

AERLEM CYNARA SILVA VIEIRA

**CARACTERÍSTICAS DO FLUIDO RUMINAL EM OVINOS DA RAÇA
SANTA INÊS CRIADOS SOB REGIME EXTENSIVO**

**Recife
2007**

AERLEM CYNARA SILVA VIEIRA

CARACTERÍSTICAS DO FLUIDO RUMINAL EM OVINOS DA RAÇA SANTA INÊS CRIADOS SOB REGIME EXTENSIVO

**Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Ciência
Veterinária, da Universidade Federal
Rural de Pernambuco, como parte dos
requisitos para obtenção do título de
Mestre em Ciência Veterinária**

Orientador: Dr. José Augusto Bastos
Afonso da Silva

**Recife
2007**

Ficha catalográfica
Setor de Processos Técnicos da Biblioteca Central – UFRPE

V658c Vieira, Aerlem Cynnara Silva
Características do fluído ruminal em ovinos da raça Santa Inês criados sob regime extensivo / Aerlem Cynnara Silva Vieira . -- 2007.
63 f. : il.

Orientador : José Augusto Bastos Afonso
Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) - Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento de Medicina Veterinária.
Inclui anexo e bibliografia.

CDD 636.308 960 7

1. Suco ruminal
 2. Sistema digestivo
 3. Ovino
 4. Inverno
 5. Verão
 6. Sazonalidade
- I. Afonso, José Augusto Bastos
 - II. Título

Aos meus pais **Josefa Silva Vieira** e **Amaro Guedes Vieira** que não mediram esforços para que eu alcançasse meus objetivos.

Ofereço

Aos meus amados irmãos, **Annyara Silva Vieira** e **Joéliton Silva Vieira** pelo amor e carinho que sempre tiveram por mim.

Dedico

Sem Sonhos, as perdas se tornam insuportáveis,
as pedras do caminho se tornam montanhas,
os fracassos se transformam em golpes fatais.

Mas se você tiver grandes Sonhos...
seus erros produzirão crescimento,
seus desafios produzirão oportunidades,
seus medos produzirão Coragem.

Augusto Cury

AGRADECIMENTOS

Ao bom Deus por estar sempre ao meu lado, me dar força nas horas difíceis, serenidade nos momentos em que não posso mudar o rumo dos acontecimentos e me indicar o caminho do bem.

Aos meus pais e irmãos, razão da minha vida, por compreenderem minhas ausências. Ao meu tio Edvaldo pelo inestimável apoio.

Ao Dr. José Augusto Bastos Afonso, pela orientação, amizade e estímulo a buscar sempre mais da Medicina Veterinária.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco, pela oportunidade para a concretização deste sonho.

À Dra Carla Lopes, pela incansável disciplina, fundamental no êxito de meu trabalho.

Ao Dr Nivaldo de Azevêdo Costa, pelas conversas e conselhos que muito me acrescentaram como profissional, mas principalmente como pessoa.

À Dra Isabel, sempre disposta a ajudar, em especial com as fotos.

Aos professores da pós graduação pela contribuição nesta etapa da minha vida.

À Edna Chérias por sua atenção como secretária da pós, mas principalmente pela sua paciência em me auxiliar em tudo que precisei.

Aos residentes Gustavo, Iagmar, Érika, Nivan, Gustavo Cantarino, Mychelle, Henrique, Anne Grace, Janaina, Kalina, Alexandre, Antônio Carlos e estagiários da Clínica de Bovinos, pela carinhosa acolhida durante e após a residência, ótimas lembranças dos tempos de convivência e ajuda na coletas.

À Marluce, “mãe de coração” que me acolheu e cuidou todo o tempo em que estive em Garanhuns.

Aos funcionários da Clínica de Bovinos Selma, Geane, Maria Luiza, Verônica, Rouse, Mano, Everaldo, Zé Luis, Rodrigo, Paulo, Jacson, Marcos, Marcelo, Edvaldo, Toni, Giovani, Gildo, Edson, Clóvis, Eraldo, Sávio, pela cooperação ativa de todos.

Aos animais, principal razão da minha profissão e da minha alegria em ser Médica Veterinária, meu agradecimento mais sincero.

À todos que direta ou indiretamente participaram de alguma forma nessa etapa de minha vida, meu muito obrigada!

CARACTERÍSTICAS DO FLUIDO RUMINAL EM OVINOS DA RAÇA SANTA INÊS CRIADOS SOB REGIME EXTENSIVO

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo estabelecer padrões de normalidade para as características do fluido ruminal, como a cor, odor, consistência, tempo de sedimentação e flotação (TSF), pH, prova de redução do azul de metileno (PRAM), teor de cloretos (TC), acidez total titulável (ATT) e avaliação da microbiota, nas estações chuvosa (inverno) e seca (verão) na cidade de Garanhuns, Agreste Meridional de Pernambuco. Foram usados 50 ovinos da raça Santa Inês, com idade variando entre um e quatro anos, criados em regime extensivo de pastagem formada por braquiária (*Brachiaria decumbens*), tifton (*Cynodum* sp), recebendo ainda capim elefante (*Pennisetum purpureum*) como complementação alimentar, água e sal mineral *ad libitum*.

As colorações predominantes do fluido ruminal foram os tons de castanha no verão e verde oliva no inverno. O odor aromático foi observado em todas as amostras, estando mais pronunciado no inverno. A consistência levemente viscosa predominou em ambas as estações, com maior proporção no inverno. O TSF foi $6,73 \pm 1,63$ min no inverno e $3,15 \pm 0,72$ min no verão, com diferença estatística significativa ($P < 0,05$) entre os períodos experimentais.

Nas provas bioquímicas os valores encontrados no inverno e verão, foram: pH: $6,76 \pm 0,21$ e $6,59 \pm 0,14$; PRAM: $3,20 \pm 0,76$ min e $7,76 \pm 3,00$ min; teor de cloretos: $28,14 \pm 4,16$ mEq/L e $24,97 \pm 5,65$ mEq/L; ATT: $21,90 \pm 4,38$ UC e $13,68 \pm 2,97$ UC, respectivamente; havendo diferença estatística significativa ($P < 0,05$) entre as estações para todas as variáveis.

A densidade foi considerada abundante para os infusórios no inverno e moderada no verão, com diferença estatística significativa ($P < 0,05$) entre as estações. A motilidade se mostrou bastante ativa e aproximadamente 90% dos protozoários estavam vivos, não havendo diferença estatística significativa ($P > 0,05$) entre os períodos experimentais para estas variáveis. A contagem dos protozoários no inverno foi de $425\ 373 \pm 217\ 258$ /mL e $155\ 375 \pm 83\ 113$ /mL no verão, havendo diferença estatística significativa ($P < 0,05$). As bactérias Gram-negativas predominaram em ambas as estações.

Pôde-se constatar a partir destes resultados que a estação do ano interfere nas características do fluido ruminal, visto que o aporte alimentar de melhor qualidade no inverno (período chuvoso) quando comparado ao verão (período seco) influenciou as diferenças entre as variáveis analisadas. Com as informações obtidas no trabalho reitera-se a importância da sua aplicabilidade na rotina clínica, em vista a um melhor auxílio no diagnóstico e tratamento das enfermidades que acometem o sistema digestivo de ovinos.

Palavras-chave: Suco ruminal, sistema digestivo, ovino, inverno, verão, sazonalidade

RUMINAL FLUID CHARACTERISTICS OF SANTA INÊS SHEEP CREATED UNDER PASTURE CONDITIONS IN PERNAMBUCO STATE

ABSTRACT

It was pretended with this research to establish standards of normality for ruminal fluid characteristics, such as color, odor, consistency, sedimentation and flotation time (SFT), pH, bacterial activity by means of the methylene blue reduction test (MBRT), chloride, total acidity (TA) and microscopical evaluation of protozoa and bacteria, in rainy (winter) and dry (summer) seasons in Garanhuns city, Pernambuco state. Fifty Santa Inês sheep had been used, with age varying between one and four years, created in extensive regimen of pasture composed by *Brachiaria decumbens*, and still receiving *Pennisetum purpureum* as alimentary complement and water and mineral salt *ad libitum*. The predominant colors had been chestnut tones in summer and oliva green in winter. The aromatic odor was observed in all the samples, being stronger in winter. The slight viscous consistency predominated in both seasons, with greater proportion in the winter. The SFT was $6,73 \pm 1,63$ min in winter and $3,15 \pm 0,72$ min in summer, with statistic significant difference ($P < 0,05$) between experimental periods. In the biochemical tests the average values found in winter and summer, respectively, were: pH: $6,76 \pm 0,21$ and $6,59 \pm 0,14$; MBRT: $3,20 \pm 0,76$ min and $7,76 \pm 3,00$ min; chloride: $28,14 \pm 4,16$ mEq/L and $24,97 \pm 5,65$ mEq/L; TA: $21,90 \pm 4,38$ UC and $13,68 \pm 2,97$ UC; having statistic significant differences ($P < 0,05$) between seasons for all variable. Abundant density of the infusorians in winter and moderate in the summer was observed, with statistic significant differences ($P < 0,05$) between the stations. The motility was very active and there were approximately 90% of live protozoa, having no significant statistic difference ($P > 0,05$) between the experimental periods for these variable. Protozoa numbers were higher in winter with

425 373 ± 217 258/mL and 155 375 ± 83 113/mL in the summer, having significant statistic difference ($P < 0,05$). There was a mixed population of bacteria with predominance of Gram-negative forms in both seasons. It could be evidenced from these results: The station of the year influences ruminal fluid characteristics, since it provides feed of better quality in the winter (rainy period) when compared with summer (dry period) having difference between all the variable during the experimental periods, pointing out the importance of determine them for each locality, type of handling and animal species, in sight to one better aid in the diagnosis and treatment of the diseases who gets digestive system of sheep.

Index Terms: Ruminal juice, digestive system, sheep, winter, summer, seasonality

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Temperaturas médias (°C) mínima e máxima, umidade r elativa do ar (%) e precipitação pluviométrica (mm) no inverno (estação chuvosa) e verão (estação seca)	27
Tabela 2 - Análise bromatológica da forragem no inverno (estação chuvosa) e verão (estação seca)	35
Tabela 3 - Características do fluido ruminal obtido de ovinos da raça Santa Inês criados sob regime extensivo no inverno (estação chuvosa) e verão (estação seca)	45

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Pastagem no inverno (estação chuvosa)	27
Figura 2 – Pastagem no verão (estação seca)	27
Figura 3 – Colheita das amostras de fluido ruminal	29
Figura 4 – Determinação do pH	30
Figura 5 – Prova de redução do azul de metileno	31
Figura 6 – Teor de cloreto, onde se observa o reagente, padrão em triplicata e teste, da esquerda para a direita	31
Figura 7 – Determinação da acidez total titulável, onde se observa o teste e o controle da esquerda para a direita	32
Figura 8 – Exame microscópico dos protozoários	33
Figura 9 – Câmara de Fuchs Rosenthal para contagem de infusórios	33
Figura 10 – Cor verde oliva do fluido ruminal no inverno (estação chuvosa) ...	36
Figura 11 – Cor castanha do fluido ruminal no verão (estação seca)	37
Figura 12 – Esfregaço ruminal corado pelo Gram	44

SUMÁRIO

Dedicatória	02
Mensagem	03
Agradecimentos	04
Resumo	05
Abstract	07
Lista de Tabelas	09
Lista de Figuras	10
1. Introdução	13
2. Objetivos	15
2.1 Objetivo geral	15
2.2 Objetivos específicos	15
3. Hipótese	16
4. Revisão da Literatura	17
4.1 Considerações sobre fisiologia do rúmen	17
4.2 Colheita das amostras	17
4.3 Aspectos físicos do fluído ruminal	18
4.3.1 Cor	18
4.3.2 Odor	19
4.3.3 Consistência	19
4.3.4 Tempo de Sedimentação e Flotação (TSF)	20
4.4 Aspectos bioquímicos do fluído ruminal	20
4.4.1 pH	20
4.4.2 Prova de Redução do Azul de Metileno (PRAM)	21
4.4.3 Teor de Cloretos (TC)	22
4.4.4 Acidez Total Titulável (ATT)	23
4.5 Aspectos microbianos do fluído ruminal	24
4.5.1 Protozoários	24
4.5.2 Flora Bacteriana	25
5. Material e Métodos	27
5.1 Dados edafoclimáticos	27
5.2 Animais, manejo e alimentação	28
5.3 Colheita das amostras de fluído ruminal	28
5.4 Aspectos físicos do fluído ruminal	29

5.4.1 Avaliação da cor	29
5.4.2 Avaliação do odor	29
5.4.3 Avaliação da consistência	29
5.4.4 Avaliação da sedimentação e flotação	29
5.5 Aspectos bioquímicos do fluido ruminal	30
5.5.1 Determinação do pH	30
5.5.2 Prova de redução do azul de metileno	30
5.5.3 Teor de cloretos	31
5.5.4 Acidez total titulável	32
5.6 Aspectos microbianos do fluido ruminal	32
5.6.1 Avaliação dos protozoários	32
5.6.2 Avaliação morfo-tintorial da flora bacteriana	34
5.7 Análise bromatológica	34
5.8 Análise estatística	34
6. Resultados e Discussão	35
6.1 Análise bromatológica	35
6.2 Colheita das amostras	35
6.3 Aspectos físicos do fluido ruminal	36
6.3.1 Cor	36
6.3.2 Odor	38
6.3.3 Consistência	38
6.3.4 Tempo de sedimentação e flotação	39
6.4 Aspectos bioquímicos do fluido ruminal	40
6.4.1 pH	40
6.4.2 Prova de redução do azul de metileno	40
6.4.3 Teor de cloretos	41
6.4.4 Acidez total titulável	42
6.5 Aspectos microbianos do fluido ruminal	42
6.5.1 Protozoários	42
6.5.2 Flora bacteriana	43
7. Conclusões	46
8. Referências	47
9. Anexos	53

Introdução

1. INTRODUÇÃO

Os ruminantes estão em uma posição mais favorável em relação aos outros animais de produção, pois são capazes de utilizar a celulose e convertê-la em produtos assimiláveis pelo homem. Neste contexto, a melhoria do padrão e eficiência do crescimento na exploração animal é um complexo biológico que envolve a interação de fatores sanitários, genéticos e nutricionais, fundamentais em um sistema de criação em que a produtividade é o objetivo maior.

