

AVALIAÇÃO DO FLUIDO RUMENAL DE BOVINOS E OVINOS CRIADOS EM REGIME DE PASTAGEM

EVALUATION OF RUMINAL FLUID OF CATTLE AND SHEEP RAISED UNDER RANCH CONDITIONS

Maria Verônica de Souza* Aldonir Rosseto Barcellos**

RESUMO

Este trabalho foi realizado com a finalidade de se determinar os valores de referência para as provas de função rumenal em bovinos e ovinos em pastagem. Foram utilizados 5 bovinos e 5 ovinos, clinicamente saudáveis, mestiços, adultos, criados em regime extensivo de pastagem. O líquido rumenal foi colhido através de uma sonda esofágica adaptada a uma bomba de sucção. Os parâmetros avaliados (cor, odor, consistência, pH, redução de metileno, motilidade, densidade e contagem dos protozoários, assim como o tipo de bactéria) foram considerados normais, estando de acordo com a literatura.

Palavras-chave: bovinos, ovinos, rúmen, fluido rumenal, ruminantes.

SUMMARY

This investigation was carried out to determine the reference value of the ruminal function in five cattle and five sheep. Cross-bred healthy adult field animals were used. The ruminal fluid was obtained with the aid of an esophageal tube attached to a suction pump. The parameters evaluated such as color, smell, consistency, pH, methylene blue reduction, protozoal and bacterial contents and activity were considered normal according to the literature.

Key words: cattle, sheep, rumen, ruminal fluid, ruminants.

INTRODUÇÃO

Os ruminantes mantêm condições favoráveis para o crescimento microbiano, utilizando os produtos re-

sultantes da fermentação a partir desses microrganismos (KAY, 1983), os quais são fundamentais no processo de digestão dos poligástricos (FRANZOLIN NETO et al, 1990). No interior dos pré-estômagos os alimentos são degradados e transformados bioquimicamente pela ação de bactérias e protozoários, mas para que isso ocorra é necessário que se tenha condições adequadas de umidade, anaerobiose, pH e temperatura, a qual deverá se manter entre 37 e 42°C (CHURCH, 1974; CAMPOS NETO et al, 1978; BACILA, 1980). Há evidência marcante, embora não conclusiva, de que o rúmen pode ter um sistema parcialmente aeróbico (CZERKAWSKI, 1972).

As provas e função rumenal possibilitam o conhecimento das atividades bioquímicas e microbianas normais e patológicas dos estômagos, sendo assim de grande auxílio no diagnóstico dos distúrbios gástricos (ROSENBERGER, 1963; DIRKSEN, 1981), como também auxilia a estabelecer a terapêutica e profilaxia adequadas.

A amostra de fluido rumenal é mais facilmente obtida através da passagem de uma sonda esofágica (LEEK, 1983) podendo-se adaptar um cilindro metálico no final da sonda (HYLTON & HOLTER, 1987). Outras técnicas podem ser utilizadas (BONHOMME & DURAND, 1974; NARAYANA et al, 1974; DEMEYER & VANNEVEL, 1979; MOSELEY & JONES, 1979; EVANS et al, 1982).

As provas laboratoriais para avaliar o processo de digestão dos ruminantes podem ser divididas em físicas, químicas e microbiológicas.

O odor, que varia com o conteúdo rumenal, em geral é aromático (ROSENBERGER, 1963; ALONSO, 1979), e deverá lembrar os componentes da alimentação (BAUMGARTNER, 1983).

A cor varia com a natureza do alimento ingerido (ROSENBERGER, 1963) e com o tempo após a alimentação ou estágio de digestão. Pode-se encontrar tons verdes, cinzas e marrons (BAUMGARTNER, 1983). Tonalidades verde escuro podem ser observadas em avançado estágio de fermentação. Quando há fermenta-

* Médico Veterinário, Professor Auxiliar do Departamento de Veterinária, área de Clínica de Grandes Animais da Universidade Federal de Viçosa. 36570-000 - Viçosa, MG.

** Médico Veterinário, Professor Adjunto do Departamento de Clínica de Grandes Animais da Universidade Federal de Santa Maria. 97119-900 - Santa Maria, RS.

