem como o quimotactismo (migração por estímulo químico) realizado por *Isotricha* e *Daystricha* (protozoários grandes em relação aos Entodinomorfos) podem diluir e/ou diminuir a população de ciliados no rúmen.

Segundo Jesus et al. (2012), à medida que o pH aumenta, ocorre um incremento no número de protozoários totais. Os mesmos autores observaram também que o pH abaixo de 6,0 promoveu uma queda significativa na concentração de protozoários. Franzolin & Dehority (2010) afirmaram que longos períodos de baixo pH ruminal, provavelmente, são mais prejudiciais para a sobrevivência dos protozoários ciliados no rúmen que outros fatores.

À medida que o consumo de matéria seca aumenta, segundo Jesus et al. (2012), a população de protozoários ruminais diminui. O mesmo ocorre quando o teor de proteína bruta da dieta aumenta. Contrariamente, o teor de FDN aumenta a população de ciliados, pois diminui a taxa de passagem, aumentando assim o tempo de permanência dos protozoários no rúmen, favorecendo a manutenção destes no rúmen, devido ao elevado de tempo de geração (acima de 24 horas). Araújo et al. (2007) concluíram que a ingestão reduzida de alimentos ocasiona menor taxa de passagem do material sólido do rúmen para o intestino; desta forma, as partículas fibrosas permanecem maior tempo no ambiente ruminal, o que favorece o estabelecimento e crescimento dos protozoários.

O rúmen é um ambiente extremamente propício para o desenvolvimento de biofilmes, complexos ecossistemas microbianos que atuam de forma dinâmica e coordenada, podendo ser formados por populações desenvolvidas a partir de uma única, ou de múltiplas espécies, podendo ser encontrados em uma variedade de superfícies bióticas e/ou abióticas. Desta maneira, muitos autores definem biofilmes como associações de microrganismos e de seus produtos extracelulares, que se encontram aderidos a superfícies.

A dinâmica do biofilme é dependente dos microrganismos que o compõem, apresentando condições físicas, químicas e biológicas distintas, ou seja, cada biofilme apresenta características singulares, variando de acordo com os microrganismos presentes e com as condições do meio (Jenkinson & Lappin-Scott, 2001). Isto significa que o biofilme é um sistema que sofre modificações ao longo do tempo, de acordo com o substrato, condições ambientais e interações entre as comunidades que constituem o biofilme. Para os ruminantes, um dos fatores determinantes no desenvolvimento e estrutura do biofilme consiste na dieta fornecida para os animais. Uma dieta rica em fibra favorece a formação de um biofilme completamente distinto daquele formado

quando a dieta fornecida é rica em concentrado. Dependendo do manejo nutricional, a população microbiana do biofilme se modifica drasticamente, causando transtornos metabólicos nos animais e perdas econômicas significativas.

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o consumo e o coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), fibra em detergente neutro (FDN), proteína bruta (PB) e energia bruta (EB), fracionamento de nitrogênio microbiano no rúmen; produção de biofilme, parâmetros ruminais, assim como, identificar e quantificar a comunidade de ciliados em ovinos alimentados com palma forrageira e ureia.

MATERIAL E MÉTODOS

Local do experimento

O experimento foi conduzido no Departamento de Zootecnia, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, região do Recife, microrregião fisiográfica denominada Zona da Mata.

Animais

Foram utilizados doze ovinos adultos, castrados, mestiços com peso vivo médio de $44,50 \pm 6,83$ kg, os quais foram preparados cirurgicamente para o implante de cânulas ruminais permanentes. Em seguida, os animais foram tratados contra ecto e endoparasitas, e suplementados com vitaminas lipossolúveis A, D e E. Os animais foram identificados e alojados em baias individuais medindo 2,00 x 1,80 m, providos de comedouro e bebedouro, onde passaram por um período de adaptação às instalações e manejo de 10 dias, recebendo uma ração basal composta por 60% de feno, 24% grão de milho triturado, 15% farelo de soja e 1% de sal mineral.

Dietas

Inicialmente, todos os animais receberam uma mesma dieta composta por 60% de feno de tifton, 24% de grão de milho, 15% de farelo de soja e 1% de sal mineral durante 14 dias.

Em seguida, os animais foram submetidos aos tratamentos, que eram as dietas experimentais com a palma forrageira (*Nopalea cochellinifera* Salm Dyck, cv. miúda), farelo de soja, grão de milho triturado e sal mineral, sendo substituído parcialmente o farelo de soja por ureia pecuária, e o feno de tifton e milho por palma forrageira. Os animais foram alocados nos tratamentos que correspondia aos níveis de 0, 7, 14 e 21 g de ureia por kg de matéria seca da ração (0,0; 0,7; 1,4 e 2,1% da matéria seca).

As dietas foram oferecidas duas vezes ao dia, às 8 horas (60%) e às 16 horas (40%) na forma de ração completa, sendo ajustada diariamente em função do consumo do dia anterior, permitindo sobras de 15%. A água esteve permanentemente à disposição dos animais dentro de baldes individuais.

A composição química dos ingredientes e das dietas experimentais é mostrada nas Tabelas 1 e 2, respectivamente.

Tabela 1 - Composição química dos ingredientes das dietas experimentais com base na matéria seca (MS)

Nutriente	Ingredientes						
	Feno de Tifton	Farelo de soja	Milho	Palma forrageira	Ureia pecuária	Flor de enxofre	Sal mineral
Matéria seca (%)	86,68	82,35	86,98	8,15	97,53	98,0	96,0
Matéria orgânica (%)	91,34	92,85	97,60	81,03	99,89	0,0	0,0
Matéria mineral (%)	8,66	7,15	2,40	18,97	0,17	100,0	100,0
Proteína bruta (%)	7,47	46,48	9,58	3,80	282,02	0,00	0,00
Fibra em Detergente Neutro (%)	78,78	14,52	11,15	27,44	0,00	0,00	0,00
Energia Bruta (cal/g de MS)	3754	4198	4309	2558	0,00	0,00	0,00

Tabela 2 – Composição percentual e química das dietas experimentais, com base na MS

Ingredientes	Dieta basal	Palma - nível de ureia (g/kg de MS)			
		0,00	7,00	14,00	21,00
Palma forrageira (%)	0,0	50,60	52,70	54,80	56,90
Farelo de soja (%)	15,0	18,00	13,98	9,96	5,94
Milho (%)	24,0	15,20	15,80	16,40	17,00
Feno (%)	60,0	15,20	15,80	16,40	17,00
Ureia (%)	0,0	0,00	0,70	1,40	2,10
Flor de enxofre (%)	0,0	0,0	0,02	0,04	0,06
Sal mineral (%)	1,0	1,00	1,00	1,00	1,00
Nutrientes					
Matéria Seca (%)	86,20	15,24	14,73	14,26	13,81
Matéria Orgânica (%)	92,16	86,43	86,23	86,04	85,84
Matéria Mineral (%)	7,84	12,57	13,77	13,96	14,16
Proteína Bruta (%)	13,78	12,88	13,14	13,46	13,74
Fibra em Detergente Neutro (%)	52,12	30,17	30,70	31,23	31,76
Energia Bruta (cal/g de MS)	3916,26	3275,56	3208,9	3142,24	3075,57

Coleta de material para análise

As coletas ocorreram no 14^o dia após os animais receberem a dieta basal, sendo três dias para coleta de fezes e urina, um dia de descanso e três dias para coleta de fluido ruminal, totalizando sete dias de coleta. O segundo período de coleta ocorreu no 28^o dia, após os animais serem submetidos aos tratamentos, realizando-se as mesmas coletas durante sete dias.