A ovinocultura nacional vem crescendo bastante nos últimos anos, mostrando-se importante fonte de renda familiar e agronegócio promissor para a região Nordeste graças a sua rusticidade e baixo custo relativo de investimento, proporcionando bom retorno financeiro na produção de carne, leite e subprodutos, como a lã e o couro (SIMPLÍCIO e WANDER, 2003; ROSSO, 2004). No Brasil, o rebanho ovino é composto por uma população de 14.556.484 animais, destes, a região Nordeste detém 8.151.631, correspondendo a algo em torno de 56% da população nacional, e por apresentar características geográficas que lhe caracterizam como região vocacionada para a produção de caprinos e ovinos, se verifica, nestes últimos anos, não só uma melhoria na qualidade dos rebanhos, no mercado de animais, mas principalmente na atividade sócio-econômica que ocorre na região (MEDEIROS, 1999; IBGE, 2003).

A produção animal, especialmente na região Nordeste, é limitada em parte pelos elementos climáticos e pelo manejo inadequado da produção de forragens. Na época de verão a escassez da oferta de alimentos é um fator limitante à produção, e induz a uma suplementação através de concentrados elevando-se os custos de produção, alterando a composição da dieta e promovendo mudança dos hábitos alimentares, contribuindo para o surgimento de transtornos digestivos (COSTA, 1992; ANDRIGUETTO, 1999; MIRANDA NETO et al., 2005).

Os processos digestivos que ocorrem no rúmen são extremamente complexos devido à presença de uma diversificada população microbiana, que é alterada pela composição alimentar, a qual desenvolve papel de mais alta utilidade nos processos fermentativos e de síntese que se realizam neste compartimento (HUNGATE, 1966; DIRKSEN, 1981).

Há de se considerar que o rúmen é uma câmara de fermentação, que está constantemente numa atividade metabólica, em que o equilíbrio de uma população composta por bactérias, protozoários e leveduras rege este processo, estando adaptados ao meio ruminal em função do tipo de alimento, que é o substrato regulador desta atividade microbiana (ORTOLANI et al., 1980; CHURCH, 1993; EADS, 1997).

A realização do exame clínico da dinâmica dos compartimentos gástricos, em conjunto com a análise do fluido ruminal, permite uma melhor avaliação sobre a condição bioquímica e microbiológica do conteúdo dos mesmos. Desse modo, o exame das características do fluido ruminal é de fundamental importância para se conhecer as alterações nos processos fermentativos que estejam ocorrendo e, com isso, estabelecer medidas terapêuticas que venham a corrigir estes fenômenos comprometedores da função digestiva em ruminantes (KAY, 1983; RING e RINGS, 1993; GARRY, 2002).

Há estudos extensivos sobre as características físico-químicas, microbiológicas do fluido ruminal e dos seus produtos finais de fermentação, em diferentes espécies de ruminantes, que foram conduzidos em várias partes do mundo e no Brasil. Entretanto, há de se considerar que para cada localidade geográfica deve ser estabelecido um padrão das características do conteúdo ruminal, uma vez que o tipo de dieta, o manejo e o clima influenciam marcadamente sobre a composição do mesmo (ALONSO, 1979; FEITOSA, 1991; COSTA, 1992; SILVA et al., 1994; BRAGA et al., 2005).

Existem na literatura nacional trabalhos referentes aos padrões fisiológicos do conteúdo ruminal principalmente em bovinos; todavia, em nosso meio são escassas as informações sobre o estudo das características do fluido ruminal em ovinos criados em nossas condições climáticas e de manejo alimentar. Em virtude desta carência em valores de referência para a região, como dado clínico, este trabalho teve como objetivo analisar as características do fluido ruminal em ovinos criados sob regime extensivo na cidade de Garanhuns-PE.

Objetivos

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Comparar as características do fluído ruminal em ovinos da raça Santa Inês, criados extensivamente no município de Garanhuns, localizado no Agreste Meridional do Estado de Pernambuco, nas épocas de inverno (período chuvoso) e verão (período seco).

2.2 Específicos

Estabelecer as características físico-químicas e microbiológicas do fluido ruminal:

- *Aspectos físicos*: cor, odor, consistência, tempo de sedimentação e flotação.
- *Aspectos bioquímicos*: pH, prova de redução do azul de metileno, teor de cloretos e acidez total titulável.
- *Aspectos microbianos*: Análise dos infusórios (densidade, motilidade, porcentagem de vivos e contagem) e exame dos esfregaços do fluído ruminal por meio da coloração de Gram.

Hipótese

3. HIPÓTESE

Há variações nos indicadores analisados em relação à estação do ano para as épocas de inverno (período chuvoso) e verão (período seco), influenciados pelo tipo de dieta predominante.

Revisão da Literatura

4. REVISÃO DA LITERATURA

4.1 Considerações sobre fisiologia do rúmen

Os ruminantes têm características anatômicas peculiares, com o aparelho digestivo subdividido em pré-estômagos e um estômago verdadeiro, o abomaso. Vivendo em associação simbiótica com a população microbiana do rúmen, composta por bactérias, protozoários e leveduras, os ruminantes adquirem boa parte de suas necessidades energéticas através, principalmente, dos Ácidos Graxos Voláteis (AGVs) provenientes da fermentação intra-ruminal (DIRKSEN, 1993; VAN SOEST, 1994; BACILA, 2003).

A capacidade digestiva dos ruminantes varia com a idade e tamanho do animal, comportando aproximadamente 15 litros de conteúdo ruminal em ovinos adultos. Com a implementação de forragem na dieta, que de início é composta exclusivamente por leite, o rúmen começa a mudar de proporção por volta dos três meses de idade, em relação à época do nascimento. Seu tamanho e desenvolvimento serão influenciados pelo tipo de dieta que atuará também no processo de ruminação e manutenção do meio ambiente adequado aos processos fermentativos do rúmen (CHURCH, 1993; BACILA, 2003).

Conhecendo as características da atividade metabólica no rúmen, Hoflund introduziu na década de 50 a colheita e exame do fluido ruminal como parte das ferramentas diagnósticas nos casos de distúrbios digestivos, se mantendo até os dias atuais como um dos mais importantes exames complementares (DIRKSEN, 1993).

4.2 Colheita das amostras

Existem várias técnicas para se obter amostras de fluido ruminal a serem examinadas laboratorialmente, podendo o pesquisador selecioná-las conforme o propósito da investigação e parâmetros que deseja analisar.

Para obtenção de pequenas alíquotas pode ser feita uma punção no saco caudo-ventral do rúmen; aplicação de fístula ruminal no caso de pesquisas onde se faz necessárias coletas freqüentes; e de uma forma geral se usa sonda oro-gástrica

semi-flexível para o exame de rotina (SOUZA, 1990; RINGS e RINGS, 1993; SALLES et al., 2003).

O tamanho e calibre da sonda deverão ser compatíveis com a espécie e porte do animal, necessitando algumas vezes se fazer ajustes no tamanho da cúpula como descreve Ortolani et al. (1980). Para facilitar o posicionamento no saco ventral do rúmen, são adaptados bicos metálicos com diversos furos intercalados para não haver entupimento da sonda. O peso da extremidade metálica facilita o direcionamento no momento da introdução da sonda, de modo a penetrar no esôfago e por fim no rúmen (ORTOLANI, 1981; DIRKSEN, 1993).

Na colheita da amostra através de sonda pode haver contaminação por saliva, sendo necessário nesses casos, devido ao seu caráter alcalino, subtrair 0,2 a 0,4 unidades no valor final do pH. Em procedimentos mais demorados, a contaminação pode ser até maior, sendo preferível tirar a sonda e reintroduzi-la após limpeza (DIRKSEN, 1993; SALLES et al., 2003).

4.3 Aspectos físicos do fluído ruminal

4.3.1 Cor

Será influenciada pelo tipo de alimentação, com tons de verde oliva, nuances de castanho-esverdeado e tendência ao cinza. Em animais a pasto, predomina o verde puro; quando alimentados com tubérculos picados apresenta coloração cinza e mostra-se amarela-acastanhada em animais recebendo silagem de milho e concentrados. Em animais com acidose é cinza leitosa, e verde-enegrecida nos casos de putrefação do conteúdo rumino-reticular (DIRKSEN, 1993; RINGS e RINGS, 1993; GARRY, 2002).

Em estudos no Brasil foram encontradas cores semelhantes, às vezes com outras denominações. Barbosa et al. (2003) analisando o fluído ruminal de bovinos e bubalinos a pasto encontraram tons variando do verde oliva ao amarelo palha e Silva et al. (1994) avaliando o fluído ruminal de caprinos sob as mesmas condições, relataram a cor verde clara na maioria dos animais, seguida pelas cores castanho-amarelada e verde oliva. A cor predominante para Souza e Barcellos (1993) estudando bovinos e ovinos em regime de pastagem foi a verde oliva.

4.3.2 Odor

Lembra o cheiro do alimento consumido pelo animal, sendo considerado aromático “*sui generis*” (ALONSO, 1979; FEITOSA, 1991; COSTA, 1992; DIRKSEN, 1993; SOUZA e BARCELLOS, 1993; SILVA et al.,1994). Em bubalinos o odor foi considerado mais forte que em bovinos conforme relato de Barbosa et al. (2003). Estudando bovinos com pododermatite, Borges (1998) não encontrou alteração nessa característica do fluído ruminal.

Em animais com distúrbios digestivos geralmente ocorre modificação do odor, tornando-se repulsivo quando há putrefação alimentar; ácido devido ao excesso de ácido láctico na sobrecarga por grãos; insípido quando em fluído ruminal inativo, e em distúrbios de escoamento a partir do piloro semelhante ao do conteúdo abomasal (DIRKSEN, 1993; RINGS e RINGS, 1993). De acordo com Miranda Neto et al. (2005) o odor ácido pode ainda ser subdividido em levemente ácido, moderadamente ácido e ácido, em animais com acidose láctica ruminal.

4.3.3 Consistência

Segundo Dirksen (1993) e Barbosa et al. (2003) a consistência é ligeiramente viscosa, sendo padrão para bovinos e bubalinos com mesma alimentação independente da hora de colheita. Em caprinos, Silva et al. (1994) encontraram a consistência levemente viscosa na maioria dos animais, sendo que pequena proporção apresentava consistência viscosa, atribuída às variações individuais por influência de fatores como ingestão de água e o volume de saliva produzida nesta espécie. Souza e Barcellos (1993) observaram a predominância da consistência levemente viscosa, porém em bovinos parecia mais aquosa em relação aos ovinos, provavelmente pelo menor número de microorganismos na primeira espécie em relação à segunda. Já em estudo entre ruminantes selvagens e ovinos, Jones et al. (2001) observaram que o fluído ruminal dos primeiros era mais consistente quando comparado ao último.

De acordo com Dirksen (1993) e Garry (2002), em animais com fluído inativo a consistência é aguada (aquosa); nos acometidos por timpanismo espumoso o líquido apresenta bolhas pequenas tornando-se espumoso; e amostras contaminadas por saliva são bastante viscosas. Sendo importante, nesse último

caso, coletar novamente o fluído ruminal para esclarecer se a consistência observada é realmente a mesma encontrada no fluído dentro do rúmen.

4.3.4 Tempo de sedimentação e flotação (TSF)

Esta prova mede a capacidade de fermentação através da produção de gás pelas bactérias ruminais. Quando fluído ruminal recém-colhido é colocado num cilindro de vidro, normalmente as partículas menores começam a decantar para o fundo e as maiores são levadas para a superfície pelas bolhas de gás provenientes da fermentação bacteriana. Em bovinos saudáveis, o tempo para essa separação é de 4 a 8 minutos, dependendo do tipo e tempo decorrido desde a última alimentação (DIRKSEN, 1993).

De acordo com Feitosa (1991), o TSF em ovinos está dentro do limite estabelecido para bovinos. Em estudo realizado com caprinos saudáveis Silva et al. (1994) observaram que as partículas do fluído ruminal ficaram suspensas no meio do tubo, sem atingir a superfície ou formar sedimento durante 30 minutos, podendo indicar uma atividade reduzida da microbiota nesta espécie, se comparada com bovinos; entretanto os últimos apresentam estratificação do conteúdo ruminal, o que não é observado nos primeiros, fato que pode ser atribuído às diferenças filogenéticas entre bovinos (*grazers*) e caprinos (*intermediate feeders*).

No fluído ruminal inativo pode haver sedimentação rápida e flutuação ausente devido ao pouco teor de partículas e fermentação pobre ou inexistente. De forma inversa, a flotação começa rápida e com intensa formação de espuma na putrefação do conteúdo proventricular ou na fermentação espumosa (DIRKSEN, 1993; GARRY, 2002).

4.4 Aspectos bioquímicos do fluído ruminal

4.4.1 pH

O valor do pH atua nos processos fermentativos, sendo um indicador sensível da dinâmica normal no rúmen. Em bovinos, esse parâmetro varia entre 5,5 e 7,4 de acordo com a alimentação, tendendo aos valores menores quando composta principalmente por concentrado, e aproxima-se do limite superior em animais alimentados com forragem, variando também conforme o tempo decorrido da

ingestão de alimento e momento da colheita (CHURCH, 1993; DIRKSEN, 1993; RINGS e RINGS, 1993; GARRY, 2002).

A saliva tem um papel importante na manutenção do pH ruminal. Sua composição lhe confere um caráter alcalino, influenciando o valor do pH para níveis altos quando contamina o fluído ruminal, principalmente se o valor inicial do pH ruminal para determinada alimentação for baixo. Na alimentação com ração concentrada o animal leva menos tempo para mastigar e digerir a ração, havendo produção mais rápida de AGVs e menor afluxo de saliva, por isso o valor do pH tende a níveis menores. Já na alimentação com forragem o processo digestivo é mais lento, o animal passa grande parte do dia ruminando, havendo maior mistura do alimento com saliva elevando o valor do pH. Após um longo tempo decorrido da alimentação, ocorre aumento do pH devido à elevação do teor de saliva no rúmen (SOUZA, 1990; VAN SOEST, 1994).

