TARLEY ARAUJO BARROS

Avaliação de anticorpos policlonais em bovinos adaptados ou não à dietas com alta proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis

Pirassununga

2011

TARLEY ARAUJO BARROS

Avaliação de anticorpos policlonais em bovinos adaptados ou não à dietas com alta proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de Concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. Paulo Henrique Mazza Rodrigues

Pirassununga

2011

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo)

T.2508
FMVZ

Barros, Tarley Araujo

Avaliação de anticorpos policlonais em bovinos adaptados ou não à dietas com alta proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis / Tarley Araujo Barros. -- 2011.
106 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2011.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.
Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Henrique Mazza Rodrigues.

1. Acidose. 2. Aditivo alimentar. 3. Imunização passiva. 4. Fermentação ruminal.
I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no uso de animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Avaliação do preparado de anticorpos policlonais em bovinos adaptados ou não a dietas com alta proporção de concentrados", protocolado sob o nº 1982/2010, utilizando 6 (seis) bovinos, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Paulo Henrique Mazza Rodrigues, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "Comissão de Ética no uso de animais" da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 11/08/2010.

We certify that the Research "Evaluation of the polyclonal antibody preparation in cattle adapted or not to the diets with a high proportion of concentrate", protocol number 1982/2010, utilizing 6 (six) bovines, under the responsibility Prof. Dr. Paulo Henrique Mazza Rodrigues, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by "Ethic Committee in the use of animals" of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 08/11/2010.

São Paulo, 12 de agosto de 2010

Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, nº87
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
São Paulo/SP – Brasil
05508-270

Fax: +55 11 3032-2224 / 3091-7757
Fone: + 55 11 3091-7671/7676
E-mail: fmvz@usp.br
<http://www.fmvz.usp.br>

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: BARROS ARAUJO, Tarley

Título: Avaliação de anticorpos policlonais em bovinos adaptados ou não à dietas com alta proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. Paulo Henrique Mazza Rodrigues
FMVZ-USP

Prof. Dr. Rodrigo Dias Lauritano Pacheco
FMVZ-UNESP

Prof.Dr. Saulo da Luz e Silva
FZEA-USP

Dedico este meu trabalho a pessoa
mais importante da minha vida,
minha filha, Maria Eduarda,
meu anjo, minha motivação,
meu motivo de lutar.

E aproveito para pedir desculpas
pelos momentos em que fui ausente.
Te amo filha.

Agradecimentos

Agradeço a minha esposa Talita por ter passado os momentos mais difíceis da minha vida ao meu lado, me desculpe pelas grosserias e brigas mas foram momentos muito difíceis.

Agradeço a minha mãe que sempre me apoiou nos momentos mais difíceis da minha vida, hoje eu entendo o significado de ser Mãe ou Pai, muito obrigado por permitir que eu crescesse como ser humano e como profissional.

A minha querida irmã Thaís, por tudo que você fez e faz por mim e pela nossa família.

Não sei e também não tenho palavras adequadas para agradecer ao meu orientador Professor Paulo Henrique Mazza Rodrigues, que pra mim foi uma pessoa muito importante, que confiou em mim e permitiu que eu crescesse como pessoa e profissional.

À Carolina não tenho elogios que caibam dentro de uma dissertação, sem a sua ajuda tudo teria sido muito mais difícil, você foi mais que uma madrinha de mestrado pra mim, foi uma mãe, aprendi muito com você, muito obrigado por tudo, saiba que aqui você sempre terá um amigo.

Gilmar muito obrigado por todo o seu auxílio no meu experimento, pelas pescarias e longas conversas.

Os meus amigos de mestrado, Esther, Maurício Martins (Xibungu), Mineirinho (Elmeson), Maria Fernanda, Ju Diniz, Fernandinha, Henrique (Lemão), Eduardo (frodo), Bisão (Rafael), Rafael (Rabugento), Boi (Fernando), Pé de Pano (João), Jeferson (Jefinho), Lenita, Ana Paula, Mayara, Nayara, meus agradecimento pelas conversas, ajudas e principalmente pelas risadas juntos, vocês foram parte essencial desta fase da minha vida.

Agradeço a todos os professores do Departamento de Nutrição Animal da FMVZ USP, por ter me aceitado no programa de pós graduação e contribuído para minha formação, o que eu aprendi com vocês carregarei pelo resto da vida e sou grato por isto, obrigado.

Aos animais Lalá, Azeitona, Vermelhinha, 640, Pipoca e Jacira, o meu muito obrigado por vocês existirem, e terem sido muito compreensivas, apesar de terem passado muito bem, né?

Agradeço também a todos funcionários do VNP, principalmente ao secretário João Paulo que sempre foi muito prestativo e atencioso comigo, sempre me auxiliando no que era preciso.

E por fim, agradeço a Deus, que permitiu que eu realizasse esta minha meta de vida, e possibilitado que eu conhecesse tantas pessoas boas. Muito obrigado a todos.

RESUMO

BARROS, T. A. **Avaliação de anticorpos policlonais em bovinos adaptados ou não a dietas com alta proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis.** [Evaluation of polyclonal antibodies in cattle adapted or not to highly fermentable carbohydrates diets]. 2011. 106 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2011.

O objetivo com o presente trabalho foi avaliar o efeito do preparado de anticorpos policlonais (PAP) contra bactérias ruminais específicas (*Streptococcus bovis* e *Fusobacterium necrophorum*) sobre o consumo de matéria seca, digestibilidade aparente total da dieta, parâmetros de fermentação ruminal e contagem ruminal de protozoários, em animais adaptados ou não a dietas com alta proporção de carboidratos fermentescíveis. Foram utilizadas 6 vacas fistuladas no rúmen em dois quadrados latinos 3x3, em arranjo fatorial de tratamentos 3x2 referentes a dois aditivos PAP pó (PAPP) e PAP líquido (PAPP), mais o grupo controle e 2 tipos de manejo de adaptação à dieta. O primeiro quadrado latino recebeu uma adaptação gradual à dieta: do D0 ao D4 – 100% forragem; D5 ao D9 – 30% de concentrado e do D10 ao D14 – 60% de concentrado. O segundo quadrado latino recebeu 100% de forragem do D0 ao D14. Nos dias D15 e D16, todos os animais receberam uma dieta com 80% de concentrado. Para as análises, amostras de líquido ruminal foram coletadas diariamente às 3 h após a alimentação matinal. Os dados foram analisados pelo procedimento MIXED do SAS com nível de significância de 0,05. A variável consumo de matéria seca apresentou efeito de interação entre tempo e adaptação à dieta com alta proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis ($P<0,0001$), onde o grupo adaptado apresentou consumo mais elevado em relação aos não adaptados (12,4 vs 6,6, respectivamente) do D0 ao D17. Para a variável digestibilidade da MS foi observado efeito de adaptação ($P<0,0001$), sendo que nos animais adaptados, a digestibilidade da MS foi superior (65,9%) à dos não adaptados (55,3%). Foi também observado efeito de aditivo ($P=0,0186$), onde o tratamento com PAPL apresentou maior digestibilidade da MS (63,6%), quando comparados aos tratamentos PAPP e controle (58,4% e 59,6%, respectivamente). A digestibilidade da PB apresentou efeito de interação entre proporção de carboidratos na dieta e o tipo de adaptação ($P<0,0001$), onde os animais adaptados apresentaram maior digestibilidade da PB (83,2%) em comparação aos não adaptados (79,3%), ambos recebendo 100% de forragem. Quando os animais adaptados receberam 60% de concentrado na dieta, este grupo apresentou menor digestibilidade da PB (69,4%), quando comparado ao grupo de animais não adaptados (83,6%). Já para a variável digestibilidade da FDN, os animais adaptados apresentaram maior digestibilidade da FDN (40,6%) em relação aos não adaptados (36,3%) ($P=0,0332$). Quanto ao efeito de aditivo ($P=0,0248$), os animais tratados com o aditivo PAPL apresentaram maior digestibilidade da FDN (44,0%), quando comparados aos tratados com PAPP (36,2%) e o grupo controle (35,4%). Quanto à digestibilidade do amido, foi observada interação entre dieta e adaptação ($P=0,05$), onde, na segunda semana, o grupo dos adaptados apresentou maior digestibilidade (92,8%) quando comparado ao grupo dos não adaptados (73,9%). Para a digestibilidade de carboidratos totais, foi observado efeito de adaptação ($P<0,0001$) e de aditivo ($P=0,0312$), onde o grupo dos adaptados apresentou maior digestibilidade quando comparados aos não adaptados (66,4% vs. 55,5, respectivamente), e os animais tratados com

PAPL, apresentaram maior digestibilidade (63,9%) de carboidratos totais, que os tratados com PAPP (59,0%) e controle (59,9%). Ocorreu interação entre tempo e adaptação para a variável pH ($P < 0,0001$), sendo que o grupo adaptado apresentou menor pH (6,40) quando comparado ao grupo dos não adaptados (6,77) entre o D2 e o D16. Ainda, foi verificado efeito de aditivo sobre a variável pH ruminal ($P = 0,0432$), onde o grupo PAPL apresentou maiores valores (6,62) quando comparado ao grupo PAPP (6,57) e ao controle (6,56). Ocorreu interação entre tempo e adaptação ($P < 0,0001$) para a concentração AGCCt, onde os animais adaptados apresentaram valores mais elevados que o grupo dos não adaptados (100,3 vs. 77,7, respectivamente). Para a variável relação acetato:propionato (Ac:Pr), houve efeito de interação entre tempo e adaptação ($P < 0,0001$). No D2, 5, 6 e D7, o grupo dos animais adaptados apresentou menor relação Ac:Pr quando comparados aos animais não adaptados (2,29 vs. 1,96, respectivamente). Porém, nos dias 12 a 16, houve inversão desta relação e os animais adaptados passaram a apresentar maior relação Ac:Pr (2,87) quando comparados ao grupo dos não adaptados (2,41). Não foi observado efeito de adaptação ($P > 0,05$) bem como aditivo ($P > 0,05$) para a variável concentração de lactato no líquido ruminal. A concentração de N-NH₃ apresentou interação entre tempo e adaptação ($P = 0,0003$), onde o grupo dos adaptados apresentou maiores valores quando comparado ao dos não adaptados (24,68 vs 15,97 mg/dL, respectivamente) entre o D1 e D15. Quanto as populações de protozoários, observou-se interação entre tempo, adaptação e aditivo para as populações de *Dasytricha* sp ($P = 0,0305$) e *Entodinium* sp ($P = 0,0398$), sendo observada manutenção das populações de *Dasytricha* sp ($P = 0,0188$) nos animais não adaptados e decréscimo nos animais adaptados. Conseqüentemente, para a população de *Entodinium* sp, foi observado aumento nos animais adaptados (80,78%) e manutenção nos não adaptados (45,3%). Nos animais tratados com PAPL, a população de *Dasytricha* sp foi superior (38,3%) quando comparados às populações dos tratados com PAPP (31,50%) e grupo controle (34,7%), sem diferença entre estes últimos dois grupos. Quanto a população de *Entodinium* sp, os animais tratados com PAPL apresentaram menor porcentagem deste gênero de protozoários (58,5%) quando comparados ao grupo controle (64,0%) e ao PAPP (66,7%). A partir dos resultados obtidos foi possível concluir que o preparado de anticorpos policlonais tanto na apresentação líquida como em pó não alterou o consumo de matéria seca bem como a concentração AGCCt, proporção molar de acetato, propionato e butirato, assim como a concentração ruminal de lactato e N-NH₃. O preparado de anticorpos policlonais na apresentação líquida melhorou a digestibilidade da MS, FDN e carboidratos totais. Quanto ao pH ruminal, o PAP na apresentação líquida, se mostrou mais eficiente, em evitar a sua redução, quando comparado ao preparado na apresentação em pó e que o grupo controle durante o pico de fermentação. A adaptação melhorou a digestibilidade da MS, PB, EE, FDN, FDA e carboidratos totais, assim como aumentou as concentrações de AGCCt, sem que ocorresse aumento nas concentrações de lactato.

Palavras-chave: Acidose. Aditivo alimentar. Imunização passiva. Fermentação ruminal.

ABSTRACT

BARROS, T. A. **Evaluation of polyclonal antibodies in cattle adapted or not to highly fermentable carbohydrates diets.** [Avaliação de anticorpos policlonais em bovinos adaptados ou não a dietas com alta proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis]. 011. 106 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2011.

The objective with the present work was to evaluate the polyclonal antibody preparation (PAP) against specific rumen bacteria (*Streptococcus bovis* and *Fusobacterium necrophorum*) on dry matter intake, total apparent digestibility of diet, ruminal fermentation patterns and ruminal protozoa counting on adapted and non-adapted animals to highly fermentable carbohydrates diets. Six ruminally cannulated cows were used in two Latin squares 3x3, in a factorial arrangement of treatments 3x2 regarding two feed additives (PAP in powder presentation (PAPP) and PAP in liquid presentation (PAPL)) plus control group (CON) and two managements of diets adaptation. The first Latin square received a step-up diet adaptation: from D0 to D4 – 100% forage; D5 to D9 – 30% of concentrates and D10 to D14 – 60% of concentrates. The second Latin square received 100% forage from D0 to D14. On D15 and D16, all animals received a diet with 80% of concentrates. For analysis, rumen fluid samples were daily collected 3h after morning meal. Data were analyzed by MIXED procedure with a significance level of 0.05. The variable dry matter intake presented interaction between time and adaptation to highly fermentable carbohydrate diets ($P<0.0001$), where the adapted group had greater DMI compared with non-adapted animals (12.4 vs. 6.6, respectively) from D0 to D17. For DM digestibility, it was observed effect of adaptation ($P<0.0001$), where the adapted group had greater values (65.9%) compared with the non-adapted group (55.3%). It was also observed effect of additive for this variable ($P=0.0186$), where the treatment PAPL had greater DM digestibility (63.6%) compared with treatments PAPP and control (58.4% and 59.6%, respectively). Crude protein digestibility had effect of interaction between carbohydrate proportion in diet and type of adaptation ($P<0.0001$), where the adapted animals had greater CP digestibility (83.2%) in relation to non-adapted animals (79.3%), both receiving 100% of forage. When the adapted animals received 60% of concentrates in diet, this group had lower CP digestibility (69.3%) compared with non adapted group (83.6%). For NDF digestibility, adapted animals had greater values (40.6%) in relation to non-adapted animals (36.3%) ($P=0.0332$). It was also observed an additive effect ($P=0.0248$), where the animals in PAPL group had greater NDF digestibility (44.0%) compared with PAPP (36.2%) and control (35.4%) groups. For starch digestibility, it was observed interaction between diet and adaptation ($P=0.05$), where, in the second week, the adapted group had greater digestibility (92.8%) compared with non-adapted group (73.9%). For total carbohydrates digestibility, it was observed effect of adaptation ($P<0.0001$) and additive ($P=0.0312$), where the adapted group had greater values compared with non-adapted animals (66.4% vs. 55.5, respectively), and the animals in PAPL group had greater total carbohydrates digestibility (63.9%) than PAPP (59.0%) and control (59.9%) groups. It was observed an interaction between time and adaptation for ruminal pH ($P<0.0001$), where the adapted group had lower pH (6.40) compared with non-adapted group (6.77) between D2 and D16. Moreover, it was verified additive effect for ruminal pH ($P=0.0432$), where PAPL group

had higher values (6.62) compared with PAPP (6.57) and control (6.56) groups. It was observed an interaction between time and adaptation ($P<0.0001$) for total concentration of short chain fatty acids (SCFA), where the adapted animals had greater values than non-adapted animals (100.33 vs. 77.72, respectively). For acetate:propionate ratio (Ac:Pr), there was effect of interaction between time and adaptation ($P<0.0001$). At D2, 5, 6 and D7, the group of adapted animals had lower Ac:Pr ratio than non-adapted group (2.29 vs. 1.96, respectively). However, at D12 to D16, there was an inversion of this relation and the adapted animals had greater Ac:Pr ratio (2.87) when compared with non-adapted animals (2.41). It was not observed effect of adaptation ($P>0.05$) as well as effect of additive ($P>0.05$) for ruminal lactate concentration. The concentration of N-NH₃ showed interaction between time and adaptation ($P=0.0003$), where the adapted group had greater values compared with non-adapted group (24.7 vs. 16.0 mg/dL, respectively) between D1 and D15. For rumen protozoa population, it was observed an interaction between time, adaptation and additive for *Dasytricha* sp ($P=0.0305$) and *Entodinium* sp ($P=0.0398$), where the number of *Dasytricha* sp ($P=0.0188$) population was maintained in non-adapted animals and decreased in adapted animals. Consequently, for *Entodinium* sp population, it was observed increase in its number in adapted animals (80.8%) and maintenance of its number in non-adapted animals (45.3%). In animals treated with PAPL, the population of *Dasytricha* sp was greater (38.3%) when compared with the animals treated with PAPP (31.5%) and control group (34.7%), without difference between these last two groups. For *Entodinium* sp population, the animals treated with PAPL had lower percentage of these protozoa (58.5%) when compared with control (64.0%) and PAPP (66.7%) groups. From these results, it was possible to conclude that polyclonal antibody preparation both in liquid or powder presentation did not alter dry matter intake, total concentration of SCFA, molar proportion of acetate, propionate and butyrate as well as ruminal concentration of lactate and NH₃-N. Polyclonal antibody presentation in liquid presentation improved DM, NDF and total carbohydrates digestibility. For ruminal pH, PAP in liquid presentation was more efficient in preventing its reduction, when compared with PAP in powder presentation and control group during the peak of fermentation. Adaptation to highly fermentable carbohydrate diets improved DM, CP, EE, NDF, NDA and total carbohydrates digestibility even as increased total concentration of SCFA without increase in lactate concentration.

Keywords: Acidosis. Feed additive. Passive immunization. Ruminal fermentation

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Consumo de matéria seca (kg/d) de animais adaptados ou não a dieta de alta proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis.	66
Figura 2 - Consumo de matéria seca (kg/d) de animais que receberam um preparado de anticorpos policlonais (PAP) na apresentação líquida, em pó mais o grupo controle submetidos à adaptação ou não à dieta de alta proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis.	67
Figura 3 - Consumo de matéria seca em % do peso vivo (%PV) de animais adaptados ou não a dieta de alta proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis.	67
Figura 4 - Consumo de matéria seca em % do peso vivo (%PV) de animais que receberam um preparado de anticorpos policlonais (PAP) na apresentação líquida, em pó mais o grupo controle submetidos à adaptação ou não à dieta de alta proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis.	68
Figura 5 - Digestibilidade da matéria seca em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis.	69
Figura 6 - Digestibilidade da matéria seca em animais que receberam um preparado de anticorpos policlonais (PAP) na apresentação líquida, em pó e o grupo controle submetidos ou não a adaptação à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis.	70
Figura 7 - Digestibilidade da proteína bruta em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis.	71
Figura 8 - Digestibilidade da fibra em detergente neutro em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis.	72
Figura 9 - Digestibilidade da fibra em detergente neutro em animais que receberam um PAP líquido, em pó e o grupo controle, submetidos ou não a adaptação à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis.	72
Figura 10 - Digestibilidade do amido em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis.	73
Figura 11 - Digestibilidade de carboidratos totais em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis.	74
Figura 12 - Efeito do aditivo sobre a digestibilidade de carboidratos totais em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis.	74
Figura 13 - Valores de pH ruminal de animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis.	76
Figura 14 - Efeito dos aditivos sobre o pH ruminal em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis.	76

Figura 15 - Escape abrupto de gases e conteúdo ruminal sem estratificação nos animais adaptados à dieta com alta proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis.....	78
Figura 16 - Diarréia e hematoquesia em animais adaptados à dieta com alta proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis.....	78
Figura 17 - Concentração total de AGCC no líquido ruminal de animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis.	79
Figura 18 - Efeito dos aditivos sobre a concentração total de AGCC no líquido ruminal em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis.	79
Figura 19 - Proporção molar de acetato em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis.	81
Figura 20 - Efeito de aditivo sobre a proporção molar de acetato em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis.	82
Figura 21 - Proporção molar de propionato em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis.	83
Figura 22 - Efeito de aditivo sobre a proporção molar de propionato em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis.....	84
Figura 23 - Relação molar acetato:propionato em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis.	85
Figura 24 - Proporção molar de butirato em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis.	87
Figura 25 - Efeito de interação tempo e aditivo sobre a proporção molar de butirato em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis.	87
Figura 26 - Concentração de lactato em mM em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis.	88
Figura 27 - Concentração de lactato em mM em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis, tratados com PAP líquido, PAP pó e grupo controle.....	89
Figura 28 - Concentração de nitrogênio amoniacal (mg/dL) em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis.	90
Figura 29 - Concentração de nitrogênio amoniacal (mg/dL) em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis, tratados com um preparado de anticorpos na apresentação líquida, pó e grupo controle.....	91
Figura 30 - População relativa de protozoários nos dias 4, 9 e 14 em animais adaptados e não adaptados a dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis.	93

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Proporções de ingredientes e composição bromatológica estimada da dieta experimental, com base na matéria seca (%).61
- Tabela 2 - Esquema da análise de variância para delineamento em quadrado latino duplicado, adicionado do fator de medidas repetidas no tempo, com arranjo fatorial de tratamentos.65

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 HIPÓTESE E OBJETIVO	22
3 REVISÃO DE LITERATURA	23
3.1 O PROCESSO DE FERMENTAÇÃO RUMINAL	23
3.2 O AMBIENTE RUMINAL	23
3.3 FATORES QUE INFLUENCIAM NA FERMENTAÇÃO RUMINAL	24
3.3.1 Dieta	24
3.3.2 Agentes fermentadores - Microbiota ruminal	26
3.3.3 pH ruminal	28
3.3.4 Taxa de passagem e consumo de matéria seca	29
3.4 ACIDOSE RUMINAL	31
3.5 IONÓFOROS	33
3.6 ANTICORPOS POLICLONAIS AVIÁRIOS	34
3.6.1 Efeitos do PAP sobre a fermentação ruminal	37
3.6.2 Efeitos sobre a digestão	38
3.6.3 Efeitos em gado de corte	39
3.6.4 Anticorpos policlonais x Comportamento Ingestivo	41
3.6.5 Efeitos em gado leiteiro	42
3.7 ADAPTAÇÃO	42
3.7.1 Tipos de adaptação às dietas com alta proporção de carboidratos fermentescíveis	44
3.7.2 Tolerância individual aos carboidratos	45
3.7.3 pH ruminal durante a adaptação	46
3.7.4 Concentração total de AGCC durante a adaptação às dietas com alta proporção de carboidratos fermentescíveis	48
3.7.5 Concentração ruminal de lactato durante a adaptação	50
3.7.6 Efeitos da adaptação às dietas ricas em carboidratos fermentescíveis sobre a microbiota ruminal	51

3.7.7 Antibióticos na adaptação às dietas de alta proporção de concentrados	55
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	58
4.1 ANIMAIS E INSTALAÇÕES	58
4.2 Delineamento experimental e arranjo de tratamentos	58
4.3 MANEJO NUTRICIONAL	60
4.4 PERÍODO EXPERIMENTAL.....	61
4.5 PREPARADO DE ANTICORPOS POLICLONAIS.....	62
4.6 PARÂMETROS DE AVALIAÇÃO	62
4.6.1 Consumo de matéria seca	62
4.6.2 Fermentação ruminal.....	63
4.6.2.1 Descrição das coletas de conteúdo ruminal.....	63
4.6.2.2 Metodologia de determinação do pH do líquido ruminal.....	63
4.6.2.3 Metodologia de determinação dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCCs) e lactato total.....	63
4.6.2.4 Metodologia de determinação da concentração de nitrogênio amoniacal.....	64
4.7 CONTAGEM TOTAL E DIFERENCIAL DE PROTOZOÁRIOS RUMINAIS	64
4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA	65
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
5.1 CONSUMO DE MATÉRIA SECA	66
5.1.1 Consumo de Matéria Seca por Porcentagem do Peso ‘Vivo.....	67
5.2 DIGESTIBILIDADE APARENTE TOTAL.....	69
5.3 FERMENTAÇÃO RUMINAL	75
5.3.1 pH ruminal.....	75
5.3.2 Concentração total de ácidos graxos de cadeia curta (tAGCC).....	78
5.3.3 Proporção molar de acetato	80
5.3.4 Proporção molar de propionato.....	82
5.3.5 Relação acetato: propionato.....	84
5.3.6 Proporção molar de butirato.....	86

5.3.7 Concentração de Lactato	88
5.3.8 Nitrogênio Amoniacal	90
5.4 CONTAGEM RUMINAL DE PROTOZOÁRIOS	91
6 CONCLUSÕES.....	94
7 IMPLICAÇÕES	95
REFERÊNCIAS	96

1 INTRODUÇÃO

Estima-se que existam no mundo 2 bilhões de pessoas subnutridas ou desnutridas. Estes casos de desnutrição ocorrem pela absoluta ausência de acesso a alimentos ricos em nutrientes nobres, como proteína, energia e fibra, presentes na carne, peixe, frutas e vegetais. Mulheres e crianças constituem a maioria das pessoas acometidas pela desnutrição e estas populações estão concentradas nos países ditos subdesenvolvidos (FAO, 2011).

Associado a esta condição, ocorre ainda escassez de terras agriculturáveis no mundo. As causas desta escassez geralmente são as condições edafoclimáticas, relações políticas, regiões de guerra e concorrência da terra para produção de energia.

O Brasil, por ser um país com grandes áreas aptas à agricultura, tanto pela vastidão territorial, como pelo tipo de solo e clima vem se destacando como um dos maiores produtores de grãos e carne bovina do mundo, com rebanho estimado em 200 milhões de cabeças de bovinos e a safra de grãos 2010/2011 estimada em 159,51 milhões de toneladas. A soja é o grão mais produzido, com produção esperada de 73,6 milhões de toneladas, e o milho, em segundo lugar, com 56,0 milhões de toneladas. Estes cereais são a base da nutrição humana e animal (IBGE, 2007; CONAB, 2011).

A produção brasileira de bovinos sempre se caracterizou pelo sistema extensivo. Nos últimos anos, com a incorporação de novas tecnologias que visam ao aumento da produtividade, com intuito de atender a demanda mundial, cresceram os investimentos junto aos sistemas intensivos de produção de carne bovina, os chamados confinamentos ou semi-confinamentos.

A criação extensiva ou intensiva em regime de pastejo, no Brasil, sofre um grande impacto quanto à disponibilidade de forragem na época de seca e inverno. As pastagens brasileiras são, em sua grande maioria formadas por gramíneas de clima tropical e apresentam estacionalidade de produção. Desta forma, no período de seca e inverno, a temperatura é baixa, o fotoperíodo é curto, a disponibilidade de água é muito pequena e estas forrageiras praticamente cessam seu crescimento ou produzem muito pouco matéria seca. As forrageiras de ciclo C4 (de clima tropical), com menor estacionalidade, apresentam 80% de sua produção de matéria seca no verão e apenas 20% no inverno (SANTOS; BALSALOBRE, 2000).

O sistema de criação confinada no Brasil visa uma taxa de lotação mais elevada que os regimes a pasto, diminuição do efeito da sazonalidade das forrageiras no mercado de carne,

redução da idade de abate do animal, produção de carne de melhor qualidade, aumento do desfrute, reduzindo a ociosidade dos frigoríficos na entressafra e reduzindo o efeito cíclico da produção de carne bovina, incremento na produção total, maior giro de capital e melhor aproveitamento das áreas de pastagens para outras categorias animais.

Além disto, a arroba produzida em confinamento é mais cara, mas também é comercializada na entressafra, quando o preço obtido pela arroba também é maior. Porém, o sistema de criação de gado de corte confinado no Brasil se caracteriza por ter períodos de confinamento mais curtos (70-120 dias), menores pesos de abate com carcaças de 17 arrobas, com menor grau de acabamento quando comparados aos animais confinados em outros países, ocorrência da terminação de diferentes lotes no mesmo curral, predominância de animais zebuínos inteiros e também se caracteriza por não utilizar anabolizantes (MILLEN et al., 2009).

Um indicativo do aumento do interesse em se confinar é o comparativo do número de animais confinados em 2006, que foi de 933.967 animais e o número estimado por Millen et al. (2009), de 3.163.750 de cabeças em 2009. Considerando estes valores, houve aumento de 338,75% no total de animais confinados em apenas três anos.

O confinamento vem sendo utilizado por fazendas tradicionalmente produtoras de grãos como uma ferramenta para agregar mais valor aos grãos colhidos na safra e principalmente na entressafra. Ao invés de vender o grão, o produtor vende o gado, e se capitaliza para a nova safra. Quando o valor do grão for interessante, a fazenda não confina. As instalações de confinamentos brasileiros por volta do ano 2000 raramente ultrapassavam a capacidade de 3.000 animais. Porém, já em 2009, esta característica mudou. A maioria das instalações, 70% delas, possuem capacidade para até 5.000 cabeças ao mesmo tempo, 25,8% com capacidade entre 5.000 e 10.000 cabeças e 3,2% com capacidade superior a 10.000 cabeças.

O aumento das capacidades operantes dos confinamentos resulta em um problema logístico e de área quanto à produção e fornecimento de volumoso para um rebanho tão grande. Este motivo, associado à necessidade de engordar o animal mais rapidamente e a disponibilidade de grãos, faz com que os confinadores sejam estimulados a aumentar o teor de inclusão de concentrados nas dietas de terminação.

Dos profissionais técnicos responsáveis pela nutrição nos confinamentos, 38,7% utilizam teores de inclusão de concentrado nas dietas entre 56% e 70% e outros 38,7% dos profissionais recomendam teores de inclusão entre 71% e 80% (MILLEN et al., 2009).

Estes altos teores de inclusão de concentrados têm como objetivo obter o maior ganho de peso diário por animal e reduzir o tempo de confinamento. Porém, para atingir estes teores de concentrados nas dietas, o ambiente ruminal é submetido a mudanças bruscas.

Estas dietas são constituídas em grande parte por carboidratos rapidamente fermentescíveis, gerando, com isto, uma produção excessiva de ácidos graxos de cadeia curta e também ácido lático. O acúmulo destes ácidos dentro do rúmen reduz o pH do meio, levando à acidose ruminal que, dependendo das condições, pode se agravar e resultar em rumenite, translocação de toxinas e bactérias do rúmen para a corrente sanguínea, laminite e, por fim, acidose metabólica, podendo levar o animal a morte (OWENS et al., 1998; NAGARAJA; TITGEMEYER, 2007).

Uma das principais estratégias utilizadas para reduzir este impacto no ambiente ruminal é a adaptação às dietas com alta proporção de concentrados, permitindo assim que os animais e a microbiota se adaptem às alterações causadas pela dieta.

Outra estratégia é a utilização de aditivos alimentares moduladores da fermentação, geralmente antibióticos, como a monensina. A monensina consiste de um antibiótico ionóforo que modula o processo fermentativo, reduzindo os riscos de acidose e seus efeitos deletérios, resultando em melhor desempenho animal. Geralmente, as estratégias de adaptação e uso de aditivos moduladores são utilizadas em consorciação, visando a sinergia entre ambos.

A utilização de antibióticos nas dietas de animais de produção tem sido contestada quanto à segurança alimentar. A teoria existente é que a utilização destes antibióticos nos animais poderia resultar em resíduos nos produtos obtidos. Os humanos, ao consumirem estes alimentos, poderiam estar ingerindo sub-doses de antibióticos que estariam, por sua vez, promovendo a seleção de microorganismos patogênicos e resistentes a antibióticos, agravando assim os quadros de infecções em humanos.

Apesar de não existir evidência de acúmulo tecidual de monensina em animais que receberam este produto por via oral quando seguidas as recomendações, a Comunidade Européia determinou, por precaução, a proibição da utilização de antibióticos e coccidiostáticos. Como aditivos alimentares para bovinos, de acordo com o Regulamento (EC) N° 1831/2003 (DONOHO, 1984; EUROPA, 2003). Além disso, existe uma preocupação mundial em consumir alimentos mais saudáveis e com a menor presença possível de resíduos.

O Brasil, como grande produtor de alimento para o mundo, deve se atentar para as novas exigências do mercado. Por este motivo, é necessário que se encontre novos aditivos que possam substituir eficientemente os atuais produtos sem que resultem em riscos à saúde humana. Uma das alternativas de aditivo alimentar em estudo é a utilização da imunização

passiva contra microorganismos alvo, indesejáveis no rúmen em quadros de risco de acidose ruminal.

O uso da imunização passiva como aditivo alimentar consiste da produção exógena, processamento e posterior administração de anticorpos prontos contra os microorganismos que se deseja controlar. Nesta linha de pesquisa encontra-se o preparado de anticorpos policlonais aviários. Estes anticorpos são produzidos a partir de aves de postura, submetidas à inoculação de microorganismos alvo, os quais se deseja controlar. Após a inoculação, as aves passam a produzir anticorpos específicos para combater o agente. Estes anticorpos são as imunoglobulinas Y, que são secretadas pelo animal e incorporadas ao ovo e posteriormente processadas. O princípio de ação dos anticorpos no rúmen não é bem definido, mas a teoria é de que estes se ligam aos sítios de ligação dos microorganismos (epítomos), o que impede que o mesmo consiga se locomover ou aderir a partículas de alimento, causando a sua imobilização. Este efeito difere dos antibióticos, pois não tem ação sobre o DNA e RNA do patógeno alvo e, conseqüentemente, não induz ao aparecimento de resistência (DILORENZO; DIEZ-GONZALEZ; DICOSTANZO, 2006; PACHECO, 2010).

Os estudos realizados com o preparado de anticorpos policlonais apresentaram resultados diversos. Millen et al. (2007) utilizou o produto na apresentação líquida e relatou redução de rumenite e abscessos hepáticos em animais de corte, como também ganho de peso similar aos animais tratados com monensina. Da mesma forma, Marino et al. (2011) relataram que o produto em apresentação líquida foi eficaz em evitar a redução do pH ruminal no pico da fermentação. Já Dahlen et al. (2003); Bastos (2009) e Pacheco (2010) não demonstraram efeitos do PAP, porém, nestes trabalhos, o produto utilizado estava na apresentação em pó. Da mesma forma, Barducci et al. (2009) utilizaram o produto PAP na apresentação pó e relataram menor eficiência alimentar, menor ganho de peso diário e menor peso de carcaça quente nos animais tratados com PAP, quando comparados aos tratados com monensina. Estes resultados geraram a dúvida descrita por Pacheco (2010), se o processo de secagem do produto, por Spray Dryer, poderia resultar em perda da eficiência do mesmo e inibir sua ação. Este autor enfatiza que seria interessante comparar a forma líquida e em pó do preparado de anticorpos policlonais.

2 HIPÓTESE E OBJETIVO

A hipótese do presente trabalho é que o preparado de anticorpos policlonais (PAP) na apresentação líquida apresente melhor desempenho para as variáveis de fermentação ruminal, digestibilidade aparente total e contagem ruminal de protozoários, quando comparado ao PAP na apresentação em pó, por não ter sido submetido ao processo de secagem, que provavelmente reduziria seu potencial de ação.

Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos de um preparado de anticorpos policlonais (PAP) produzido contra as bactérias alvo *Streptococcus bovis* e *Fusobacterium necrophorum*, na apresentação pó ou líquida, sobre as variáveis de fermentação ruminal em fêmeas bovinas adaptadas ou não à dieta com alta proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 O PROCESSO DE FERMENTAÇÃO RUMINAL

Nos sistemas de produção de carne ou leite, a alimentação constitui um dos principais fatores que contribuem para o custo final do produto. Por este motivo, é necessário que se explore ao máximo a capacidade de os bovinos em fermentar alimentos fibrosos e transformá-los em carne ou leite.

A principal característica dos bovinos, como ruminantes, é possuir a capacidade de fermentar alimentos fibrosos, aproveitando, assim, alimentos que outras espécies não podem digerir. Esta característica é dada pela relação de simbiose entre o animal e os microorganismos que colonizam o rúmen, o órgão digestório onde ocorre este processo fermentativo.

Os ruminantes possuem o estômago composto, no qual a digestão fermentativa precede a digestão enzimática, que compreende uma parte aglandular, denominada proventrículo, e uma parte glandular, que corresponde ao estômago dos monogástricos. O proventrículo é constituído de três compartimentos: rúmen, retículo e omaso, sendo que nos dois primeiros ocorre a fermentação microbiana, onde bactérias, protozoários e fungos produzem enzimas capazes de hidrolisar proteínas, lipídeos e carboidratos, inclusive a celulose. A seleção de partículas maiores, realizada pelo orifício retículo-omasal, propicia um tempo de permanência maior da mesma no rúmen-retículo, beneficiando a fermentação. A parte glandular do estômago dos ruminantes corresponde ao abomaso, onde é iniciada a digestão do conteúdo ruminal pela secreção do suco gástrico (SILVA; LEÃO, 1979).

Assim, as características anatômicas e fisiológicas do retículo-rúmen favorecem o desenvolvimento de intensa atividade fermentativa, realizada por um grande número de bactérias, protozoários e fungos.

3.2 O AMBIENTE RUMINAL

O rúmen precisa apresentar certas características para promover condições adequadas para que ocorra a fermentação ruminal. Entre as principais, estão a temperatura, que deve

permanecer entre 38-41°C, e a umidade, entre 85-90%. O pH deve ser mantido entre 5,5-7,2 e é um dos principais fatores que afetam o desenvolvimento microbiano.

A osmolaridade entre 260-340 mOsm é considerada adequada. Dietas ricas em concentrado aumentam a osmolaridade e, quando esta alcança 350 mOsm há inibição dos microorganismos ruminais tanto celulolíticos como amilolíticos (OWENS; GOETSCH, 1993; VALADARES FILHO; PINA, 2006).

Além disso, o ambiente ruminal deve ser anaeróbio, com fornecimento constante de substratos oriundos da alimentação para fermentação. Concomitantemente, a motilidade ruminal, é responsável por revolver o conteúdo ruminal, permitindo a absorção dos ácidos gerados pela fermentação através parede ruminal, e remoção periódica dos gases pela eructação, contribuindo para a passagem ao omaso dos subprodutos de fermentação, não utilizados pela microbiota (CARVALHO et al., 2003).

A relação animal-microrganismos é caracterizada pela interdependência, relação esta na qual o animal fornece alimento, substâncias tamponantes, remove excesso de ácidos resultantes da fermentação e resíduos não digeridos no rúmen mantendo assim as condições necessárias à fermentação. Em troca, os microrganismos, por meio de ações física e enzimática, promovem a fermentação do alimento, resultando na produção de substâncias úteis ao animal, como os, ácidos graxos de cadeia curta (AGCCs), proteína microbiana e vitaminas do complexo B (OWENS; GOETSCH, 1988).

3.3 FATORES QUE INFLUENCIAM NA FERMENTAÇÃO RUMINAL

3.3.1 Dieta

Nos sistema de produção de carne ou leite, procura-se explorar ao máximo a capacidade do rúmen em transformar o alimento ingerido em alimento próprio e específico para o ruminante. Para isso, é necessária a maximização dos processos de fermentação ruminal.

O processo de fermentação ruminal depende diretamente da dieta fornecida ao animal, pois a microbiota ruminal processa diferentemente cada nutriente. Por este motivo, há a

necessidade de se entender os processos fisiológicos, do metabolismo ruminal e da degradação ruminal que ocorrem com cada tipo de nutriente de uma dieta.

Quanto aos nutrientes mais comuns na dieta tem-se os carboidratos que podem consistir em amidos, celulose e pectina. Pesquisadores da Universidade de Cornell (EUA) utilizam a classificação de carboidratos baseada na taxa de degradabilidade do mesmo no ambiente ruminal. São classificados em fração A, B1, B2 e C (RODRIGUES; VIEIRA, 2006). A fração carboidrato A apresenta a maior taxa de degradabilidade, ou seja, mais rápida. Neste grupo estão os carboidratos de baixo peso molecular, como glicose e os dissacarídeos (sacarose). Já a fração carboidrato B1 é constituída por carboidratos com taxa de degradação ruminal intermediária, tais como amido, frutanas, galactanas e pectina. A fração carboidrato B2, também conhecida como fibra disponível, apresenta taxa de degradação ruminal lenta e é constituída por polissacarídeos da parede celular de plantas, como a hemicelulose e celulose. A última fração, classificada como carboidrato C, representa a fibra indigestível e seu valor é obtido pela multiplicação do teor de lignina da amostra por 2,4.

Dietas ricas em volumosos consistem de uma maior proporção de celulose, enquanto dietas com maior proporção de concentrados têm aumentada a participação do amido como principal carboidrato.

As bactérias responsáveis pela fermentação de celulose são chamadas de celulolíticas ou fibrolíticas, pois possuem a capacidade de degradar celulose, capacidade esta dada pela enzima celulase, inexistente nos mamíferos, sendo o resultado deste processo a produção de ácido acético ou acetato, um dos mais importantes AGCCs na nutrição de ruminantes. Em dietas ricas em volumosos, a relação molar entre os principais AGCCs esperada é de 75:15:10 de acetato, propionato e butirato, respectivamente (BERGMAN, 1990).

Já em dietas ricas em amido, a fermentação deste ocorre pela população de bactérias amilolíticas, que utilizam a enzima amilase para degradar o amido à monômeros, como glicose e hexoses resultando na alteração das proporções entre os AGCCs, sendo que a participação molar de propionato em dietas com maior proporção concentrados é aumentada. Já a de acetato pode se manter estável ou ser reduzida juntamente com o a de butirato. Isto demonstra uma alteração no padrão de fermentação e subsequente alteração na proporção dos produtos (OWENS et al., 1998).

O principal fator causador de distúrbios digestivos em ruminantes é a mudança abrupta da dieta. Na maioria das vezes, animais que recebem dietas que consistem em mais de 90 % de volumoso passam, em questão de 10 dias, a receber dietas com mais de 60% de

concentrados e praticamente *ad libitum* (BEVANS et al., 2005). Esta grande disponibilidade de concentrados, constituídos basicamente de carboidratos com taxa de degradabilidade intermediária, como o amido, além de proporcionarem uma fermentação excessiva, apresentam também maior taxa de passagem e não contribuem para a formação da porção fibrosa flutuante no rúmen, reduzindo, assim, o estímulo à ruminação e salivação. Já que este é o principal meio de tamponamento do ambiente ruminal, a redução do seu efeito associado à produção de grandes quantidades de AGCC e ácido láctico provoca conseqüente redução do pH, iniciando o quadro chamado de acidose ruminal (OWENS et al., 1998; RODRIGUES; VIEIRA, 2006).

3.3.2 Agentes fermentadores - Microbiota ruminal

Um microrganismo pode ser considerado integrante da microbiota ruminal quando possui a capacidade de crescer neste ambiente, ser anaeróbio, ser capaz de utilizar e produzir subprodutos encontrados no rúmen (STEWART; FLINT; BRYANT, 1997).

O principal nutriente para os ruminantes são os AGCCs e sua produção depende inteiramente dos microrganismos como bactérias, protozoários e fungos que colonizam o rúmen. Em termos quantitativos, 60-90% da massa microbiana ruminal é composta por bactérias, 10-40% por protozoários ciliados e o restante 5-10% por fungos (VAN SOEST, 1994).

Os microrganismos ruminais estão agrupados em função do substrato que fermentam e podem ser classificadas em fermentadoras de carboidratos estruturais, não-estruturais, proteolíticas, metanogênicas, lácticas e lipolíticas. Os fermentadores de carboidratos estruturais possuem a capacidade de hidrolisar a celulose, hemicelulose e pectina e sua variedade é pequena. Já os fermentadores de carboidratos não-estruturais, como amido e açúcares, apresentam maior variabilidade de microrganismos (STEWART; FLINT; BRYANT, 1997; VALADARES FILHO; PINA, 2006).

A proteína da dieta pode ser utilizada tanto como fonte de aminoácidos para a síntese de proteína microbiana, como fonte de energia para os mesmos. A fração nitrogenada do alimento, que é em parte ou totalmente degradada no rúmen fornece peptídeos, aminoácidos e amônia para síntese de proteína microbiana. E também, pode atuar como fonte de energia,

permitindo a multiplicação celular. A proteína microbiana e a fração protéica que escapa da degradação ruminal são digeridas e absorvidas no restante do trato gastrointestinal do animal e representam a fonte de aminoácidos para atender às exigências protéicas do metabolismo do ruminante (RUSSELL et al., 1992; ARCURI; LOPES; CARNEIRO, 2006).

Isto demonstra que é indispensável o estudo das populações microbianas que habitam o rúmen e suas inter-relações, visando maximizar a produção do animal.

Os protozoários ruminais podem ser classificados em dois grandes grupos dependendo das suas características morfológicas, sendo eles os holotricos e o entodiniomorfos. Alternativamente, os protozoários podem ser classificados quanto ao principal substrato de ação como utilizadores de açúcares simples (solúveis), utilizadores de amido ou hidrolizadores de lignocelulose (KAMRA, 2005).

A população destes microorganismos pode contribuir com até 50% da massa microbiana presente no rúmen e possui a capacidade de controlar a população bacteriana por predação. Outros possuem ainda atividade hemicelulolítica ou celulolítica (VALADARES FILHO; PINA, 2006). As bactérias constituem a fonte preferida de nitrogênio para os protozoários (WILLIAMS, 1986). Este processo de predação reduz significativamente o número de bactérias no líquido ruminal, auxiliando na diminuição da taxa de degradação de carboidratos.

O grupo de protozoários do gênero *Entodinium* também podem se alimentar de grânulos de amido. Esta capacidade é uma grande ferramenta na redução da velocidade e intensidade de fermentação do amido, diminuindo o risco de acidose (FRANZOLIN; DEHORITY, 1996; ARCURI; LOPES; CARNEIRO, 2006). Porém, o processo digestivo destes protozoários é mais lento quando comparado ao das bactérias. Em condições de baixo pH ruminal, abaixo de 5,8 e de dietas contendo mais de 60 % de concentrado, nota-se redução da população destes microorganismos, inibindo, assim, seu potencial protetor contra evolução do quadro de acidose ruminal (FRANZOLIN; DEHORITY, 1996; GOAD et al., 1998).

A alteração destas populações causa efeito direto sobre a fermentação do conteúdo ruminal, e conseqüentemente, altera os subprodutos, podendo resultar em ganho ou prejuízo ao animal.

Os fungos podem constituir até 8% da biomassa microbiana do rúmen nos animais que recebem dietas ricas em fibras. Estes microorganismos estão envolvidos principalmente, na colonização e degradação da parede celular lignificada das forragens (AKIN; RIGSBY, 1987). A maior população fúngica no rúmen é observada em animais adultos e que ingerem maior proporção de fibras vegetais (GRENET et al., 1989). As principais espécies

encontradas em bovinos são *Neocallimastix variabilis* e a *Anaeromyces elegans*. Estes são organismos pluri e uniflagelados, respectivamente.

A ação dos fungos sobre fibras vegetais presentes no rúmen se inicia pela aderência dos zoósporos móveis aos fragmentos das forragens, invadindo os tecidos vegetais através de talos, estômatos e rizóides (BAUCHOP, 1981; AKIN, 1986). Assim diminuem a rigidez estrutural das forragens e favorecendo a ruptura das partículas de forragens, aumentando também a superfície de acesso, para posterior ação de bactérias (FONDEVILA, 1998).

Em dietas ricas em concentrado, tem sido observada redução significativa da população de fungos devido à alta taxa de passagem e ao baixo pH ruminal, o que inibe o crescimento dos zoósporos nas fibras vegetais. Quando se exclui a população de fungos do processo de fermentação *in vitro* de alimentos fibrosos, observa-se redução significativa de produção de gases (KAMRA, 2005). Isto indica que estes microrganismos têm papel importante na degradação de fibras.

3.3.3 pH ruminal

O pH ruminal exerce grande influência sobre o ambiente do rúmen por permitir ou não a proliferação de determinadas espécies de microrganismos que habitam este órgão, exercendo, assim, grande impacto sobre o perfil de fermentação ruminal, além de outras influências, como motilidade e absorção ruminal (NAGARAJA; TITGEMEYER, 2007). Quando os valores de pH decrescem de 7,0 para 5,5 e 5,0, muitos microrganismos ruminais, principalmente protozoários e bactérias celulolíticas, cessam seu crescimento, pois são sensíveis a altas concentrações de H^+ (GOAD et al., 1998; OWENS et al., 1998).

Oscilações cíclicas podem ocorrer no pH ruminal e são reflexos das atividades metabólicas no rúmen ao longo do dia. Variações ocorridas no pH são consideradas resultantes de mudanças na concentração de ácidos graxos de cadeia curta, na quantidade de saliva produzida e na velocidade de absorção dos produtos finais da fermentação (CHURCH, 1993). Goad et al. (1998), ao trabalharem com novilhas, observaram que o pH ruminal diminuiu ao redor de 5,0 a 5,5 quando se aumentou o teor de grãos na dieta à 80%.

A degradação da celulose é marcadamente inibida em um pH igual ou inferior a 6,0. Além disso, o pH ruminal pode afetar a degradação da proteína em virtude das alterações

ocorridas na atividade microbiana (RUSSELL; WILSON, 1996). Situações onde ocorre pH abaixo de 6,0 nota-se redução da produção de metano e de amônia, isto porque a microbiota amilolítica, ao fermentar os carboidratos não estruturais aumentam a proporção molar de propionato. Para aumentar a proporção de propionato há a necessidade de sequestrar íons H⁺ do meio, inviabilizando a utilização do mesmo pelas bactérias metanogênicas (VAN KESSEL; RUSSELL, 1996). A multiplicação destas bactérias também reduz a amônia livre, pois estas a utilizam como fonte de nitrogênio para a síntese de proteína microbiana (ARCURI; LOPES; CARNEIRO, 2006).

Com o aumento do pH ruminal observa-se a diminuição das concentrações totais dos AGCC, juntamente com o aumento da relação acetato:propionato e das concentrações de amônia no rúmen. Isto indica perda de eficiência energética e possível degradação de proteína de alto valor biológico (ARCURI; LOPES; CARNEIRO, 2006; VALADARES FILHO; PINA, 2006).

O abaixamento do pH ruminal ocorre, principalmente, após a ingestão rápida de alimento, devido à rápida taxa de fermentação (ORSKOV, 1986). Em dietas contendo maior teor de fibra ou carboidratos estruturais, o pH ruminal é mais alcalino e predominam bactérias celulolíticas. Ao se elevarem os teores de concentrados ou carboidratos não estruturais, o pH ruminal tende a se tornar mais ácido. Valores de pH abaixo de 6,0 inibem o crescimento de microrganismos celulolíticos, prevalecendo a população de microrganismos amilolíticos ou fermentadoras de carboidratos não estruturais (SCHWARTZKOPF-GENSWEIN et al., 2003; NUSSIO; CAMPOS; LIMA, 2006; VALADARES FILHO; PINA, 2006).

3.3.4 Taxa de passagem e consumo de matéria seca

O alimento, depois de apreendido pelo ruminante, é fragmentado pela mastigação, durante a ingestão e a ruminação, e submetido à digestão no rúmen. Os fragmentos gerados não são uniformes e variam em massa, tamanho, formato, composição química, solubilidade, flutuabilidade, densidade, entre outros. Estes fragmentos comportam-se diferentemente entre eles, quanto à passagem pelo rúmen e trato gastrointestinal (TGI). Alguns componentes como certas proteínas, podem ser rapidamente solubilizados pela saliva ou pelos fluidos ruminais e são digeridos externamente aos fragmentos. No entanto, já outros compostos como amido, somente são solubilizados pela digestão e, conseqüentemente, devem ser digeridos dentro da

estrutura do fragmento. Essa estrutura do fragmento é uma barreira física ao acesso e colonização microbiana. Estas características determinam, por fim, a velocidade com que o alimento é digerido e seus nutrientes são disponibilizados para absorção (SILVA, 2006; VALADARES FILHO; PINA, 2006).

A taxa de desaparecimento da digesta do rúmen é um dos fatores chave quanto ao consumo, que, integrado a sinais metabólicos, determinam quando o animal deve começar ou parar de comer (WESTON, 1996).

A produtividade dos ruminantes depende de sua habilidade em ingerir e extrair os nutrientes utilizáveis dos alimentos. Porém, a ingestão voluntária de matéria seca (IVMS) pode ser um fator limitante para os ruminantes ingerindo dietas à base de forragens. Esta restrição do fluxo de alimento pode ser resultado da distensão de um ou mais segmentos do trato gastrointestinal (TGI), resultando na inibição do consumo (ALLEN, 1996).

A ingestão varia inversamente com a capacidade de enchimento das forragens. A IVMS de forragem tem maior relação com o teor de fibra em detergente neutro (FDN) do que com outros parâmetros químicos (BALCH; CAMPLING, 1962; NUSSIO; CAMPOS; LIMA, 2006; SILVA, 2006). No entanto, há evidências de que apenas a FDN, como parâmetro, é inadequado, pois o efeito de saciedade dado pelo enchimento ruminal ou do TGI varia com o tamanho e fragilidade da partícula, bem como da taxa e extensão da digestão da FDN (MERTENS, 1994).

Quando há aumento na ingestão de matéria seca, há também aumento no volume ruminal, devido a ingestão concomitante de água e de secreção de saliva. Por ação direta, há também aumento da porcentagem de matéria seca do conteúdo ruminal e na taxa de passagem de partículas de alimentos. Entretanto, os efeitos da ingestão sobre a taxa de passagem de fluído são muito maiores do que sobre a taxa de passagem de partículas. O estado fisiológico em que o animal se encontra, como gestação, exercício, temperatura, frequência de alimentação e o período do dia, também determinam a IVMS, por alterar o volume ruminal ou a motilidade e, assim, mudar a taxa de passagem de partículas (OWENS; GOETSCH, 1993).

Segundo Allen (1996), a IVMS de alimentos de baixa digestibilidade está limitada pela distensão física no trato gastrintestinal. Entretanto, quando ocorre o aumento da digestibilidade, a taxa de passagem também é aumentada. Existe um dado ponto da digestibilidade em que a limitação de IVMS pelo enchimento físico no trato gastrintestinal deixa de ser o fator determinante e é substituída pela limitação energética fornecida pelo alimento (CONRAD; PRATT; HIBBS, 1964).

A taxa de passagem é determinada pela densidade do alimento, tamanho da partícula e taxa de digestão, isto porque, a passagem do alimento vai depender da sua localização no rúmen, este fator é determinado principalmente pela densidade e taxa de digestão, alimentos com maior densidade ou com maior taxa de digestão localizam-se geralmente na porção inferior do estrato ruminal próximo a entrada para o omaso. Já a capacidade do omaso de selecionar os alimentos, depende além das características anteriores, também do tamanho da partícula, partículas maiores 5 mm tendem a ficar mais tempo retidas no rúmen, pois não passam pelo esfíncter retículo-omasal (VALADARES FILHO; PINA, 2006).

Os alimentos apresentam taxas de passagem variáveis de acordo com o teor de concentrados e volumosos da dieta. Quanto maior a participação de concentrado e líquidos na dieta, maior a taxa de passagem de partículas em relação à dietas ricas em volumosos, possibilitando a maior IMS e fornecendo maior quantidade de substrato para fermentação (OWENS; GOETSCH, 1993).

Portanto, a taxa de passagem da dieta sofre influências do nível de consumo de matéria seca, composição química ou física da dieta, ingestão de água e da presença de sais ou tamponantes presentes na dieta.

3.4 ACIDOSE RUMINAL

Para atender a demanda de carne bovina, vêm se empregando grãos e seus subprodutos na produção de ruminantes. Além do mais, o surgimento de grandes unidades de confinamento no Brasil, assim como a maior disponibilidade de grãos e subprodutos, tem estimulado o uso de rações com altas proporções de concentrados, visando maximizar a produção.

A excessiva ingestão de dietas ricas em amido ou carboidratos rapidamente fermentescíveis, associada à falta de adaptação dos animais às mesmas, resulta num intenso ataque da microbiota ruminal aos carboidratos não fibrosos, resultando na hidrólise dos mesmos e liberação de glicose (BEVANS et al., 2005).

O excesso de amido e glicose livre pode levar à acidose ruminal por três principais vias. Na primeira via, bactérias antes não competitivas no rúmen se aproveitam da glicose livre e suas populações crescem rapidamente, como no caso dos *Streptococcus bovis* e

Lactobacillus sp, considerados os maiores responsáveis pela produção de ácido láctico. A segunda via é desencadeada por coliformes e outras bactérias oportunistas que atacam aminoácidos, como a *Allisonella histaminiformans*, que produzem metabólitos vaso ativos, como a histamina e endotoxinas, reduzindo a absorção de AGCCs. A última e terceira via ocorre pelo aumento da osmolaridade do líquido ruminal devido ao aumento da concentração de glicose no mesmo, inibindo a absorção dos AGCCs pela parede ruminal (OWENS et al., 1998).

Todas as vias citadas provavelmente ocorrem simultaneamente, promovendo o acúmulo de ácidos no rúmen e, quando o pH do meio encontra-se abaixo de 5,8, pode se caracterizar como um quadro de acidose ruminal.

O pH ruminal, como já descrito, é um dos principais fatores que afetam o crescimento microbiano que, juntamente com o aumento da osmolaridade do meio e a falta de tamponamento, levam a um desequilíbrio entre as espécies microbianas presentes no rúmen. Este desequilíbrio pode abrir portas para microrganismos oportunistas que se estabelecem em novos nichos e passam a dominar o processo fermentativo, resultando na produção de mais ácidos.

A acidose ruminal pode ser classificada quanto à sua intensidade, podendo ser aguda quando o pH ruminal apresenta-se abaixo de 5,0 ou subaguda quando o pH varia entre 5,8 e 5,5. Os valores de pH também devem estar acompanhados de sinais clínicos para que se caracterize melhor a intensidade do quadro. A acidose aguda é mais comum em animais confinados submetidos a dietas com alta proporção de concentrados de forma abrupta; já a forma subaguda é mais comum em vacas leiteiras que são submetidas a altos teores de concentrados devido s suas exigências para a produção de leite (OWENS et al., 1998; GALYEAN; RIVERA, 2003).

O lactato é um ácido orgânico dez vezes mais potente que os AGCCs, e é originado pela fermentação da glicose por microorganismos resistentes ao baixo pH. Valores de pH ruminal próximos a 5,5 constituem condição ideal para o crescimento destes microorganismos. Ao contrário, as bactérias utilizadoras do lactato são sensíveis a esta faixa de pH baixo. Portanto, em quadros onde o pH encontra-se abaixo de 5,5, é esperado o acúmulo do lactato.

Na forma aguda, há acúmulo significativo de lactato, aumento da osmolaridade ruminal e da concentração de glicose no líquido; enquanto que na forma subaguda o acúmulo de lactato no rúmen é pequeno. Porém, neste caso de acidose subaguda, o que provoca a queda de pH é o acúmulo excessivo de AGCCs. Em revisão de literatura, sobre acidose em

gado confinado, foi relatado que a ingesta ruminal se torna hipertônica pela alta presença de ácido láctico e que, durante todo o processo acidótico, eleva-se sua concentração molar no rúmen de 0,08 para 89,2 mM. Assim, eleva-se a osmolaridade do conteúdo ruminal de 255 para 401 mM, causando perda de água do plasma para o rúmen, o que leva o animal à desidratação (HUBER, 1976).

Animais submetidos a quadros de acidose crônica podem apresentar lesões do epitélio ruminal, principalmente paraqueratose das papilas, resultando na redução da capacidade absorptiva, como também na perda da barreira protetora contra a translocação de toxinas e bactérias ruminais para a circulação do animal, como *Fusobacterium necrophorum*, *Actinomyces piogenes* e endotoxinas, levando à doenças secundárias mais comuns à acidose ruminal, como o abscesso hepático e laminites (NAGARAJA; CHENGAPPA, 1998).

Para se tentar controlar este intenso processo fermentativo e reduzir seus efeitos deletérios, podem ser utilizados moduladores de fermentação, como antibióticos e ionóforos.

3.5 IONÓFOROS

A principal tentativa dos nutricionistas de ruminantes é tentar modular e controlar o processo de fermentação ruminal, visando sempre maximizar a produção, tanto de carne, como de leite.

Na tentativa de maximizar a produção, faz-se uso de dietas com altas proporções de concentrados e alta densidade energética associada a um curto período de adaptação para se obter maior eficiência energética com o incremento na produção de propionato. Porém, isto pode acarretar distúrbios digestivos em ruminantes, pois o processo fermentativo depende da microbiota ruminal e esta necessita de um tempo de adaptação à nova dieta. Para se evitar estes distúrbios, reduzir a proteólise e deaminação de proteínas de alto valor biológico, e por fim, tentar reduzir a produção de metano, há a necessidade de se manipular as dietas e muitas vezes se utilizar de aditivos alimentares que modificam o padrão de fermentação ruminal (BERGEN; BATES, 1984).

A princípio, os ionóforos são antibióticos bacteriostáticos e recebem esta classificação pela capacidade de transportar íons, que é dada por formarem um complexo lipossolúvel com cátions o que permite a passagem através de membranas lipídicas das bactérias ruminais (EIFERT et al., 2005). São produzidos a partir de cepas de *Streptomyces* sp e o mais

conhecido deles é a monensina. Esta possui ação inibitória principalmente sobre microrganismos gram-positivos, pois sua parede celular é mais simples que as das gram-negativas. O mecanismo de ação se inicia pela ligação da monensina à parede celular dos microrganismos. Ao se ligar, o aditivo facilita a passagem para o meio extracelular de Na^+ e K^+ e torna a membrana permeável ao íon H^+ . A partir deste ponto ocorre influxo deste íon para o citoplasma bacteriano. O microrganismo responde à queda do pH citoplasmático ativando uma ATPase, para a remoção de H^+ , gerando grande consumo de energia pelo microrganismo, reduzindo a sua capacidade de multiplicação ou levando-o a morte. Este efeito seletivo é dose dependente, mas doses excessivas podem levar à inibição também de gram-negativos, protozoários e fungos (MORAIS; BERCHIELLI; REIS, 2006).

Segundo Bergen e Bates (1984), os ionóforos aumentam a eficiência de produção por aumentar a eficiência do metabolismo energético no rúmen, aumentar o metabolismo de nitrogênio no ambiente ruminal e reduzir o aparecimento das desordens digestivas em confinamentos, como a acidose ruminal e timpanismo.

O aumento da eficiência energética no rúmen pela ação da monensina é causada pelo aumento da proporção de propionato e redução das proporções de acetato e butirato, ácidos graxos, estes, associados à maior produção de metano no rúmen, que consiste em um dreno energético. Este evento torna a fermentação ruminal mais eficiente pela maior retenção de íons de hidrogênio e, conseqüentemente, maior produção de propionato (JOYNER et al., 1979; THORNTON; OWENS, 1981).

Porém, a redução do metano pelos ionóforos pode explicar somente 3 % do ganho de eficiência energética obtido, pois pode reduzir em até 30% o metano. Porém, este não compromete mais que 12% da energia bruta da dieta (BLAXTER, 1962; RUSSELL; STROBEL, 1989).

3.6 ANTICORPOS POLICLONAIS AVIÁRIOS

O processo da resposta imune específica a um antígeno segue os seguintes princípios: ativação das células B, que produzem os anticorpos; ativação das células T, responsáveis pela resposta citotóxica ao antígeno; ativação das células Th (T helper), responsáveis pela

estimulação das células B e T. A resposta antígeno-anticorpo é mantida pela comunicação intercelular, pelo contato célula-célula mediado pelas citosinas (HAU; COENRAAD, 2005).

Para a produção de anticorpos policlonais utilizados como aditivos, galinhas são imunizadas via intramuscular contra antígenos específicos inativados. O sistema imune da ave reage, produzindo anticorpos específicos (IgY) para cada antígeno. Quando o ovo ainda está no ovário, a galinha transfere suas imunoglobulinas séricas Y para a gema do ovo. À medida que o ovo passa pelo oviduto, os anticorpos IgM e IgA são incorporados à albumina (SCHADE; ERHARD, 2001). Desta maneira, as imunoglobulinas Y podem ser extraídas da gema do ovo, sendo que a técnica de extração mais utilizada envolve a precipitação protéica com sulfato de amônia.

Este método de produção de anticorpos foi avaliado pelo Centro Europeu de Validação de Métodos Alternativos (SCHADE et al., 1996), órgão que promove a aceitação científica e regulamenta métodos laboratoriais alternativos, com fins de reduzir ou substituir a utilização de animais de laboratório. Isto porque uma galinha produz em média 5 - 7 ovos por semana, reduzindo a necessidade de sangria, um fator estressante aos animais e até então imprescindível para obtenção dos anticorpos.

As imunoglobulinas Y, obtidas da gema de ovos de galinhas desafiadas aos antígenos alvo, possuem características fundamentais para atuação no ambiente ruminal, como resistência a pH até 4,5, temperatura de 120°C, à proteólise e, mesmo após sua quebra, não perdem o sítio de ligação (informação verbal)¹. Acredita-se que esta resistência à proteólise esteja relacionada à presença de ligações dissulfeto na composição das imunoglobulinas, mais difíceis de serem rompidas pelas enzimas proteolíticas (SANTOS, 2006).

Cada preparado de anticorpos policlonais foi desenvolvido para agir contra microrganismos ruminais específicos. A adição de preparados de anticorpos policlonais (PAP) contra *Streptococcus bovis* (PAP-Sb) ou *Fusobacterium necrophorum* (PAP-Fn) foi eficaz na redução das concentrações ruminais das bactérias alvo. Porém, a concentração de *F. necrophorum* não foi alterada pelo uso de PAP-Sb e a concentração de *S. bovis* também não foi alterada pela utilização de PAPFn, demonstrando a alta especificidade dos PAPs às bactérias alvo (DILORENZO; DIEZ-GONZALEZ; DICOSTANZO, 2006; DILORENZO et al., 2008). Já Blanch et al. (2009), não observaram diferenças entre o grupo tratado com PAP-Sb e o grupo controle avaliado pela técnica de PCR em tempo real. A concentração de DNA

¹ Informação fornecida por Dicostanzo, A. do **Departamento de Ciência Animal da Univesidade de Minnesota**. St. Paul: Univesidade de Minnesota no ano de 2007.

da bactéria produtora de lactato (*S. bovis*) foi numericamente mais elevada no grupo controle em relação ao PAP-Sb ($91,6 \pm 54$ e $49,5 \pm 11$ ng/mL no fluido ruminal, respectivamente). Porém, esta diferença não foi significativa e apresentou grande variação entre animais, podendo ser uma característica do animal e não do aditivo.

Otero (2008) utilizou dois diferentes modificadores ruminais (monensina e PAP contra *Streptococcus bovis*, *Fusobacterium necrophorum* e cepas de bactérias proteolíticas) e 3 fontes energéticas distintas. O autor descreveu que não foi possível atribuir um padrão na estrutura de amplificação das comunidades *Bacteria* ou *Archaea* do conteúdo ruminal avaliado pela técnica da eletroforese em gel com gradiente de desnaturação (DGGE). Resultado semelhante foi encontrado por Blanch et al. (2009).

Quanto à população de protozoários, o PAP contra *Streptococcus bovis*, *Fusobacterium necrophorum* e cepas de bactérias proteolíticas aumentou em 93,65% a contagem relativa de *Isotricha* em relação ao grupo controle, às 4 horas após a alimentação, independentemente das dietas utilizadas (OTERO, 2008). O aumento de *Isotricha* associado ao PAP pode demonstrar a ação deste produto na diminuição do número de bactérias responsáveis pela acidificação do ambiente, uma vez que o baixo pH está comumente associado à defaunação ruminal (VANCE et al., 1972; LYLE et al., 1981).

Em contrapartida, Blanch et al. (2009) não observaram diferença na contagem de protozoários entre o grupo tratado com PAP-Sb e o grupo controle. O mesmo foi observado por Bastos (2009) que testou diferentes dosagens de um preparado de anticorpos policlonais produzidos contra *Streptococcus bovis*, *Fusobacterium necrophorum* e cepas de bactérias proteolíticas.

A diversidade microbiana ruminal é determinada pelas características do rúmen (temperatura, pressão osmótica e pH), tipo de nutriente disponível, além de interações, como predação, mutualismo e antibiose, que ocorrem entre os microrganismos ruminais. O impacto da retirada de uma ou mais espécies bacterianas do ambiente ruminal é desconhecido (ARCURI; LOPES; CARNEIRO, 2006).

As bactérias ruminais quando em culturas puras produzem produtos que não são observados em culturas mistas, porque a relação sintrófica entre as espécies envolve uma dependência de metabolismo e alimentação cruzada (VAN SOEST, 1994).

A bactéria *Streptococcus bovis*, uma das principais bactérias-alvo do preparado de anticorpos policlonais, é classificada como fermentadora de carboidratos não-estruturais, principalmente amido e açúcares. São anaeróbias facultativas de curto tempo de geração (máximo 24 min). É uma bactéria oportunista que apenas se torna uma espécie dominante se

grandes quantidades de carboidratos solúveis são adicionados à dieta (RUSSELL , 2002). Porém, se esta bactéria for extinta do ambiente ruminal, seu nicho poderá ser ocupado por espécies que disputem os mesmos substratos para fermentação, como *Bacteroides rumenicola*, *Selenomonas ruminantum* ou, ainda, protozoários, e os metabólitos resultantes da fermentação podem ser diferentes, acarretando novas alterações no ambiente ruminal.

3.6.1 Efeitos do PAP sobre a fermentação ruminal

O PAP apresentou resultados variados em diversas condições experimentais, e a variável pH ruminal não foi influenciada pela sua utilização nos trabalhos de (DAHLEN et al., 2003; DILORENZO et al., 2008; BLANCH et al., 2009).

Bastos (2009) utilizou diferentes doses (0; 1,5; 3,0 e 4,5 g/ani/dia) de um PAP na apresentação pó produzido contra *S. bovis*, *F. necrophorum* e cepas de bactérias proteolíticas e não observou alteração no pH ruminal de vacas fistuladas alimentadas com dietas com alta proporção de concentrados.

Já em um experimento com vacas leiteiras, o preparado de anticorpos policlonais foi efetivo em manter o pH ruminal em animais em início de lactação, quando comparado ao grupo controle (DILORENZO et al., 2007). Este resultado também foi observado por Marino (2008). Que, ao trabalhar com vacas canuladas no rúmen alimentadas com dietas com alta proporção de concentrados, sendo estas compostas por três fontes energéticas diferentes (milho seco moído, silagem de grão úmido de milho e polpa cítrica), observou que o PAP na apresentação líquida contra *S. bovis*, *F. necrophorum* e cepas de bactérias proteolíticas (*Clostridium stricklandi*, *Clostridium aminophilum* e *Peptostreptococcus anaerobius*) foi tão eficaz quanto a monensina em manter o pH ruminal às 4 h após a alimentação.

A inclusão dos PAPs nas dietas não alterou a concentração total de ácidos graxos de cadeia curta, bem como a proporção molar dos ácidos acético, propiônico e butírico (DAHLEN et al., 2003; DILORENZO et al., 2008; MARINO, 2008; BASTOS, 2009; BLANCH et al., 2009).

A retirada de algumas espécies bacterianas do ambiente ruminal pode não ser suficiente para alterar a dinâmica de produção dos ácidos graxos de cadeia curta. O mesmo foi observado para a concentração de ácido láctico. Nos experimentos citados, as concentrações de

ácido láctico observadas foram baixas ou não detectáveis. As baixas concentrações de lactato podem estar relacionadas com as variações diárias de pH ruminal observadas (5,70 - 6,27), pois somente quando o pH ruminal diminui abaixo de 5,5 é que as bactérias utilizadoras de lactato são inibidas e ocorre o acúmulo deste ácido (NAGARAJA; TITGEMEYER, 2007).

Apesar de alguns anticorpos policlonais agirem contra bactérias proteolíticas, a concentração ruminal de nitrogênio amoniacal não foi alterada com a sua utilização (DAHLEN et al., 2003; DILORENZO et al., 2008; MARINO, 2008; BASTOS, 2009; BLANCH et al., 2009).

Pacheco (2010) avaliou o preparado de anticorpos policlonais contra as bactérias ruminais precursoras de distúrbios nutricionais (*Streptococcus bovis*, *Lactobacillus* sp. e *Fusobacterium necrophorum*), como aditivo alimentar preventivo à acidose em bovinos. Foram utilizadas vacas canuladas no rúmen que receberam uma dieta desafio com aproximadamente 74% de concentrado, com o intuito de causar acidose ruminal. Não foi observado efeito de tratamentos ($P > 0.05$) para a ingestão de matéria seca. Os animais tratados com monensina apresentaram pH mais elevado que os demais tratamentos. O nível de lactato ruminal permaneceu baixo (0.23 mM), mesmo após o desafio. A concentração de N-amoniacal do grupo controle (CTL), que não recebeu aditivos, foi menor, comparado aos tratados com monensina (MON) e o preparado de anticorpos policlonais (PAP). Os tratamentos não influenciaram a proporção molar de acetato. Ambos os tratamentos foram eficazes em diminuir a proporção molar de butirato. A acidose gerada não foi láctica e, assim, talvez não tenham sido atingidas as condições para o PAP agir sobre as bactérias produtoras de lactato.

3.6.2 Efeitos sobre a digestão

Otero (2008) estudou os efeitos da administração de dois modificadores de fermentação ruminal, PAP ou monensina, em três tipos de dietas, segundo o principal ingrediente energético das mesmas: milho seco moído, silagem de grão úmido ou polpa cítrica e observou que nas dietas com silagem de milho úmido, a degradabilidade potencial (Dp) da FDN da cana-de açúcar foi três vezes maior para vacas que receberam PAP do que vacas do tratamento monensina. Este resultado é muito interessante, pois o modificador de fermentação

ruminal mais utilizado atualmente, a monensina, pode estar associada à queda na degradabilidade da FDN de alimentos fibrosos (NEWBOLD; WALLACE; MCKAIN, 1990; KATSUKI et al., 2006; RODRIGUES et al., 2007). Neste caso o PAP poderia ser uma alternativa interessante à monensina, principalmente em dietas contendo silagem de grão úmido. Em contrapartida, em dietas com milho seco ou polpa cítrica, a Dp da FDN da cana se mostrou muito semelhante entre PAP e monensina, não havendo significativas alterações desta variável nestas dietas.

O utilização do PAP mesmo contendo anticorpos contra bactérias proteolíticas não resultou em nenhum efeito sobre a degradabilidade *in situ* da proteína bruta do farelo de soja, fonte esta utilizada por Otero (2008).

Marino et al. (2011) observou diminuição da digestibilidade da FDN, FDA e amido, além do NDT com a utilização do PAP. Porém, não há outros relatos na literatura a respeito dos efeitos da administração de anticorpos policlonais sobre a digestibilidade *in vivo*. Uma hipótese para a diminuição na digestibilidade das frações fibrosas da dieta com a utilização do PAP seria sua atuação contra as bactérias proteolíticas. Sabe-se que as bactérias celulolíticas necessitam de amônia para degradar a fibra e uma interferência na disponibilidade de nitrogênio amoniacal poderia estar relacionada com a diminuição da digestibilidade destas frações.

A especificidade do PAP contra outros tipos de bactérias como *S. bovis* e *F. necrophorum* foi demonstrada por DiLorenzo et al. (2006). Onde a populações destes agentes foi reduzida com o uso do PAP.

3.6.3 Efeitos em gado de corte

Espera-se que animais em engorda tenham melhor desempenho se não forem acometidos por acidose subaguda que provoque flutuações no consumo, diminuindo o ganho de peso e aumentando os dias necessários para o abate. Nesta linha de raciocínio, acredita-se que o controle do *Streptococcus bovis*, bactéria produtora de ácido lático, pode contribuir para manter um ambiente ruminal mais estável, contribuindo, assim, para o desempenho animal.

(DAHLEN et al., 2004) observaram que novilhos que receberam PAP produzido contra *Streptococcus bovis* (PAP-Sb) ou *Fusobacterium necrophorum* (PAP-Fn) tiveram

maiores pesos finais ao abate quando comparados ao grupo controle. Os animais alimentados com a dieta PAP-Sb obtiveram melhor eficiência alimentar do que os alimentados com as dietas controle ou PAP-Sb + PAP-Fn. As carcaças dos novilhos com a dieta PAP-Sb foram mais pesadas, com maior camada de gordura subcutânea e melhores classificações ao abate, quando comparadas às carcaças dos animais recebendo as dietas com ambos PAPs (Sb e Fn) ou controle.

(MILLEN et al., 2007) relataram que animais suplementados com anticorpos apresentaram menor incidência de rumenites quando comparado aos animais suplementados com monensina, porém sem diferença significativa quanto ao desempenho em confinamento.

O incremento na saúde das papilas ruminais permite maior área de absorção de ácidos graxos voláteis, promovendo, assim, a saúde e o desempenho do animal com menores riscos de ocorrência de quadros de acidose e abscessos hepáticos. A severidade dos abscessos hepáticos foi diminuída com a utilização de um PAP contra *F. necrophorum*, bactéria envolvida com o desenvolvimento destes abscessos (DILORENZO et al., 2008).

Sarti et al. (2009) observaram que a inclusão na dieta do PAP contra as bactérias *S. bovis*, *F. necrophorum*, *Lactobacillus spp.*, *E. coli* e endotoxinas não melhorou a superfície de absorção da parede ruminal; no entanto, a suplementação com monensina sódica mostrou ser efetiva em aumentar a superfície de absorção por cm² de parede do rúmen quando foram comparados aos animais que não receberam monesina (24,92 vs. 19,45 cm²). A maior superfície de absorção do epitélio ruminal pode indicar maior absorção de ácidos graxos de cadeia curta e ainda menor extensão de lesões (rumenites).

Da mesma forma, de acordo com (FOSSA et al., 2008), bovinos jovens com diferentes graus de sangue Zebu alimentados com PAP (contra as bactérias ruminais *S. bovis*, *F. necrophorum*, *E. coli* e várias cepas de bactérias proteolíticas) ou monensina sódica apresentaram algumas similaridades no perfil de ácidos graxos da gordura subcutânea do músculo *Longissimus*. Foram observados resultados similares para os ácidos mirístico (C14:0), esteárico (C18:0), oléico (C18:1), linoléico (C18:2) e linolênico (C18:3). No entanto, para os ácidos palmítico (C16:0) e margárico (C17:0), foram encontradas maiores concentrações dos mesmos na gordura subcutânea de animais suplementados com monensina.

Millen et al. (2007), ao testarem um PAP contra as bactérias ruminais *S. bovis*, *F. necrophorum*, *E. coli* e várias cepas de bactérias proteolíticas sobre o desempenho de bovinos jovens com diferentes graus de sangue Zebu, relataram que animais suplementados com PAP apresentaram ganho de peso diário (1,35 vs. 1,31 kg), ingestão de matéria seca em quilos (8,37 vs. 8,14 kg) e eficiência alimentar (0,159 vs. 0,160) similares aos de animais

suplementados com monensina sódica. Já em porcentagem do peso vivo, animais suplementados com anticorpos policlonais aviários consumiram mais que aqueles suplementados com monensina sódica (2,20 vs. 2,14%). Os dados de Millen et al. (2009), em estudo similar, concordam com o experimento anterior, onde nenhuma diferença em ganho de peso diário ou conversão alimentar foi observada, com maiores ingestões de matéria seca para bovinos que receberam PAP comparados àqueles que foram suplementados com monensina sódica. O aumento da ingestão de matéria seca devido ao uso de PAP na alimentação de bovinos alimentados com dietas de alta energia tem sido relatado por diversos autores (SHU et al., 1999; GILL; SHU; LENG, 2000; SHU et al., 2000).

No estudo de Barducci et al. (2009) os animais suplementados com monensina apresentaram melhor eficiência alimentar (0,180 vs. 0,173 kg/kg), maior ganho de peso diário (1,68 vs. 1,57 kg) e peso de carcaça quente (248,46 vs. 240,20 kg) que aqueles que não receberam monensina. Por outro lado, a adição de PAP na dieta não melhorou o desempenho dos bovinos confinados e nem afetou negativamente a ingestão de matéria seca (9,16 vs. 9,08 kg) ou o rendimento de carcaça (52,38 vs. 52,12 %).

3.6.4 Anticorpos policlonais x Comportamento Ingestivo

Animais suplementados com monensina apresentaram maior número de refeições ao dia e menor tempo de alimentação por refeição quando comparados a animais recebendo PAP produzido contra as bactérias ruminais *S. bovis*, *F. necrophorum*, *E. coli* e várias cepas de bactérias proteolíticas, indicando que, como a ingestão de matéria seca por refeição foi numericamente menor, animais suplementados com monensina foram mais vezes ao cocho, aumentando, com isso, a taxa de passagem da digesta do rúmen para o omaso e, conseqüentemente, aumentando o tempo de ruminação desses animais, o qual foi observado apenas no período de terminação (MARIANI, 2010).

O menor tempo de alimentação por refeição e o maior número de refeições por dia em bovinos recebendo monensina devem estar ligados à reduzida variação na ingestão de matéria seca. Burrin, Stock e Britton, (1988) e Stock et al. (1995) reportaram reduzida variação na ingestão de matéria seca quando monensina foi fornecida a bovinos confinados. No entanto, no mesmo estudo de Mariani et al. (2009), não foram encontradas diferenças para eficiências

de alimentação e ruminação da matéria seca e do FDN quando animais que receberam PAP foram comparados àqueles suplementados com monensina sódica.

3.6.5 Efeitos em gado leiteiro

As informações dos efeitos do PAP sobre o desempenho produtivo ou composição do leite em vacas leiteiras são limitadas. Quando vacas leiteiras foram alimentadas com PAP produzidos contra bactérias proteolíticas ruminais *Clostridium stricklandi*, *Clostridium aminophilum* e *Peptostreptococcus anaerobius*, a produção leiteira dos animais em início (<140 dias) ou estágio avançado (>140 dias) de lactação não foi afetada pela utilização dos anticorpos. Ainda, a concentração de gordura e proteína no leite, bem como a contagem de células somáticas ou a quantidade de uréia no leite, não foram alteradas pela utilização deste aditivo. Já a concentração de sólidos no leite foi reduzida (DAHLEN et al., 2003).

Os resultados já obtidos com o PAP demonstram o potencial dos anticorpos policlonais no controle de populações bacterianas ruminais. Sua metodologia de produção é conceituada e aprovada pela menor necessidade de animais de laboratório e exposição dos mesmos a condições de estresse. O uso da imunização passiva oral é uma tecnologia que surge como alternativa eficaz para a produção de novos aditivos alimentares.

3.7 ADAPTAÇÃO

O processo de adaptação à dietas é um dos fatores mais importantes na produção bovinos para corte ou leite. Isto por que a produção do animal é totalmente dependente dos produtos da fermentação ruminal e dos nutrientes que são digeridos e absorvidos ao longo do trato gastrointestinal (TGI).

A fermentação ruminal é determinada por vários fatores já descritos e entre os principais, estão a microbiota e as dietas. A microbiota ruminal em um animal adaptado, encontra-se em equilíbrio, onde não há produção excessiva de compostos nocivos ao animal e à própria microbiota. Porém, a alteração da dieta, com incremento de concentrados, faz com

que haja excesso de substrato fermentescível para uma dada população de microorganismos e déficit para outra gama de microrganismos, pois existem populações especializadas em fermentar determinados substratos. Com isto, passa a ocorrer uma alteração das populações bacterianas, de protozoários e de fungos até que um novo equilíbrio seja alcançado. Este processo é chamado de adaptação (OWENS; GOETSCH, 1993; OWENS et al., 1998; BEVANS et al., 2005; VALADARES FILHO; PINA, 2006).

Uma das principais características do sistema de criação de bovinos de corte no Brasil é a origem do animal utilizado na reposição dos animais de confinamento. Estes animais provêm, em sua grande maioria de sistemas de criação extensiva, onde quase a totalidade de sua dieta consiste em forragem (SANTOS; BALSALOBRE, 2000).

Visando obter altos índices produtivos, os confinadores de bovinos de corte vêm utilizando estratégias nutricionais que prezam pelo uso de dietas de rápida adaptação e com altos teores de concentrados, entre 60 e 80% de concentrados na dieta total, na tentativa de aproveitar ao máximo o ganho compensatório (MILLEN et al., 2009). Porém, isto resulta diretamente no fornecimento de dietas com grande disponibilidade de carboidratos prontamente fermentescíveis de uma forma abrupta. A transição abrupta de dietas à base de forragem para dietas com altos teores de carboidratos prontamente fermentescíveis está associada a quadros de distúrbios digestivos em ruminantes, sendo o principal deles a acidose ruminal (OWENS et al., 1998; BEVANS et al., 2005).

A adaptação tem o papel imprescindível de reduzir os efeitos deletérios da mudança abrupta de dietas e consiste em fornecer teores gradativos de carboidratos fermentescíveis para que, tanto a microbiota ruminal aperfeiçoe as suas rotas metabólicas e altere as populações de microorganismos, como também o animal possa aumentar a sua capacidade de absorção de AGCC pela parede ruminal e de digestão e absorção pós-ruminal dos carboidratos que escapam da fermentação ruminal (HUNTINGTON, 1997; BEVANS et al., 2005).

O ruminante pode ser considerado adaptado às dietas de alto teor de concentrados ou carboidratos prontamente fermentescíveis, quando o mesmo, é capaz de consumir o montante esperado destas dietas sem que apresente sinais clínicos de desordens digestivas. Ao passo que se esta mesma dieta fosse administrada em animais não adaptados causaria tais desordens (COUNETTE; PRINS, 1981).

3.7.1 Tipos de adaptação às dietas com alta proporção de carboidratos fermentescíveis

O tempo gasto no início da adaptação dos bovinos à dieta de terminação é um período crítico, no qual as práticas de manejo nutricional podem promover ou prejudicar o desempenho e saúde futura destes animais (BROWN; PONCE; PULIKANTI, 2006).

O método de adaptação mais utilizado por confinadores no Brasil e Estados Unidos da América é o de múltiplas dietas, adaptação de dietas em “escada” ou gradual, no qual os animais recebem teores crescentes de concentrado e permanecem em média 7 dias em cada nível da “escada”, ou seja, em cada dieta. Os teores finais de concentrados nas dietas de confinamento estão entre 70 e 90% (VASCONCELOS; GALYEAN, 2007; MILLEN et al., 2009).

No Brasil, o segundo tipo de adaptação mais utilizado é o de limitação da quantidade de alimento fornecida, que também pode ser entendida como uma restrição de energia fornecida aos animais para se evitar processos fermentativos muito intensos (MILLEN et al., 2009). Nestes protocolos restritivos, utiliza-se a mesma dieta final, restringindo-a de acordo com o peso vivo ou a energia líquida de manutenção (NEm) do animal. Choat et al. (2002) forneceram 1,25% do peso vivo de uma dieta com base em 90% de concentrados e acrescentaram 0,230 kg/d de concentrados ao dia, caso o animal não deixasse sobras, e observaram que estes animais apresentaram menor IMS e ganho inferior nos primeiros 28 dias; porém, sem afetar a eficiência de ganho.

Os confinadores, tanto brasileiros como americanos, apresentam similaridade muito grande quanto aos tipos de adaptação utilizados, quanto aos teores de concentrado na dieta final e também no teor de forragem na dieta inicial que varia entre 27,5 e 54,7% (VASCONCELOS; GALYEAN, 2007; MILLEN et al., 2009).

Considerando o tempo médio de 17 dias para se atingir a dieta final, os nutricionistas estão próximos do indicado por Brown, Ponce e Pulikanti (2006) de que se deve evitar protocolos de adaptação que elevem o teor de concentrado da dieta de 55% para 90% em menos de 14 dias. