

Efeitos da fonte de enxofre sobre a população de protozoários e degradabilidade no rúmen

[*Effects of sulfur source on protozoa population and ruminal degradability*]

A. Saran Netto¹, M.A. Zanetti², F.A. Paiva¹, M.S.V. Salles¹, G.R. Del Claro¹,
L.C. Lopes¹, J.C.M. Nogueira Filho¹

¹Aluno de pós-graduação - FZEA-USP – Pirassununga, SP

²Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - USP
Av. Duque de Caxias Norte, 225
13635-9000 – Pirassununga, SP

RESUMO

Estudaram-se os efeitos de fontes de enxofre na dieta sobre os parâmetros ruminais de bovinos Nelore, utilizando-se oito novilhos canulados no rúmen e submetidos a quatro tratamentos, segundo a fonte de enxofre. Os animais do grupo-controle não receberam suplementação de enxofre. Os dos outros três grupos receberam flor de enxofre ou metionina ou carboquelatado, como suplementação. Os animais foram arraçoados com dieta total, utilizando cana-de-açúcar picada como volumoso. O período experimental foi de 76 dias, dividido em quatro subperíodos de 19 dias, dos quais 14 eram para adaptação à dieta e cinco para as colheitas. Não foram encontradas diferenças entre as fontes de enxofre na degradabilidade da matéria seca, proteína bruta e fibras em detergente ácido e neutro e no pH ruminal. O tratamento com carboquelatado resultou em maior número de protozoários ciliados e o tratamento metionina em menor contagem. O carboquelatado pode ser uma boa alternativa para a suplementação de enxofre para bovinos em confinamento.

Palavras-chave: bovino de corte, enxofre, confinamento, degradabilidade ruminal, fauna ruminal

ABSTRACT

This research was carried out at FZEA/USP to compare the effects of different sulphur sources in diets of Nelore cattle on ruminal parameters. Eight steers were rumen cannulated and submitted to four treatments, using the following sulphur sources: control (no supplement), elemental sulphur, methionine, and carbochelated. Animals were fed a total ration using sugarcane as the roughage. The proportion roughage:concentrate was 40:60. The experimental period lasted 76 days, divided in four 19-days sub-periods. The first 14 days of each sub-period were used to adapt the animals to the diet and the last five days to collect the samples. During the sample period, ruminal liquid was sampled to protozoa count and pH determination. Also, nylon bags were incubated in rumen to determinate the degradability of dietary dry matter, crude protein, and acid and neutral detergent fiber. Treatments did not affect dietary dry matter, crude protein, acid and neutral detergent fiber degradability, and the ruminal pH. However, carbochelated provided the higher total amount of ciliate protozoa and methionine provided the lowest values. Carbochelated can be a good alternative to supplement sulphur to bovines in a feedlot.

Keywords: feedlot, minerals, nutrition, ruminal degradability, sulphur

INTRODUÇÃO

Dentre os avanços científicos e tecnológicos realizados, há a descoberta do fundamental papel dos minerais na alimentação animal, uma vez que a ocorrência de várias patologias provenientes da desnutrição tem sua origem nas

deficiências minerais. Além disso, muitas fontes minerais convencionalmente utilizadas na suplementação animal têm baixa absorção pelo organismo e boa parte torna-se indisponível quando misturada à ração ou durante o processo de digestão e absorção, levando à deficiência mineral.

Recebido em 12 de setembro de 2008

Aceito em 25 de maio de 2009

E.mail: saranetto@yahoo.com

Efeitos da fonte de enxofre...

Os elementos minerais têm sido fornecidos para os animais na forma de sais inorgânicos, porém, nos últimos anos, tem se considerado o uso de fontes orgânicas para suplementação mineral de ruminantes. Segundo Salvador et al. (2008), o efeito de curto prazo da substituição de fontes inorgânicas por fontes orgânicas requer avaliação.