Para a coleta de fluido ruminal, amostras de digesta foram tomadas manualmente de quatro pontos distintos do rúmen, posteriormente homogeneizou-se o conteúdo ruminal. As coletas foram realizadas a cada três horas, em três dias consecutivos, onde, no primeiro dia de coleta foi realizada a amostragem antes da primeira alimentação, no segundo dia 1 hora após a refeição matinal e, no terceiro dia, 2 horas após o primeiro arração, totalizando assim os seguintes horários de coleta: 0, 1, 2, 4, 5, 7, 8, 9, 10 e 11h. Essas coletas foram utilizadas para avaliar o nitrogênio

amoniacoal (N-NH₃), ácidos graxos voláteis (AGV), pH e relação acetato:propionato. Contudo, para as demais variáveis, a coleta do fluido ruminal foi realizada quatro horas após a primeira refeição. Após a coleta, o fluido ruminal foi filtrado em quatro camadas de tecido de algodão.

Foi avaliado o consumo e a digestibilidade dos nutrientes, bem como os parâmetros ruminais e a comunidade de ciliados para os animais recebendo a dieta basal, e, depois, para esses animais recebendo cada dieta experimental, para comparação entre elas.

Cálculo do Consumo e Digestibilidade

O consumo voluntário de MS, MO, MM, PB, FDN e EB foram calculados pela diferença entre as quantidades ofertadas e as sobras.

Durante o período do ensaio de digestibilidade aparente (1º ao 3º dia de coleta) realizou-se coletas dos ingredientes que compunha as dietas experimentais, sobras e fezes, as quais foram amostradas em 30%, identificadas e pré-secas em estufa de ventilação forçada a 55°C, por 72 horas, e misturadas, para constituir uma amostra composta (homogeneizada e, em seguida, retirada uma alíquota de 10%, moída em moinho de facas, tipo Willey, usando peneira com crivo de 1 mm) para posteriores análises laboratoriais.

Para o ensaio de digestibilidade aparente foi realizada a coleta total de fezes por um período de 72 horas. Sendo que ao final de cada 12 horas de coleta, retirava-se uma alíquota de 50%, para serem pré-secas em estufa de 55°C por um período de 72h.

As amostras de palma forrageira foram picadas em máquina desintegradora, pré-secas em estufa de ventilação forçada a 55°C, por 72 horas, e misturadas, para constituir uma amostra composta (homogeneizada e, após, retirada uma alíquota de 10%, moída em moinho de facas, tipo Willey, usando peneira com crivo de 1 mm). Além da palma,

os demais ingredientes que compunha a dieta também foram amostrados e moídos a 1 mm. Posteriormente, essas amostras foram analisadas quanto à composição química.

As determinações de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e energia bruta (EB) foram realizadas conforme metodologias descritas pela AOAC (2000).

Análise dos parâmetros ruminais

Quatro horas após a refeição matinal, amostras de digesta foram tomadas manualmente de vários pontos do rúmen, posteriormente homogeneizou-se esse conteúdo ruminal. Imediatamente, o conteúdo ruminal foi filtrado em quatro camadas de tecido de algodão. Em seguida, o fluido ruminal foi homogeneizado e retirada uma alíquota de 500 mL, para a avaliação do fracionamento de nitrogênio e produção de biofilme do fluido ruminal (Min et al., 2002).

Para a estimativa do fracionamento de nitrogênio no fluido ruminal, 6 mL de amostra foi centrifugada a 375 x g por 5 minutos para sedimentar protozoários e pequenos sedimentos. Ao material sedimentado, foi adicionado solução de McDougall até ajustar o volume inicial (6 mL), posteriormente esta amostra foi centrifugada a 16.300 x g por 15 minutos. Do sobrenadante, foi quantificado o nitrogênio da fração protozoário pelo método de micro Kjeldahl. Do mesmo modo que foi quantificado o nitrogênio da fração protozoário, realizou-se o procedimento por mais duas vezes para separar o sobrenadante do sedimentado, obtendo-se, respectivamente, o nitrogênio da fração bactéria e do líquido livre de células microbianas.

Para quantificar o nitrogênio verdadeiro e o nitrogênio não protéico (NNP), coletou-se duas amostras de fluido ruminal. Para determinação do nitrogênio total centrifugou-se a 20.000 x g por 30 minutos, 6 mL de fluido ruminal, descartou-se o precipitado e, posteriormente, determinou-se o N do sobrenadante pelo método de micro

Kjedahl. Já para a determinação do NNP, outra amostra de 6 mL de fluido ruminal foi centrifugada a 20.000 x g por 30 minutos, descartou-se o precipitado e, ao sobrenadante, adicionou-se 0,5 mL de ácido tricloroacético (84%), centrifugou-se novamente (20.000 x g por 30 min) e quantificou-se o NNP do sobrenadante. A estimativa da proteína verdadeira foi obtida pela diferença entre nitrogênio total (PB) e NNP.

Para quantificar a produção de biofilme, 6mL de fluido ruminal foi colocado em recipientes para centrifugação devidamente pesados. Esta amostra foi centrifugada (16.000 x g por 30 min), posteriormente foi adicionado em 3 mL do sobrenadante, 3 mL de etanol absoluto. Este material foi mantido em temperatura de 4° C por 24 horas. Em seguida foi novamente centrifugado durante o mesmo tempo e rotação. O material sobrenadante foi descartado, enquanto o precipitado foi levado à estufa de 55° C por 24 horas para a determinação da MS.

A determinação do potencial redox foi realizada, adicionando-se 1 mL de azul de metileno a 0,03% em tubos de ensaio, onde se colocava 20 mL de suco ruminal recém-colhido e, em seguida, registrava-se o tempo, até a completa descoloração da amostra ruminal, a qual era comparada com uma amostra padrão de fluido ruminal, de acordo com a recomendação descrita por Dirksen & Smith (1987). A determinação do tempo de flutuação e sedimentação do suco ruminal ocorreu através de tubos de ensaios previamente identificados, onde era colocado 100 mL de suco ruminal recém-colhido, onde se registrava em cronômetro digital o tempo de sedimentação flotação, segundo metodologia de Nichols & Penn (1958).

Após a retirada da digesta do rúmen, o conteúdo ruminal foi filtrado em quatro camadas de tecido de algodão. A parte sólida foi devolvida ao rúmen e, imediatamente, o produto resultante do filtrado, o fluido ruminal, foi homogeneizado e mensurou-se o pH através de leitura com potenciômetro digital tipo Handylab 1 – SCHOTT.

Após a mensuração do pH, duas alíquotas de 20 mL foram acondicionadas em recipientes de plásticos, devidamente identificados e contendo em seu interior 1 mL de ácido clorídrico a 6N. Essas amostras permaneceram armazenadas a -20 ° C, para posterior quantificação de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) e ácido graxo volátil (AGV).

Para a determinação do N-NH₃, as amostras foram descongeladas em temperatura ambiente e centrifugadas a 3.000 rpm durante 15 minutos, conforme técnica descrita por Fenner (1965), adaptada por Vieira (1980).

Para a quantificação de AGV, as amostras foram descongeladas em temperatura ambiente e centrifugadas a 15.000 x g a 4° C durante 60 minutos. A leitura das amostras foi realizada em cromatógrafo a gás, tipo CG-MASTER, fazendo uso da coluna para cromatografia capilar de referência Carbowax 20 M.

Para a quantificação e identificação dos gêneros de ciliados presentes no rúmen, coletou-se 10 mL de conteúdo ruminal total (não foi filtrado), sendo imediatamente fixado em formol, na proporção de 1:1 (Dehority, 1984) e armazenados em frascos plásticos. A identificação e a quantificação dos gêneros de ciliados foram feitas em câmara Sedgewick-Rafter, segundo Dehority (1984), sendo pipetado 1 mL de cada amostra homogeneizada de conteúdo em tubos de ensaios, onde foram adicionadas três gotas de lugol, em substituição ao verde brilhante, conforme a modificação proposta por D'agosto & Carneiro (1999). Após 15 minutos, foi adicionado 9 mL de glicerina a 30%. Para se proceder à quantificação de cada tubo de ensaio, foi pipetado 1 mL do conteúdo ruminal para preenchimento da câmara de Sedgewick-Rafter. Foram quantificados e identificados os ciliados presentes em 50 campos e, posteriormente, após rotação de 180° C, mais 50 campos eram contados. O cálculo do número total de cada gênero por mililitro de conteúdo foi feito multiplicando-se os valores encontrados por 80 e por 20. Tais valores correspondem à superfície total da câmara de contagem e à diluição (Dehority, 1984). A identificação dos ciliados baseou-se em Ogimoto & Imai (1981).

Análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o Inteiramente Casualizado (DIC) e os dados foram analisados utilizando o procedimento GLM do SAS (2000). Foi confrontado cada tratamento contra a dieta basal (feno) através da análise de variância, aplicando-se o teste de Dunnett quando necessário, para comparação das médias. Para avaliação do efeito dos níveis de ureia nos tratamentos com palma realizou-se a análise de regressão linear e quadrática.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Consumo e digestibilidade

O consumo de matéria seca expresso em kg/dia e $g/kgPV^{0,75}$ (Tabela 3) diminuiu de forma significativa com palma contendo 2,1 % de ureia em relação a dieta feno. Contudo o consumo de MO expresso $g/kgPV^{0,75}$ diminuiu nos tratamentos com 0,7, 1,4 e 2,1% de ureia. Provavelmente, a baixa palatabilidade da ureia provocou um menor consumo, visto que este composto apresenta sabor amargo. Mesmo nas dietas deste experimento que foram compostas com palma forrageira, um ingrediente altamente palatável, e a dieta fornecida na forma de ração completa, a ureia parece ter restringido o consumo. Os autores Huber & Kunf (1981) em trabalho pioneiro com inclusão de ureia, verificaram efeito depressivo na ingestão de nutrientes quando a inclusão na dieta ocorreu em níveis mais altos que 1,5%, e considerou que o sabor indesejável da ureia foi o aspecto predominante na redução de consumo. Milton et al. (1997) também afirmaram que o consumo de MS pode ser reduzido quando a concentração de ureia é elevada na ração.

Tabela 3. Consumo dos nutrientes por ovinos alimentados com palma forrageira e ureia em substituição parcial ao feno de tifton e ao farelo de soja.

	Dieta					EPM	P>F		
	Feno	Palma-nível de ureia (%)					Feno	Ureia	
		0,0	0,7	1,4	2,1			L	Q
Consumo (Kg/dia)									
Matéria Seca	1,19	1,06	1,05	1,03	0,63*	0,06	0,0166	0,0453	ns
Matéria Orgânica	1,1	0,86	0,86	0,84	0,52*	0,06	0,0028	0,0524	ns
Fibra em Detergente Neutro	0,59	0,36*	0,36*	0,36*	0,22*	0,04	0,0001	0,0858	ns
Proteína Bruta	0,21	0,14	0,13*	0,16	0,11*	0,01	0,0019	ns	ns
Energia Bruta (Kcal/dia)	4389,65	2809,4*	2783,91*	2706,18*	1654,36*	258,32	<0,0001	0,0436	ns
Energia Digestível (kcal/dia)	2595,41	1671,87	1200,06	1594,5	1616,82*	151,19	0,0025	ns	ns
Consumo (g/kgPV^{0,75})									
Matéria Seca	74,53	70,86	56,1	57,98	39,05*	3,63	0,0060	0,0402	ns
Matéria Orgânica	69,07	57,34	45,83*	47,23*	31,97*	3,65	0,0007	0,0463	ns
Fibra em Detergente Neutro	37,2	24,16	19,04*	20,34*	13,94*	2,35	<0,0001	0,0771	ns
Proteína Bruta	12,92	9,54	7,17*	8,91*	6,64*	0,69	0,0006	ns	ns
Energia Digestível (Kcal/kgPV ^{0,75})	275,88	188,5	149,26	152,56	102,71*	16,73	<0,0001	0,0386	ns

(*) representa a diferença em relação à dieta feno a 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett. L = linear; Q = quadrática.

O consumo de fibra em detergente neutro (FDN), expresso em kg/dia, foi menor em todos os tratamentos com palma, quando comparado com a dieta feno. No entanto, quando expresso em $\text{g/kgPV}^{0,75}$, diminuiu a ingestão nos tratamentos com palma contendo 0,7; 1,4 e 2,1% de ureia (Tabela 3). Este resultado deve-se ao mais baixo teor de fibra em detergente neutro das dietas com palma e ureia, quando comparado à dieta feno, por isso a ingestão foi maior nesta dieta. Considerando que o teor de FDN é negativamente correlacionado ao consumo, quando a repleção é o fator limitante, seria esperado maior consumo na dieta a base de palma forrageira, pois esta dieta apresenta um teor muito menor de FDN e alto conteúdo de CNF, quando comparado com o feno de tifton.

O consumo de proteína bruta (PB), expresso em Kg/dia (Tabela 3), foi menor para os tratamentos palma contendo 0,7 e 2,1 % de ureia em relação ao tratamento feno. No entanto, quando expresso em $\text{g/kgPV}^{0,75}$, os animais apresentaram menor consumo para os tratamentos palma contendo 0,7; 1,4 e 2,1% de ureias. Estes achados foram devidos provavelmente ao menor consumo de MS, bem como à seletividade dos animais por determinado ingrediente nos tratamentos, podendo diminuir a ingestão de determinados nutrientes. Os animais talvez tenham selecionado mais feno nestas dietas que apresentaram menor consumo de PB.

O consumo de energia bruta, expresso em Kcal/dia (Tabela 3), foi maior no tratamento feno, diferindo dos tratamentos com palma e ureia. No entanto, quando expresso em $\text{g/kgPV}^{0,75}$, diferiu apenas dos tratamentos com 0,7; 1,4 e 2,1% de ureia. A energia digestível (Cal/dia) foi menor para o tratamento com palma contendo 2,1 % de ureia (Tabela 3). Este comportamento ocorreu, provavelmente, devido à menor ingestão de MS, bem como o menor percentual de energia bruta (EB) da dieta, visto que a palma utilizada apresentou menor teor de energia em relação ao feno de tifton. No entanto, a

ingestão de energia digestível foi semelhante entre as dietas feno e palma contendo 0,0; 0,7 e 1,4% de ureia.

Analisando-se isoladamente o efeito dos níveis de ureia com a palma sobre a ingestão dos nutrientes, verificou-se que nos tratamentos palma (0,0; 0,7; 1,4 e 2,1% de ureia), a ureia provocou uma comportamento linear negativo no consumo de MS, MO, FDN (Kg/dia e g/KgPV^{0,75}) e EB expresso Kcal/dia (Tabela 3) à medida que o teor de ureia aumentou nas dietas, enfatizando, assim, o efeito negativo do aumento da concentração de ureia na ingestão de MS da ração (Milton et al., 1997) e, conseqüentemente, menor ingestão dos demais nutrientes por estarem correlacionados. Porém, não alterou o consumo de PB, expresso em Kg/dia e g/KgPV^{0,75}.

A digestibilidade aparente da matéria seca (CDMS), matéria orgânica (CDMO) e energia bruta (CDEB) (tabela 4), diferiram estatisticamente entre os volumosos (feno e palma), apresentando maior digestibilidade para os tratamentos com palma forrageira, contendo 0,7 e 1,4% de ureia. A digestibilidade da FDN não sofreu influência da substituição do feno de tifton por palma forrageira, mantendo-se inalterada.

Tabela 4: Coeficiente de Digestibilidade dos nutrientes em ovinos recebendo palma forrageira e ureia

	Dieta					EPM	P>F		
	Feno	Palma - nível de ureia (%)					Feno	Ureia	
		0,0	0,7	1,4	2,1			L	Q
Coefficiente de Digestibilidade Aparente									
Matéria Seca	0,61	0,68	0,74*	0,74*	0,71	1,60	0,0154	ns	0,0428
Matéria Orgânica	0,62	0,72	0,77*	0,76*	0,73	0,02	0,0043	ns	0,0637
Fibra em Detergente Neutro	0,43	0,47	0,54	0,53	0,46	3,36	ns	ns	ns
Proteína Bruta	0,72	0,72	0,77	0,82	0,81	1,78	ns	0,0039	ns
Energia Bruta	0,59	0,67	0,73*	0,73*	0,68	0,02	0,0159	ns	0,0097

(*) representa a diferença em relação à dieta feno a 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett. L = linear; Q = quadrática.

Verificou-se comportamento quadrático para digestibilidade da MS, MO e EB, apresentando ponto de máximo de 1,16; 1,13 e 1,09 % de ureia na ração, respectivamente, com uma digestibilidade de 74, 78 e 74% para estes pontos de

máximo, a ureia causou comportamento linear positivo para CDPB, onde este último aumentou de acordo com o aumento no nível de ureia. Contudo, a digestibilidade da FDN não foi alterada estatisticamente pelo aumento da inclusão de ureia.

Este comportamento se deve ao alto teor carboidratos não fibrosos (CNF) da palma forrageira (Wanderley et al., 2002; Batista et al., 2003a) e à ureia, componentes de rápida degradação no rúmen, o que pode ter favorecido a atividade microbiana e, conseqüentemente a digestão.

A digestibilidade da PB aumentou devido ao nível de ureia na ração, o qual proporcionou maior digestibilidade da proteína, devido a ureia ser altamente degradada no ambiente ruminal pela enzima uréase (Santos, 2006).

Dinâmica ruminal e população de ciliados

A adição de 0,7 e 1,4 % de ureia aumentou, aproximadamente, 65% o tempo de sedimentação e flotação (TSF), enquanto no nível 2,1% verificou-se aumento de 107%.

Avaliando-se exclusivamente o efeito da ureia nas dietas com palma verificou-se aumento linear no TSF (Tabela 5).

Esses achados demonstram a importância da qualidade da dieta na atividade microbiana, visto que o tempo de sedimentação e flotação mede a capacidade fermentativa através da produção de gás pelas bactérias ruminais, bem como a influência da ureia sobre a atividade microbiana, pois estas necessitam de nitrogênio não protéico para sintetizarem seus aminoácidos.

Os resultados encontrados neste trabalho, em todas as dietas, ficaram acima do valor preconizado por Dirksen (1993), para bovinos alimentados com forragem, que é de 4 a 8 minutos. Isto ressalta que a palma forrageira é um alimento de alta qualidade e de fundamental importância na fermentação ruminal, e, quando associado a uma fonte de NNP, tem seu efeito otimizado.

Tabela 5 – Tempo de sedimentação e flotação (TSF) e Reação de azul de Metileno (RAM) no fluido ruminal, em função da dieta.

	Dieta					EPM	P>F		
	Feno	Palma – nível de ureia (%)					Feno	ureia	
		0,0	0,7	1,4	2,1			L	Q
TSF (min)	13,49	17,83	22,25*	22,22*	27,94*	1,29	<0,0001	0,0045	ns
RAM (min)	1,44	1,53	1,67	1,61	1,31	0,1	ns	ns	ns

(*) representa a diferença em relação à dieta feno a 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett. L = linear; Q = quadrática.

As dietas não influenciaram a reação do azul de metileno (RAM). Este teste mede a atividade redutiva bacteriana, o qual está diretamente relacionado com a qualidade do alimento ingerido, podendo atingir seis minutos, sendo que em animais recebendo alimentos ricos em carboidratos não fibrosos esse tempo pode ser inferior a um minuto (Dirksen et al., 1993). No entanto, forragem com baixa qualidade, maturação excessiva e altos teores de fibra comprometem de forma clara a atividade microbiana ruminal, levando maior tempo para a redução do azul de metileno (Vieira et al., 2006). A semelhança nos resultados das diferentes dietas deve-se a presença de 15% de farelo de soja e 24% de farelo de milho na dieta feno, o que elevou o teor de CNF e, consequentemente, diminuiu o tempo de reação do azul de metileno. Nas dietas à base de palma forrageira, o alto teor de CNF - além do amido da palma, do milho e da própria soja - justifica o baixo tempo de RAM e a semelhança entre os tratamentos.

A avaliação destas variáveis no fluido ruminal permite inferir quais as melhores dietas e como estas estão influenciando a saúde do rúmen, diminuindo, assim, as doenças metabólicas ou diagnosticando-as de forma precoce.

A produção de biofilme, expresso em mg/100mL (Tabela 6), apresentou diferença ($P < 0,0001$) entre a dieta basal (feno) e as dietas com palma, mas não houve efeito significativo da ureia nos tratamentos com palma forrageira. Este aumento na produção de biofilme se deve ao alto teor de CNF da palma, que poderia ter aumentado a população microbiana. Outro fator importante é o alto teor de mucilagem contido na

palma, o que pode ter aumentado este volume consideravelmente, não significando necessariamente um crescimento da população microbiana, como também o tamanho de partícula da dieta à base de palma, favorecendo maior fermentação e conseqüentemente maior produção de substâncias polimérica extracelular (EPS), o que pode ter contribuído de forma significativa para o aumento na produção de biofilme.

Tabela 6 - Produção de Biofilme e concentração do N nas frações bactéria, protozoários e no líquido livre de células do fluido ruminal de ovinos, em função da dieta.

	Dieta					EPM	P>F		
	Feno	Palma – nível de ureia (%)					Feno	Ureia	
		0,0	0,7	1,4	2,1			L	Q
Biofilme (mg/100mL)	0,84	3,68*	2,97*	2,69*	2,45*	0,28	<0,0001	ns	ns
N no fluido (mg/mL)									
Bactéria	0,22	0,38	0,37	0,33	0,38	0,03	ns	ns	ns
Protozoário	1,10	1,06	1,04	1,36	1,01	0,06	ns	ns	ns
Líquido Livre de Célula	0,25	0,18	0,20	0,20	0,21	0,02	ns	ns	ns
N no fluido (%)									
Bactéria	14,32	21,83	22,62	17,82	22,94	1,48	ns	ns	ns
Protozoário	68,82	66,66	64,81	71,70	63,99	1,84	ns	ns	ns
Líquido Livre de Célula	16,86	11,50	12,58	10,48	13,06	1,33	ns	ns	ns

(*) representa a diferença em relação à dieta feno a 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett. L = linear; Q = quadrática.

O N na fração bactéria, protozoário e líquido livre de células não diferiram entre os tratamentos feno e palma com ureia, bem como não sofreu influência da ureia nos tratamentos com palma, o que ratifica a possibilidade da palma provocar o crescimento do biofilme, sem apresentar efeito significativo da população microbiana, devido à alta quantidade de mucilagem contida na palma forrageira. A palma pode ter contribuído de forma significativa para produção de EPS, que constituem a estrutura dinâmica e complexa dos biofilmes (Jenkinson & Lappin-Scott, 2001). Essas substâncias fornecem um suporte estrutural para o biofilme (Fleming et al., 2000), pois é eletrostaticamente carregada de modo que serve como armadilhas para partículas de alimentos, argila e outros minerais (Harrison et al., 2005).