O método de colheita pode afetar o valor do pH por contaminação salivar quando se obtém o fluído ruminal com sonda por via oro-gástrica e conforme o compartimento do rúmen de onde foi obtido o mesmo. No entanto, volumes adequados, entre 100 e 300mL, normalmente minimizam o efeito tamponante da saliva (ORTOLANI, 1981; GARRY, 2002; SALLES et al., 2003).

Silva et al (1994) encontraram pH de $7,13 \pm 0,06$ em caprinos criados extensivamente quando medido com pHmetro no período de repouso alimentar. Em ovinos, Souza e Barcellos (1993) encontraram valores entre 6,0 e 6,5 quando em regime de pastagem. Nos estudos de Barbosa et al. (2003), búfalos recebendo capim elefante apresentaram valores médios de 6,84 para esta mesma variável.

Segundo Dirksen (1993) o jejum por mais de 24h, a alcalose e a putrefação ruminal são alguns dos processos patológicos que agem elevando o pH. Quando há acidose ruminal o alto teor de ácido láctico pode induzir a queda do pH para valores menores de 4,0 (OWENS et al., 1998). O refluxo do conteúdo abomasal, nos casos de obstrução, diminui o pH ruminal de tal forma que o bicarbonato salivar não é capaz de controlar a acidez (BRAUN et al., 1990).

4.4.2 Prova de redução do azul de metileno (PRAM)

Esse teste mostra a atividade da flora bacteriana em condições normais frente à presença de um corante que será degradado de forma a não colorir mais o fluído ruminal que retorna a cor original, com exceção da parte que fica em contato com o

ar, a qual permanece corada formando um discreto anel azulado, em razão da grande maioria das bactérias ser anaeróbica. Em animais recebendo ração rica em concentrado o tempo de redução do azul de metileno é curto podendo ocorrer em um minuto; naqueles recebendo ração mista à base de feno e concentrado a descoloração ocorre em três minutos; e nos quais apenas forragem é ofertada, o tempo varia de 3 a 6 minutos (DIRKSEN, 1993; RINGS e RINGS, 1993).

Uma das vantagens dessa prova é a facilidade como é feita, podendo ser realizada no campo e o seu resultado fornece bom indicativo da atividade bacteriana no rúmen. O tempo de redução se prolonga para mais de 15 minutos na inatividade da flora devido a alimento pobre e na inapetência. Valores de pH na faixa ácida também atuam retardando o tempo de redução, principalmente os valores abaixo de cinco, como ocorre na acidose aguda (GARRY, 2002; MIRANDA NETO et al., 2005).

Em estudo com caprinos comparando as épocas seca e chuvosa, Figueiredo et al. (2000) encontraram valores da PRAM maiores na primeira em relação à última, atribuindo a maior atividade da microbiota no período chuvoso a melhor qualidade da pastagem e uma atividade inferior na época seca, devido à má qualidade e maturação excessiva do alimento. Comparando as épocas de inverno e verão, na região de Botucatu-SP, Feitosa (1991) encontrou valores maiores no inverno do que no verão para ovinos, relacionando à menor atividade da flora bacteriana nessa época com os níveis baixos de proteína no pasto. Souza e Barcellos (1993) estudando ovinos em pastagem encontraram valores médios de três minutos para esta variável.

4.4.3 Teor de cloretos (TC)

O ácido clorídrico é produzido no abomaso e normalmente segue com o alimento em direção aos intestinos. No entanto, quando há obstrução do fluxo ou estase abomasal e/ou intestinal, o conteúdo tende a refluir para o rúmen aumentando o teor de cloretos no fluído ruminal que normalmente varia entre 15 e 25 mEq/L em bovinos; porém, a ingestão excessiva de cloreto de sódio também pode afetar de forma positiva o teor de cloretos. Este é um importante indicativo da disfunção gastrointestinal podendo chegar a valores próximos de 100mEq/L nos casos de deslocamento e/ou vólculo abomasal (BRAUN et al., 1990; DIRKSEN, 1993).

Num estudo comparando o teor de cloretos em bovinos e bubalinos sob as mesmas condições de manejo, Barbosa et al. (2003) encontraram teor médio de $15,3 \pm 4,74$ mEq/L para bovinos e $12,5 \pm 4,29$ mEq/L para os bubalinos, atribuindo a menor concentração nos últimos ao suposto consumo reduzido do cloreto de sódio devido à sudorese diminuída em consequência do menor número de glândulas sudoríparas nesta espécie animal.

Em caprinos criados extensivamente, Silva et al. (1994) encontraram valores maiores que os citados por Dirksen (1993), atribuindo ao fato de o teor de cloretos no rúmen ser semelhante ao encontrado na saliva, que nesta espécie varia entre 26 e 42 mEq/L sendo considerado normal de acordo com esse parâmetro.

Feitosa (1991) encontrou níveis de cloreto maiores no verão (estação das águas) do que no inverno (estação seca), em ovinos criados extensivamente, mas dentro do limite estabelecido para bovinos; refletindo provavelmente maior ingestão de sal mineral no período chuvoso.

4.4.4 Acidez total titulável (ATT)

A quantificação da acidez no fluído ruminal é a representação do teor de ácidos tituláveis presentes na amostra, expressa em unidades clínicas de acidez total. A ATT normal do fluído ruminal é de 8 a 25 UC, porém em casos patológicos de hiperacidez, como fermentação de ácido lático ou refluxo de ácido clorídrico do abomaso para o rúmen-retículo, pode chegar a valores de 70 UC. A dieta tem papel importante na concentração e proporção molar de AGVs, fornecendo substrato para atividade microbiana, que é determinante da acidez total (DIRKSEN, 1993; FIGUEIREDO et al., 2000; MIRANDA NETO et al., 2005).

A acidez total titulável segue aproximada e paralelamente às mudanças do pH, por ser um teste fácil e prático traduz-se em bom auxílio diagnóstico em distúrbios como acidose e alcalose ruminais, podendo alcançar no primeiro valores bastante elevados quando o pH é muito baixo (DIRKSEN, 1981; MIRANDA NETO et al., 2005).

Feitosa (1991) estudando ovinos encontrou valores maiores que os citados para bovinos, entre 26,27 e 27,26UC no inverno e valores de 29,24 a 30,4 no verão, sugerindo diferença entre as espécies; no mais, uma maior ingestão de capim fresco

e succulento pode ter intensificado a taxa de fermentação e por conseqüência a concentração total de ácidos.

4.5 Aspectos microbianos do fluído ruminal

4.5.1 Protozoários

São também chamados de infusórios estes componentes da fauna ruminal. Sua função não parece essencial visto que animais defaunados conseguem viver bem; mas é certo que agem em simbiose com a flora bacteriana e hospedeiro, controlando seu crescimento e metabolismo tornando o meio propício para a fermentação por parte de ambas (VAN SOEST, 1994). Em ovinos a maioria dos protozoários pode ser observada aos dois meses, com estabelecimento da população aos oito meses de idade (OLIVEIRA et al., 1987).

Os protozoários ruminais são estritamente anaeróbios, podendo chegar a compor 50% da microbiota, mas sua contribuição não alcança 20% da proteína microbiana que flui para o duodeno, permanecendo no rúmen até serem lisados, e são considerados proteína de alta qualidade biológica. Os infusórios reduzem açúcares solúveis a polissacarídeos armazenando-os nessa forma, tendo como produtos finais do metabolismo ácidos graxos inferiores, além de lactato, CO₂, H₂ e pequena quantidade de metano. A fauna ruminal também impede a queda excessiva do pH, uma vez que usa parte do amido de redução bacteriana, além de converter proteína vegetal do alimento e das bactérias em proteína infusórica, valiosa biologicamente (CHURCH, 1993; LUCCI, 1997; BACILA, 2003).

Quanto ao tamanho, podem ser grandes, médios ou pequenos, estando em intenso movimento no fluído ruminal ativo. Conforme a quantidade estimada de protozoários a densidade é classificada em abundante (+++), moderada (++) , escassa (+) ou ausente (fluído inativo sem protozoários) e a motilidade com o mesmo padrão estando ausente quando os infusórios encontrados estão mortos. São classificados ainda quanto à porcentagem de vivos em relação aos mortos. Em distúrbios digestivos normalmente os primeiros a morrer são os grandes, seguidos pelos médios e por fim os pequenos (DIRKSEN, 1993).

A população de infusórios pode chegar a um milhão/mL do conteúdo ruminal distribuída em aproximadamente 30 espécies por animal. Por serem mais sensíveis à queda de pH no meio são mais difíceis de serem manipulados sendo preferível fixá-los em formol para depois contá-los. Há dois grupos principais, os holotríquios

que apresentam morfologia simples e cílios por todo o corpo tendo como membros principais os gêneros *Isotricha* e *Dasytricha*; e os oligotríquios que apresentam morfologia complexa, cílios distribuídos em várias alas e placas esqueléticas tendo uma quantidade maior de gêneros importantes tais como o *Entodinium sp*, *Diplodinium sp*, *Epidinium sp* e *Ophryoscolex* (DEHORITY, 1977; LUCCI, 1997; BACILA, 2003).

A presença e manutenção da população de protozoários dependem em parte do tipo de alimentação que influenciará no pH e conforme o teor de fibra, na permanência da fauna no rúmen. Em dietas concentradas a taxa de passagem da ingesta é maior havendo um arraste mais rápido dos protozoários em direção aos intestinos, o menor teor de fibra dificulta a permanência dos mesmos no rúmen e ao mesmo tempo o pH se aproxima de níveis baixos que são críticos para os protozoários podendo haver lise e diminuição da população em dietas energéticas por tempo prolongado (FRANZOLIN e DEHORITY, 1996).

Em estudos com ovinos da raça Ideal, níveis crescentes de uréia em rações basais com silagem composta por cana-de-açúcar aumentou a população de infusórios (NOGUEIRA FILHO et al., 1999) levando os autores a concluir que a uréia associada a forragem permite a manutenção e aumenta a população de ciliados em pequenos ruminantes, uma vez que propicia o crescimento da população bacteriana que também serve de substrato para os protozoários. Franzolin et al. (2000), estudando em ovinos, verificaram que a substituição da silagem de milho por cana-de-açúcar provocou diminuição do número de protozoários e aumento linear do pH.

4.5.2 Flora bacteriana

É indispensável para os ruminantes e por isso de importância vital. O teor de bactérias oscila entre 10^7 e 10^{10} - 10^{12} germes/mL ou gramas respectivamente, dependendo se foram apurados no conteúdo líquido ou sólido do rúmen. O tipo de alimento influencia a quantidade de bactérias, havendo menor número quando o tipo de alimentação é rica em celulose, quando comparado ao número encontrado em animais arraçoados com alto teor de amido, elevando-se a praticamente o dobro de bactérias encontrados na primeira. Existem várias espécies, algumas encontradas apenas nos compartimentos gástricos, mas há predominância das Gram-negativas. De acordo com suas funções, são classificadas em grupos como as decompositoras

de celulose, as que reduzem amido e açúcar, as produtoras de AGVs, as que formam metano e as proteolíticas (DIRKSEN, 1993; BACILA, 2003).

Quando o animal recebe alimento rico em fibra há predominância de formas grandes de bactérias; no caso de rações mistas existe uma variedade ainda maior de formas com predomínio de Gram-negativos pequenos e cocos, mas havendo também cocos e bastonetes Gram-positivos em forma de cadeia. Contrastando com os primeiros, na alimentação rica em amido, a população é mais uniforme com microbiota Gram-negativa composta principalmente por cocos e bastonetes curtos e longos, contendo comparativamente um alto teor de cocos e bastonetes Gram-positivos (HUNGATE, 1966; LUCCI, 1997).

A existência de transtorno digestivo é detectada pela ausência de bactérias dominantes normais para o tipo de arraçoamento que o animal recebe e/ou uma uniformidade notável da microbiota, bem como o surgimento de formas geralmente não observadas (DIRKSEN, 1993).

Material e Métodos

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Dados Edafoclimáticos

Este trabalho foi desenvolvido nas instalações da Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, estando localizada à 230km da capital do Estado com Latitude de 08°53'00 "S, Longitude de 036°31'00"W e Altitude de 822,76metros. As amostras foram colhidas nos períodos do inverno (estação chuvosa) e verão (estação seca), conforme pode ser constatado na Tabela 1, Figuras 1 e 2, e analisadas no Laboratório Clínico da mesma.

TABELA 1 - Temperaturas médias (° C) mínima e máxima, umidade relativa do ar (%) e precipitação pluviométrica (mm) no inverno (estação chuvosa) e verão (estação seca)

Variável	Inverno (2005)			Média Inverno	Verão (2005/2006)			Média Verão
	Jun	Jul	Ago		Dez	Jan	Fev	
T mínima	18,0	16,6	16,4	17	18,4	18,3	19,4	18,7
T máxima	23,3	22,6	22,4	22,8	28,2	28,2	30,2	28,9
Umidade	92	91	91	91,3	78	78	75	77
Precipitação	325,3	125,4	146,6	199,1	58,6	4,1	37,5	33,4



FIGURA 1 – Pastagem no inverno
(estação chuvosa)



FIGURA 2 – Pastagem no verão
(estação seca)

5.2 Animais, Manejo e Alimentação

Foram utilizados 50 (cinquenta) ovinos da raça Santa Inês, entre machos e fêmeas na sua maioria, com idade entre um e quatro anos, criados extensivamente, durante o dia, em pastagem de braquiária (*Brachiaria decumbens*), com água e sal mineral *ad libitum*, recebendo ainda capim elefante (*Pennisetum purpureum*) como complementação alimentar.

Antes do experimento os animais receberam tratamento anti-helmíntico oral, à base de oxfendazole¹, em dose dupla com intervalo de trinta dias; e foram submetidos a exame clínico de acordo com Radostits et al. (2000), a fim de comprovar que os animais estavam clinicamente sadios.

