INSTITUTO FEDERAL GOIANO – CAMPUS CERES
BACHARELADO EM ZOOTECNIA
RAFAEL ICARO MATOS VIEIRA

CARACTERIZAÇÃO DE PROTOZOÁRIOS RUMINAIS DE OVINOS ALIMENTADOS COM MILHO E MILHETO

CERES - GO
2019

RAFAEL ICARO MATOS VIEIRA

CARACTERIZAÇÃO DE PROTOZOÁRIOS RUMINAIS DE OVINOS ALIMENTADOS COM MILHO E MILHETO

Trabalho de curso apresentado ao curso de Zootecnia do Instituto Federal Goiano – Campus Ceres, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Zootecnia, sob orientação da Profa. Dra. Flávia Oliveira Abrão Pessoa

CERES-GO
2019

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

Vieira, Rafael
VV658c Caracterização de protozoários ruminais de ovinos alimentados com milho e milheto / Rafael Vieira;orientadora Flávia Oliveira Abrão Pessoa; co-orientadora Thiago Dias Silva. -- Ceres, 2019.
10 p.

Tese (em Zootecnia) -- Instituto Federal Goiano, Campus Ceres, 2019.

1. Gênero. 2. Identificação. 3. Microbiota. 4. Identificação. 5. Dieta. I. Oliveira Abrão Pessoa, Flávia , orient. II. Dias Silva, Thiago, co-orient. III. Título.

Responsável: Johnathan Pereira Alves Diniz - Bibliotecário-Documentalista CRB-1 n°2376

INSTITUTO FEDERAL
Goiano

Repositório Institucional do IF Goiano - RIIF Goiano
Sistema Integrado de Bibliotecas

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

Identificação da Produção Técnico-Científica

[ ] Tese
[ ] Dissertação
[ ] Monografia – Especialização
[ ] TCC - Graduação
[ ] Produto Técnico e Educacional - Tipo: _____
[X] Artigo Científico
[ ] Capítulo de Livro
[ ] Livro
[ ] Trabalho Apresentado em Evento

Nome Completo do Autor: Rafael Ícaro Matos Vieira
Matrícula: 2015510320318 10059
Título do Trabalho: Caracterização de protozoários ruminais de ovinos alimentados com milho e milheto

Restrições de Acesso ao Documento

Documento confidencial: [X] Não [ ] Sim, justifique: _____

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 05/12/19
O documento está sujeito a registro de patente? [ ] Sim [X] Não
O documento pode vir a ser publicado como livro? [ ] Sim [X] Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O/A referido/a autor/a declara que:

1. o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
2. obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
3. cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Ceres, 03/12/19.
Local Data

Rafael Ícaro Matos Vieira
Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Ciente e de acordo:

Assinatura do(a) orientador(a)

ANEXO IV - ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CURSO

Ao(s) 21 dia(s) do mês de novembro do ano de dois mil e dezenove, realizou-se a defesa de Trabalho de Curso do(a) acadêmico(a) Rafael Ícaro Matos Vieira, do Curso de bacharelado em Zootecnia, matrícula _____, cujo título é "Caracterização da população de protozoários de ovinos alimentados com milho e milheto". A defesa iniciou-se às 15 horas e 10 minutos, finalizando-se às 15 horas e 39 minutos. A banca examinadora considerou o trabalho aprovado com média 7,4 no trabalho escrito, média 7,7 no trabalho oral, apresentando assim média aritmética final 7,5 de **pontos**, estando o(a) estudante(a) apto para fins de conclusão do Trabalho de Curso.

Após atender às considerações da banca e respeitando o prazo disposto em calendário acadêmico, o(a) estudante(a) deverá fazer a submissão da versão corrigida em formato digital (.pdf) no Repositório Institucional do IF Goiano – RIIF, acompanhado do Termo Ciência e Autorização Eletrônico (TCAE), devidamente assinado pelo autor e orientador.

Os integrantes da banca examinadora assinam a presente.