ção insuficiente, a cor cinza pode ser encontrada (ALONSO, 1979). A coloração verde puro é encontrada em gado de pastagem (ROSENBERGER, 1963).

A consistência deverá ser levemente viscosa (ROSENBERGER, 1963; BAUMBARTNER, 1983), estando de acordo com a existência de numerosos microrganismos e pequenas partículas alimentares (BAUMGARTNER, 1983). Consistência mais aquosa poderá ser observada após período de jejum (LEEK, 1983), ou ser decorrente de inatividade da flora (ROSENBERGER, 1963). A contaminação da amostra com saliva poderá levar a uma viscosidade mais marcante, e com isso mascarar o exame (BAUMGARTNER, 1983).

A determinação do pH deverá ser realizada imediatamente após a colheita do líquido rumenal, pois este poderá se elevar, à medida que o CO_2 for liberado, o que pode ser evitado ao se colocar uma fina camada de óleo mineral (HYLTON & HOLTER, 1987). Por outro lado há relato de que o pH do suco rumenal pode ser determinado até 7 horas após sua colheita, sem que haja necessidade de medidas especiais de conservação (ORTOLANI et al, 1980). O congelamento da amostra pode manter um pH estável por 10 dias (SOUZA et al, 1990).

O pH depende em parte da dieta, sendo de grande importância na avaliação da atividade rumenal, pois é um indicador bastante sensível de anormalidade (ALONSO, 1979). A sua mensuração pelo uso do papel indicador, tem sido recomendada com a finalidade de diagnóstico clínico (ORTOLANI, 1980).

A saliva, que é rica em NaHCO_3 , tem como principal função o tamponamento da acidez, decorrente do processo de fermentação (BACILA, 1980), desse modo há tendência do pH estar entre 6,5-6,8 quando associado a uma dieta com bastante fibra (GILCHRIST & SCHWARTZ, 1972; OLIVEIRA, 1991). Quando o suco rumenal é obtido através de sonda, há contaminação com certa quantidade de saliva, podendo o pH da amostra se elevar em aproximadamente 0,2 unidades. Porém se a quantidade de saliva for maior, o pH poderá elevar em até 1 unidade (DIRKSEN, 1981).

Os alimentos grosseiros levam ao aumento do pH logo após a sua ingestão, posteriormente ocorre uma diminuição até 3 horas, quando então volta gradativamente a aumentar (ROSENBERGER, 1981). Para alguns autores pode se encontrar uma maior variação, tal como 5,5-7,0 (DIRKSEN, 1981) ou mesmo de 5,9-7,5 (HOFIREK, 1970; VASHISHTA, 1976; ORTOLANI et al, 1980; LEEK, 1983), sendo observados valores menores quando a alimentação se baseia principalmente em concentrado ou pastagem verde (HOBSON, 1972; LEEK, 1983).

Em pH de 6,5 existem uma grande quantidade de protozoários ciliados e bactérias, enquanto que valores mais baixos são inadequados para a sobrevivência desses protozoários, os quais tendem a desaparecer

(GILCHRIST & SCHWARTZ, 1972; KAY, 1983).

De um modo geral, dietas fibrosas levam a um pH de 6,2-6,7 (KISTNER et al, 1979), podendo ser um pouco mais elevado, quando se tem uma maior quantidade de saliva (ROSENBERGER, 1983).

Qualquer distúrbio significativo na homeostase rumenal diminui o número de protozoários, o que pode ser evidente ao se examinar microscopicamente o fluido rumenal (HYLTON & HOLTER, 1987).

Em média são necessárias duas semanas para que uma população microbiana correspondente a um tipo de alimento se adapte completamente a um novo substrato (LEEK 1983), por esse motivo a mudança deverá ser realizada de maneira paulatina (DIRKSEN, 1981). Muitas vezes são necessárias até 6 semanas para que uma flora rumenal se ajuste a uma nova dieta (GILCHRIST & SCHWARTZ, 1972).

A atividade dos protozoários deverá ser avaliada logo após a colheita da amostra, a qual mostrará em casos normais, protozoários bastante móveis (LEEK, 1983). Os protozoários podem ser flagelados ou ciliados (ROSENBERGER, 1983) e dividem-se em pequenos, médios e grandes (BAUMGARTNER, 1983). Normalmente encontram-se em moderadas ou grandes quantidades, com predominância de vivos. Quando há distúrbios na digestão dos pré-estômagos, ocorre desaparecimento das infusórias, sendo as grandes as primeiras a desaparecerem (ROSENBERGER, 1983), seguidas das médias e finalmente das pequenas.

A quantidade e motilidade desses microrganismos diminuirá ou poderá estar ausente se o pH estiver bastante ácido (KAY, 1983), quando as condições para fermentação forem desfavoráveis por algum tempo ou quando agentes defaunantes tiverem sido utilizados deliberadamente (LEEK, 1983).

A quantidade de protozoários varia com a constituição da ração, com o tempo após a alimentação e com a parte do rúmen da qual a amostra foi colhida (ROSENBERGER, 1983). A hora de colheita do líquido rumenal parece ser importante. Maiores quantidades podem ser encontradas antes da primeira alimentação, diminuindo em seguida e atingindo menores valores à noite (FRANZOLIN NETO et al, 1990). Em geral varia de 10^3 a 10^5 por ml do fluido (BAUMGARTNER, 1983). Quando a constituição da ração é mista há cerca de 10^5 por ml de conteúdo (ROSENBERGER, 1983). Observou-se que em bovinos mantidos em pastagem, o número de protozoários foi de 247 mais ou menos 9 vezes 10^3 por ml da amostra (HOFIREK, 1970).

O principal trabalho de digestão é realizado por bactérias, que em geral, estão presentes em quantidades e espécies variadas (DIRKSEN, 1981).

Em condições normais no fluido rumenal, há predominância da flora gram negativa (SCHULZ, 1976).

A avaliação da capacidade de digestão dos microrganismos no conteúdo rumenal poderá ser feita por

inúmeras provas disponíveis. A atividade funcional poderá ser determinada com certa rapidez e de maneira segura através da avaliação da redução do azul de metileno (DIRKSEN, 1981). A flora deverá reduzir o azul de metileno entre 1-3 minutos (BAUMGARTNER, 1983). A velocidade de redução dessa substância pelos microrganismos vai depender do tipo de alimentação, sendo de 3 minutos quando os animais estão recebendo uma ração mista, porém quando apenas concentrado é fornecido, esse tempo diminuirá ao contrário do que ocorre quando apenas feno é fornecido, observando-se nesse caso que a redução poderá levar de 3-6 minutos (ROSENBERGER, 1983). Tempo prolongado é observado quando há inatividade da flora.

O objetivo desse trabalho é determinar os valores de referência das provas laboratoriais de função rumenal mais comumente empregadas nos exames de rotina, tais como: cor, odor, consistência, pH, redução do azul de metileno, motilidade e densidade dos protozoários, assim como a sua quantidade e ainda a determinação da flora bacteriana em bovinos e ovinos criados em regime de pastagem.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no mês de outubro de 1990, utilizando-se 5 bovinos e 5 ovinos, clinicamente saudáveis, mestiços, adultos, procedentes de um rebanho localizado no município de Santa Maria, estado do Rio Grande do Sul.

O material de estudo foi colhido mediante a passagem de uma sonda esofágica, flexível e com aproximadamente 2,0cm de diâmetro, com um comprimento 1,5 e 2,5 metros para ovinos e bovinos, respectivamente. A boca dos ovinos foi mantida aberta com a utilização de um guia de sonda de madeira, enquanto que nos bovinos foi colocado um espelho de alumínio para que os animais não dilacerassem a sonda. Na sonda foi adaptada uma ponta fixa, cilíndrica, de latão, com 10cm de comprimento e com pequenas aberturas ao seu redor, sendo coberta por um componente externo e mais largo, o qual se acoplou ao primeiro com o auxílio de uma rosca. Esse por sua vez também possuía várias aberturas que se desenhavam das internas. A outra ponta da sonda foi inserida em um galão com duas entradas, sendo a segunda acoplada a uma bomba de sucção.