Vidal et al. (2007), em experimento desenvolvido com diferentes níveis de suplementação com enxofre, apenas na forma de sulfato de amônio, em bovinos de corte, não encontraram diferença significativa entre os tratamentos para microrganismos ruminais. Spears et al. (1985) e Buttrey et al. (1986) mostraram que a fertilização do solo com sulfato de amônia melhora a digestibilidade da fibra em detergente ácido e da fibra em detergente neutro das forragens cultivadas nesses solos e fornecidas aos ruminantes. Os microrganismos do rúmen podem incorporar o enxofre inorgânico em compostos orgânicos, e esta incorporação do sulfato inorgânico produzindo aminoácidos sulfurados é uma importante função desses microrganismos (Burk e Hill, 1994).

Em estudo com digestão de celulose *in vitro*, Spears et al. (1977) relataram que, em bovinos alimentados com dietas que continham baixas concentrações de enxofre, a digestão da celulose foi inferior a 1,6%, enquanto nos animais alimentados com a quantidade adequada, a digestibilidade foi de 33,5%. Buttrey et al. (1986) verificaram que a fertilização do milho com 67kg/ha de enxofre resultou no aumento da digestibilidade da parede celular e aumentou a absorção aparente de nitrogênio na silagem quando fornecida para novilhos.

O'Dell (1984) enfatizou a importância de estudos da utilização de nutrientes dentro do processo metabólico normal do animal. Daí tem-se tentado desenvolver compostos orgânicos semelhantes àquelas moléculas transportadoras de minerais no organismo animal, de maneira a garantir sua eficiência visando evitar as deficiências.

Assim, o objetivo do trabalho foi estudar o efeito da fonte inorgânica mais utilizada para suplementar enxofre (flor de enxofre) e de fontes orgânicas (metionina e carboquelatado),

sobre o pH do líquido ruminal, o número e as espécies de protozoários e sobre a degradabilidade da matéria seca, da proteína bruta, da fibra em detergente ácido e da fibra em detergente neutro das dietas.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado por um período de 76 dias. Foram utilizados oito novilhos da raça Nelore, com cânulas ruminais, com peso médio de 380±22kg e idade de 24 meses, os quais permaneceram em baias com piso cimentado, sendo a contenção feita por cabresto e correntes, com bebedouros automáticos e cochos de alvenaria.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente nos tratamentos segundo a fonte de enxofre. Os do grupo-controle não foram suplementados com enxofre, os outros três tratamentos receberam flor de enxofre ou metionina ou carboquelatado, como suplementação de enxofre. Os animais foram arraçoados com dieta total, utilizando cana-de-açúcar picada como volumoso, sendo a proporção volumoso:concentrado de 40:60, baseada na matéria seca, conforme apresentado na Tab. 1.

Foram realizadas as seguintes determinações nas rações (Tab. 2): matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido, matéria mineral, cálcio, fósforo, potássio e enxofre segundo AOAC (Official..., 1996). O enxofre foi determinado por turbidimetria em sistema *flow injection analysis* e o cobre por espectrofotometria de absorção atômica.

Tabela 1. Composição percentual da dieta em porcentagem da matéria seca usada na alimentação de novilhos Nelore

Ingrediente	% MS
Milho moído	17,55
Polpa cítrica	27,00
Ureia	1,00
Cana-de-açúcar	40,00
Farelo de algodão 38%	13,45
Rumensin®	0,027
Minerais	1,00
Total	100,00

Tabela 2. Proporção de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), matéria mineral (MM), cálcio (Ca), fósforo (P), potássio (K), cobre (Cu) e enxofre (S) nas rações fornecidas a novilhos da raça Nelore de acordo com os tratamentos (fonte de enxofre)