Flávia Oliveira Araújo

Assinatura Presidente da Banca

Assinatura Membro 1 Banca Examinadora

Assinatura Membro 2 Banca Examinadora

RESUMO

Objetivou-se caracterizar a população de protozoários no rúmen de ovinos ½ Dorper e ½ Santa Inês alimentados com diferentes concentrações de milho e milheto (100%, 75%, 50%, 25% e 0%) no concentrado. O experimento realizado no laboratório de ovinocultura do Instituto Federal Goiano–Campus Ceres. Foram extraídas amostras do líquido ruminal de 25 borregos, sendo retirados 1ml de cada amostra, diluídos em tubos de ensaio com 9ml de formaldeído a 10%, sendo realizado a quantificação e identificação dos protozoários. Houve prevalência de protozoários de tamanho médio e pequeno, foram identificados os gêneros *Entodinium*, *Diplodinium*, *Eudiplodinium e Eodinium*, sendo *Entodinium* o mais frequente. Dieta com milho 100% promoveu defaunação dos protozoários, a concentração de protozoários por mL variou de 10^2 a 10^5 apresentando-se abaixo do normal. Indica-se a dieta com milheto 100% pela maior diversidade de protozoários.

Palavras-chave: Gênero. Dieta. Identificação. Microbiota. Quantificação.

ABSTRACT

The objective of this study aims to characterize the rumen protozoa population of ½ Dorper and ½ Santa Inês sheep fed with different concentrations of corn and millet (100%, 75%, 50%, 25% and 0%) in the concentrate. The experiment was carried out at the sheep goat laboratory of the Federal Institute Goiano – Campus Ceres. Ruminal fluid samples were extracted from 25 lambs, being taken out 1mL of each sample were removed, diluted in test tubes with 9ml of 10% formaldehyde, and quantification and identification of protozoa were performed. There was a prevalence of small and medium size protozoa. The genus *Entodinium*, *Diplodinium*, *Eudiplodinium* and *Eodinium* were identified, being *Entodinium* the most frequent. Diet with 100% corn promoted protozoa defaunation, the protozoa concentration per mL ranged from 10^2 to 10^5 and was below normal. The diet with 100% millet is indicated because the greater diversity of protozoa.

Keywords: Gender. Diet. Identification. Microbiota. Quantification.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Protozoários identificados do rúmen de ovinos submetidos a dietas de milho e milheto 06

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Ingredientes da dieta dos ovinos 03
Tabela 2 – Composição da dieta dos ovinos 03
Tabela 3 – Média de protozoários por mililitro de fluído ruminal 04
Tabela 4 – Distribuição de gêneros de protozoários ruminais de ovinos submetidos a diferentes dietas de milho e milheto 06

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO 01
MATERIAL E MÉTODOS..... 02
RESULTADOS E DISCUSSÃO 04
CONCLUSÃO..... 07
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS 08

INTRODUÇÃO

Obter a dieta mais eficaz para os ruminantes tem sido um dos maiores desafios para o sistema de confinamento, especialmente os que utilizam as dietas de alto grão, pois é necessário um planejamento que atenda as exigências nutricionais do animal, tanto energética como proteica e que beneficie o crescimento e desenvolvimento de microrganismos ruminais, responsáveis por degradar e disponibilizar nutrientes da dieta ofertada ao hospedeiro.

Almejando a estabilidade ruminal e buscando evitar problemas metabólicos, é necessário bom manejo alimentar, selecionando alimentos ofertados, a quantidade e qualidade, a granulometria entre outros fatores. Uma das exigências nutricionais de grande importância para animais de corte é a de energia, que está ligada ao ganho de peso diário, rendimento e acabamento de carcaça e deposição de gordura (CARDOSO, 2012).

O milho (*Zea mays*) é um dos alimentos mais tradicionais, rico em amido, que por sua vez disponibiliza grande quantidade de energia. Possui em média 72% de amido, seu uso nas dietas possibilita que a terminação de animais de corte não precise de grandes estruturas para silagem, compra de máquinas para manejo de forrageiras, possui valor nutricional mais previsível do que as forragens, além de aumentar o desempenho produtivo (TEIXEIRA, 2015).

Uma gramínea que possui grande potencial, podendo substituir o milho, é o milheto (*Pennisetum glaucum (L.) R. Br.*). Bem adaptado as condições do cerrado no Brasil, na composição de seu grão possui 69% de carboidrato, em comparação com o milho possui em média 3 a 8% de proteína bruta a mais (PERON, 2012). A forma como esses dois alimentos são ofertados pode modificar a microbiota ruminal.

O rúmen é um ambiente anaeróbico estrito, possui seu próprio ecossistema, composto por bactérias, fungos e protozoários, que realizam interações simbióticas e mutualísticas com o hospedeiro. Os microrganismos presentes no rúmen realizam funções bioquímicas e fisiológicas significativas para os ruminantes, produzem enzimas capazes de degradar os principais carboidratos das plantas, fornecendo energia que antes era indisponível, convertem substâncias menos aproveitáveis como a celulose, a hemicelulose e a amônia em compostos utilizáveis pelo ruminante (ABRÃO et al., 2018; REIS, 2015; WLODARSKY, 2017; RISPOLI et al., 2009; SILVA et al., 2014).

Os maiores microrganismos no rúmen são os protozoários, que compõem uma importante fração da comunidade no ecossistema ruminal, representando de 40 a 60% da biomassa microbiana total do rúmen, sendo unicelulares, anaeróbios, não patogênicos, possuem tamanho

de 20 a 200 µm, maiores que as bactérias de 10 a 100 vezes e possuem função de modular a fermentação ruminal (DEHORITY, 1993; RYLE & ORSKOV,1987).

Além disso, os protozoários utilizam parte dos carboidratos solúveis, amidos e carboidratos da parede celular para crescimento, estão relacionados com uma maior reciclagem de nitrogênio microbiano no rúmen e redução do fornecimento de aminoácidos ao intestino (IVAN et al., 2001). Armazenam grandes porções do amido, retardando a imensa produção de ácidos graxos voláteis que reduzem o pH ruminal (IMAI, 1998).

Há constante canibalismo por parte dos protozoários, utilizando as bactérias como grande fonte de aminoácidos e ácidos nucléicos, além do engolfamento de grânulos de amido, sendo este mais intenso em dietas de alto grão (OLIVEIRA et al., 2007; WLODARSKY, 2017; ABRÃO, 2016). Sendo que os produtos da fermentação dos protozoários no rúmen são parecidos com os produzidos pelas bactérias, especialmente acetato, butirato e gás hidrogênio (H2). Metanobactérias se ligam e vivem na superfície dos protozoários para ter acesso ao H2. (WILLIAMS & COLEMAN, 1992).

O maior número de protozoários está relacionado com dietas mais digestíveis onde detêm papel fundamental na taxa de fermentação ruminal, sendo necessária à sua quantificação e identificação em resposta as dietas fornecidas aos ruminantes, facilitando diagnósticos precoces de possíveis distúrbios metabólicos e realizando adaptações na formulação das rações (KOLZOLSKI, 2002; LIMA et al., 2012).

Tendo em vista a relevância da população protozoárica no rúmen dos animais de produção, objetivou-se caracterizar a população de protozoários no rúmen de ovinos ½ Dorper e ½ Santa Inês alimentados com diferentes concentrações de milho e milheto.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no laboratório de ovinocultura do Instituto Federal Goiano–Campus Ceres. O projeto foi submetido ao parecer da Comissão de Ética e Uso de Animais (CEUA) do Instituto Federal Goiano, com aprovação em26/07/2018 com o número de protocolo 4065180618. Foram utilizados 25 borregos (½ Dorper e ½ Santa Inês) confinados em baias coletivas cobertas (4 x 3 m), a dieta experimental era composta de 85% de milho e milheto e 15% núcleo ENGORDIN 38®, alimentados duas vezes ao dia (7h e 17h), sendo adotado o delineamento inteiramente ao acaso, com 5 tratamentos e 5 repetições, sendo eles:

T1 – Tratamento 1: Milho 100% e Milheto 0%;

T2 – Tratamento 2: Milho 75% e Milheto 25%;

T3 – Tratamento 3: Milho 50% e Milheto 50%;

T4 – Tratamento 4: Milho 25% e Milheto 75%;

T5 – Tratamento 5: Milho 0% e Milheto 100%;

Tabela 1- Ingredientes da Dieta dos ovinos

Ingredientes	T1	T2	T3	T4	T5
Milho	74,70	56,00	39,50	21,25	0,00
Milheto	0,00	21,20	40,00	60,75	85,00
Engordin 38®	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00
Farelo de soja	10,30	7,80	5,50	3,00	0,00
Total	100	100	100	100	100

Tabela 2- Composição da dieta dos ovinos

%PB	15,89	15,91	15,90	15,91	15,88
%NDT	88,27	87,16	86,18	85,09	83,82
PDR em g	92,93	96,12	98,73	101,72	105,01
PM em g	115,54	115,07	114,44	113,84	112,93
Cálcio %	0,81	0,81	0,80	0,79	0,79
Fósforo %	0,28	0,29	0,30	0,31	0,32

PB: proteína bruta; NDT: nutrientes digestíveis totais; PDR: proteína degradável no rúmen; PM: proteína metabolizável.

Os animais permaneceram em confinamento por 80 dias, sendo 10 dias para adaptação e 70 para o período experimental. Após este período foi realizado o abate, sendo submetidos a dieta hídrica de 12h. Os animais foram insensibilizados entre as orelhas por eletronarcose com eletrodo, realizado a sangria com equipamentos próprios no setor de Agroindústria do Instituto Federal Goiano – Campus Ceres.

Logo após o abate, foram coletadas amostras do fluido ruminal, através de uma incisão do saco ventral do rúmen, coletando-se aproximadamente 20mL de cada, as amostras foram filtradas em gaze previamente esterilizada, depositados em tubos Falcon estéreis, acondicionados em caixas térmicas com gelo e levadas ao laboratório de microbiologia do Instituto Federal Goiano – Campus Ceres para processamento do material.

Foram retirados 1mL de cada amostra, diluídos em tubos de ensaio com 9mL de formaldeído a 10% para conservação das estruturas morfológicas dos protozoários (DEHORITY, 1993). Os protozoários foram quantificados a partir de 1mL da amostra alocada em câmara de *Sedgewick-Rafter* e analisados em microscópio óptico na objetiva de 40X. Procedeu-se a leitura de 500 dos 1000 quadrículos, com classificação protozoárica em grupos de pequenos, médios e grandes.

A identificação dos gêneros de protozoários foi realizada colocando-se uma gota da amostra e uma gota de azul de metileno em lâmina microscópica, sendo acoplada uma lamínula sobre a lâmina, levadas ao microscópio óptico na objetiva de 40X e observando as microestruturas microbianas (Zona ciliar, macronúcleo, vestíbulo e espinha caudal) e realizando a classificação de acordo com a chave descrita por Dehority (1984).

Os resultados foram submetidos à análise estatística pelo software R (R Development Core Team, 2013). A quantificação de grupos de protozoários foi analisada pelo o teste de Kruskall-Wallis (α = 0,05). As taxas de detecção dos gêneros identificados foram comparadas pelo teste do Qui-quadrado, a 5% de probabilidade, pelo software R (R Development Core Team, 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A média da concentração de protozoários de tamanhos pequenos, médio e grandes está disposto na Tabela 1. Não houve diferença estatística entre os tamanhos dos mesmos. Porém para a dieta com milho 100% houve defaunação, bem como na dieta com milheto 75% foram defaunados os pequenos e grandes protozoários.

Tabela 3- Média de protozoários por mililitro de fluído ruminal

Tratamentos	Pequeno	Médio	Grande	Total
T1	0^{b}	0^{b}	0^{b}	0^{b}
T2	$1{,}86x10^{4a}$	$5{,}89x10^{4a}$	$7{,}2x10^{2a}$	$7{,}82x10^{4a}$
T3	$2{,}24x10^{3a}$	$1{,}17x10^{4a}$	$1{,}18x10^{3a}$	$3{,}53x10^{3a}$
T4	0^{a}	$4{,}0x10^{3a}$	0^{a}	$4{,}0x10^{3a}$
T5	$4{,}18x10^{4a}$	$8{,}14x10^{4a}$	$7{,}02x10^{3a}$	$1{,}30x105^{5a}$

Letras minúsculas na mesma coluna indicam diferença estatística pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis a 5% de probabilidade

A defaunação está vinculada com o aumento da eficiência da síntese microbiana, o fluxo de proteína de origem microbiana para o duodeno, a produção de propionato, a degradação ruminal de amido, o volume do conteúdo ruminal e as populações fúngicas no rúmen. (JOUANY et al., 1988; JOUANY, 1991; WILLIAMS & COLEMAN, 1992).

Há maior frequência de protozoários pequenos quando comparados aos protozoários de tamanhos médios e grandes, sugerindo a predominância do gênero *Entodinium*, na maioria dos casos é igual ou superior a 90% (BORGES et al., 2011).

Sua presença no rúmen é de grande importância para o processo fermentativo, os protozoários podem controlar o nível de substrato disponível, moderam a fermentação do amido, elevam o pH ruminal e diminuem a quantidade de ácidos graxos voláteis (NARGARAJA et al., 1992; TEIXEIRA, 1991).

Utilizando uma dieta com 40% de concentrado e 60% de volumoso em ovelhas Lima et al. (2012) observaram um incremento no número de protozoários ao decorrer do período experimental de 21 dias, devido à interação entre a dieta e a adaptação ruminal, em que dietas com certos níveis de concentrado e proteína elevam gradativamente a concentração de protozoários.

A população de protozoários do conteúdo ruminal de animais alimentados com diferentes tipos de dieta varia em concentração entre 10^4 e 10^6 protozoários/mL de conteúdo ruminal (KAMRA; 2005). Valores inferiores foram encontrados no presente trabalho para as dietas compostas por milheto e milho, indicando modificação da microbiota pela dieta ofertada.

Batista; Peixoto; Pessoa, (2017), avaliaram ovinos confinados com dietas de milho e milheto sem volumoso, observaram que as dietas a base de grãos de milho obtiveram efeito defaunatório sobre os protozoários ruminais, resultado também observado no presente trabalho.

Segundo Oliveira et al. (2015), o processamento do grão de milho (inteiro, moído e silagem de grão úmido) pode beneficiar o crescimento de protozoários no rúmen, por disponibilizar mais amido para os microrganismos ruminais.

Foi observada a ocorrência de protozoários no rúmen dos ovinos do gênero *Entodinium* spp*., Eodinium* spp*., Eudiplodinium* spp*., Diplodinium* spp*.* Na Tabela 2, observa-se que a quantidade total de protozoários a sua maioria do gênero *Entodinium*, seguido de *Diplodinium*, *Eodinium* e *Eudiplodinium*.

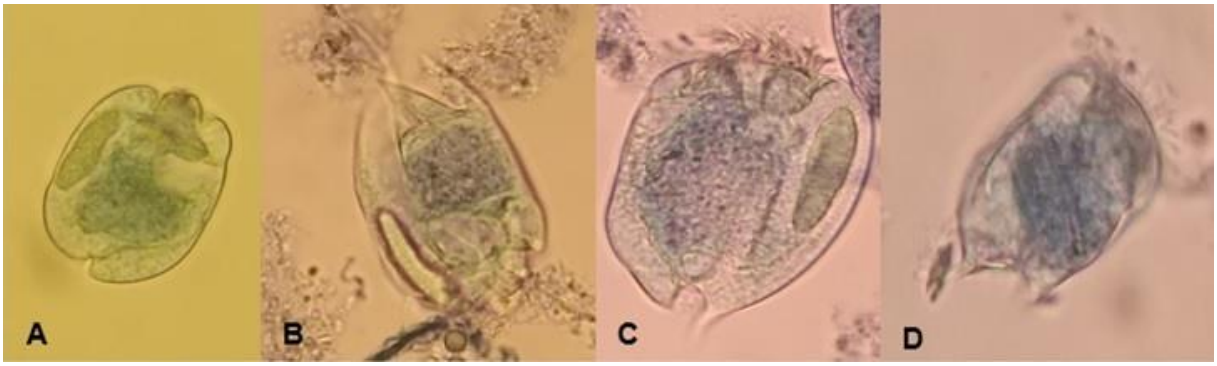
Tabela 4- Distribuição de gêneros de protozoários ruminais de ovinos submetidos a diferentes dietas de milho e milheto

Gêneros	Tratamentos					
	T1	T2	T4	T3	T5	Total
Entodinium	0^{Da}	3914^{Aa}	691^{Ba}	209^{Ca}	3835^{Aa}	8649
Diplodinium	0^{Ba}	0^{Bb}	52^{Bb}	0^{Bb}	2605^{Ab}	2657
Eudiplodinium	0^{Aa}	0^{Ab}	17^{Ab}	0^{Ab}	0^{Ac}	17
Eodinium	0^{Aa}	0^{Ab}	0^{Ab}	0^{Ab}	75^{Ac}	75

Frequências com mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas na coluna, não diferem entre si, comparadas estatisticamente pelo teste de Qui-quadrado a 5% de probabilidade.

A dieta de milheto 100%, estatisticamente apresentou maior prevalência dos gêneros *Entodinium* (44,34%), *Diplodinium* (98,04) e *Eodinum* (100%) em comparação com as outras dietas. Sendo que o gênero *Eudiplodinium* somente foi identificado na dieta de milheto 50% e o *Eodinium* na dieta de milheto 100%.

Figura 1 – Protozoários identificados no rúmen de ovinos submetidos a dietas de milho e milheto



A-D: Família Ophryoscolecidae; **A**: *Entodinium spp.*; **B**: *Diplodinium spp.*; **C**: *Eudiplodinium*; **D**: *Eodinium*.

Fonte: Arquivo pessoal

Na pesquisa de Oliveira et al. (2015), o gênero *Entodinium* foi o mais frequente para cordeiros confinados alimentados com grão de milho (inteiro, moído e silagem de grão úmido), constituído 78,20% da população total. Carvalho et al. (2011), foi observaram que a substituição do milho pela casca de soja reduziu a população de protozoários do gênero *Entodinium* no conteúdo ruminal de caprinos, sendo que a diminuição pode estar associada à redução no teor de nutrientes digestíveis totais e aumento no teor de fibra em detergente neutro. Embora a

concentração de *Entodinium* spp. tenha reduzido com aumento no nível da casca de soja, este gênero predominou em todas as dietas, com variação de 70,39 a 86,28% da concentração total.

A predominância do gênero *Entodinium,* provavelmente é justificada por apresentar-se em várias espécies de animais e ocorrer em vários ruminantes domésticos e selvagens, além destes conseguirem resistir em pH mais ácido, o quê geralmente não acontece com outros gêneros (MARTINELE et al., 2008).

Algumas espécies do gênero *Entodinium* são encontradas nas primeiras semanas de vida nos ruminantes, se adaptam bem ao ambiente ruminal, se aderem às partículas dos alimentos, tem a capacidade de modificar os processos fermentativos, realizam o armazenamento de amido, controlando o nível de substrato livre, servem como fonte de nitrogênio para as bactérias após sua morte e degradação (REIS, 2015).

Franzolin & Dehority (1996), verificaram que a densidade das populações de ciliados amilolíticos, *Entodinium*, aumenta à medida que o concentrado é adicionado à dieta em ruminantes, enquanto a densidade das populações de ciliados celulolíticos decresce.

CONCLUSÃO

Os protozoários foram defaunados em dietas de alto grão com 100% de milho, enquanto que, na dieta de milheto 100% ocorre uma maior diversidade de gêneros, sendo indicada para o melhor desenvolvimento dos protozoários nas dietas testadas. Houve destaque do gênero *Entodinium*, sendo o mais expressivo em todos as dietas, representando a maioria dos pequenos e médios protozoários.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRÃO, F. O. **Fungos do trato digestório de ruminantes como potencial probiótico para bovinos alimentados com forrageiras lignificadas.** 2016. 137 f. Tese (Doutorado) - Curso de Zootecnia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2016.

ABRÃO, F. O.; SANTO, E.O; DIJKSTRA, D.; FABINO NETO, R.; BATISTA, L.H.C.; DUARTE, E.R. Efeito do processamento do grão sobre a população de protozoários ruminais de ovinos Santa Inês. **Arquivos de Zootecnia**, Ceres, v. 260, n. 67, p.518-524, jun. 2018.

BATISTA, L.H.C.; PEIXOTO, F.L.; PESSOA, F.O.A. Protozoários do rúmen de ovinos confinados recebendo grãos de milho ou milheto, sem volumoso. In: CONGRESSO ESTADUAL DE INICIAÇÃO CIENTIFICA E TECNOLOGICA DO IF GOIANO, 6., 201, Urutai. **Anais**[...]**.** Urutai: IF Goiano, 2017.

BORGES, N.C.B.; ORSINE, G.F.; SILVA, L.A.F.; BERNARDES, K.M.; MARTINS, M.E.P.; FIORAVANTI, M.C.S. Parâmetros físico-químicos e microbiológicos do fluido ruminal de ovinos confinados submetidos a crescentes níveis de mistura mineral energético-proteica, **Ciência Animal Brasileira**, v. 12, n. 3, p. 392-399, 2012.

CARDOSO, E. O. **Dieta de alto grão para bovinos confinados: viabilidade econômica e qualidade da carne.** 2012. 66 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Zootecnia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetininga, 2012.

CARVALHO, L.F.P.; MATOS, G.L.A.; MATOS, D.S.; BATISTA, A.M.V.; MORAES, A.C.A.; CABRAL, A.M.D. Protozoários do rúmen de caprinos submetidos à dieta com casca de soja. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, vol. 12, n. 1, p. 244-253, 2011.