5.3 Colheita das Amostras de Fluido Ruminal

As amostras foram colhidas dos ovinos no inverno e no verão, no horário das 14:00 horas (cerca de quatro a seis horas após a alimentação), num volume entre 300 e 400mL de fluido ruminal para cada animal, obtidos por meio de sonda orogástrica plástica, semi flexível, medindo 1,7m de comprimento, com 1,0 cm de diâmetro interno e extremidade com bico de metálico. A extremidade livre da sonda foi acoplada a um sistema de sucção através de uma bomba manual adaptada para este fim e ligada ao tubo coletor individual (Figura 3). Após a colheita, as amostras de fluido ruminal foram acondicionadas em garrafas térmicas identificadas, previamente aquecidas a 39°C, até serem processadas no laboratório; tendo o cuidado de, após a colocação do fluido, fechá-las imediatamente para evitar mudanças bruscas de temperatura e o contato com o ar atmosférico (FEITOSA, 1991; FIGUEIREDO et al., 2000). Não sendo ultrapassado o tempo de 15 minutos pós-colheita, para a realização das primeiras análises.

¹ Systamex – Schering Plough Coopers



FIGURA 3 – Colheita das amostras de fluido ruminal

5.4 Aspectos físicos do fluido ruminal

5.4.1 Avaliação da cor

Colocou-se 200ml de fluido ruminal em uma proveta, determinando-se a cor contra um fundo branco para melhor visualização. (FEITOSA, 1991).

5.4.2 Avaliação do odor

Executou-se logo após a colheita, ainda no vidro coletor (FEITOSA, 1991).

5.4.3 Avaliação da consistência

Foi observada durante a passagem da amostra da garrafa térmica para a proveta (FEITOSA, 1991).

5.4.4 Avaliação da sedimentação e flotação (TSF)

Colocou-se aproximadamente 200ml do fluido ruminal em uma proveta de vidro e cronometrou-se o tempo decorrido até o fim da primeira fase de sedimentação e flutuação (DIRKSEN, 1993).

5.5 Aspectos bioquímicos do fluído ruminal

5.5.1 Determinação do pH

Foi realizada logo após a colheita, ainda no local, utilizando-se um medidor de pH portátil² (Figura 4) de acordo com Dirksen (1993).



FIGURA 4 – Determinação do pH

5.5.2 Prova de redução do azul de metileno (PRAM)

Após homogeneização do fluído ruminal, o mesmo foi filtrado em gaze e colocado em dois tubos de ensaio no volume de 20mL cada. Em seguida, adicionava-se 1mL de Azul de Metileno a 0,03% em um dos tubos, homogeneizando a mistura por inversão do tubo cinco vezes; e homogeneizava-se também o tubo controle da mesma maneira e ao mesmo tempo. Em seguida, marcava-se o tempo que a microbiota levaria para degradar o corante até o fluido retornar à cor original (Figura 5), comparando-se o tubo teste ao controle (DIRKSEN, 1993).

² Potenciômetro – Corning ph-30



FIGURA 5 – Prova de redução do azul de metileno

5.5.3 Teor de cloretos

A determinação do teor de cloretos foi realizada pelo método colorimétrico³ (Figura 6), utilizando o sobrenadante, obtido após centrifugação à 3000rpm durante 15 minutos, de 10ml do fluido ruminal previamente filtrado em cinco camadas de gaze, com leitura em analisador bioquímico semi-automático⁴ (DIRKSEN, 1993).



FIGURA 6 – Teor de cloreto, onde se observa o reagente, padrão em triplicata e teste, da esquerda para a direita

³ Labtest – Brasil, kit comercial.

⁴ Labquest – Labtest Diagnóstica.

5.5.4 Acidez total titulável

Esta prova era realizada em amostras com 10ml de fluído ruminal (Figura 7), previamente filtradas em cinco camadas de gaze, adicionando-se três gotas de solução alcoólica de fenolftaleína a 1% como indicador, seguida de constante homogeneização e titulação no acidímetro de Dornic, com uma solução de hidróxido de sódio N/10, até o aparecimento de uma coloração levemente marrom (cor de carne), obtendo-se então a acidez total em unidades clínicas (DIRKSEN, 1993).

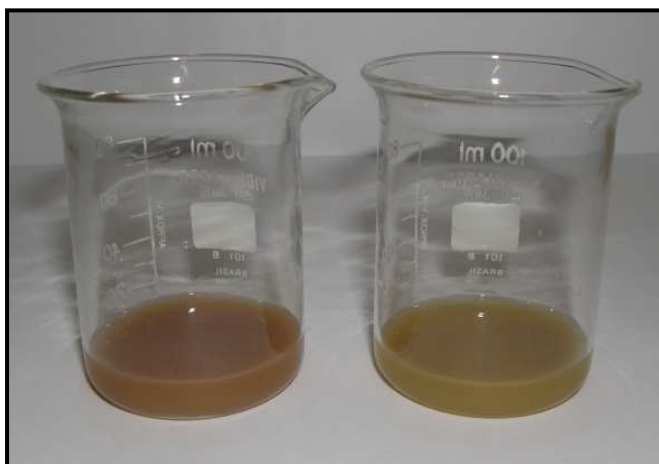


FIGURA 7 – Determinação da acidez total titulável, onde se observa o teste e o controle da esquerda para a direita

5.6 Aspectos microbianos do fluído ruminal

5.6.1 Avaliação dos protozoários

O exame microscópico dos protozoários (Figura 8) foi realizado tomando-se uma gota de fluído ruminal homogeneizado, colocando-a em uma lâmina coberta em seguida por uma lamínula e observada num aumento de $100\times^5$. Neste momento, era avaliada simultaneamente, a densidade de protozoários por estimativa, classificando-a em abundante +++, moderada ++, escassa + ou ausente -; a motilidade foi caracterizada de forma semelhante, sendo intensa +++ e os demais níveis iguais aos da densidade; e ao mesmo tempo, observava-se a proporção dos infusórios entre grandes, médios e pequenos, assim como a relação entre vivos (= móveis) e mortos em porcentagem (DIRKSEN, 1993).

⁵ Olympus CX 31.

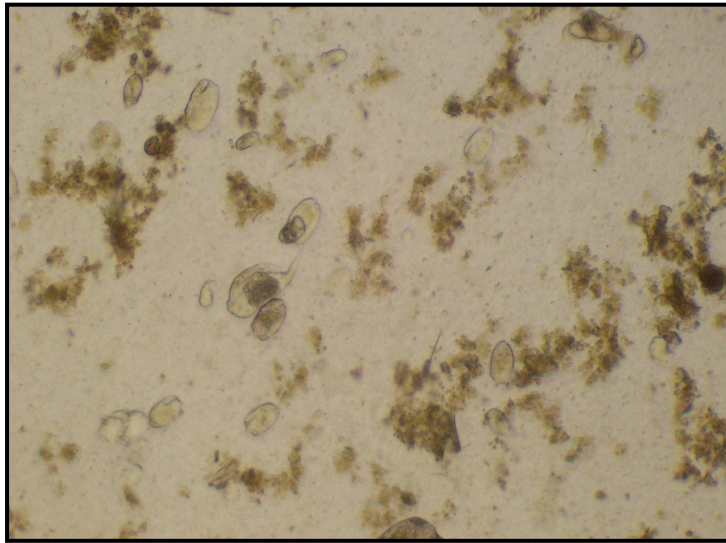


FIGURA 8 – Exame microscópico dos protozoários (aumento 100x)

Para a contagem de infusórios foi usada a técnica proposta por Dehority (1977), colocando num tubo de ensaio 9,0mL de formol a 20%, em seguida adicionava-se 1,0mL de fluído ruminal filtrado em cinco camadas de gaze e por fim vertiam-se três gotas de corante verde brilhante. Homogeneizava-se por inversão cinco vezes, deixando em repouso por 10 a 15 minutos, para então preencher a Câmara de Fuchs-Rosenthal (Figura 9) e fazer a leitura usando a objetiva de 40x. Foram contados os infusórios encontrados nos dezesseis quadrados da câmara, desprezando os que estivessem nas linhas ventral e lateral direita em cada quadrado.

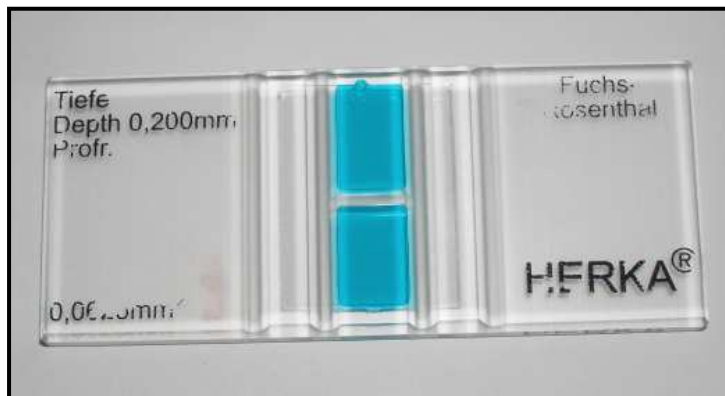


FIGURA 9 – Câmara de Fuchs Rosenthal para contagem de infusórios

5.6.2 Avaliação morfo-tintorial da flora bacteriana

A classificação da flora bacteriana foi realizada por exame direto em esfregaços de fluídos ruminais, dos ovinos estudados, corados pelo método de Gram e analisados em objetiva de imersão para determinação do tipo de bactéria predominante conforme preconiza Dirksen (1993).

5.7 Análise bromatológica

Foram coletadas amostras de vários pontos da pastagem para a determinação da matéria seca (MS), proteína bruta (PB) extrato etéreo (EE), e matéria mineral (MM); nas estações chuvosa (inverno) e seca (verão), conforme o método convencional de análise (Weende), de acordo com a Association of Official Analytical Chemists (1990). Para a determinação da Fibra Detergente Neutra (FDN) e Fibra Detergente em Ácido (FDA) foram realizadas análises específicas empregando-se a metodologia proposta por Van Soest et al. (1991).

5.8 Análise estatística

As amostras foram analisadas nos dois momentos experimentais (inverno e verão), comparando-os entre si, empregando-se para as variáveis pH, teor de cloretos e acidez total titulável do fluído ruminal, o método estatístico paramétrico "t" de Student pareado para amostras independentes, utilizando-se a média (x) e o desvio padrão (s) como medidas de tendência central e variabilidade. Para a análise das variáveis TSF, PRAM, densidade, motilidade, porcentagem de infusórios vivos e contagem utilizou-se o método estatístico não paramétrico de Wilcoxon para amostras dependentes, usando a mediana como medida de tendência central. Nas comparações as estatísticas calculadas foram consideradas significativas a 5% ($P < 0,05$), conforme Curi (1997). Utilizou-se o programa de computador Statwin™ (SigmaStat) para análise estatística dos resultados.

Resultados e Discussão

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Análise Bromatológica

A variação na qualidade e quantidade de forragem pôde ser observada nos períodos experimentais e confirmada através da análise bromatológica da pastagem no inverno e verão (Tabela 2). Demonstrando melhores valores de proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE), bem como menor proporção de matéria seca (MS) na forragem disponível no inverno quando comparada a pastagem de verão que se encontrava em estágio de maturação avançada, refletindo provavelmente a escassez de chuvas e a temperatura mais elevada. Estas variações na qualidade nutricional da forragem, conforme a estação, influenciam diretamente na dinâmica da microbiota e no processo fermentativo do rúmen, com reflexo na produção animal conforme relata Benedetti (1996) Sobrinho et al (1996).

TABELA 2 - Análise Bromatológica da forragem no inverno (estação chuvosa) e verão (estação seca)

Amostra	MS (%)	PB (%)	FDN (%)	FDA (%)	EE (%)	MM (%)
Capim braquiária (inverno)	12,25	11,06	71,26	39,62	5,76	7,23
Capim elefante (inverno)	13,41	10,68	68,88	44,13	4,71	13,00
Capim braquiária (verão)	96,75	4,97	69,91	38,66	1,33	9,71
Capim elefante (verão)	96,73	5,43	68,16	39,45	2,19	14,06

MS: Matéria seca, PB: Proteína bruta, FDN: Fibra detergente neutra, FDA: Fibra detergente ácida, EE: Extrato etéreo, MM: Matéria mineral

6.2 Colheita das Amostras de Flúido Ruminal

As colheitas foram rápidas e eficientes em ambos os períodos experimentais. Acreditando-se assim, que o volume obtido foi adequado para ovinos já que a quantidade total de flúido ruminal na espécie em estudo é muito menor se comparada ao conteúdo do rúmen em bovinos, nos quais é preconizada por Ortolani (1981) e Garry (2002) a obtenção de volumes superiores a 300ml ou 100-200ml, respectivamente, com o intuito de diminuir o efeito tamponante da saliva visto que há maior diluição da mesma no conteúdo ruminal.

Em temperaturas altas como ocorrem no verão há um consumo muito maior de água em relação ao inverno (Gould, 2000), o que de certa forma explica a maior facilidade das colheitas nesse período visto que os animais por conta do estresse calórico provavelmente ingeriam maior quantidade de água. No inverno, ao contrário, o clima frio em associação com o alto nível de água no alimento, a forragem mais succulenta, possivelmente inibiram o consumo hídrico, aumentando assim a proporção de volumoso/água, fato este que pode interferir na colheita, como também relata Ortolani (1981).

6.3 Aspectos Físicos do Flúido Ruminal

6.3.1 Cor

A cor predominante foi a verde oliva (Figura 10) em trinta e duas amostras (64%), seguida pela cor verde oliva escura em quinze amostras (30%) de coloração mais intensa lembrando a tonalidade do capim, e apenas três amostras (6%) tenderam ao castanho. Essa é uma característica que varia diretamente com a qualidade da dieta que é fornecida ao animal como descrevem Costa (1992), Dirksen (1993) e Garry (2002), o que também pôde ser observado neste trabalho, visto que no inverno houve boa disponibilidade de pastagem tanto em quantidade como em qualidade, conforme análise bromatológica (Tabela 2), mostrando-se bastante verde.