Após a colheita da amostra, a qual variou de 200 a 300ml, para ambas espécies, esta foi colocada em copos plásticos numerados e especificados. Observou-se então a cor, consistência e o odor do líquido rumenal. Imediatamente após fez-se a mensuração do pH através da utilização de papel tornassol universal 0-14. Em seguida a amostra foi homogeneizada, e dessa reti-

rada 1 gota e colocada em uma lâmina com a finalidade de se avaliar a motilidade e densidade das infusórias, de acordo com a classificação descrita na literatura (BAUMGARTNER, 1983; ROSENBERGER, 1983).

Posteriormente o líquido foi filtrado com o auxílio de uma gaze, passando-se o conteúdo para um recipiente de vidro que foi deixado sob refrigeração.

Deste recipiente pipetou-se 20ml de líquido rumenal, que foi colocado em um tubo de ensaio no qual foi adicionado 1,0ml de solução de azul de metileno a 0,03%. Misturou-se amostra à substância, a qual foi deixada a temperatura ambiente de 23°C. O tempo exigido para descoloração do líquido foi medido usando-se um outro tubo de ensaio com 10ml de líquido rumenal, servindo assim de base para comparação. Esta técnica foi realizada segundo mencionada na literatura (DIRKSEN et al, 1969).

Dando continuidade ao exame, foi pipetado 1ml de líquido rumenal em um tubo de ensaio. Acrescentou-se 9ml de solução de formaldeído a 1%. Foi feita a homogeneização da amostra junto com a substância e retiradas algumas gotas para preencher a câmara de Fuchs-Rosenthal para contagem total dos protozoários, a qual foi realizada conforme a literatura (ROSENBERGER, 1983).

Esfregaços para coloração com Gram foram realizados para se determinar a flora bacteriana predominante.

RESULTADOS

Nas duas espécies em estudo tanto a cor e o odor, assim como a consistência da amostra foram semelhantes.

A coloração do suco rumenal apresentou uma tonalidade verde oliva e em todos os casos o odor foi aromático.

A consistência foi levemente viscosa, sendo que nos bovinos havia tendência a ser mais aquosa em relação aos ovinos.

Os dados referentes a pH, redução do azul de metileno, motilidade e contagem dos protozoários, assim como as bactérias predominantes nos bovinos e ovinos poderão ser observados nas TABELAS 1 e 2.

A porcentagem de bactérias gram negativas em relação às gram positivas foi em maior proporção.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

O conteúdo rumenal de animais que recebem alimento a base de forragem consiste de uma massa heterogênea de resíduos alimentares não digeridos, par-

TABELA 1 - Parâmetros encontrados no fluido rumenal de bovinos, clinicamente sadios, criados em regime de pastagem.

Número do Animal	pH	Redução do azul de metileno(min)	Motilidade dos protozoários	Contagem dos protozoários	Bactérias (Gram)
1	6,5	5	+++	563 x 10 ³	N
2	7,0	6	+++	419 x 10 ³	N
3	7,0	9	+++	358 x 10 ³	N
4	6,5	9	+++	929 x 10 ³	N
5	6,5	4	+++	246 x 10 ³	N

min: minutos

+++ : alta motilidade

N: gram negativa

TABELA 2 - Parâmetros encontrados no fluido rumenal de ovinos, clinicamente sadios, criados em regime de pastagem.

Número do Animal	pH	Redução do azul de metileno(min)	Motilidade dos protozoários	Contagem dos protozoários	Bactérias (Gram)
1	6,0	3	+++	889 x 10 ³	N
2	6,5	3	+++	803 x 10 ³	N
3	6,5	3	+++	809 x 10 ³	N
4	6,0	3	+++	736 x 10 ³	N
5	6,5	3	+++	873 x 10 ³	N

min: minutos

+++ : alta motilidade

N: gram negativa

cialmente digerido e digeridos, assim como microrganismos e fluido.

A análise desse conteúdo é importante não apenas como meio diagnóstico, mas também para a avaliação do funcionamento gástrico, quando se deseja a transferência de líquido de um animal para outro, buscando restaurar a normalidade de um rúmen comprometido no que diz respeito à sua população microbiana (HYLTON & HOLTER, 1987).

A técnica de colheita utilizada nesse experimento mostrou-se altamente eficiente, uma vez que se obteve quantidades adequadas do líquido em curto espaço de tempo, com certa facilidade e pelo uso de material de fácil aquisição. Dessa forma obteve-se um conteúdo líquido significativo com mínimas quantidades de partículas, que quando filtrado com o auxílio de uma gaze, eliminou os fragmentos que haviam penetrado. Outras técnicas são recomendadas e consideradas por alguns mais eficazes (DEMEYER & VANNEVEL, 1979; EVANS et al, 1982), porém são mais trabalhosas ou exigem material bem mais oneroso.

As provas foram realizadas imediatamente após a colheita da amostra, diminuindo assim o risco de alteração. Sabe-se porém, que o suco rumenal recém obtido, quando mantido em temperatura ambiente (20-22°C) poderá ser avaliado dentro de 9 horas, depois do que diminui a qualidade do material para exame. Quando o líquido rumenal é submetido uma temperatura de 4°C, o

valor para diagnóstico deverá ser considerado até 24 horas após a sua colheita (BAUMGARTNER, 1983).

Em todos os animais a coloração da amostra foi esverdeada, a qual é considerada normal em animais mantidos em regime de pastagem natural (ROSENBERGER, 1983).

O odor aromático observado nesse estudo é tido como normal (ALONSO, 1979; ROSENBERGER, 1983), lembrando o tipo de dieta recebida.

Nesse experimento, a consistência foi levemente viscosa, estando de acordo com a mencionada pela literatura (BAUMGARTNER, 1983; ROSENBERGER, 1983), porém nos bovinos foi um pouco menos viscosa quando comparados aos ovinos, o que pode ser decorrente do menor número de microrganismos (BAUMGARTNER, 1983).

O ambiente rumenal tem sido razoavelmente bem definido com respeito a fatores físico-químicos e nutricionais e estudos têm demonstrado uma certa constância com relação a isso. Contudo há situações que podem causar grandes mudanças em um ou mais desses aspectos, particularmente no pH.

Excesso de grão ou algum outro problema que ocasione estase ruminal primária ou secundária pode ser confirmado pelo pH do fluido rumenal, o qual estará mais baixo que o normal (HOBSON, 1972; LEEK, 1983; HYLTON & HOLTER, 1987).

Nesse estudo, o pH variou de 6,5-7,0 em bovinos e de 6,0-6,5 nos ovinos. Esses parâmetros estão entre a média considerada como normal (HOFIREK, 1970; VASHISHTA, 1976; ORTOLANI et al, 1980, DIRKSEN, 1981). Nos ovinos houve tendência a valores mais baixos de pH em relação aos bovinos. Sabe-se porém, que a ingestão de partes mais verdes da planta poderá baixar o pH (LEEK, 1983) e o hábito alimentar dessa espécie é a pastagem mais rente ao solo, e com isto ingestão de capim mais jovem. Em dois bovinos obteve-se um pH de 7,0, estando entre a média considerada como normal, mas não deve-se descartar a possibilidade de uma pequena contaminação pela saliva.

A prova do azul de metileno é um bom teste para avaliar a atividade dos microrganismos rumenais (DIRKSEN & VANNEVEL, 1969). Nos ovinos, a redução se deu em 3 minutos, demonstrando uma atividade bastante eficaz da flora (BAUMGARTNER, 1983). Já nos bovinos foi detectada uma variação entre 4-9 minutos, excedendo o tempo máximo considerado normal (BAUMGARTNER, 1983; ROSENBERGER, 1983), porém em experimentos realizados no Brasil, em animais submetidos a regime de pastagem, têm-se encontrado valores altos e até mesmo superiores (OLIVEIRA, 1991) aos achados nesse estudo, o que leva a acreditar que o tempo de redução do azul de metileno pode variar. O ideal seria determinar os parâmetros em animais submetidos a di-

ferentes tipos de pastagem e nas diferentes estações do ano, para que a partir daí, tenha-se um padrão de normalidade, servindo assim de comparação. Os resultados obtidos podem ser considerados normais, uma vez que se tratava de animais sadios, além do fato de que as demais provas realizadas se mantiveram dentro da normalidade, não descartando no entanto uma variação individual no que diz respeito ao ambiente dos pré-estômagos.

A população microbiana do rúmen consiste de diversas espécies de bactérias e protozoários que têm a finalidade de alterar e metabolizar diferentes nutrientes com uma versatilidade marcante. Isso é refletido na habilidade do ruminante em se adaptar a numerosos tipos de alimentos, variando de pasto e grãos para produtos agrícolas, tais como a semente de algodão.

Os protozoários podem não ser essenciais, mas são capazes de preencher importantes tarefas na digestão microbiana (ROSENBERGER, 1983).

A presença de alto número de protozoários móveis, embora não absolutamente importante para a fermentação rumenal adequada, é apesar disso um bom indicador de boas condições fermentativas (BAUMGARTNER, 1983).

Em líquido recém colhido a motilidade e a densidade dos protozoários podem ser observadas a olho nu (ROSENBERGER, 1983). Nesse estudo, os protozoários em ambas espécies, apresentaram-se altamente móveis e em quantidades adequadas. A contagem desses microrganismos esteve na média considerada como normal (BAUMGARTNER, 1983; ROSENBERGER, 1983).

As bactérias dos pré-estômagos são vitais para os ruminantes (ROSENBERGER, 1983). Diferentes produtos podem ser formados por uma mesma bactéria em diferentes substratos (HOBSON, 1972).

A flora bacteriana dominante será sempre a gram negativa (SCHULZ, 1976; ROSENBERGER, 1983), desde que o pH esteja dentro da normalidade. As bactérias, assim como leveduras e protozoários podem ser adversamente afetados pela administração de antibióticos e sulfonamidas ou drogas que alterem drasticamente o pH do conteúdo rumenal (BLOOD et al, 1983). O pH do rúmen não afeta apenas os produtos de fermentação, mas também a velocidade de crescimento de bactérias. O pH mínimo para o crescimento de um número adequado de flora rumenal é em torno de 6,0 (HOBSON, 1972). Nesse experimento a flora gram negativa foi encontrada em maior quantidade, estando de acordo com os autores acima mencionados.

Os testes descritos podem ser utilizados com facilidade na prática e através deles é possível se obter uma impressão relativamente boa da atividade rumenal.

São provas realizáveis em curto espaço de tempo e pouco dispendiosas, que possibilitam a confirmação ou exclusão de distúrbios bioquímicos da digestão dos pré-estômagos.

Estes testes deveriam ser utilizados com mais freqüência nas digestões alimentares dos ruminantes do que é feito até o momento como meios complementares para diagnóstico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALONSO, A.N. Diagnostic analysis of rumen fluid. **Veterinary Clinics of North America: Large Animal Practice** v. 1, n. 2, p. 363-376, 1979.
- BACILA, M. Bioquímica veterinária. São Paulo: Varela, 1980. Cap. 6. Bioquímica do rúmen: p. 151.
- BAUMGARTNER, W. Examination of rumen fluid. **Laboratory Diagnostic of Cattle Practice** v. 38, n. 8, p. 558-561, 1983.
- BLOOD, D.C., HENDERSON, J.A., RADOSTITS, O.M. **Clínica veterinária**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1983. cap. 5: Doenças do trato alimentar I: p. 96.
- BONHOMME, A., DURAND, M. Variations qualitatives et quantitatives de la faune du rumen mouton en fonction dela nature du régime. **Annales de Biologie Animale Biochimie Biophysique**, v. 14, n. 4 A, p. 679-687, 1974.
- CAMPOS NETO, O., BACCARI, J.F., BARROS, H.M. Estudo de temperatura do rúmen de bovino relacionado com dois tipos de alimentação. **Arquivos da Escola de Medicina Veterinária da UFMG**, v. 30, p. 69-79, 1978.
- CHURCH, D.C. **Fisiologia digestiva y nutrición de los rumiantes** Zaragoza: Acribia, 1974. v. 1, 379 p.
- CZERKAWSKI, J.W. Fate of metabolic hydrogen in the rumen. **Proceedings of The Nutrition Society**, v. 31, p. 141-146, 1972.
- DEMEYER, D.I., VANNEVEL, C.J. Effect of defaunation on the metabolism of rumen micro organisms. **British Journal of Nutrition**, v. 42, p. 515-524, 1979.
- DIRKSEN, D.I., VANNEVEL, C.J. Istdie methylenblau probe als schnelltest fue dir klinische pansensaftuntersuchung gelinet. **Deutsche Tierärztliche Wochenschrift** v. 76, p. 305-309, 1969.
- DIRKSEN, G. **Indigestiones en el bovino**. Konstanz, R.F. A.: Schnetztor, 1981. 76 p.
- EVANS, R.T., GROVER, J.N., BEEVER, D.E. Equipment for the automatic sampling of the ruminal fluid of the ruminal fluid of sheep and cattle. **Laboratory Practice**, v. 31, n. 7, p. 653-657, 1982.
- FRANZOLIN NETO, F.R., NOGUEIRA FILHO, J.C.M., ZANETTI, M.A. Avaliação dos protozoários ciliados no rúmen de búfalo e bovino. In: CONGRESSO MUNDIAL DE BUIATRIA, 1990, Salvador, BA. **Anais ...** Salvador: Interlink Consultoria e Eventos, 1990. 1263 p. p. 258-262.
- GILCHRIST, F.M.C., SCHWARTZ, H.M. Microbiology of

- the rumen in relation to the nutrition and physiology of the animal. *African Journal of Animal Science*, v. 2, p. 161-167, 1972.
- HOBSON, P.N. Physiological characteristics of rumen microbes and relation to diet and fermentation patterns. *Proceedings of the Nutrition*, v. 31, p. 135-139, 1972.
- HOFIREK, B.A. A method of determining the reducing activity of ruminal fluid, using methylene blue resazurin and tionine in clinically healthy cattle. *Veterinary Medicine*, v. 15, p. 461-467, 1970.
- HYLTON, W., HOLTER, J.B. An efficient way to collect ruminal fluid from cattle. *Veterinary Medicine*, p. 1174-1177, 1987.
- KAY, R.N.B. Rumen function and physiology. *Veterinary Record*, v. 113, p. 6-9, 1983.
- KISTNER, A., THERION, J., KORNELIUS, J.H. et al. Effect of pH on specific growth rates of rumen bacteria. *Annales de Rechercher Veterinaires*, v. 10, n. 213, p. 268-270, 1979.
- LEEK, B.F. Clinical diseases of the rumen: a physiologist a view. *Veterinary Record*, v. 113, p. 10-14, 1983.
- MOSELEY, G., JONES, J.R. A technique for sampling total rumen contents in sheep. *Research in Veterinary Science*, v. 27, p. 97-98, 1979.
- NARAYANA, K., SASTRY, K.N.V., THANDAVESHWAR, M. G. Ruminal fluid pH and ruminal motility in acute bovine anorexia. *Journal Animal Research*, v. 8, n. 1, p. 30-32, 1974.
- OLIVEIRA, D.B. Estudo do suco rumenal de bovinos criados em regime extensivo de pastagem (Brachiaria decumbens) no município de Botucatu, SP. Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 1991; 42 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, 1991.
- ORTOLANI, E.L. **Determinação dos valores de pH do suco de rúmen dos bovinos: efeito da espécie, cruzamento e dieta**. Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG, 1980. 53 P. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária) - Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, 1980.
- ORTOLANI, E.L., BIRGEL, E.H., ARAÚJO, L.M. Comportamento do pH do suco de rúmen dos bovinos *in vitro*. *Arquivos da Escola de Medicina Veterinária da UFMG*, v. 32, n. 2, p. 217-223, 1980.
- ROSENBERGER, G. Die indigestionen des rindes in neuer sicht. *Veterinar - Medizinische Nachrichten*, p. 112-126, 1963.
- ROSENBERGER, G. **Exame clínico dos bovinos**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1983, 429 p.
- SCHULZ, J.A. **Tratado de enfermidades del ganado vacuno**. Zaragoza: Acribia, 1976. 430 p.
- SOUZA, P.M., COSTA, J.N., NETO, J.D.B., et al. Conservação do suco de rúmen; avaliação de algumas provas funcionais. In: CONGRESSO MUNDIAL DE BUATRIA, 1990, Salvador, BA. *Anais ...* Salvador: Interlink Consultoria e Eventos, 1990, 1263 p. p. 711-714.
- VASHISHTA, M.S. Relations of ruminal protozoal number to percent dry matter and pH in cattle. *Indian Journal Animal Health*, v. 15, n. 1, p. 51, 1976.