Trabalhando com observações e mensurações da formação de biofilme e degradação da celulose, Wang et al. (2011) constataram que apenas as partes do substrato de celulose colonizado pelo biofilme foram efetivamente hidrolisadas. Isto enfatiza a importância do biofilme na degradação da celulose no organismo dos ruminantes. Assim, quanto maior a produção de biofilme, melhor será a degradação da celulose, desde que os microrganismos estejam em maior quantidade, como ocorre comumente. Assim, uma inicialização rápida da hidrólise da celulose provavelmente ocorra através do crescimento exponencial do número de bactérias aderidas ao substrato durante a fase inicial, atingindo posteriormente uma taxa máxima de hidrólise concomitantemente a uma completa cobertura do substrato pelo biofilme (Wang et al., 2011).

Analisando a aderência das três principais espécies bacterianas (*Bacteroides succinogenes*, *Ruminococcus albus* e *Ruminococcus flavefaciens*), que degradam celulose nos ruminantes, Costerton et al. (1987) observaram que quando essas bactérias estão em monocultura aderem rapidamente às fibras de celulose. Contudo, a digestão deste substrato ocorre lentamente quando comparado com sistemas digestivos naturais, isto é, quando a fibra está no rúmen em associação com o biofilme formado por bactérias, fungos e protozoários.

A matéria seca no conteúdo total e na fração fibrosa diminuiu quando o feno foi substituído pela palma, independentemente da presença de ureia, e aumentou no fluido (Tabela 7). O teor de matéria seca das dietas contendo palma é mais baixo do que na dieta feno (Tabela 2), o que deve ter influenciado o teor de MS do conteúdo total. A diminuição da matéria seca na fração fibrosa ocorreu, provavelmente, devido à alta viscosidade da palma forrageira que, durante a separação das frações, dificultou a retirada da umidade desta fração, diluindo, assim, a MS e conseqüentemente o seu teor

em relação à dieta feno. Assim, o fluido ficou mais concentrado, devido à menor umidade passada, aumentando conseqüentemente o teor de MS nesta fração.

Avaliando-se exclusivamente o efeito da ureia nas dietas com palma, verificou-se efeito quadrático na matéria seca da fração fibrosa com ponto de máximo equivalente a 1,28% de ureia, proporcionando 25,74g de MS por kg de fração fibrosa. Verificou-se comportamento linear positivo da ureia na proteína bruta do fluido ruminal.

Tabela 7 - Concentrações de matéria seca (MS) e proteína bruta (PB) no conteúdo total, na fração fibrosa e no fluido ruminal de ovinos, em função da dieta.

	Dieta					EPM	P>F		
	Feno	Palma – nível de ureia (%)					Feno	Ureia	
		0,0	0,7	1,4	2,1			*L	*Q
Matéria seca (g/kg)									
Conteúdo total	14,46	9,01*	10,58*	9,74*	9,07*	0,61	<0,0001	ns	ns
Fluido	3,3	5,01*	5,16*	5,31*	4,74*	0,23	0,0004	ns	ns
Fração fibrosa	30,25	22,06*	25,76*	25,22*	24,47*	0,79	<0,0001	ns	0,0281
Proteína bruta (g/Kg MS)									
Conteúdo total	17,85	21,92*	22,91*	22,31*	21,24*	0,58	0,0013	ns	ns
Fluido	3,85	8,26*	10,14*	10,57*	12,78*	0,79	<0,0001	0,0044	ns
Fração fibrosa	14,66	18,35*	19,36*	17,9*	17,44*	0,52	0,0039	ns	ns

(*) representa a diferença em relação à dieta feno a 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett. L = linear; Q = quadrática.

A proteína bruta no conteúdo total, no fluido ruminal e na fração fibrosa aumentou com a substituição do feno pela palma forrageira. O aumento do teor de PB nas três frações (conteúdo total, fluido e fração fibrosa), se deve, provavelmente, à alta digestibilidade da palma forrageira, desaparecendo rapidamente do rúmen e conseqüentemente, concentrando os demais nutrientes, dentre eles a PB.

A proteína verdadeira (PV), nitrogênio não protéico (NNP) e proteína bruta total, expresso em mg/100mL, e PV e NNP, expresso em % (Tabela8), não diferiram estatisticamente entre os tratamentos. Estes achados demonstram que as dietas não interferiram no fracionamento de N no rúmen, proporcionando condições semelhantes no rúmen dos ovinos.

Tabela 8 - Fracionamento do N (mg/100mL e %) no rúmen de ovinos, em função da dieta.

	Dieta					EPM	P>F		
	Feno	Palma – nível de ureia (%)					Feno	Ureia	
		0,0	0,7	1,4	2,1			*L	*Q
N (mg/100mL)									
Proteína Verdadeira	18	12	10	12	11	0,02	ns	ns	ns
Nitrogênio não Protéico	23	18	17	14	23	0,01	ns	ns	ns
Proteína Bruta total	158	162	161	188	159	0,07	ns	ns	ns
N (%)									
Proteína Verdadeira	43	43,06	35,91	48,86	31,82	2,32	ns	ns	ns
Nitrogênio não Protéico	57	56,94	64,09	51,14	68,08	2,32	ns	ns	ns

(*) representa a diferença em relação à dieta feno a 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett. L = linear; Q = quadrática.

O pH diminuiu nas dietas com palma contendo 0,0; 0,7 e 2,1% de ureia (Tabela 9). Entretanto, o valor de pH ficou acima de 6,2 em todos os tratamentos, que é o preconizado para o máximo crescimento microbiano, (Silva e Leão, 1979; Van Soest, 1994). O pH é fortemente influenciado pela produção de ácidos orgânicos, principalmente o ácido láctico, produzido em maior proporção em dietas ricas em carboidratos rapidamente fermentáveis, proporcionando assim valores de pH mais baixos, visto que o ácido láctico é considerado um ácido mais forte que os ácidos acético, propiônico e butírico. Contudo, não foi observado mudanças críticas no pH, visto que a palma forrageira possui alto teor de pectina, o que promoveu uma fermentação ruminal mais equilibrada, pois quando fermentada a pectina produz mais ácido acético (Kozloski, 2002; Van Soest, 1994). A mastigação e salivagem nas dietas com palma forrageira, provavelmente sofreu pequena variação, devido a fibra fisicamente efetiva do feno de tifton contido nestas dietas, contribuindo para a manutenção do pH adequado no fluido ruminal.

Analisando isoladamente o efeito da ureia nas dietas com palma, verificou-se que a ureia não influenciou o pH, independentemente do nível de inclusão.

A palma forrageira sem ureia diminuiu a concentração de amônia no fluido ruminal em relação à dieta feno. A dieta com palma contendo 2,1% de ureia

proporcionou uma maior concentração de amônia no rúmen. Enquanto que no tratamento palma contendo 0,7% de ureia a concentração de amônia foi menor em relação dieta feno. Entretanto, avaliando-se exclusivamente o efeito da ureia nas dietas com palma, verificou-se comportamento linear positivo para o nível de ureia nas dietas com palma forrageira, onde a maior produção ocorreu quando os animais receberam palma com 1,4 e 2,1% de ureia (21,25 e 27,68 mg/100mL, respectivamente) e a menor produção foi com a palma sem ureia (9,16mg/100mL). Satter e Slyter (1974) recomendam de 2 a 5mg de N-NH₃/100mL do fluido ruminal para o crescimento microbiano adequado. Enquanto Van Soest (1994) recomenda 10mg/100mL de líquido ruminal. Contudo, essa concentração pode ser variável, dependendo da dieta e das condições ruminais como um todo.