FIGURA 10 - Cor verde oliva do fluído ruminal no inverno

No verão (período seco) a disponibilidade de forragem foi bastante comprometida pela estiagem e pelo maturamento excessivo do pasto (Tabela 2), havendo predomínio das nuances castanhas (Figura 11) em trinta e cinco amostras (70%) conforme a tonalidade da pastagem, a qual era praticamente toda em cor de palha, existindo ainda quatorze amostras (28%) de cor verde acastanhadas e uma amostra amarelo palha (2%).



FIGURA 11 - Cor castanha do fluído ruminal no verão

Houve grande diferença entre as épocas do ano quanto à cor, como pode ser observado na Tabela 3, contrastando com os achados de Feitosa (1991), onde a cor predominante foi a verde oliva, mas em seus estudos o capim se manteve verde durante os períodos experimentais, fato que não aconteceu no ambiente onde os animais do presente trabalho eram mantidos.

Variações na tonalidade do fluído ruminal conforme a cor da pastagem também foram encontradas por Souza e Barcellos (1993), Silva et al. (1994) e Barbosa et al. (2003) ao estudar ovinos, caprinos, bovinos e bubalinos, respectivamente, mas sem relação com a época do ano. Diferença essa, que é de suma importância ser conhecida, pois animais com indigestão simples muitas vezes apresentam fluído ruminal de coloração semelhante à encontrada neste experimento, no período de verão sendo essencial conhecer o tipo de alimentação a que o animal está sendo submetido bem como avaliar os outros parâmetros em associação com a tonalidade do fluído ruminal, como esclarece Feitosa (1991).

6.3.2 Odor

Neste trabalho, uma das poucas características que não mudou em relação aos períodos experimentais foi o odor, apresentando-se aromático em todas as amostras, lembrando o capim conforme os achados de Dirksen (1993) que descreve esta característica como dependente da composição do alimento.

O que pôde ser observado é que a intensidade do odor se mostrou mais forte no inverno (período chuvoso), podendo ser uma mudança inerente à qualidade da forragem. Essa característica também pode ser influenciada pela espécie como propuseram Barbosa et al. (2003) ao estudar o fluído ruminal de bubalinos e bovinos por encontrarem odor mais intenso nos primeiros quando comparado ao odor do fluído ruminal dos últimos, estando ambos em regime extensivo, mas não relacionaram os achados diretamente com a época do ano visto que estes autores analisaram o fluído ruminal apenas na estação chuvosa.

6.3.3 Consistência

Houve predomínio da consistência levemente viscosa em ambas as estações, com diferença estatística significativa ($P < 0,05$) entre os períodos experimentais. No inverno, foram encontradas quarenta e seis amostras (92%) levemente viscosas, três (6%) levemente aquosas e uma (2%) moderadamente viscosa, estando o tipo predominante provavelmente relacionado à alta densidade da microbiota ruminal; aliado a isso o capim apresentou baixo teor de matéria seca em relação ao alto nível de água. Esse último fator associado ao tempo frio possivelmente contribuiu para uma menor ingestão de água tornando o fluído mais espesso nesse período.

Ao estudar caprinos, Silva et al. (1994) salientaram ainda a importância do volume de saliva produzida sobre a consistência do fluído ruminal, volume este que varia entre espécies, podendo explicar as diferenças encontradas nesse trabalho, visto que a saliva do ovino é mais viscosa se compararmos com a do bovino devido a um índice mais alto de mucoproteína (Hungate, 1966).

No verão, apesar ter havido trinta e duas amostras levemente viscosas (64%), constituindo a maior proporção desse tipo de consistência, foram encontradas dezesseis amostras levemente aquosas (32%), número consideravelmente alto quando comparado ao inverno, havendo ainda duas amostras de consistência aquosa (4%). Esses achados provavelmente refletem um maior consumo de água devido ao tempo quente ocorrido no período, bem como à menor densidade da

microbiota ruminal quando comparado ao inverno, embora fosse de se esperar o predomínio de consistência mais espessa, pois o alto teor de matéria seca normalmente induz um maior tempo de ruminação e maior proporção da saliva na determinação da consistência do fluido ruminal (Van Soest, 1994).

6.3.4 Tempo de Sedimentação e Flotação (TSF)

O processo fermentativo foi bastante favorecido no inverno pelo suprimento de forragem de excelente qualidade, obtendo-se um TSF médio de 6,73 minutos ($\pm 1,63$), já no verão a baixa qualidade da pastagem comprometeu a fermentação de forma tal que poucas partículas flotaram e a sedimentação foi bem rápida com valor médio de 3,15 minutos ($\pm 0,72$), formando uma fina camada de partículas alimentares (Tabela 3).

Em estudo com bovinos, criados extensivamente, Braga et al. (2005) observaram que não houve flotação em ambas as estações, inverno e verão, mesmo a microflora estando bem ativa, encontrando valores de 6,43 e 7,01 minutos, respectivamente.

O TSF é uma prova que demonstra de forma indireta a atividade fermentativa da microbiota ruminal (Garry, 2002). Para tal é preciso que haja substrato em quantidade e qualidade adequadas. Se isso não acontece a fermentação fica comprometida, havendo sedimentação rápida e flotação ausente ou pelo menos retardada, visto que são as bolhas de gás que levam as partículas maiores e menos densas até a superfície do fluido ruminal, o que ficou claramente demonstrado através dos valores maiores desta variável obtidos no inverno quando comparados aos encontrados no verão, havendo diferença estatística ($P < 0,05$) entre os períodos experimentais. Tais achados mostram a importância da qualidade do substrato na atividade fermentativa microbiana conforme relata Benedetti (1996), estando os valores da estação do inverno dentro do limite preconizado por Dirksen (1993) em bovinos e acima no dos valores encontrados por Feitosa (1991) para ovinos. Entretanto, no verão os valores encontrados estiveram abaixo dos observados na literatura.

6.4 Aspectos Bioquímicos do Flúido Ruminal

6.4.1 pH

Foram encontrados valores maiores de pH no inverno ($6,76 \pm 0,21$) do que no verão ($6,59 \pm 0,14$), sendo estes valores semelhantes aos encontrados por Feitosa (1991), havendo diferença estatística significativa ($P < 0,05$) entre os períodos experimentais, mas que do ponto de vista biológico estas diferenças não tem interferência na rotina de avaliação clínica, estando dentro dos limites estabelecidos para bovinos mantidos com este tipo de dieta, conforme relata Dirksen (1993).

Em estudo com bovinos a pasto, Campos Neto (1977) encontrou pH médio de 6,52 ao analisar o fluído ruminal três horas após alimentação, já Ortolani et al. (1982) observaram pH médio de 6,57 entre gado holandês, mestiço e zebuíno cinco horas após o mesmo tipo de arração, achados estes, semelhantes aos encontrados no presente trabalho na época de verão, porém com intervalo maior entre a alimentação e a coleta do fluído.

É de se esperar valores de pH menores no período chuvoso, devido à influência do processo fermentativo, do que no verão onde o alto teor de fibra na forragem exige maior tempo de mastigação e ruminação havendo assim maior contribuição da saliva fazendo com que os valores de pH sejam mais altos (Hungate, 1966; Van Soest, 1994). Nesse experimento, porém, aconteceu o contrário, provavelmente por influência da quantidade e qualidade do alimento no interior do rúmen em relação à proporção de líquido, que se mostrou maior no verão do que no inverno.

6.4.2 Prova de Redução do Azul de Metileno (PRAM)

A atividade microbiana avaliada pela PRAM foi muito eficiente no inverno, demonstrando valores de 3,20 minutos ($\pm 0,76$) quando comparada ao verão, onde os valores chegaram a 7,76 minutos ($\pm 3,00$), como pode ser observado na Tabela 3. A prova apresentou, no inverno, um tempo de redução inferior ao citado por Dirksen (1993) para animais recebendo forragem, o que provavelmente aconteceu devido aos altos níveis protéicos e baixa percentagem de fibra favorecendo o crescimento e atividade microbiana. Entretanto, esteve acima dos valores encontrados por Barbosa et al. (2003) estudando bovinos e bubalinos e foi semelhante aos valores encontrados por Donato et al. (1999) ao analisar o fluído ruminal de caprinos recebendo alimentação composta em 90% por capim e 10% de concentrado.

Já no verão, a baixa qualidade do pasto, a maturação excessiva e o alto teor de fibras comprometeram de forma clara a atividade da microbiota ruminal que levou maior tempo para reduzir o Azul de Metileno, com os valores encontrados neste trabalho, acima dos observados por Feitosa (1991) e Silva et al. (1994) em ovinos e caprinos, respectivamente, sob mesmo manejo e dos preconizados para bovinos por Garry (2002).

6.4.3 Teor de Cloreto (TC)

O valor médio encontrado no inverno (período chuvoso) foi de $28,14 \pm 4,16$ mEq/L com diferença estatística significativa ($P < 0,05$) em relação ao valor obtido no verão (período seco) que foi de $24,97 \pm 5,65$ mEq/L (Tabela 3), estando próximos ao limite máximo (< 30 mEq/L) preconizado por Garry (2002) em bovinos, e superiores aos valores relatados por Rings e Rings (1993), que foram de 8 a 15 mEq/L para os ovinos.

Os valores de cloreto encontrados no período chuvoso neste trabalho estão bem acima dos preconizados em bovinos por Dirksen (1993), que cita valores médios entre 15-25 mEq/L, refletindo provavelmente peculiaridades da espécie como o teor deste elemento na saliva que de acordo com Garry (2002) apresenta valores semelhantes aos encontrados no fluido ruminal como pôde ser confirmado por Silva et al. (1994) estudando caprinos, nos quais o teor de cloreto na saliva variou entre 26 e 42 mEq/L justificando os altos valores encontrados, no fluido ruminal, por estes autores e no presente trabalho.

O teor médio de cloretos no período seco foi menor quando comparado ao período chuvoso, mas se manteve muito acima dos valores encontrados por Feitosa (1991) que foram de 16,71 e 19,25 mEq/L para ovinos das raças Merino Australiano e Corriedale, respectivamente, nas mesmas condições de manejo; refletindo provavelmente diferenças no consumo de sal mineral e água entre as estações, como também descreve Oliveira (1991).

A avaliação do teor de cloreto no fluido ruminal é uma prova ainda pouco explorada na rotina veterinária, mas que apresenta excelente valor diagnóstico na elucidação de transtornos que comprometam a dinâmica motora do trato digestivo e nos casos onde há diminuição no trânsito gastrintestinal da digesta, se mostrando uma prova bastante útil do ponto de vista prático, de execução e custo, como também observaram Braun et al. (1990).

6.4.4 Acidez Total Titulável (ATT)

O valor médio encontrado no inverno (período chuvoso) foi de $21,90 \pm 4,38$ UC, havendo diferença estatística em relação ao valor médio encontrado no verão (período seco) que foi de $13,68 \pm 2,97$ UC. Estando ambos dentro do limite preconizado para bovinos por Dirksen (1993), mas contrastando com as médias obtidas por Feitosa (1991) em trabalho com ovinos, onde os resultados alcançados no presente trabalho (Tabela 3) estavam bem abaixo em ambas às estações, refletindo provavelmente a menor qualidade da pastagem local em relação à alimentação dos animais no experimento citado.

A baixa qualidade e maturação excessiva da pastagem no período seco, conforme análise bromatológica da forragem, provavelmente influenciaram a fermentação microbiana, explicando assim a menor ATT neste período, visto que a boa qualidade do alimento no inverno possivelmente atuou de forma positiva sobre a microbiota ruminal favorecendo a maior produção de ácidos, elevando assim a ATT nesta época como também relata Oliveira (1991).

A determinação da Acidez Total Titulável é uma análise rápida, de fácil execução e baixo custo na diferenciação entre alcalose e acidose ruminal, embora fosse mais interessante do ponto de vista diagnóstico, se conhecer a concentração do ácido láctico, pois ele é o componente mais importante para desencadear, quando em quantidade elevada, o quadro de acidose láctica (Dirksen, 1993).

6.5 Aspectos Microbianos do Fluido Ruminal

6.5.1 Protozoários

A estimativa da quantidade de protozoários por campo mostrou maior densidade (+++) no inverno quando comparada ao verão (++) , mas com boa quantidade de protozoários em ambos os períodos experimentais, havendo diferença estatística significativa ($P < 0,05$) entre eles, estando os achados de acordo com os relatados por Dirksen (1993). Houve alta porcentagem de infusórios vivos em ambos períodos experimentais, estando próxima de 90% e os mesmos apresentaram motilidade bastante ativa, não havendo diferença estatística significativa ($P > 0,05$) entre eles, confirmando os relatos de Kasari (1994) que preconiza, para um fluido ruminal de qualidade, elevada concentração de protozoários de diversos tipos como foi observado.

A contagem de protozoários por mililitro de fluido ruminal foi bem maior no inverno ($425\ 373 \pm 217\ 258$), com níveis aproximadamente três vezes maiores do que no verão ($155\ 375 \pm 83\ 113$), havendo diferença estatística significativa ($P < 0,05$) entre as estações, provavelmente por haver melhor disponibilidade de substrato no primeiro, fator essencial para o crescimento adequado da fauna ruminal como elucidada Hungate (1966). Mas esta é uma das características que apresenta uma das maiores amplitudes de variação nas diversas espécies animais, bem como em alimentações diferentes, oscilando inclusive entre coletas num mesmo indivíduo como pôde ser demonstrado por Nogueira Filho et al. (1991), Lucci et al. (1982); Ortolani e Takimoto (1987) e Nogueira Filho et al. (1990).

Por sua alta sensibilidade frente a alterações no ambiente ruminal, os protozoários agem como indicadores no diagnóstico de distúrbios digestivos, havendo diminuição em densidade, motilidade e proporção de vivos quando algum transtorno compromete a dinâmica e metabolismo intra ruminal (HUNGATE, 1966), sendo importante conhecer sua população normal para diferenciar das alterações patológicas (LEEK, 1983).

De acordo com Van Soest (1994) o pH é um dos principais fatores determinantes da manutenção da fauna ruminal visto que valores de pH baixos inibem o crescimento, havendo ambiente favorável entre 6,0 e 6,5, como o observado neste trabalho.