Nutriente	Controle	Flor de enxofre	Metionina	Carboquelatado
MS (%)	47,80	47,53	48,01	47,19
PB (%)	13,28	13,79	13,85	13,47
FB (%)	27,62	28,47	26,94	27,51
EE (%)	1,75	1,98	1,45	1,67
MM (%)	3,24	3,91	4,16	4,11
FDA (%)	23,63	23,14	24,05	23,81
FDN (%)	56,85	55,33	54,98	56,92
S (%)	0,09	0,23	0,28	0,21
Ca (%)	0,92	0,90	0,97	0,93
P (%)	0,41	0,38	0,37	0,44
K (%)	0,90	0,87	0,92	0,91
Cu (mg/kg)	6,02	11,53	10,94	11,71

O período experimental foi dividido em quatro subperíodos de 19 dias, dos quais 14 eram de adaptação às dietas e cinco para o ensaio de degradabilidade ruminal, quando era colhido líquido ruminal para contagem de protozoários e determinação do pH ruminal. Também foram incubados saquinhos de náilon para determinação da degradabilidade de matéria seca, proteína bruta, fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido.

A degradabilidade ruminal *in situ* foi realizada utilizando técnica segundo Orskov e McDonald (1979), com sacos de náilon da marca Ankon, medindo 7x14cm e com poros de 50 micrômetros. Aos sacos de náilon, pesados, foram adicionadas amostras da dieta total com aproximadamente 5 e 6g (0,05g e 0,06g de amostra por cm² do saco de náilon), previamente secas a 65°C por 48 horas e moídas em moinho com peneira de 2mm. Os sacos atados a mosquetões de aço foram fechados com elásticos de látex.

Os períodos de incubação foram de 0; 1,5; 3; 6; 12; 24 e 48 horas para determinação da degradabilidade da matéria seca e da proteína bruta, e de 0; 6; 12; 24; 48; 72 e 96 horas para determinação da degradabilidade da fibra em detergente ácido e da fibra em detergente neutro. No tempo zero, ou seja, antes da alimentação, os

sacos de náilon foram mergulhados em água aquecida a 39°C, por 15 minutos, conforme técnica descrita por Cummins et al. (1983). Após a retirada dos sacos de náilon do rúmen, estes foram lavados em água corrente, até que a água se apresentasse clara. Então, foram secos em estufa a 65°C por 48 horas. Após a secagem, os sacos foram pesados, e as amostras foram identificadas e armazenadas para posterior determinação de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra em detergente ácido (FDA) e fibra em detergente neutro (FDN). A degradabilidade ruminal foi ajustada segundo o modelo de Orskov e MacDonald (1979). O líquido ruminal foi colhido em kitassato, com o uso de bomba de vácuo, para determinação do pH e análise de protozoários. A determinação do pH do líquido ruminal foi feita logo após a colheita, por meio de peagâmetro de mesa, calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e pH 7,0.

Uma alíquota de 10mL de líquido ruminal foi transferida para frascos de vidro com 10ml de formaldeído a 37%. As amostras permaneceram em repouso na temperatura ambiente até o momento das análises, que foram realizadas conforme metodologia de Dehority (1977), para determinação de protozoários ciliados, utilizando câmara de contagem de Sedgwick-Rafter, com capacidade de 1mL Utilizou-se

microscópio ótico comum, provido de retículo com área de 0,4362mm².

O delineamento estatístico foi em quadrado latino 4 x 4, totalizando oito animais por tratamento. Os dados foram analisados pelo pacote estatístico SAS/1988, analisando as variáveis por meio de contrastes pelo PROC GLM, para o estudo da relação entre as fontes. Para contagem de protozoários, foi utilizado o

teste de Tukey com nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As Fig. 1, 2, 3 e 4 apresentam, respectivamente, a degradabilidade da matéria seca, da proteína bruta, da fibra em detergente ácido e da fibra em detergente neutro das rações experimentais com diferentes fontes de enxofre, em diferentes tempos de colheita dos saquinhos de náilon.