DEHORITY, B. A. Evaluation of subsampling and fixation procedures used for counting rumen protozoa. **Applied Environmental Microbiology,** v.48, n.1, p.182-185, 1984.

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

FRANZOLIN, R., DEHORITY, B.A. 1996. Effect of prolonged high-concentrate feeding on ruminal protozoa concentrations. **Journal of Animal Science**, 74(11):2803-2809.

IMAI, S. Phylogenetic Taxonomy of Rumen Ciliate Protozoa Based on Their Morphology and Distribution. **Journal of Applied Animal Research**, v. 13, p.17-36, mar. 1998. https://doi.org/10.1080/09712119.1998.9706670

IVAN, M.; MIR, P.S.; KOENIG, K.M.; RODE, L.M.; NEILL, L.; ENTZ, T.; MIR, Z. Effects of dietary sunflower seed oil on rumen protozoa population and tissue concentration of conjugated linoleic acid in sheep. **Small Ruminant Research**. v.41, n. 3, p. 215-227, 2001.

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

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

KAMRA, D.N. Rumen microbial ecosystem. **Current Science**, v.89, p.124-135, 2005.
KOZLOWSKI, L. A. Período crítico de interferência das plantas daninhas na cultura do milho baseado na fenologia da cultura. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 3, n. 20, p.365-372, jan. 2002.

LIMA, M. E.; VENDRAMIN, L.; HOFFMANN, D.A.C.; LISBOA, F.P.; GALLINA, T.; RABASSA, V.R.; SCHWEGLER, E.; CORRÊA, M.N. Alterações na população de protozoários ruminais, quantificados a partir da adaptação da técnica de Dehority, de ovinos submetidos a uma dieta de confinamento. **Acta Scientiae Veterinariae**, Pelotas, v. 40, n. 1, set. 2012.

MARTINELE, I.; SANTOS, G.R.A.; MATOS, D.S.; BATISTA, A.M.V.; D'AGOSTO, M. Protozoários ciliados do rúmen de ovinos mestiços mantidos em pastagem natural de caatinga. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 9, n. 2, p.280-292, jun. 2008.

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

OLIVEIRA, L.S.; MAZON, M.R.; CARVALHO, R.F.; PESCE, D.M.C.; SILVA, S.L.; NOGUEIRA FILHO, J.C.M.; GALLO, S.B.; LEME, P.R. Processamento do milho grão sobre desempenho e saúde ruminal de cordeiro, **Ciência Rural**, v. 45, n. 7, p. 1292-1298, 2015.

PERON, H. J. M. C. **Inclusão de grão de milheto em dietas de alto concentrado para ovinos em confinamento.** 2012. 59 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência Animal, Universidade Federal de Goias, Goiânia, 2012.

REIS, C. C. **Protozoários ciliados no rúmen de bovinos nelore e cruzados nelore x europeu sob diferentes sistemas de alimentação.** 2015. 66 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Zootecnia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2015.

RISPOLI, T. B.; RODRIGUES, I.L.; MARTINS NETO, R.G.; KAZAMA, R.; PRADO, O.P.P.; ZEOULA, L.M.; ARCURI, P.B. Protozoários ciliados do rúmen de bovinos e bubalinos alimentados com dietas suplementadas com monensina ou própolis**. Pesquisa agropecuária Brasileira**, p. 44, 92-97, 2009.

RYLE, M.; ORSKOV, E. R. Rúmen Ciliates and tropical feeds. **World Animal Review,** v.64, p.21-30, 1987.

SILVA, K. L.; DUARTE, E.R.; FREITAS, C.E.S.; ABRÃO, F.O.; GERASSEV, L.C. Protozoários ruminais de novilhos de corte criados em pastagem tropical durante o período seco. **Ciência animal brasileira**, Goiânia, v. 15, n. 3, p. 259-265, set. 2014.

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

TEIXEIRA, R. B. **Dieta de alto grão com milho em confinamento de bovinos.** 2015. 25 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenheiro Agrônomo, Universidade Federal de São João del Rei, Sete Lagoas, 2015.

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

WLODARSKI, L. **Determinação e quantificação de protozoários ciliados e bactérias do rúmen de bovinos em pastagens temperadas e tropicais**. 2015. 68f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Zootecnia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos, 2017.