6.5.2 Flora Bacteriana

O predomínio de bactérias Gram-negativas (Figura 12) e a grande diversidade encontrada em ambos os períodos experimentais corroboram com os relatos de Hungate (1966) e Dirksen (1993) que descrevem uma população de bactérias Gram-negativas predominando com grande diversidade de formas em animais recebendo volumoso, e esfregaços mais homogêneos em animais sob regime intensivo. Entre as bactérias Gram-negativas houve maior densidade aparente, com maior presença de pequenos cocos, bastonetes curtos e diversas cadeias de cocos; já no grupo de bactérias Gram-positivas os tipos mais freqüentes foram os grandes cocos e diplococos.

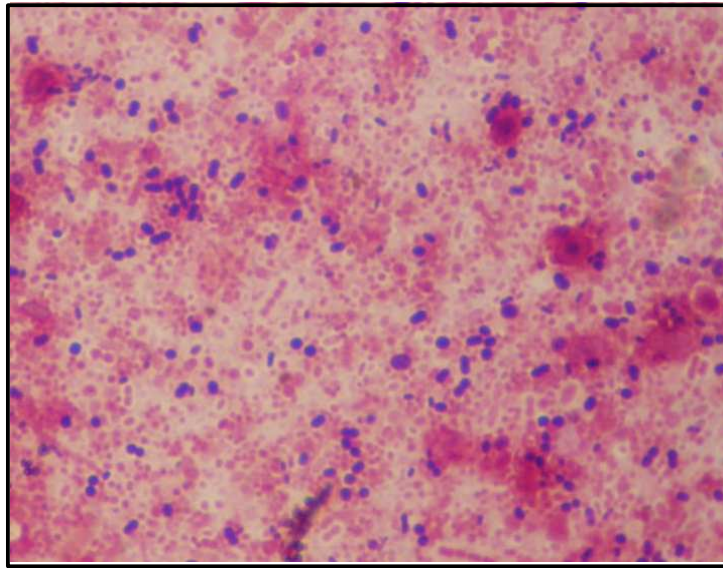


FIGURA 12 – Esfregaço ruminal corado pelo método de Gram (aumento 1000x)

A flora ruminal é constituída por diversos tipos de bactérias, que são classificadas conforme o substrato que degradam. Assim, no fluído ruminal são encontradas bactérias celulolíticas, amilolíticas, proteolíticas e outras mais. No entanto, na rotina prática é mais importante a determinação do tipo de bactéria predominante quanto à coloração de Gram, do que a contagem propriamente. Normalmente predomina o tipo Gram-negativo, com maior ou menor diversidade de bactérias conforme a composição alimentar. Um pH em torno de 6,5 é mantido pela constante secreção de saliva, tornando o meio propício à fermentação da microbiota (HOFMANN, 1989). Porém, quando esse equilíbrio é rompido, como acontece nos casos de acidose láctica ruminal, o tipo predominante é sobreposto pelas bactérias Gram-positivas (OWENS et al., 1998).

TABELA 3 – Características do fluido ruminal obtido de ovinos da raça Santa Inês criados sob regime extensivo no inverno (estação chuvosa) e verão (estação seca)

Parâmetros	Unidade	Inverno	Verão
		<i>FA – FR</i>	<i>FA – FR</i>
Cor		Verde oliva 32 – 64%	Castanha 35 – 70%
		Verde oliva escura 15 – 30%	Verde acastanhada 14 – 28%
		Oliva acastanhada 3 – 6%	Amarela palha 1 – 2%
Consistência			
Moderadamente Viscosa		1 – 2%	–
Levemente Viscosa		46 ^a – 92%	32 ^b – 64%
Levemente Aquosa		3 – 6%	16 – 32%
Aquosa		–	2 – 4%
		<i>Média – DP</i>	<i>Média – DP</i>
TSF	minuto	6,73 ^a ± 1,63	3,15 ^b ± 0,72
pH	–	6,76 ^a ± 0,21	6,59 ^b ± 0,14
PRAM	minuto	3,20 ^b ± 0,76	7,76 ^a ± 3,00
TC	mEq/L	28,14 ^a ± 4,16	24,97 ^b ± 5,65
ATT	UC	21,90 ^a ± 4,38	13,68 ^b ± 2,97
Protozoários			
Densidade	+	+++ ^a	++ ^b
Motilidade	+	+++ ^a	+++ ^a
Vivos	%	~90 ^a	~90 ^a
Protozoários Totais	n/mL	425 373 ^a ±217 258	155 375 ^b ±83 113
Bactérias Predominantes		Gram-negativas	Gram-negativas

FA: Freqüência absoluta, FR: Freqüência relativa, DP: Desvio padrão, TSF: Tempo de sedimentação e flotação, PRAM: Prova de redução do azul de Metileno, TC: Teor de cloretos, ATT: Acidez total titulável

Letras diferentes na mesma linha: P<0,05

Letras iguais na mesma linha: P>0,05

Conclusões

7. CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos nos períodos experimentais em estudo, conclui-se que:

A estação do ano influencia as características do fluído ruminal dos ovinos criados sob regime extensivo, visto que contribui para um aporte alimentar de melhor qualidade no inverno (período chuvoso) quando comparado ao verão (período seco) havendo diferença entre todas as variáveis durante os períodos experimentais.

Referências

8. REFERÊNCIAS

- ALONSO, A. N. Diagnostic analysis of rumen fluid. **Veterinary Clinics of North America: large animal practice**, Colorado, v. 1, p. 363-376, 1979.
- ANDRIGUETTO, J. M. et al. **Nutrição animal**. 3. ed. São Paulo: Nobel, 1999. 425p.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 15th. ed. Arlington, 1990. v. 1, 1117p.
- BACILA, M. Bioquímica do rúmen. In: _____. **Bioquímica veterinária**. 2. ed. São Paulo: Robe, 2003. cap. 6, p. 167-181.
- BARBOSA, J. D. et al. Estudo comparativo de algumas provas funcionais do fluido ruminal e de metabólitos sangüíneos de bovinos e bubalinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 1, p. 33-37, jan./mar. 2003.
- BENEDETTI, E. Atributos do rúmen e avaliação nutricional das gramíneas tropicais: Uma revisão. **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v. 2, n. 1, p. 87-98, 1996.
- BORGES, N. C. **Caracterização do fluido ruminal, dos parâmetros clínicos-laboratoriais e de aspectos epidemiológicos de bovinos com pododermatite**. 1998. 63 f. Dissertação (Mestrado em Sanidade Animal) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 1998.
- BRAGA, D. B. O. et al. Influência das estações de verão e de inverno sobre os testes de digestão da celulose, sedimentação/flotação e conteúdo de cloretos em suco rumenal de bovinos. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, v. 25, n. 145, p. 42-44, maio/jun. 2005.
- BRAUN, U.; STEINER, A.; KAEGI, B. Clinical, haematological and biochemical findings and the results of treatment in cattle with acute functional pyloric stenosis. **Veterinary Record**, London, v. 126, n. 3, p. 107-110, Feb. 1990.
- CHURCH, D. C. **El rumiante fisiología digestiva y nutrición**. Zaragoza: Acribia, 1993. p. 539-566.
- CAMPOS NETO, O. Aspectos físico-químicos do conteúdo do rúmen e suas implicações na patogenia das enfermidades deste órgão. **Comunicações Científicas**, São Paulo, v. 1, n. 1, p. 26-37, 1977.

COSTA, N. A. **Estudo clínico do suco de rúmen de bovinos normais em diferentes manejos de arração com palma forrageira (*Palma gigante, Opuntia ficus indica*) Mill.** 1992. 57 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 1992.

CURI, P. R. **Metodologia e análise da pesquisa em ciências biológicas.** Botucatu: Tipomic, 1997. 263 p.

DEHORITY, B. A. **Classification and morphology of rumen protozoa.** Ohio: Department of Animal Science, 1977. 82p.

DIRKSEN, G. **Indigestiones en el bovino.** Munique: Schnetztor Verlag GmbH Konstanz, 1981. 76p.

DIRKSEN, G. Sistema digestivo. In: DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H. D.; STÖBER, M. **Rosenberger exame clínico dos bovinos.** 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. cap. 7, p. 166-228.

DONATO, I. V. et al. Aspectos físico-químicos do fluído ruminal de caprinos recebendo dietas compostas de vagem de algarobeira (*Prosopis juliflora* D. C.) e capim elefante (*Penisetum purpureum* Shum.) em diferentes proporções. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, Recife, v. 2, n. 1, p. 01-06, jan./abr. 1999.

EADS, S. Physiology and pathophysiology of the rúmen. ACVIM FORUM, 15., 1997, Lake Buena Vista. **Proceedings of the 15th Acvim Forum.** Lake Buena Vista: [s.n.], 1997. p. 443.

FEITOSA, F. L. F. **Avaliação do líquido ruminal em ovinos das raças Merino Australiano e Corriedale criados em regime extensivo de pastagem, no município de Botucatu-SP.** 1991. 88f. Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia Médica) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1991.

FIGUEIREDO, M. P.; QUADROS, D. G.; CRUZ, J. F. Acidez total titulável, pH e tempo de redução do azul de metileno no fluído ruminal de caprinos mantidos em pastagens artificiais, exclusiva de gramíneas, ou em caatinga. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 37, n. 5, 2000. Disponível em: <<http://www.icmlq.org>>. Acesso em 09 maio 2005.

FRANZOLIN, M. H. T.; LUCCI, C. S.; FRANZOLIN, R. Efeitos de rações com níveis crescentes de cana de açúcar em substituição à silagem de milho sobre a população de protozoários ciliados no rúmen de ovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 29, n. 5, p. 1452-1457, 2000.

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

GARRY F. B. Diseases of the alimentary tract. In: SMITH B. P. **Large animal internal medicine**. 3. ed. St. Louis: Mosby, 2002. cap. 30, p. 722-747.

GOULD, D. H. Update on sulfur-related polioencephalomalacia. **Veterinary Clinics of North America: food animal practice**, Colorado, v. 16, n. 3, p. 481-496, 2000.

HOFMANN, R. R. Evolutionary steps of ecophysiological adaptation and diversification of ruminants: A comparative view of their digestive system. **Oecologia**, Barcelona, v. 78, p. 443-457, 1989.

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

IBGE – Produção da Pecuária Municipal – 2003. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/25112004ppm.shtml>>. Acesso em 04 dez. 2006.

JONES, R. J. et al. Comparison of rumen fluid from South African species and from sheep to digest tanniferous browse. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 52, n. 4, p. 453-460, 2001.

KASARI, T. R. Medical management of common physiologic and metabolic abnormalities in anorectic cattle. **Veterinary Medicine**, Lenexa, v. 89, n. 9, p. 898-909, Sep. 1994.

KAY, R. N. B. Rumen function and physiology. **Veterinary Record**, London, v. 113, n. 2, p. 6-9, 1983.

LEEK, B. F. Clinical diseases of the rumen: A physiologist's view. **Veterinary Record**, London, v. 113, n. 2, p. 10-14, July 1983.

LUCCI, C. S. **Nutrição e manejo de bovinos leiteiros**. São Paulo: Manole, 1997. 169p.

LUCCI, C. S. et al. Populações microbianas dos rumens de vacas leiteiras submetidas a diversas rações. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia**, São Paulo, v. 19, n. 2, p. 157-161, 1982.

MEDEIROS, A. N. Caprinocultura de corte no nordeste brasileiro. **Capritec Tecnologia em Caprinocultura**. 1999. Disponível em: <<http://www.capritec.com.br/artigos.htm>>. Acesso em 04 dez. 2006.

MIRANDA NETO, E. G. et al. Estudo clínico e características do suco ruminal de caprinos com acidose láctica ruminal induzida experimentalmente. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 2, p. 73-78, abr./jun. 2005.

NOGUEIRA FILHO, J. C. M. et al. Avaliação dos protozoários do rúmen de búfalos (*Bubalus bubalis* L.) e bovinos (*Bos indicus* L.) em regime de confinamento. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 28, n. 2, p. 243-247, 1991.

NOGUEIRA FILHO, J. C. M. et al. Influência da soja fornecida crua, tostada ou como farelo, na composição de rações para bovinos, sobre o número e gênero de protozoários ciliados do rúmen. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 123-127, 1990.

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 Veterinaria**, Jaboticabal, v. 15, n. 2, p. 130-134, 1999.

OLIVEIRA, M. E. M. et al. Desenvolvimento de populações de protozoários ciliados no rúmen de ovinos (*Ovis aries* L.) criados em Itapetininga, São Paulo. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia**, São Paulo, v. 24 n. 2, p. 225-231, 1987.

OLIVEIRA D. B. **Estudo do suco ruminal de bovinos criados em regime extensivo de pastagem (*Brachiaria decumbens*), no município de Botucatu-SP**. 1991. 42f. Dissertação (Mestrado em Clínica: fisiopatologia médica) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1991.

ORTOLANI, E. L. Considerações técnicas sobre o uso da sonda esofágica na colheita do suco de rúmen de bovinos para mensuração do pH. **Arquivos da Escola de Medicina Veterinária da UFMG**, Belo Horizonte, v. 33, n. 2, p. 269-275, ago.1981.

ORTOLANI, E. L.; BIRGEL, E. H.; ARAÚJO, L. M. Comportamento do pH do suco de rúmen de bovinos "in vitro". **Arquivos da Escola de Medicina Veterinária da UFMG**, Belo Horizonte, v. 32, n. 2, p. 217-223, ago. 1980.

ORTOLANI, E. L.; SOUZA, R.; BENESI, F. J. The pH of the bovine ruminal fluid as influenced by species and diet. **Arquivos da Escola de Medicina Veterinária da UFMG**, Belo Horizonte, v. 34, n. 1, p. 23-32, abr. 1982.

ORTOLANI, E. L.; TAKIMOTO, C. Estudos comparativos da fauna do rúmen entre o *Bos taurus*, *Bos indicus* e Mestiços. Aspectos quantitativos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 39, n. 1, p. 81-91, 1987.

OWENS, F. N. et al. Acidosis in cattle: a review. **Journal of the American Society of Animal Science**, Champaign, v. 76, p. 275-286, 1998.

RADOSTITS O. M. et al. **Veterinary medicine**. 9 ed. London: Baillière Tindall. 2000. 1877p.

RINGS, D. M.; RINGS. M. B. Rumen fluid analysis. **Agri Practice**, Ohio, v.14, n.9, p.26-29, Oct. 1993.

ROSSO, G. **Ovinocultura desperta interesse do produtor no show rural**. 2004. Disponível em: <http://www21.sede.embrapa.br/noticias/banco_de_noticias/2004/fevereiro/bn.2004-11-25-674>. Acesso em 04 dez. 2006.

SALLES, M. S. V. et al. Avaliação da colheita de líquido ruminal por fístula ou sonda esofágica em bovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 55, n. 4, ago. 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352003000400008&In...>. Acesso em 11 maio 2005.

SILVA, H. K.; VIANNA, L. G.; BARBOSA, J. D. Provas funcionais do suco de rúmen de caprinos criados extensivamente na baixada fluminense. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 2/3, p. 65-68, abr./set. 1994.

SIMPLÍCIO, A. A.; WANDER, A. E. Organização e gestão da unidade produtiva. CONGRESSO PERNABUCANO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 5., 2003, Recife. **Anais do V Congresso Pernambucano de Medicina Veterinária**. Recife: UFRPE, 2003. p. 177-187.

SOBRINHO, A. G. S. et al. **Nutrição de ovinos**. Jaboticabal: FUNEP. 1996. 258p.

SOUZA, M. V.; BARCELLOS, A. R. Avaliação do fluido rumenal de bovinos e ovinos criados em regime de pastagem. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 23, n. 1, p. 31-36, 1993.

SOUZA, P. M. **Conservação de suco de rúmen: avaliação das características macroscópicas, microbiológicas e de determinadas provas funcionais**. 1990. 87f. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 1990.

VAN SOEST, J. P. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. New York: Cornell University, 1994. 476p.

VAN SOEST, J. P.; ROBERTSON, J. B.; LEWI, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, p. 3583-3597, 1991.

Anexos

Características do fluido ruminal de ovinos Santa Inês criados extensivamente em Pernambuco⁶

Aerlem Cynnara Silva Vieira^{7*}, José Augusto Bastos Afonso⁸, Carla Lopes de Mendonça³

ABSTRACT.- Vieira A.C.S., Afonso J.A.B., Mendonça C.L. 2007. [**Ruminal fluid characteristics of Santa Inês sheep under pasture conditions in the State of Pernambuco**] Características do fluido ruminal de ovinos Santa Inês criados extensivamente em Pernambuco. *Pesquisa Veterinária Brasileira* xx ():yy-yy. Clínica de Bovinos, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Cx. Postal 152, Garanhuns, PE 55292-901, Brazil. E-mail: acynnara@gmail.com *Aceito para publicação, reg.911*

The objective of this research was to determine normal standards to ruminal fluid characteristics of Santa Inês sheep under pasture conditions in the State of Pernambuco. Were collected 50 samples, using an esophageal tube, during winter (rainy season) and summer (dry season). The predominant colors were an olive green on rainy season and a nut-brown on dry season. The smell was aromatic, but was stronger on winter. The slight viscous consistence was found in most of the samples, with greater proportion of these on winter in relationship the others. The sedimentation and flotation time was 6,73 min (\pm 1,63) on rainy period and 3,15 min (\pm 0,72) on dry period. In the biochemical tests, the average values found on winter and summer were, respectively: pH, $6,76 \pm 0,21$ and $6,59 \pm 0,14$; methylene blue reduction, 3,20 min (\pm 0,76) and 7,76 min (\pm 3,00); chloride, $28,14 \pm 4,16$ mEq/L and $24,97 \pm 5,65$ mEq/L; acidity, $21,90 \pm 4,38$ UC and $13,68 \pm 2,97$ UC. Ruminal microbiotic analysis revealed abundant and moderate density of protozoa on winter and summer, respectively. The motility was very active and there were almost 90% of live protozoa in both seasons. Protozoa numbers were higher on winter with $425\ 373 \pm 217\ 258$ /mL and $155\ 375 \pm 83\ 113$ /mL on summer. There was a mixed population of bacteria with prevalence of Gram-negative forms in both seasons.

INDEX TERMS: Ruminal fluid, sheep, bacteria, protozoa, Pernambuco's State

RESUMO.- Este trabalho teve por objetivo estabelecer padrões de normalidade para as características do fluido ruminal de ovinos da raça Santa Inês criados sob regime extensivo de pastagem na cidade de Garanhuns, Agreste Meridional de Pernambuco. Foram coletadas amostras de 50 animais, por meio de sonda esofágica, nos períodos de inverno (estação chuvosa) e verão (estação seca). As cores do fluido predominantes foram a verde oliva, no período chuvoso, e a castanha, no período seco. O odor aromático foi observado em todas as amostras, estando mais pronunciado no inverno. A consistência levemente viscosa predominou em ambas as estações, com maior frequência desta no inverno. O tempo de sedimentação e flotação foi de 6,73 min (\pm 1,63) na estação chuvosa e 3,15 min (\pm 0,72) na

⁶ Parte da Dissertação do primeiro autor, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária/UFRPE, Recife, PE 52171-900

^{7*} Autor para correspondência. E-mail: acynnara@gmail.com

⁸ Clínica de Bovinos, Campus Garanhuns, UFRPE, Av. Bom Pastor s/n. Mundaú. Cx. Postal 152, Garanhuns, PE 55292-901. E-mail: carlaze@uol.com.br

estação seca. Nas provas bioquímicas os valores médios encontrados para o inverno e verão, respectivamente, foram: pH, $6,76 \pm 0,21$ e $6,59 \pm 0,14$; redução do azul de metileno, $3,20 \text{ min } (\pm 0,76)$ e $7,76 \text{ min } (\pm 3,00)$; teor de cloretos, $28,14 \pm 4,16 \text{ mEq/L}$ e $24,97 \pm 5,65 \text{ mEq/L}$; acidez total titulável, $21,90 \pm 4,38 \text{ UC}$ e $13,68 \pm 2,97 \text{ UC}$. Observou-se densidade abundante (+++) de protozoários no inverno e moderada (++) no verão. A motilidade dos protozoários foi bastante ativa (+++) e havia aproximadamente 90% deles vivos em ambos os períodos experimentais. A contagem de protozoários no inverno foi de $425\ 373 \pm 217\ 258/\text{mL}$ e $155\ 375 \pm 83\ 113/\text{mL}$ no verão. As bactérias Gram-negativas predominaram em ambas as estações.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Flúido ruminal, ovinos, bactérias, protozoários, Agreste Meridional de Pernambuco

INTRODUÇÃO

Os ruminantes estão em uma posição mais favorável em relação aos outros animais de produção, pois são capazes de utilizar a celulose e convertê-la em produtos assimiláveis, através da constante atividade fermentativa exercida pela população microbiana do rúmen (Eads 1997, Bacila 2003).

A produção animal, especialmente na região Nordeste, é limitada em parte pelos elementos climáticos e pelo manejo inadequado da produção de forragens. Na época de verão a escassez da oferta de alimentos é um fator limitante à produção, e induz a uma suplementação através de concentrados, elevando os custos de produção, alterando a composição da dieta e promovendo mudança dos hábitos alimentares, contribuindo desta forma para o surgimento de transtornos digestivos (Costa 1992, Andriguetto et al. 1999, Miranda Neto et al. 2005).

Neste contexto, as provas para avaliar as características do flúido ruminal juntamente com o exame clínico do paciente assumem grande importância na avaliação dos problemas de ordem digestiva, auxiliando no diagnóstico e terapia a serem estabelecidas (Rings & Rings 1993; Garry 2002).

No Brasil, a ovinocultura vem crescendo a cada ano, mas os trabalhos para estabelecer valores de referência das características analisadas no flúido ruminal ainda são escassos, sendo necessárias pesquisas dessa natureza nas diversas condições de manejo, climáticas e para cada região do país, visto que estes fatores influenciam e podem modificar os padrões de normalidade (Feitosa 1991, Souza & Barcellos 1993, Simplício & Wander 2003).

Com base nesses fatos, este trabalho teve por objetivo estudar as características do flúido ruminal em ovinos da raça Santa Inês criados sob regime extensivo de pastagem no

Agreste Meridional de Pernambuco nas épocas de inverno (estação chuvosa) e verão (estação seca).

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido nas instalações da Clínica de Bovinos – Campus Garanhuns, da Universidade Federal Rural de Pernambuco e as amostras foram analisadas no seu Laboratório Clínico.

Foram utilizados 50 animais, clinicamente saudáveis, da raça Santa Inês, adultos, entre machos e fêmeas, submetidos a regime extensivo em pasto formado por braquiária (*Brachiaria decumbens*) nas épocas de inverno (estação chuvosa) e verão (estação seca). Os animais receberam ainda capim-elefante (*Penisetum purpureum*) no cocho pela manhã e no final da tarde, tendo acesso à água e sal *ad libitum*.

As forragens foram analisadas para a determinação da matéria seca (MS), proteína bruta (PB) extrato etéreo (EE), e Matéria Mineral (MM) nas estações chuvosa e seca, de acordo com a AOAC (1990). Para as análises da Fibra Detergente Neutra (FDN) e Fibra Detergente em Ácido (FDA) foi empregada a metodologia proposta por Van Soest et al. (1991).

As coletas foram realizadas uma vez em cada animal nos dois períodos experimentais, entre 4 a 6 horas após a alimentação matinal, sendo obtidos entre 300-400ml de fluido ruminal com auxílio de uma sonda esofágica semiflexível medindo 1,5m de comprimento e 1cm de diâmetro interno, tendo em uma das extremidades um bico metálico fenestrado e a outra acoplada a uma bomba de sucção artesanal e tubo coletor de vidro conforme descrito por Silva et al. (1994). Após serem colhidas as amostras eram acondicionadas em garrafas térmicas previamente aquecidas ($\pm 39^{\circ}\text{C}$).

A análise do fluido ruminal era realizada logo em seguida à coleta e abrangia a avaliação física da cor, odor, consistência, tempo de sedimentação e flotação (TSF). Dentre os aspectos bioquímicos foram averiguados o pH⁹, a redução do azul de metileno (RAM), o teor de cloretos (TC) e a acidez total titulável (ATT). Os protozoários foram avaliados quanto à densidade, motilidade e a proporção entre vivos e mortos, e a flora bacteriana em relação ao tipo predominante quando submetido à coloração de Gram, conforme descreve Dirksen (1993). A contagem de protozoários do fluido ruminal seguiu metodologia proposta por Dehority (1977).

⁹ Potenciômetro – Corning ph-30.

As amostras foram analisadas nos dois momentos experimentais, comparando-os entre si, empregando-se para as variáveis pH, TC e ATT, o método estatístico paramétrico "*t*" de *Student*. Para a análise das variáveis TSF, RAM, densidade, motilidade, porcentagem de infusórios vivos e contagem dos mesmos, foi empregado o método estatístico não paramétrico de Wilcoxon conforme preconiza (Curi, 1997), utilizando-se o programa de computador Statwin™ (SigmaStat).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos achados obtidos foram encontradas diferenças nas variáveis estudadas, como pode ser observado nos Quadros 1, 2 e 3 para os aspectos físicos, bioquímicos e microbiológicos.

No inverno a cor predominante foi a verde oliva em trinta e duas amostras (64%), seguida pela cor verde oliva escura em quinze amostras (30%) de coloração mais intensa lembrando a tonalidade do capim, e apenas três amostras (6%) tenderam ao castanho, sendo denominadas pela cor verde oliva acastanhadas. No verão a disponibilidade de forragem foi bastante comprometida pela estiagem e o maturamento excessivo, havendo predomínio das nuances castanhas em trinta e cinco amostras (70%) conforme a tonalidade da pastagem, a qual era praticamente toda em cor de palha, havendo ainda quatorze amostras (28%) de cor verde acastanhada e uma amostra amarelo palha (2%), estando de acordo com os achados de Souza (1990). A análise bromatológica das forragens ofertadas nos dois períodos experimentais está disposta nos Quadros 4 e 5.

O odor foi aromático em ambos os períodos experimentais, lembrando o tipo de alimentação ofertada, conforme descreve Dirksen (1993), mas a intensidade se mostrou mais forte no inverno, sendo uma mudança provavelmente relacionada à qualidade da pastagem, podendo também ser inerente à espécie, visto que Barbosa et al. (2003) analisando o fluído ruminal de bubalinos também encontraram odor mais pronunciado quando comparado ao odor do fluído ruminal em bovinos criados sob mesmo regime extensivo, mas não relacionaram os achados diretamente com a época do ano, pois estes autores analisaram o fluído ruminal apenas na estação chuvosa.

A consistência levemente viscosa predominou em ambas as estações. No inverno, foram encontradas quarenta e seis amostras (92%) levemente viscosas, três (6%) levemente aquosas e uma (2%) moderadamente viscosa; já no verão apesar ter havido trinta e duas amostras (64%) levemente viscosas, constituindo a maior proporção, foram encontradas dezesseis amostras (32%) levemente aquosas,

número consideravelmente alto quando comparado ao inverno, havendo ainda duas amostras (4%) de consistência aquosa, estando as diferenças encontradas provavelmente relacionadas com a quantidade da microbiota e qualidade da forragem que variaram bastante entre os períodos experimentais, e possivelmente também com a ingestão de água e proporção da saliva presente no conteúdo ruminal (Silva et al. 1994) que difere conforme a espécie, apresentando-se mais viscosa em ovinos devido ao alto teor de mucoproteína (Hungate 1966). Estes achados corroboram com os encontrados por Garry (2002). Entretanto, analisando a consistência do fluído ruminal de ovinos e ruminantes selvagens Jones et al. (2001) descreveram ser menos viscosa nos primeiros.