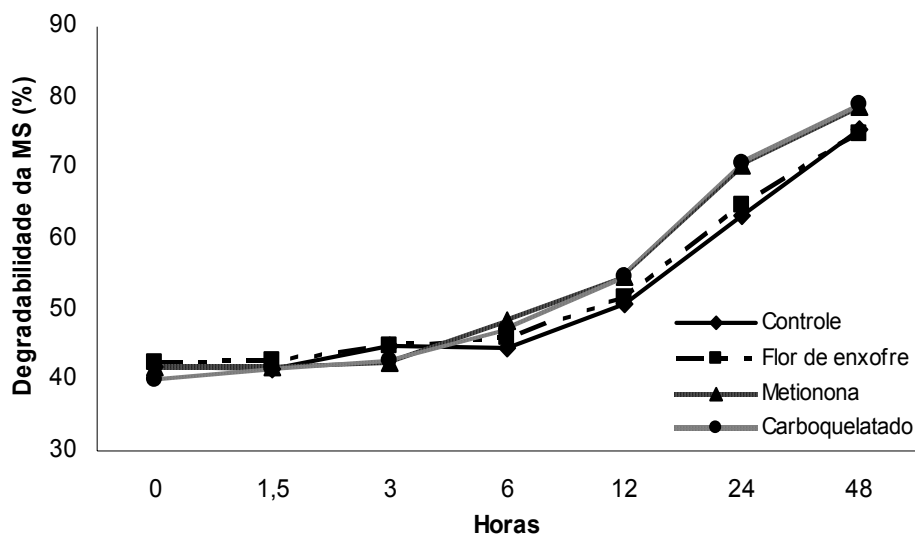


Figura 1. Degradabilidade da matéria seca (MS) de rações experimentais contendo diferentes fontes de enxofre em bovinos, em função do tempo de incubação no rúmen.

Não houve diferença significativa ($P>0,05$) na degradabilidade da MS (Fig. 1) em função das diferentes fontes de enxofre. Silva et al. (2002) verificaram que os principais fatores relacionados com a degradabilidade ruminal são características inerentes ao alimento, ao nível de ingestão, às formas de processamento e ao estado sanitário do animal. Como esses fatores não diferiram entre os tratamentos, pode-se afirmar que somente a alteração da fonte de enxofre não foi suficiente para melhorar a degradabilidade ruminal da matéria seca. Pela curva de degradabilidade, verifica-se aumento até 48 horas, chegando a 78%, valor próximo ao obtido por Valinote (2003), que foi de 74% também utilizando cana-de-açúcar como volumoso.

Não houve diferenças significativas na degradabilidade da PB (Fig. 2) das rações contendo diferentes fontes de enxofre ($P>0,05$). Os valores obtidos para degradabilidade da proteína (80% às 48 horas de incubação) foram superiores aos obtidos por Valinote (2003), que foi de 73%, embora ambos tenham utilizado cana-de-açúcar como volumoso. De acordo com Henry e Ammerman (1995), a suplementação com enxofre aumenta a população de microrganismos no rúmen, que proporciona efeito direto na degradabilidade. Verificou-se que a suplementação com enxofre na forma carboquelatado aumentou significativamente a quantidade de protozoários ciliados (Tab. 3), contribuindo para a credibilidade da informação que correlaciona diretamente o aumento de protozoários com a degradabilidade da proteína bruta.

