

Estudo dos protozoários ciliados em bovinos consumindo dietas com diferentes níveis de proteína não degradável no rumen¹

Marcia Regina Coalho, José Carlos Machado Nogueira Filho*, José Aparecido Cunha e César Gonçalves de Lima

FZEA, Universidade de São Paulo, Pirassununga, São Paulo, Brasil. *Autor para correspondência. e-mail: jocamano@usp.br

RESUMO. O experimento foi realizado no Departamento de Zootecnia da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, no *Campus* da USP, em Pirassununga, Estado de São Paulo, e teve por objetivos estudar a variação de pH e identificar e quantificar os protozoários ciliados do rúmen de bovinos submetidos a dietas com diferentes níveis de proteína não degradável no rúmen (PNDR), denominados tratamentos A-24%, B-30%, C-36% e D-42%. Todas as rações foram formuladas para serem isoproteicas e isoenergéticas. A dieta teve um teor de PB de 11% e 63% de NDT, e os ingredientes que a compunham foram: farelo de soja, milho (grãos), aveia (grãos), sorgo (grãos), silagem de milho, farinha de sangue, farinha de carne, calcário, sal e uréia, os quais foram oferecidas a quatro bovinos adultos, mestiços europeu x zebu, dotados de cânulas ruminais, com pesos médios de 600kg. Todos os animais eram castrados. O delineamento estatístico utilizado foi o de Quadrado Latino (4x4). O ensaio experimental foi subdividido em 4 períodos, cada um com 21 dias de adaptação, e, nos dias 23 e 24 de cada período, foram feitas as colheitas das amostras do líquido ruminal antes da alimentação e de 2 em 2 horas, durante um período de 8 horas, seguidas imediatamente da determinação do pH. Os resultados evidenciaram que o pH foi influenciado pelos níveis de PNDR, revelando diferença significativa no efeito tempo (horas após a alimentação, ($p < 0,05$), e que a presença de uréia no rúmen nos tratamentos A e B provocou intensa atividade ureática no rúmen, favorecendo a multiplicação de protozoários ciliados do gênero *Entodinium* spp ($p < 0,05$).

Palavras-chave: bovinos fistulados, pH, proteína não degradável no rúmen, protozoários ciliados (Ciliophora).

ABSTRACT. Ciliated protozoa in the rumen of cattle under different levels of undegradable protein diets. The experiment was carried out at the Zootechny and Food Engineering Faculty of *Universidade de São Paulo* (São Paulo University - Brazil), and it aimed to study the pH variation and also to identify and to qualify the ciliated protozoa in the rumen of cattle under 24%, 30%, 36% and 42% of undegradable protein (PNDR) diets, named as treatments A, B, C and D, respectively. All the diets had the same protein and energy concentration (11% CP and 63% TDN), and they were composed of soybean meal, corn barley and sorghum grains, blood and meat meal, corn silage, limestone, salt and urea. Four crossbred European x Zebu steers, having a mean weight of 600kg and holding a rumen cannulae were utilized in a 4 X 4 Latin Square design, with four periods, each one containing 21 days of adaptation. On day 23 and 24 of each period, rumen fluid samples were taken for pH determination. The results showed that pH was affected by PNDR level, with significant difference of collection time after feeding ($p < 0,05$), and the presence of urea on diets A and B resulted in an intense ureal activity in the rumen, which stimulated the multiplication of ciliated protozoa of the genus *Entodinium* spp ($p < 0,05$).

Key words: cannulated cattle, rumen pH, undegradable intake protein, ciliated protozoa (Ciliophora).

Introdução

Os protozoários ciliados associados aos 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.

Pesquisas com dietas a base de trigo (Kreikemeier *et al.*, 1990), milho e sorgo (Towne *et al.*, 1990a, b; Franzolin e Dehority, 1996)

demonstraram altas concentrações de protozoários no rúmen sob essas condições dietéticas.

Bonhomme (1990) sugere que a atividade ureática no rúmen não está associada aos protozoários, mas à fração contendo bactérias. De acordo com Onodera *et al.* (1977), a atividade ureolítica, que é atribuída aos ciliados, pode ser devida a bactérias contaminantes.

Purse e Moir (1966) notaram altas concentrações de protozoários, quando o suplemento alimentar continha uréia, quando alimentados com uma dieta basal não suplementada, ou com uma fonte protéica de nitrogênio.