O processo fermentativo avaliado pelo tempo de sedimentação e flotação (TSF) foi bastante favorecido na estação chuvosa, obtendo-se valor médio de 6,73 minutos ($\pm 1,63$) para esta prova; já na estação seca, a baixa qualidade da pastagem comprometeu a fermentação de forma tal que poucas partículas flotaram e a sedimentação foi bem rápida com valor médio de 3,15 minutos ($\pm 0,72$), formando-se uma fina camada de partículas alimentares, existindo diferença significativa ($P < 0,05$). Tais achados mostram a importância da qualidade do substrato alimentar na atividade microbiana, estando os valores de inverno dentro do limite preconizado por Dirksen (1993) em bovinos e acima dos valores encontrados por Feitosa (1991) para ovinos nas mesmas condições climáticas e de manejo. Porém, no verão a sedimentação foi mais rápida do que o tempo encontrado pelos autores supracitados.

Os valores médios de pH no inverno e verão foram de $6,76 \pm 0,21$ e $6,59 \pm 0,14$, respectivamente, sendo estes achados semelhantes aos obtidos por Feitosa (1991), havendo diferença estatística significativa ($P < 0,05$) entre os períodos experimentais, mas que do ponto de vista biológico não têm interferência na rotina de avaliação clínica, estando dentro do limite estabelecido para bovinos por Dirksen (1993).

A atividade microbiana avaliada pela RAM foi intensa no inverno com um tempo médio de 3,20 minutos ($\pm 0,76$) quando comparada àquela do verão, onde o tempo médio foi de 7,76 minutos ($\pm 3,00$), havendo diferença estatística ($P < 0,05$), com uma redução do corante em tempo bem menor do que o citado por Dirksen (1993) para animais recebendo forragem. Entretanto foi semelhante ao tempo encontrado por Donato et al. (1999) em caprinos recebendo alimentação composta por 90% de capim-elefante e 10% de concentrado, o que provavelmente aconteceu

devido aos altos níveis protéicos e a baixa percentagem de fibra favorecendo o crescimento e atividade microbiana no inverno, conforme descreve Van Soest (1994). No verão, a baixa qualidade do pasto, maturação excessiva e o alto teor de fibras comprometeram de forma clara a atividade da microbiota ruminal que levou maior tempo para reduzir o azul de metileno, com os valores encontrados neste trabalho, acima dos observados por Feitosa (1991) e Silva et al. (1994) em ovinos e caprinos, respectivamente, sob mesmo manejo e dos constatados para bovinos por Garry (2002).

Os valores de cloreto encontrados no período chuvoso foram de 28,14mEq/L, estando acima dos registrados em bovinos por Dirksen (1993) que cita intervalo de valores médios entre 15-25mEq/L, refletindo provavelmente peculiaridades da espécie como o teor deste elemento na saliva, que de acordo com Garry (2002) apresenta valores semelhantes aos encontrados no fluido ruminal, como pôde ser confirmado por Silva et al. (1994) estudando caprinos. No período seco o teor de cloretos foi de 24,97mEq/L, sendo menor quando comparado ao período chuvoso, mas se manteve muito acima dos valores encontrados por Feitosa (1991), que foram de 16,71 e 19,25mEq/L para ovinos das raças Merino Australiano e Corriedale, respectivamente, obtidos nas mesmas condições de manejo; refletindo provavelmente diferenças no consumo de sal mineral entre as estações, fator este também destacado por Braga (2005).

O valor médio da ATT encontrado no período chuvoso foi de $21,90 \pm 4,38$ UC e no período seco foi de $13,68 \pm 2,97$ UC, estando ambos dentro do limite mostrado para bovinos por Dirksen (1993), mas contrastando com as médias obtidas por Feitosa (1991) nos períodos chuvoso ($29,82 \pm 5,67$ UC) e seco ($26,76 \pm 4,92$ UC) em trabalho com ovinos e os valores encontrados por Figueiredo et al (2000) analisando o fluido ruminal de caprinos, que foram de 30,4UC e 39,9UC nas respectivas épocas. Os resultados encontrados no presente trabalho foram menores em ambas às estações, refletindo provavelmente a menor qualidade do alimento disponível aos animais neste estudo.

A estimativa da quantidade de protozoários por campo microscópico mostrou densidade abundante no inverno (+++) quando comparada à moderada encontrada no verão (++) , mas com boa quantidade de protozoários em ambos os períodos experimentais, havendo diferença estatística significativa ($P < 0,05$) entre eles. Houve alta proporção de infusórios vivos em relação aos mortos, estando próxima de 90% e os mesmos apresentaram alta motilidade (+++), não havendo diferença estatística significativa ($P > 0,05$) entre os períodos

experimentais, estando os achados de acordo com os relatados por Dirksen (1993). A contagem de protozoários por mililitro de fluído ruminal foi bem maior no inverno ($425\ 373 \pm 217\ 258$), com números aproximadamente três vezes maiores do que no verão ($155\ 375 \pm 83\ 113$), havendo diferença estatística significativa ($P < 0,05$) entre as estações, provavelmente estes achados ocorreram por haver melhor disponibilidade de substrato no primeiro, fator essencial para o crescimento adequado da fauna ruminal como elucidada Hungate (1966).

O predomínio de bactérias Gram-negativas e a grande diversidade de formas encontrada em ambos os períodos experimentais corroboram com os relatos de Dirksen (1993) que descreve uma população de bactérias Gram-negativas predominando com grande diversidade de formas em animais recebendo volumoso. Houve maior densidade aparente das bactérias no inverno, com maior presença de pequenos cocos, bastonetes curtos e diversas cadeias de cocos Gram-negativos; já no grupo de bactérias Gram-positivas os tipos mais freqüentes foram os grandes cocos e diplococos.

CONCLUSÕES

A estação do ano influenciou de forma clara as variáveis analisadas no fluído ruminal visto que a disponibilidade de forragem em quantidade e qualidade no período chuvoso promoveu uma ótima atividade da microbiota ruminal, o contrário pôde ser observado no período seco onde a maturação excessiva e a baixa qualidade do pasto comprometeram o metabolismo intra-ruminal, provocando diferenças na maioria dos parâmetros estudados. Sendo importante dessa maneira, conhecer estas características para uma melhor avaliação do fluído ruminal nas diferentes épocas do ano e assim permitir um direcionamento adequado em relação ao melhor diagnóstico e tratamento dos diversos transtornos digestivos que acometem os ovinos.

REFERÊNCIAS

- Andriguetto J.M., Perly L., Minardi I., Gemael A., Flemming J.S., Souza G.A. & Filho A.B. 1999. Nutrição animal. 3. ed. São Paulo: Nobel, 425p.
- AOAC. Official methods of analysis. 15. ed. Association of Official Analytical Chemistries. Arlington, v. 1, 1990. 1117p.
- Bacila M. 2003. Bioquímica do rúmen, p.167-181. In Bacila M. (ed.) Bioquímica veterinária. 2.nd ed. Robe, São Paulo. 583p.

- Barbosa J.D., Ávila S.C., Dias, R.V.C., Pfeifer I.B. & Oliveira C.M.C. 2003. Estudo comparativo de algumas provas funcionais do fluido ruminal e de metabólitos sanguíneos de bovinos e bubalinos. *Pesq. Vet. Bras.* 23(1): 33-37.
- Braga D.B.O., Almeida C.T., Kohayagawa A., Braga M.M. & Berbari Neto F. 2005. Influência das estações de verão e inverno sobre os testes de digestão da celulose, sedimentação/flotação e conteúdo de cloretos em suco ruminal de bovinos. *A Hora Vet.* 25(145): 42-44.
- Costa N.A. 1992. Estudo clínico do suco de rúmen de bovinos normais em diferentes manejos de arraçoamento com palma forrageira (Palma-gigante, *Opuntia ficus indica*) Mill. Dissertação de Mestrado, UFRPE, Recife. 57f.
- Curi P.R. 1997. Metodologia e análise da pesquisa em ciências biológicas. Tipomic, Botucatu. 263 p.
- Dehority B.A. 1977. Classification and morphology of rumen protozoa. Department of Animal Science, Ohio, 82p.
- Dirksen G. 1993. Sistema digestivo, p.166-228. In: Dirksen G., Gründer H.D., Stöber M. (ed.) Rosenberger exame clínico dos bovinos. 3. ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 419p.
- Donato I. V., Soares P.C., Batista A.M.V., Silva E.P., Costa J.N., Marques C.T., Maya F.C.L. & Teixeira M.N. 1999. aspectos físico-químicos do fluído ruminal de caprinos recebendo dietas compostas de vagem de algarobeira (*Prosopis juliflora*) e capim elefante (*Penisetum purpureum*) em diferentes proporções. *Ciênc. Vet. Tróp.* 2(1): 01-06.
- Eads S. 1997. Physiology and pathophysiology of the rúmen. Proc 15th Acvim fórum. Lake Buena Vista: 443.
- Feitosa F.L.F. 1991. Avaliação do líquido ruminal em ovinos das raças Merino Australiano e Corriedale criados em regime extensivo de pastagem, no município de Botucatu-SP. Dissertação de Mestrado, UNESP, Botucatu. 88f.
- Figueiredo M.P., Quadros D.G. & Cruz J.F. 2000. Acidez total titulável, pH e tempo de redução do azul de metileno no fluído ruminal de caprinos mantidos em pastagens artificiais exclusivas de gramíneas ou em caatinga. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 37 (5). <http://www.scielo.br/scielo.php?script=arttext&pid=S1413-95962000000500012&In...>
- Garry F.B. 2002. Simple indigestion, p.722-747. In: Smith B.P. (ed.) Large animal internal medicine. 3rd ed. Mosby, St. Louis. 1735p.
- Hungate, R.E. 1966. The rumen and its microbes. Academic Press, New York. 533p.

- Jones R. J., Meyer J.H.F., Becas F. M., Stolz M.A., Palmer B. & Van der Merwe G. 2001. Comparison of rumen fluid from South African game species and from sheep to digest tanniferous browse. *Aust. J. Agric. Res.* 52: 453-460.
- Miranda Neto E. G., Afonso J.A.B., Mendonça C.L. & Almeida M.Z.P.R.B. 2005. Estudo clínico e características do suco ruminal de caprinos com acidose láctica induzida experimentalmente. *Pesq. Vet. Bras.* 25 (2): 73-78.
- Rings D.M. & Rings M.B. 1993. Rumen fluid analysis. *Agri. Pract.* 14(9): 26-9.
- Silva H.K., Vianna L.G. & Barbosa J.D. 1994. Provas funcionais do suco de rúmen de caprinos criados extensivamente na baixada fluminense. *Pesq. Vet. Bras.* 14(2/3): 65-68.
- Simplício A.A. & Wander A.E. 2003. Organização e gestão da unidade produtiva. *Anais V Congr. Pern. Med. Veterinária, Recife, PE.*
- Souza M.V. & Barcellos A.R. 1993. Avaliação do fluido ruminal de bovinos e ovinos criados em regime de pastagem. *Ciên. Rural.* 23(1): 31-36.
- Souza P.M. 1990. Conservação de suco de rúmen: avaliação das características microbiológicas e de determinadas provas funcionais. *Dissertação de Mestrado, UFRPE, Recife.* 87f.
- Van Soest J.P. 1994. *Nutritional ecology of the ruminant.* 2nd ed. Cornell University, New York. 476p.
- Van Soest J.P., Robertson J.B. & Lewi B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583-3597.

Quadro 1. Aspectos físicos do fluído ruminal de ovinos Santa Inês criados extensivamente em Pernambuco

Parâmetros do fluído ruminal	Inverno n (%)	Verão n (%)
Cor	verde oliva 32 (64%)	castanha 35 (70%)
	verde oliva escura 15 (30%)	verde acastanhada 14 (28%)
	verde oliva acastanhada 3 (6%)	amarela palha 1 (2%)
Consistência		
Moderadamente viscosa	1 (2%)	—
Levemente viscosa	46 ^a (92%)	32 ^b (64%)
Levemente aquosa	3 (6%)	16 (32%)
Aquosa	—	2 (4%)
Sedimentação e flotação (minuto)	6,73 ^a ± 1,63	3,15 ^b ± 0,72

Letras diferentes na mesma linha: P < 0,05

Quadro 2. Aspectos bioquímicos do fluído ruminal de ovinos Santa Inês criados extensivamente em Pernambuco

Parâmetros do Fluído Ruminal	Unidade	Inverno	Verão
pH	grau	6,76 ^a ± 0,21	6,59 ^b ± 0,14
Azul de metileno	minuto	3,20 ^b ± 0,76	7,76 ^a ± 3,00
Teor de cloretos	mEq/L	28,14 ^a ± 4,16	24,97 ^b ± 5,65
Acidez total titulável	UC	21,90 ^a ± 4,38	13,68 ^b ± 2,97

Letras diferentes na mesma linha: P < 0,05

Quadro 3. Aspectos microbiológicos do fluído ruminal de ovinos Santa Inês criados extensivamente no Agreste Meridional de Pernambuco

Parâmetros do Fluído Ruminal	Unidade	Inverno	Verão
Protozoários			
Densidade	+	+++ ^a	++ ^b
Motilidade	+	+++ ^a	+++ ^a
Vivos	%	~ 90 ^a	~ 90 ^a
Protozoários Totais	n°/mL	425 373 ^a ± 217 258	155 375 ^b ± 83 113
Bactérias Predominantes		Gram-negativas	Gram-negativas

Letras diferentes na mesma linha: P < 0,05

Letras iguais na mesma linha: P > 0,05

Quadro 4. Análise Bromatológica do capim-braquiária no inverno e verão

Parâmetro	MS (%)	PB (%)	FDN (%)	FDA (%)	EE (%)	MM (%)
Inverno	12,25	11,06	71,26	39,62	5,76	7,23
Verão	96,75	4,97	69,91	38,66	1,33	9,71

Quadro 5. Análise Bromatológica do capim-elefante no inverno e verão

Parâmetro	MS (%)	PB (%)	FDN (%)	FDA (%)	EE (%)	MM (%)
Inverno	13,41	10,68	68,88	44,13	4,71	13,00
Verão	96,73	5,43	68,16	39,45	2,19	14,06