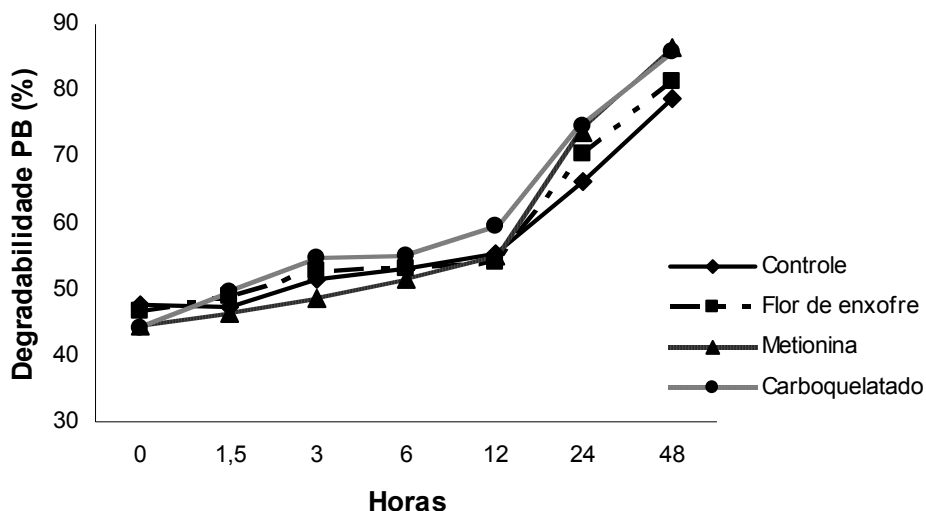


Figura 2. Degradabilidade da proteína bruta (PB) de rações experimentais contendo diferentes fontes de enxofre em bovinos, em função do tempo de incubação no rúmen.

Soares et al. (2008) encontraram correlação positiva entre disponibilidade de energia no rúmen e quantidade de protozoários e verificaram também que dietas com déficit energético podem prejudicar a fermentação ruminal e, conseqüentemente, o desempenho produtivo dos animais.

Para a degradabilidade da FDA (Fig. 3) e da FDN (Fig. 4), não houve diferença ($P>0,05$) entre tratamentos. De acordo com Carmo et al. (2001), vários fatores podem afetar a degradação da fração fibrosa dos alimentos utilizados na alimentação de ruminantes. Os fatores químicos também são discutidos por Hoover (1986), relatando que o decréscimo no pH ruminal parece ser o principal impacto para redução na degradação da fibra. Uma depressão no pH ruminal para aproximadamente 6,0 causa uma pequena redução na degradação da fibra, entretanto, quando o pH cai para valores inferiores a 5,5, o crescimento dos microrganismos celulolíticos e a digestão da fibra podem ser completamente inibidos.

Guardiola et al. (1983); Patterson e Kung (1988) verificaram que a digestão da celulose aumenta com a suplementação com enxofre, mas não encontraram diferença significativa entre fontes. Em outras palavras, a ausência ou deficiência de enxofre influencia negativamente no

metabolismo ruminal, prejudicando a degradabilidade da fibra e, conseqüentemente, a produtividade animal.

A contagem e a identificação dos protozoários encontrados, gêneros *Entodinium*, *Diplodinium*, *Epidinium*, *Isotricha*, *Dasytricha*, *Ostrachodinium* e *Eudiplodinium*, são apresentadas na Tab. 3, juntamente com os valores de pH no líquido ruminal.

O tratamento com carboquelatado resultou em maior número de protozoários totais ($P<0,05$), sendo que a metionina proporcionou o menor número. Este resultado tem relevância para justificar a tendência do carboquelatado em aumentar a degradabilidade da fibra quando os animais foram suplementados com esta fonte.

Não foram encontradas diferenças significativas entre as fontes de enxofre ($P>0,05$) quanto ao pH ruminal, no entanto, os valores médios obtidos estão próximos a sete, o que propicia um ambiente adequado para ação dos microrganismos ruminantes. Os valores próximos a sete são justificáveis devido à proporção de volumoso utilizada, o que estimula uma maior ruminação e, conseqüentemente, salivação, conferindo aumento no pH, como citaram Chalupa et al. (1986).

Efeitos da fonte de enxofre...

A predominância do gênero *Entodinium* está de acordo com as observações de outros autores, entre eles Martinele et al. (2008), que investigaram a população de protozoários de bovinos em diferentes situações alimentares, por exemplo, em dietas ricas em cana-de-açúcar. O mesmo foi observado por (Franzolin e Franzolin, 2000).

As alterações positivas ou negativas nas contagens de alguns gêneros de protozoários podem ser atribuídas à utilização de diferentes fontes de enxofre na dieta. Variações na quantidade e no gênero de protozoários também foram verificadas por Valinote et al. (2005) e Martinele et al. (2008), que sempre atribuíram os resultados à alteração de algum componente da dieta.

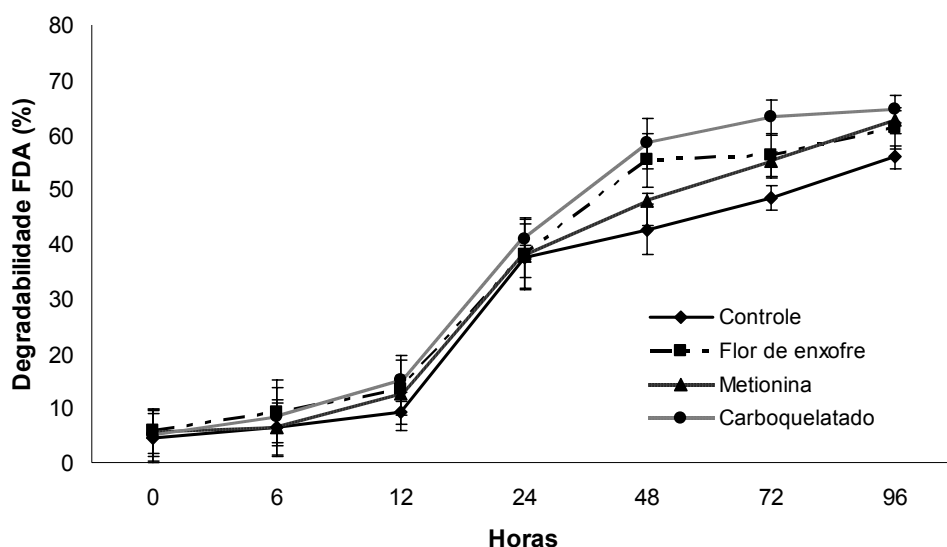


Figura 3. Degradabilidade da fibra em detergente ácido (FDA) de rações experimentais contendo diferentes fontes de enxofre em bovinos, em função do tempo de incubação no rúmen.

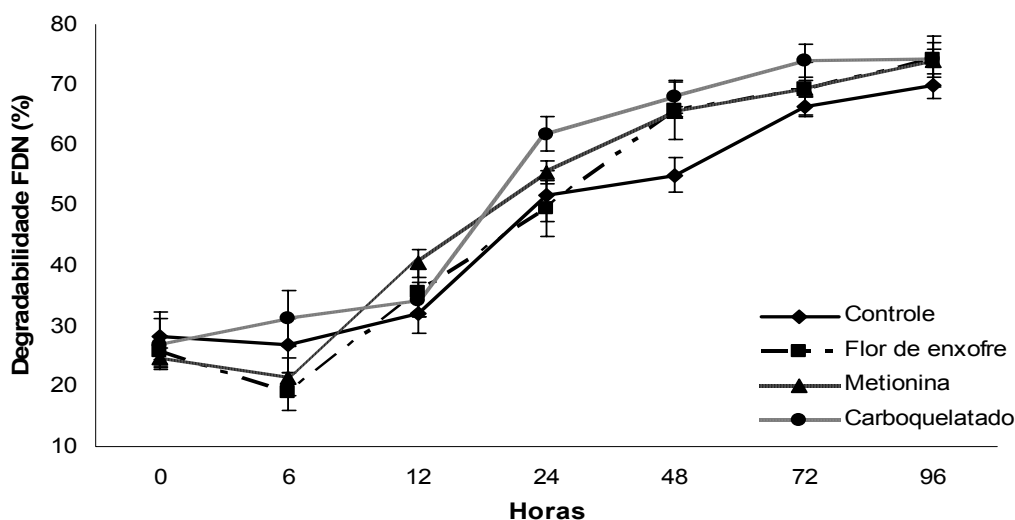


Figura 4. Degradabilidade da fibra em detergente neutro (FDN) de rações experimentais contendo diferentes fontes de enxofre em bovinos, em função do tempo de incubação no rúmen.

Tabela 3. Quantidade de protozoários ciliados por mL de líquido ruminal, em função da suplementação com diferentes fontes de enxofre para bovinos em regime de confinamento

Protozoários ciliados 10 ⁴ /mL	Controle	Flor de enxofre	Metionina	Carboquelatado
pH	7,17	7,05	7,19	7,22
<i>Entodinium</i>	18,58a	8,17b	10,86b	27,00c
<i>Diplodinium</i>	2,05a	5,41b	2,19a	4,4b
<i>Epidinium</i>	6,73a	17,68b	3,42c	10,16d
<i>Isotricha</i>	3,59a	4,36a	3,96a	4,00a
<i>Dasytricha</i>	6,00a	0,61b	1,87b	5,37a
<i>Ostrachodinium</i>	0,54a	0a	0a	0a
<i>Eudiplodinium</i>	0,55a	0,79a	0,78a	0,52a
Total	38,06b	37,02b	23,17c	51,47a

Médias com letras distintas na mesma linha diferem pelo teste Tukey (P<0,05).

Hu et al. (2006) verificaram que o pH e o substrato possuem efeito sobre a concentração de ácidos graxos voláteis e a proliferação de microrganismos no rúmen, sendo os melhores resultados obtidos com valores de pH entre 6,9 e 7,5. Barnes e Keller (2003) também descreveram a importância do substrato volumoso em valores mínimos próximo a 20% para evitar problemas relacionados à acidose metabólica, que, além de prejudicar o desempenho dos animais, inviabiliza a produção de ruminantes.

CONCLUSÕES

O enxofre carboquelatado, ao aumentar a quantidade total de protozoários ciliados, melhorou o fluxo de proteína microbiana para o abomaso e intestino delgado. O enxofre como constituinte de aminoácidos sulfurados talvez expresse melhor os resultados em animais na fase de crescimento, uma vez que, para essa fase são maiores as exigências em aminoácidos e proteínas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARNES, S.P.; KELLER, J. Cellulosic waste degradation by rumen-enhanced acidogenesis. *Feed. Sci. Technol.*, v.48, p.155-162, 2003.
- BURK, R.F.; HILL, K.E. Selenoprotein P.A selenium-rich extracellular glycoprotein. *J. Nutr.*, v.124, p.1891-1897, 1994.
- BUTTREY, S.A.; ALLEN, V.G.; FONTENOT, J.P. et al. Effect of sulfur fertilization on chemical composition, ensiling characteristics and utilization of corn silage by lambs. *J. Anim. Sci.*, v.63, p.1236-45, 1986.
- CARMO, C.A.; BERCHIELLI, T.T.; ANDRADE, P. et al. Degradabilidade da matéria seca e fibra em detergente neutro da cana de açúcar com diferentes fontes de proteína. *Rev. Bras. Zootec.*, v.30, p.2126-2133, 2001.
- CHALUPA, W.; RICKABAUGH, B.; KRONFELD, D.S. et al. Ruminant fermentation in vivo as influenced by long chain fatty acids. *J. Dairy. Sci.*, v.69, p.1293-1301, 1988.
- CUMMINS, K.A.; NOCEK, J.E.; POLAN, C.E. et al. Nitrogen degradability and microbial protein synthesis in calves fed diets of varying degradability by the bag technique. *J. Dairy. Sci.*, v.66, p.2356-2364, 1983.
- DEHORITY, B.A. *Classification and morphology of rumen protozoa*. Wooster: Ohio Agricultural Research and Development Center, 1977. 82p.
- FRANZOLIN, R.; FRANZOLIN, M.H. População de protozoários ciliados e degradabilidade ruminal em búfalos e bovinos zebuínos sob dieta à base de cana-de-açúcar. *Rev. Bras. Zootec.*, v.29, p.1853-1861, 2000.
- GUARDIOLA, C.M.; FAHEY, G.C.; SPEARS, J.W. et al. The effects of sulphur supplementation on cellulose digestion in vitro and on nutrient digestion, nitrogen metabolism and rumen characteristics of lambs fed on good quality fescue and tropical star grass hays. *Anim. Feed. Sci. Technol.*, v.8, p.129-136, 1983.
- HENRY, P.R.; AMMERMAN, C.B. Sulfur bioavailability. In: AMMERMAN, C.B.; BAKER, D.H.; LEWIS, A.J. *Bioavailability of nutrients for animals*. New York: Academic Press, 1995. p.349-366.