Bonhomme-Florentin e Durand (1974) e Michalowski *et al.* (1987) observaram que nos ovinos que receberam duas dietas baseadas em cereais, uma suplementada com uréia e a outra com proteína de soja, a população de ciliados foi maior no tratamento com uréia, composta principalmente de ciliados do gênero *Entodinium*. Nogueira Filho *et al.* (1999a) também constataram que a inclusão de uréia na dieta aumentou a população de ciliados do rúmen, revelando predominância do gênero *Entodinium*.

Nogueira Filho *et al.* (1999b) concluíram que a uréia adicionada à silagem de cana-de-açúcar em dietas para ovinos pode ter agido diretamente nas divisões celulares dos ciliados e também ter propiciado um aumento linear nos protozoários do gênero *Entodinium*, *Diplodinium*, *Ostracodinium* e *Eudiplodinium*. Belogradov (1981) e Kuimov *et al.* (1982), trabalhando com ovinos, também notaram o aumento de protozoários ciliados, quando feno, gramíneas ou suplementos protéicos eram substituídos por uréia na dieta.

Bragg *et al.* (1986) e Franzolin Neto *et al.* (1991) detectaram níveis mais elevados de ciliados no momento do arraçamento. Entretanto, Kurar *et al.* (1988) e Nogueira Filho (1995) observaram efeito contrário.

Na presença de amido, a uréia tem um efeito estimulatório sobre os ciliados. Adicionado a carboidratos (amido e celulose), a uréia (0,01%) prolongou o tempo de sobrevivência dos ciliados em aproximadamente 30% (Bonhomme-Florentin, 1974).

Conforme Campos e Rodrigues (1984), a eficiência da utilização de uréia será maior quando a amônia for o primeiro fator limitante para a síntese de proteínas microbiana. Assim, a utilização de uréia será maior em dietas com baixos níveis de proteína e que contenham altos níveis de energia, minerais e outros componentes que aumentam a atividade microbiana no rúmen.

O rúmen caracteriza-se por ser um meio anaeróbico, com cerca de 38-40°C de temperatura, considerado ideal para o desenvolvimento dos microrganismos, apresentando ainda um pH que pode variar de 5,5 a 7,0. Os organismos celulolíticos crescem em pH 6,7, e desvios para cima ou para baixo desse valor podem inibir o crescimento de microrganismos.

Diminuições do pH ruminal costumam associar-se aos decréscimos na degradabilidade da proteína. A máxima atividade das enzimas proteolíticas são encontradas dentro das variações normais de pH (5,5 - 7,0); por isso, uma inibição enzimática não seria a causa do decréscimo, mas sim a diminuição de algumas cepas bacterianas e protozoárias capazes de degradar peptídeos e desaminar aminoácidos (Erflé *et al.*, 1982).

Segundo Marinho (1983), a distribuição e o desenvolvimento dos ciliados no rúmen são influenciados pela dieta ingerida pelo animal, pelo pH do conteúdo ruminal e pelas relações que eles estabelecem entre si e com a comunidade bacteriana.

A composição química da dieta está intimamente relacionada ao valor de pH do líquido ruminal, que favorecerá ou inibirá o desenvolvimento de certas espécies de protozoários ciliados. Os componentes energéticos e nitrogenados da dieta são os fatores essenciais que determinam a concentração da micropopulação do rúmen (Hungate, 1966; Church, 1976).

Dijkstra *et al.* (1993) afirmam que incrementos na concentração de ácidos graxos voláteis reduzem os níveis de pH e com isso incrementam a velocidade de absorção de ácidos graxos voláteis. Outros autores (Orskov *et al.*, 1971; Milton *et al.*, 1977) não puderam constatar variações na concentração de ácidos graxos voláteis relacionadas à administração de quantidades crescentes de uréia ou de farinha de pescado com rações à base de amido.

Os objetivos deste estudo foram estudar a variação do pH do líquido ruminal e identificar e quantificar os protozoários ciliados do rúmen de bovinos, quando submetidos a dietas com diferentes níveis de proteína não degradável.

Material e métodos

O experimento foi conduzido nas dependências do *Campus* de Pirassununga da Universidade de São Paulo, em Pirassununga, Estado de São Paulo.

Foram utilizados 4 bovinos adultos, mestiços (europeu x zebu), machos, castrados, com pesos médios de 600kg dotados de cânulas ruminais e mantidos em baias individuais, os quais receberam 4 tipos de rações com os seguintes níveis de proteína

não degradável: 24%, 30%, 36% e 42%, denominados, respectivamente, tratamentos A, B, C e D.