As dietas com maiores níveis de ureia (1,4 e 2,1%) proporcionaram maiores níveis de N-NH₃. Já as dietas com palma sem ureia e palma contendo 0,7% de ureia proporcionaram menor concentração de N-NH₃. Possivelmente as dietas com menor concentração de amônia foram as que mais se adequaram em disponibilizar, na mesma velocidade de degradação, as fontes de energia e nitrogênio para a síntese de proteína microbiana.

Segundo Paixão et al (2007), os microrganismos utilizam a maior parte do nitrogênio na forma de amônia e as bactérias são eficientes na assimilação deste composto, até atingirem seu requerimento, que é determinado pela disponibilidade de carboidratos fermentáveis. Assim, a excreção de ureia representa elevado custo biológico e desvio de energia para a manutenção das concentrações de nitrogênio em níveis não tóxicos no corpo, visto que neste processo o animal passa a gastar parte da energia que seria destinada para manutenção e produção, para ser gasta com a síntese de ureia.

A concentração de amônia no rúmen é função do equilíbrio entre as taxas de produção e absorção (Broderick et al., 1991), e quando em excesso, é absorvida pela parede do rúmen e, no fígado através do ciclo da ureia, é convertida em ureia, ocasionando um custo energético ao animal de 12 Kcal/g de N (Van Soest, 1994).

Tabela 9 – Concentração de ácidos graxos voláteis (acetato, propionato, butirato e total), N-NH₃ e relação acetato:propionato e pH no fluido ruminal

	Dieta					EPM	P>F		
	Feno	Palma – nível de ureia (%)					Feno	Ureia	
		0,0	0,7	1,4	2,1			*L	*Q
pH	6,48	6,32*	6,20*	6,42	6,36*	0,02	0,0101	ns	ns
N-NH ₃ (mg/100mL)	19,21	9,16*	15,19*	21,25	27,68*	0,67		<0,0001	ns
mMol/100mL)									
Acetato	106,76	208,71*	255,23*	235,32*	234,67*	6,96	0,0737	ns	0,0351
Propionato	28,65	71,19*	81,15*	70,89*	69,38*	2,18	0,0099	ns	ns
Butirato	12,04	21,70*	27,78*	26,29*	24,85*	0,71	<0,0001	0,0991	0,0049
AGV total	147,45	301,60*	364,17*	332,51*	318,91*	9,68	0,0274	ns	0,0389
Acetato:propionato	4,16	3,01	3,16	3,34	3,32	0,19	ns	0,0054	ns
Proporção molar									
Acetato	75,89	70,30*	69,00*	70,00*	70,20*	0,23	0,0002	ns	ns
Propionato	19,59	23,30*	22,21*	21,58*	21,67*	0,22	0,0259	0,0047	ns
Butirato	8,13	7,32	7,86	8,41	8,12	0,67	ns	0,0365	ns

(*) representa a diferença em relação à dieta feno a 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett. L = linear; Q = quadrática.

A dieta influenciou a concentração de acetato, propionato, butirato e AGV total (mMol/mL). Verificou-se aumento significativo nas produções individual e total dos AGVs nas dietas, com palma forrageira contendo ureia em relação à dieta feno (Tabela 9). Este resultado deve-se, provavelmente, ao alto teor de CNF das dietas com palma, e a rápida degradabilidade ruminal dos carboidratos que compunham essas dietas, proporcionando maior disponibilidade de energia para a microbiota ruminal e consequentemente maior produção de AGVs.

Avaliando-se exclusivamente o efeito da ureia nas dietas com palma, verificou-se comportamento quadrático para acetato e AGV total (mMol/100mL), enquanto que

para butirato (mMol/100mL), houve efeito quadrático. No entanto, a ureia não influenciou a concentração de propionato (Tabela 8). Os pontos de máximo foram 1,15 e 1,22 % de ureia para acetato e butirato, com produção máxima de 253 e 27,4 mMol/100mL, respectivamente. Provavelmente, a quantidade de nitrogênio disponibilizado pela hidrólise da ureia, juntamente com a energia dos carboidratos rapidamente disponíveis, provenientes da palma forrageira, aumentaram a atividade microbiana, e, conseqüentemente a produção dos AGVs.

As dietas influenciaram a proporção molar de acetato e propionato. Verificou-se que a proporção molar de acetato diminuiu nas dietas com palma, enquanto que a proporção de propionato aumentou. Já a proporção de butirato não foi influenciada pela dieta. Os carboidratos fibrosos do feno, quando fermentados, produzem maior proporção de acetato quando comparado com palma forrageira. No entanto, a palma é rica em pectina que, quando fermentada, produz mais ácido acético que o amido, por exemplo, o que justifica uma variação tão pequena nos resultados encontrados. O aumento no teor de CNF e a diminuição na FDN provavelmente causaram o aumento na concentração de propionato nas dietas com palma forrageira e ureia. Silva et al. (1997), trabalhando com palma na dieta de ovinos, também encontraram maior concentração de propionato no rúmen.

Analisando-se exclusivamente o efeito da ureia nas dietas com palma, verificou-se aumento linear na proporção de propionato e butirato. Entretanto, a ureia não influenciou a proporção de acetato. Silva e Leão (1979), relatam que dietas com grandes quantidades de proteína bruta ocasionam decréscimo na proporção relativa de acetato e aumento na proporção de butirato. Como, neste trabalho, o teor de PB foi idêntico, acredita-se que a ureia por ser prontamente disponível tenha proporcionado um aumento nas bactérias produtoras de butirato, justificando, assim, o aumento.

A dieta não influenciou a relação acetato: propionato (Tabela 9). Contudo, verificou-se influência da ureia nas dietas com palma, observando-se comportamento linear decrescente. Silva et al. (1997) e Ben Salem et al. (1996), trabalhando com palma forrageira na dieta de ovinos, observaram menor relação acetato:propionato, diferindo da relação encontrada neste trabalho, que não variou com a dieta, mesmo a concentração de propionato tendo aumentado.

Os protozoários da classe dos Ciliados são classificados em dois grandes grupos: os Entodimorfos e os Holotricias. No primeiro grupo foram identificados os gêneros *Entodinium sp.* e o *Ophryoscolex sp.*, e no segundo grupo, os gêneros *Isotricha sp.* e o *Daystricha sp.* (Tabela 6). Dentre esses gêneros identificados, o *Entodinium sp.* foi encontrado em maior quantidade em todos os tratamentos. A população deste gênero e a população total de protozoários expressa em protozoários/mL foi menor nos animais que receberam as dietas com palma sem ureia e com palma contendo 2,1% de ureia (Tabela 9).

Para o gênero *Ophryoscolex sp.* (protozoários/mL) a população aumentou apenas no tratamento palma contendo 1,4% de ureia ($10,99 \times 10^3$ protozoários/mL). Enquanto que os gêneros *Isotricha sp.* e *Daystricha sp.*, (protozoários/mL) não foram influenciados pelas dietas.

Quando expresso em porcentagem, o gênero *Entodinium sp.* diminuiu nos tratamentos palma contendo 0,0; 1,4 e 2,1% de ureia em relação dieta feno. Enquanto que o gênero *Isotricha sp.* não apresentou diferença estatística entre os tratamentos. Já o gênero *Daystricha sp.* (%) aumentou quando a dieta feno foi substituída por palma com 0,0 e 2,1% de ureia, e o gênero *Ophryoscolex sp.* (%) também aumentou com palma contendo 1,4 e 2,1% de ureia.

O gênero *Entodinium sp.* diminuiu com a substituição do feno de tifton por palma forrageira, devido os carboidratos rapidamente fermentáveis contidos na palma,

visto que, este gênero ingere preferencialmente partículas insolúveis suspensas no fluido ruminal (Kozloski, 2002). Os Entodimorfos são capazes de aderirem às fibras e apresentam atividade celulolítica e hemicelulolítica. Contudo, observou-se um crescimento na população desses ciliados na presença de ureia, demonstrando que este composto pode ter influenciado positivamente o crescimento dos ciliados no rúmen.

A menor população de *Entodinium sp.* encontrada no tratamento palma contendo 2,1% de ureia deve-se, provavelmente, à redução do consumo de MS e demais nutrientes, diminuindo o aporte energético para o crescimento desse gênero.

Entretanto, o crescimento do gênero *Daystricha sp.* com a inclusão da palma forrageira e ureia deve-se, provavelmente, à maior capacidade deste gênero em ingerir materiais solúveis e grânulos de amido (Kozloski, 2002), condição esta encontrada nestas dietas experimentais.

Tabela 10 - Concentração de protozoários ciliados ($\times 10^3/\text{mL}$ e %) em ovinos alimentados com palma forrageira e ureia.

	Dieta					EPM	P>F		
	Feno	Palma – nível de ureia (%)					Feno	Ureia	
		0,0	0,7	1,4	2,1			*L	*Q
Protozoários/mL									
<i>Entonium sp.</i>	352,36	123,20*	318,00	401,33	114,40*	34678,19	0,0249	ns	<0,0001
<i>Isotricha sp.</i>	0,14	0,53	0,40	0,53	0,27	112,22	ns	ns	ns
<i>Daystricha sp.</i>	3,42	9,33	7,60	10,00	12,27	1322,19	ns	ns	ns
<i>Ophryoscolex sp.</i>	0,87	0,21	0,52	10,99*	3,20	1012,95	0,0085	ns	ns
Protozoários totais	356,80	135,20*	331,20	422,85	130,13*	34660,98	0,0293	ns	<0,0001
Protozoários (%)									
<i>Entonium sp.</i>	98,54	91,92*	95,91	95,14*	88,04*	0,96	<0,0001	ns	0,0289
<i>Isotricha sp.</i>	0,05	0,31	0,13	0,11	0,24	0,05	ns	ns	ns
<i>Daystricha sp.</i>	1,01	5,91*	2,34	2,24	9,16*	0,80	0,0020	ns	0,0455
<i>Ophryoscolex sp.</i>	0,40	1,86	1,62	2,51*	2,55*	0,31	0,0290	ns	ns

(*) representa a diferença em relação à dieta feno a 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett. L = linear; Q = quadrática.

A ureia promoveu comportamento quadrático na população de *Entodinium sp.* (protozoários/mL e %) e população total de ciliados, bem como na população *Daystricha sp.* (%). Porém, não influenciou a população de *Isotricha sp.* e

Ophryoscolex sp. (protozoários/mL e %) e *Daystricha sp.* em protozoários/mL. Os ciliados ingerem bactérias como principal fonte de aminoácidos, de ácidos nucléicos (Kozloski, 2002) e outros compostos nitrogenados. Assim, é possível que tenha ocorrido uma sincronia entre energia, proveniente dos carboidratos da palma forrageira, e nitrogênio da ureia, aumentando assim a população bacteriana e conseqüentemente a população de protozoários. Entretanto, a proteína proveniente das plantas e os aminoácidos livres consistem em uma valiosa fonte de compostos nitrogenados para algumas espécies (Hobson & Stewart, 1997). O ponto de máximo para *Entodinium sp.* e população de protozoários total consistiu em 1,06 e 1,07% de ureia, respectivamente, para a produção máxima de $398,72 \times 10^3$ e $417,28 \times 10^3$ protozoários/mL.

CONCLUSÕES

É possível substituir até 71,67% do feno de tifton por palma forrageira e utilizar até 1,2% de ureia na ração à base de palma, substituindo parcialmente o farelo de soja e o milho, sem alterar a dinâmica ruminal e a população de ciliados no fluido ruminal.

Dietas contendo palma forrageira aumentam a produção de biofilme, o TSF, AGVs, N-NH₃, mas não altera a relação acetato:propionato, o fracionamento de N nas frações bactéria, protozoários e líquido livre de célula, a PB total, NNP e PV no fluido ruminal e o RAM, quando comparado com dietas baseadas em feno de tifton.

Adição de ureia à dietas baseadas em palma forrageira reduz o consumo de matéria seca.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Araújo, J.S.; Perez, J.R.O.; Oliveira, V.; Braga, G.C.; Peixoto, E.C.T.M.; Salvador, F.M.; Tsuzuki, N. Monensina sódica no consumo e digestibilidade aparente das fibras em detergente neutro e ácido da dieta em ovinos. **Archives of Veterinary Science**, v.12, n.1, p. 28-34, 2007.

Arcuri, P. B.; Lopes, F. C. F.; Carneiro, J. C. Microbiologia do rúmen. In: Berchielli, T. T.; Pires, A. V.; Oliveira, S. G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006, 583 p.

Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. Ed. 17, v. 2, p., 2000.

Batista, A. M.; Mustafá, A. F. McAllister, et al. Effects of variety of chemical composition, *in situ* nutriente disappearance and *in vitro* gas production of spineless cactus. **Journal Science Food Agriculture**, 83:440-445; 2003b.

Batista, A.M.V.; Mustafa, A.F.; Santos, G.R.A.; Carvalho, F.F.R.; Dubeux, Jr. J.C.B.; Lira, M.A.; Barbosa, S.B.P. Chemical composition and ruminal dry matter and crude protein degradability of spineless cactus. **Journal Agronomy & Crop Science**, v. 189, p. 123-126. 2003a.

Ben Salem, H.; Nefzaoui, A.; Abdouli, H. et al. Effect of increasing level of spineless cactus (*Opuntia ficus indica* var. *inermis*) on intake and digestion by sheep given strawbased diets. **British Society Animal Science**, v.62, n.1, p.293-299, 1996.

Bispo, S. V.; Ferreira, M. A.; Vêras, A. S. C. Palma Forrageira em Substituição ao Feno de Capim-elefante. Efeito sobre Consumo, Digestibilidade e Características de Fermentação Ruminal em Ovinos. **R. Bras. Zootec.**, V.36, n.6, p.1902-1909, 2007.

Bispo, S.V.; Ferreira, M.A.; Vêras, A.S.C.; Batista, A.M.V.; Pessoa, R.A.S.; Fotius, A.C.A. Substituição do feno de capim elefante por palma forrageira para ovinos. Consumo, Digestibilidade e Parâmetros ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia/Brazilian Journal of Animal Science**, 2007 (no prelo).

Broderick, G.A., Wallace, R.J., Ørskov, E.R. Control of rate and extent of protein degradation. In: Tsuda, T., Sasaki, Y., Kawashina, R. (Ed.) **Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants**. New York, Academic Press, p.542-592, 1991

Costerton, J. W.; Cheng, K. J.; Geesey, G. G.; Ladd, T. I.; et al. Bacterial Biofilms in Nature and Disease. **Ann. Rev. Microbiol.** 1987.

D'agosto, M.; Carneiro, M. E. Evaluation of lugol solution used for counting rúmen ciliates. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 16, p. 725-729, 1999.

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

Dirksen G., Gründer H.D. & Stöber M.1993. **Exame Clínico dos Bovinos**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 419p.

Dirksen, G. Sistema digestivo. In: Dirksen, G.; Grunder, H.D.; Stöber, M. (Eds.). Rosenberger: **Exame clínico dos bovinos**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1993. p.167-169.

Dirksen, g. V.; Smith, M. C. Acquisition and analysis of bovine rúmen fluid. **Bov. Pract., Still Water**, n.22, p. 108-116, 1987.

Flemming HC, Wingender J, Mayer C, Korstgens V, Borchard W. 2000. Cohesiveness in biofilm matrix polymers. In **Community Structure and Cooperation in Biofilms**. Cambridge: *SGM Symposium Series 59*, ed. D Allison, P Gilbert, HM Lappin-Scott, M Wilson, pp. 87–105. Cambridge, UK: Cambridge Univ. Press.

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

Harrison, J. J.; Turner, R. J.; Marques, L. L. R. & Ceri, H. Biofilms: A new understanding of these microbial communities is driving a revolution that may transform the science of microbiology. **Feature Articles**, 2005. Disponível em: www.americanscientist.org. Acesso em 04 de abril de 2012.

Hobson, P.N. & Stewart, C. S. The Rúmen Microbial Ecosystem. **Blackie Academic & Professional**, segunda edição; p. 719, 1997.

Huber, J. T.; Kung, L. Protein and non-protein nitrogen utilization in cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 64, n. 6, p.1170-1195, 1981.

Jenkinson H. F. & Lappin-Scott H. M. Biofilms adhere to stay. **Trends in Microbiology** Vol.9 n^o.1, 2001. Disponível em: <http://tim.trends.com>. Acessado em 06 de março de 2012.

Jesus, L. P.; Cabral, L. S.; Espinosa, M. M.; Abreu, Joadil, G.; Zervoudakis, J. T.; Morenz, M. J. F. Simulação dos efeitos de fatores dietéticos sobre a população de protozoários ruminais. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.** Salvador, v.13, n.1, p.83-96 jan/mar, 2012.

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

Lana, R. P. **Nutrição e alimentação animal (mitos e realidades)**. Viçosa: UFV, 2005. 344 p.

Milton, S.T.; brandt JR, R.T.; titgemeyer, E.C. Urea in dry-rolled corn diets: finishing steer performance nutrient digestion, and microbial protein production. **Journal of Animal Science**, Albany, v.75, p. 1415-1424, 1997.

Min, B. R., G. T. Attwood, K. Reilly, W. Sun, et al. *Lotus corniculatus* condensed tannins decrease in vivo populations of proteolytic bacteria and affect nitrogen metabolism in the rumen of sheep. **Canadian Journal of Microbiology**. 48:911–921, 2002.

Neiva, G. S. M. **Teores de ácidos graxos voláteis no líquido ruminal; aspectos histológicos e histoquímicos da mucosa do estômago de ovinos consumido palma forrageira**. 1996. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

Nichols R.E. & Penn K.E. 1958. Simple methods for the detection of unfavorable changes in ruminal ingesta. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 133:275-277.

Ogimoto, K.; Imai, S. **Atlas of Rumen Microbiology**. Tokyo: Japan Scientific Societies Press, 1981, 231 p.

Oliveira, V. S.; Ferreira, M.A.; Guim, A; Modesto, E.C.; Lima, L. E.; Silva, F.M. Substituição do milho e do feno de capim-tifton por palma forrageira. Produção de

proteína microbiana e excreção de uréia e de derivadas de purina em vacas lactantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 36, 936-944, 2007.

Paixão, M. L. Valadares Filho, S. C.; Leão, M. I.; Valadares, R. F. D.; Paulino, M. F.; Marcondes, M. I.; Fonseca, M. A.; Silva, P. A.; Pina, D. S. Ureia em dietas para bovinos: consumo, digestibilidade dos nutrientes, ganho de peso, características de carcaça e produção microbiana. **R. Bras. Zootec.**, v.35, n.6, p.2451-2460, 2007.

Russel, J.B., O'connor, J.D., Fox, D.G., Sniffen, C.J., Van Soest, P.J. A Net Carbohydrate and Protein System for evaluating cattle diets. I. Ruminant fermentation. **J. Anim. Sci.**, 70: 3551-3561, 1992.

Salman, A.K.D.; Matarazzo, S.V., Ezequiel, J.M.B. et al. Estudo do balanço nitrogenado e da digestibilidade da matéria seca e da proteína de rações para ovinos suplementados com amiréia, uréia ou farelo de algodão. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 33., 1996, Fortaleza. **Anais...Fortaleza:SBZ**, 1996. p.197-199.

Santos, F. A. P. Metabolismo de Proteínas. In: Berchielli, T. T.; Pires, A. V. V.; Oliveira, S. G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006.

Santos, G.T.; Cavalieri, F.L.B.; Modesto, E.C. Recentes Avanços em Nitrogênio não Protéico na Nutrição de Vacas Leiteiras. In: SINLEITE– Simpósio Internacional em Bovinocultura de Leite - Novos Conceitos em Nutrição, 2., 2001, Lavras. **Anais...Lavras: Universidade Federal de Lavras**, 2001. p.199-228.

Satter, L. D.; Slyter, L. L. Effect of amônia concentration on rúmen microbial protein production *in vitro*. **British Journal Nutrition**, v.32, n.1, p.199-208, 1974.

Silva, F.F.; Ítavo, C.C.B.F.; Ítavo, L.C.V. et al. Aspectos do metabolismo de nitrogênio. In: Ítavo, L.C.V. e Ítavo, C.C.B.F. (eds.). **Nutrição de Ruminantes: aspectos relacionados à digestibilidade e ao aproveitamento de nutrientes**. Campo Grande: UCDB, 2005. cap. 9, p. 171-184

Silva, J. F. C., Leão, M. I. **Fundamentos de nutrição de ruminantes**. Piracicaba, Ed. Livroceres, 1979. 384p

Silva, M.F.; Batista, A.M.; Almeida, O.C. Efeito da adição de capim elefante a dietas a base de palma forrageira sobre a fermentação ruminal em bovinos. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 34., 1997, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1997. p.140-142

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

Van Soest, P.J. **Nutritional ecology of the ruminants**. 2.ed., Ithaca: Cornell University. 476p, 1994.

Vieira, E. de L.; Batista, A. M. V.; Guim, A.; et al. **Consumo, digestibilidade e características ruminais em caprinos recebendo dietas à base de palma forrageira contendo diferentes níveis de feno**. 2006. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

Vieira, E.L. **Adição de fibra em rações à base de palma forrageira para caprinos**. 2006. Tese (Zootecnia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Vieira, E.L.; Batista, A.M.V.; Guim, A.; Carvalho, F.F.; Nascimento, A.C.; Araújo, R.F.S.; Mustafa, A. Effects of hay inclusion on intake, *in vivo* nutrient utilization and ruminal fermentation of goats fed spineless cactus (*Opuntia ficus-indica* Mill) based diets. **Anim. Feed Sci. Technol.** (2007), doi: 10.1016/j.anifeedsci. 2007.05.031.

Vieira, P.F. **Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídios em rações para ruminantes**. 1980. 98p. Tese (Doutorado em Zootecnia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

Wanderley, W. L.; Ferreira, M. A.; Andrade, D. K. B. et al. Palma Forrageira (*Opuntia ficus indica* Mill) em Substituição à Silagem de Sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) na Alimentação de Vacas Leiteiras. **R. Bras. Zootec.**, v.31, n.1, p.273-281, 2002

Wang, Z.W.; Lee, S.H.; Elkins, J. G. & Morrel-Falvey, J. L. Spatial and temporal dynamics of cellulose degradation and biofilm formation by *Caldicellulosiruptor obsidiansis* and *Clostridium thermocellum*. **AMB Express**, 2011, disponível em: <http://www.amb-express.com/content/1/1/30>.

Williams, A. G. **Rúmen holotrich ciliate protozoa**. *Microbiology Reviews*, 50:25, 1986.