- HOOVER, W.H. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. *J. Dairy Sci.*, v.69, p.2755-2766, 1986.
- HU, Z.H.; YU, H.Q.; ZHENG, J.C. Application of response surface methodology for optimization of acidogenesis of cattail by rumen cultures. *Biores. Technol.*, v.97, p.2103-2109, 2006.
- MARTINELE, I.; EIFERT, E.C.; LANA, R.P. et al. Efeito da monensina e do óleo de soja sobre os protozoários ciliados do rúmen e correlação dos protozoários com parâmetros da fermentação ruminal e digestivos. *Rev. Bras. Zootec.*, v.37, p.1129-1136, 2008.
- O'DELL, B.L. Bioavailability of trace elements. *Nutr. Rev.*, v.42, p.301-308, 1984.
- ORSKOV, E.R.; McDONALD, I. The stimulation of protein degradability in the rumen from incubation measurement weighted according to rate of passage. *J. Agr. Sci.*, v.92, p.499-503, 1979.
- OFFICIAL methods of analysis. 11.ed. Washington: AOAC, 1996. 1051p.
- PATTERSON, J.A.; KUNG J. Metabolism of DL-methionine and methionine analogs by rumen microorganisms. *J. Dairy Sci.*, v.71, p.3292-3299, 1988.
- SALVADOR, S.C.; PEREIRA, M.N.; SANTOS, J.F. et al. Resposta de vacas leiteiras à substituição total de milho por polpa cítrica e à suplementação com microminerais orgânicos I: Consumo e digestão. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.60, p.682-690, 2008.
- SILVA, L.D.F.; RAMOS, B.M.O.; RIBEIRO, E.L.A. et al. Degradabilidade ruminal *in situ* da matéria seca e proteína bruta de duas variedades de grão de soja com diferentes teores de inibidor de tripsina, em bovinos. *Rev. Bras. Zootec.*, v.31, p.950-958, 2002.
- SOARES, P.C.; MARTINELE, M.D.; MARUTA, C.A. et al. Effect of an energy-deficient diet on populations of ciliate protozoans in bovine rumen. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.60, p.148-155, 2008.
- SPEARS, J.W.; BUSH, L.P.; ELY, D.G. Influence of nitrate and molybdenum on sulfur utilization by rumen microorganisms. *J. Dairy Sci.*, v.60, p.1889-1896, 1977.
- SPEARS, J.W.; BURNS, J.C.; HATCH, P.A. Sulfur fertilization of cool season grasses and effect on utilization of minerals, nitrogen, and fiber by steers. *J. Dairy Sci.*, v.68, p.347-355, 1985.
- VALINOTE, A.C. *Utilização de gordura e monensina sobre fermentação e cinética ruminal e protozoários ciliados de novilhos da raça Nelore*. 2003. 95f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP.
- VALINOTE, A.C.; NOGUEIRA FILHO, J.C.M.; LEME, P.R. et al. Fontes de lipídios e monensina na alimentação de novilhos nelore e sua relação com a população de protozoários ciliados do rúmen. *Rev. Bras. Zootec.*, v.34, p.1418-1423, 2005.
- VIDAL, J.M.; PAIVA, P.C.A.; ARCURI, P.B. et al. Efeito de diferentes doses de enxofre no consumo voluntário e nas populações de protozoários do rúmen de novilhas mestiças alimentadas com capim-efefante de baixa qualidade. *Cienc. Agrotec.*, v.31, p.218-222, 2007.