A rações foram pesadas e fornecidas em quantidades equivalentes a 2% do peso corporal de cada animal e distribuídas duas vezes ao dia, em duas porções iguais, às 8h e 16h.

Todas as dietas foram formuladas para serem isoproteicas e isoenergéticas, com teores de 11% de proteína bruta e 63% de nutrientes digestíveis totais. As porcentagens de proteína total bem como os ingredientes que compuseram as dietas são apresentados na Tabela 1, e a composição bromatológica pode ser visualizada na Tabela 2. Essas dietas foram analisadas no Departamento de Zootecnia da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo.

Tabela 1. Composição percentual das dietas em termos de Matéria Seca (%)

	Tratamentos			
	A- 24%	B- 30%	C- 36%	D-42%
Silagem de Milho	53,9	34,75	39,59	59,55
Sal	1,00	1,00	1,00	1,00
Uréia	1,25	1,25	-	-
Calcário	0,98	1,14	0,78	-
Aveia (Grãos)	42,83	16,00	-	-
Far. Sangue	-	-	5,00	5,00
Milho (Grãos)	-	-	52,23	-
Far. Soja	-	-	1,39	-
Far. Carne	-	-	-	3,80
Sorgo (Grãos)	-	-	-	30,66
Total	100	100	100	100

Tabela 2. Composição bromatológica das rações % MS

Amostras	MS	PB	FB	EE	MM	Ca	P
Trat.A-24%	90,17	18,02	9,69	4,40	5,71	0,89	0,28
Trat.B 30%	89,31	14,00	4,35	3,76	3,91	0,64	0,17
Trat.C 36 %	88,71	15,40	2,23	3,58	3,68	0,50	0,20
Trat.D 42%	88,85	22,66	2,55	3,32	7,25	1,38	0,77
Silagem de Milho	94,26	8,40	24,07	2,23	3,65	0,17	0,13

O delineamento experimental empregado foi o de Quadrado Latino (4x4), conforme Gomes (1972). Os resultados foram analisados por meio do programa computacional Statistical Analysis System (SAS Institute Inc., 1985), sendo anteriormente verificada a normalidade dos resíduos pelo quadro de Anova, e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. Foi adotado um nível de significância de 5% para todos os testes realizados.

O experimento foi subdividido em 4 períodos, cada um com 21 dias de adaptação, sendo que, nos dias 23 e 24 de cada período, foram executadas as mensurações de pH por meio de peagâmetro digital portátil, imediatamente após as colheitas de líquido ruminal, feita por meio de bomba de sucção manual a vácuo.

Tais amostragens foram realizadas ao longo do dia no tempo 0 (imediatamente antes da alimentação) e a cada 2 horas (2, 4, 6, 8) após o arraçãoamento, para estabelecer as curvas quantitativas de aparecimento dos protozoários ciliados.

Do material proveniente do rúmen, 10mL foram transferidos para tubos de ensaio contendo o mesmo volume de formaldeído diluído em água destilada a 1:2, para fixação dos protozoários ciliados.

O material obtido ficou em repouso por uma noite, antes de ser submetido à diluição 1:20 em solução de glicerol a 50% em água destilada. O verde brilhante foi o corante utilizado para a identificação dos protozoários de acordo com Dehority (1977).

As contagens diferenciais dos protozoários ciliados por mililitro de líquido de rúmen foram executadas pelo emprego da técnica descrita por Dehority (1977), utilizando-se câmara de Sedgwick-Rafter e ocular provida de retículo com 0,4323mm² de área.

As contagens feitas em 100 campos independentes foram realizadas em duplicata e considerada a média obtida.

Os gêneros identificados foram: Ostracodinium (Os), Diplodinium (Di), Eudiplodinium (Eu), Entodinium (En), Epidinium (Ep).

Resultados e discussão

Os resultados observados para o pH médio do líquido ruminal, a cada duas horas, no período de 8 horas, são mostrados na Figura 1, o comportamento do pH médio do líquido ruminal.

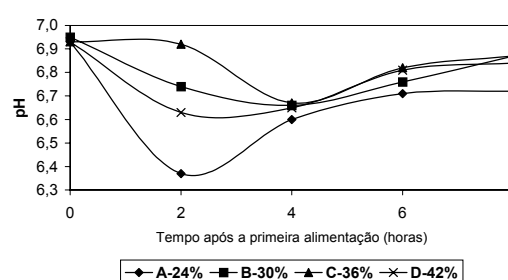


Figura 1. Valores médios de pH no rúmen de bovinos alimentados com rações contendo níveis diferentes de proteína não degradável no rúmen em função do tempo (horas)

O pH foi influenciado pelos níveis de PNDR, revelando diferença significativa no efeito tempo (horas após a alimentação, $p < 0,005$), indicando que houve variabilidade do pH do líquido ruminal em função do arraçãoamento no período de 8 horas,

entretanto, este efeito não foi observado nos tratamentos ($p > 0,05$).

Provavelmente, uma maior proporção de fração solúvel e um maior ritmo de degradação ruminal do amido da dieta justificam menores pH.

Hungate (1966), Church (1976) e Dehority (1977) admitem que as flutuações no pH do rúmen refletem as variações nas quantidades dos ácidos orgânicos que acumulam no conteúdo ruminal e da quantidade de saliva que é produzida. Dessa maneira, o pH ruminal geralmente atingirá o nível mais baixo de duas a seis horas após a alimentação, dependendo da natureza da dieta, e da rapidez com que é ingerida. Desse modo, dietas com grandes quantidades de amido ou carboidratos solúveis resultaria em valores de pH baixo, ao passo que em dietas com preponderância de celulose e outros carboidratos que são metabolizados vagarosamente, a queda do pH não seria tão acentuada.

Pela observação na Figura 1, nota-se que os menores valores médios de pH ocorreram 2 horas após a primeira alimentação, corroborando observações realizadas por Nogueira Filho (1995).

A concentração de ácidos graxos voláteis (AGV) no rúmen reflete, em princípio, a atividade fermentativa por parte da fauna e flora ruminal. A maior disponibilidade de N degradável (Trat. A), teoricamente, melhorou a atividade dos microrganismos, podendo haver uma estreita correlação entre a concentração e a própria absorção de AGV, reduzindo os níveis de pH e incrementando a velocidade de absorção daqueles ácidos (Dijkstra *et al.*, 1993).

Pela análise da Figura 1, verifica-se que a presença da uréia no Trat. A (24% de PNDR) e B (30% de PNDR) foi a que mais resistiu a esse abaixamento, provavelmente devido ao amido de milho ser muito elevado naquelas rações, e por possuir um ritmo de degradação mais lento e gradual, provocando menores oscilações do pH ruminal.

A Figura 2 mostra os totais de protozoários ciliados, destacando-se o gênero *Entodinium* com predominância superior a 90% sobre os demais.

Os resultados obtidos para os gêneros *Ostracodinium*, *Diplodinium*, *Eudiplodinium*, *Entodinium* e *Epidinium*, a cada duas horas, no período de 8 horas após a alimentação, são apresentadas nas Figuras 3, 4, 5, 6 e 7.

No gênero *Ostracodinium* (Figura 3) constata-se diferenças ($P < 0,05$) nas concentrações dos ciliados entre os tratamentos A, D e C no tempo de 2 horas após a alimentação. Os tratamentos contendo uréia na sua composição (Trat. A e B) mostraram um

aumento na concentração no tempo entre 0 e 2 horas após a alimentação, observações que coincidem com trabalhos de Purse e Moir (1966), Bonhomme-Florentin e Durand (1974), Michalowski *et al.* (1987); Belogradov (1981); Kuimov *et al.* (1982) e Nogueira Filho *et al.* (1999a e b). Nos tratamentos C e D essa elevação não foi verificada, mantendo um decréscimo até 6 horas após a alimentação e tendência à normalização nos tempos 6 e 8 horas após o arraçoamento, fato que ocorreu para os demais gêneros estudados.

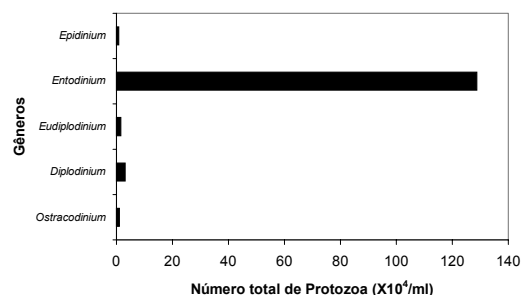


Figura 2. Valores médios da concentração total de protozoários ($\times 10^4/\text{ml}$) em bovinos alimentados com rações contendo níveis diferentes de proteína não degradável no rúmen em função do tempo (horas)

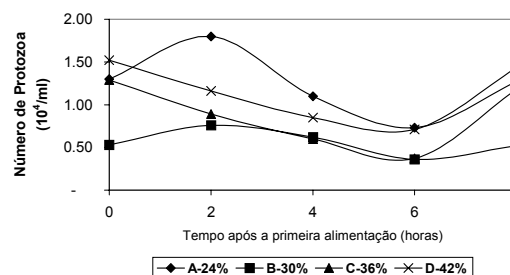


Figura 3. Número de *Ostracodinium spp* ($\times 10^4/\text{ml}$), durante os quatro períodos experimentais em função do tempo de colheita (horas).

Para *Diplodinium* (Figura 4), houve efeito ($p < 0,05$) para o tratamento e o tempo. Não foram observadas diferenças entre as médias de contagem ao longo do tempo para o tratamento C, mas para os demais houve. Nos tempos 4 e 6 horas não foi detectada diferença entre as médias dos tratamentos, mas nos demais tempos sim. A presença da uréia no tratamento A favoreceu o aumento do número desse gênero no tempo entre 0 e 2 horas após a alimentação, fato que não ocorreu nos demais tratamentos.

No gênero *Eudiplodinium* (Figura 5), verifica-se que os tratamentos B, C e D foram semelhantes no

seu comportamento, havendo, porém, diferenças ($P < 0,05$) no efeito do tratamento e do tempo. Entretanto, no tratamento A, provavelmente devido à presença de uréia e porcentagem mais elevada de proteína degradada no rúmen, houve uma concentração mais elevada daquele unicelular no tempo entre 0 e 2 horas após a alimentação.

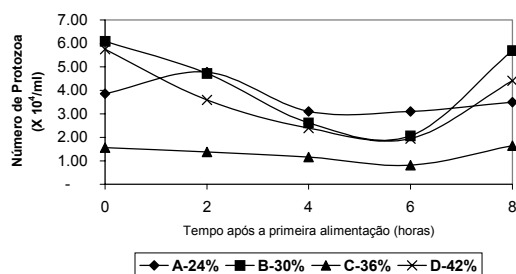


Figura 4. Número de *Diplodinium* spp ($\times 10^4/\text{ml}$) durante os quatro períodos experimentais em função do tempo de colheita (horas)

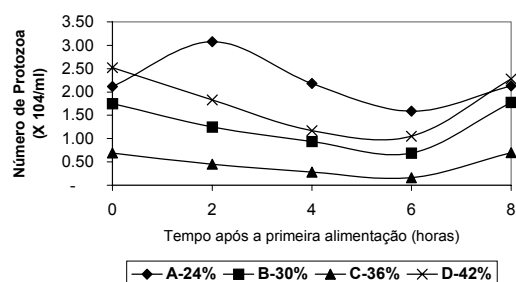


Figura 5. Número de *Eudiplodinium* spp ($\times 10^4/\text{ml}$) durante os quatro períodos experimentais em função do tempo de colheita (horas)

Para o gênero *Entodinium* spp (Figura 6), houve interação entre tratamento e tempo ($P < 0,05$); entretanto, foi observada diferença significativa para o efeito tratamento *versus* tempo ($p < 0,05$).

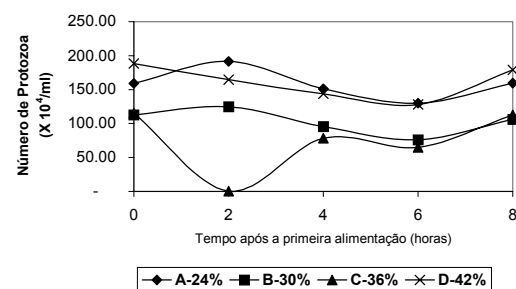


Figura 6. Número de *Entodinium* spp ($\times 10^4/\text{ml}$) durante os quatro períodos experimentais em função do tempo de colheita (horas)

Na Figura 6, percebe-se que os tratamentos A e B, ambos com uréia em sua composição,

apresentaram curvas semelhantes, inclusive com picos de aumento de concentração de *Entodinium* spp, no tempo 2 horas após alimentação. Por outro lado, o tratamento C manifestou comportamento oposto aos tratamentos A e B, no tempo 2 horas após o arraçãoamento, fenômeno este surpreendente, uma vez que, após aquele tempo, voltou a se manifestar em número significativo.

Outro fato foi a presença de mais de 90% de protozoários do gênero *Entodinium* no tratamento A, - resultados semelhantes aos de Bonhomme-Florentin e Durand (1974), que verificaram que a uréia, quando oferecida em dietas com cereais, permitiu a manutenção e aumentou a população de ciliados daquele gênero, e por Belogradov (1981), Kuimov *et al.* (1982) e Nogueira Filho *et al.* (1999a e b), que constataram que a inclusão de uréia na dieta aumentou a população de ciliados, revelando predominância do gênero *Entodinium* spp.

O gênero *Epidinium* (Figura 7), essencialmente conhecido como degradadores de fibra, só foi detectado no tratamento D, em concentrações baixas, uma vez que todos os tratamentos apresentaram níveis dessa fração bastante aquém dos padrões normais, favorecendo o aparecimento de ciliados degradadores de açúcares solúveis (*Entodinium* e *Diplodinium*).

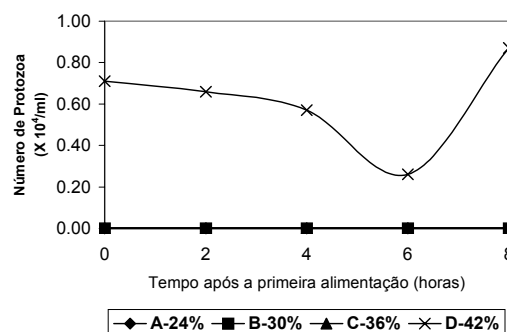


Figura 7. Número de *Epidinium* spp ($\times 10^4/\text{ml}$) durante os quatro períodos experimentais em função do tempo de colheita (horas)

Parece que o nível de proteína bruta na ração não favoreceu a elevação da densidade populacional de ciliados, com exceção dos tratamentos que continham uréia, coincidindo com Franzolin Neto *et al.* (1991), que detectaram níveis mais elevados de ciliados no momento do arraçãoamento, decrescendo até 12 horas depois, e aumentando em seguida até o momento imediatamente anterior à oferta da dieta. Entretanto, Kurar *et al.* (1988) e Nogueira Filho (1995) obtiveram contagens de ciliados mais baixas antes da alimentação e aumentos até seis horas após

arraçoamento de búfalos. Bragg *et al.* (1986) constataram níveis elevados de protozoários ciliados imediatamente após o arraçoamento, contrariando os tratamentos C e D deste experimento.

Concluindo, o pH foi influenciado pelos níveis de proteína não degradável no rúmen, indicando que houve variabilidade em função do arraçoamento num período de oito horas após a alimentação, e que a presença de uréia nos tratamentos A e B provocou intensa atividade ureática no rúmen, favorecendo a multiplicação de protozoários ciliados do gênero *Entodinium* spp.

Referências

- BELOGRUDOV, I.G. Urea in diets for ewes. *Otsevodstvo*, Moscow, v.8, p.23-24, 1981.
- BONHOMME, A. Rumen ciliate: their metabolism and relationships with bacteria and their hosts. *An. Feed Sci. Technol.*, Amsterdam, v.30, p. 203-266, 1990.
- 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.
- BONHOMME-FLORENTIN, A.; DURAND, M. Variations qualitatives et quantitatives de la faune du rumen du mouton en fonction de la nature du régime. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, Paris, v. 14, p. 679-687, 1974.
- BRAGG, D.S.A. *et al.* Effect of source of carbohydrate and frequency of feeding on rumen parameters in dairy steers. *J. Dairy Sci.*, Savoy, v. 69, p. 392-402, 1986.
- CAMPOS, O.F.; RODRIGUES, A.A. Ureia para bovinos em crescimento. In: ANAIS DO II SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, 2., 1984. *Anais...* FEALQ, 1984, p. 142-173.
- CHURCH, D.C. *Digestive physiology and nutrition of ruminants*. Corvallis, O e B Books, v. 1, 1976.
- DEHORITY, B.A. *Classification and morphology of rumen protozoa*. Wooster: Ohio Agricultural Research and Development Center, p. 82, 1977.
- DIJKSTRA, J. *et al.* Absorption of volatile fatty acids from the rumen of lactating dairy cows as influenced by volatile fatty acid concentration, pH and rumen liquid volume. *Br. J. Nutr.*, Wallingford, v. 69, p. 385-396, 1993.
- ERFLE, J.D. *et al.* Effect of pH on fermentation characteristics and protein degradation by rumen microorganisms in vitro. *J. Dairy Sci.*, Savoy, v. 65, p.1457-1514, 1982.
- 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.
- FRANZOLIN, R.; DEHORITY, B. A. Effect of prolonged high-concentrate feeding on ruminal protozoa concentration. *J. Anim. Sci.*, Savoy, v. 74, p.2803-2809, 1996.
- GOMES, F.P. *Curso de estatística experimental*. Ed. Nobel, 1972.
- HUNGATE, R.E. *The rumen and its microbes*. New York: Academic Press, 1966.
- KREIKEMEIER, K.K. *et al.* Steam-rolled wheat diets for finish cattle: effects of dietary roughage and feed intake on finishing steer performance and ruminal metabolism. *J. Anim. Sci.*, Savoy, v.68, p. 2130-2141, 1990.
- KUIMOV, D.K. *et al.* Effect of feeding urea concentrate on the physiological state of sheep. *Sel'skokhozaistvennaya Biologiya*, Moscow, v.17: p.256-259, 1982.
- KURAR, C.K. *et al.* Protozoal status in strained rumen liquor of cattle and buffaloes. *Indian J. Anim. Sci.*, Indore, v. 58, p. 112-115, 1988.
- MARINHO, A.A.M. Ciliate protozoa in the rumen of grazing sheep. *Rev. Port. Cienc. Vet.*, v.78, p. 157-165, 1983.
- MICHALOWSKI, T. *et al.* The influence of non protein nitrogen on the growth of rumen ciliate *Entodinium caudatum* in vitro. *Acta Protozool.*, Warsaw, v. 26, p. 329-334, 1987.
- MILTON, C.T. *et al.* Urea in dry-rolled corn diets: finishing steer performance, nutrient digestion, and microbial protein production. *J. Anim. Sci.*, Savoy, v.75: p.1415-1424, 1997.
- NOGUEIRA FILHO, J.C.M. *Estudo da- degradabilidade "in situ" e de protozoários ciliados com zebuínos da raça Nelore (Bos taurus indicus) e de búfalos (Bubalus bubalis) submetidos a dietas com volumosos e concentrados*. 1995. Tese de Livre-Docência - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, Pirassununga, 1995.
- NOGUEIRA FILHO, J.C.M. *et al.* Bagaço de cana-de-açúcar em dietas com alto concentrado para bovinos jovens e protozoários ciliados no rúmen. In: ANAIS DA XXXVI REUNIÃO ANUAL DA S.B.Z, 36., 1999, Porto Alegre. RS, *Anais...* Porto Alegre, 1999 a., p.29-32.
- NOGUEIRA FILHO, J.C.M. *et al.* Efeitos de níveis crescentes de uréia na dieta de ovinos da raça Ideal sobre a população de protozoários ciliados do rúmen. *Ars Veter.*, Jaboticabal, v.15, p.130-134, 1999b.
- ONODERA, R. *et al.* Ureolytic activity of the washed cell suspension of rumen ciliate protozoa. *Agric. Biol. Chem.*, Bunkyo-Ku, v. 41, p. 2177-82, 1977.
- ORSKOV, E.R. *et al.* Digestion of concentrates in sheep. 2. The effect of urea or fish-meal supplementation of barley digestion on the apparent digestion for protein, fat, starch and ash in the rumen, the small intestine and the large intestine, and calculation of volatile fatty acid production. *Br. J. Nutr.*, Wallingford, v. 25, p. 243-252, 1971.
- PURSE, D.B.; MOIR, R.J. Variations in rumen volume and associated effects-as factors influencing metabolism and protozoa concentrations in the rumen of sheep. *J. Anim. Sci.*, Savoy, v. 25, p. 516-20, 1966.
- SAS. Users guide, statistics, version 5. Cary: SAS Inst., 1985.
- TOWNE, G. *et al.* Dynamics of ruminal ciliated protozoa in feedlot cattle. *Appl. Environ. Microbiol.*, Washington DC, v. 56, p. 3174-3178, 1990a.

TOWNE, G. *et al.* Ruminal ciliated protozoa in cattle fed finishing diets with or without supplemental fat. *J. Anim. Sci.*, Savoy, v.68: p. 2150-2155, 1990b.

Received on February 22, 2002.

Accepted on June 24, 2003.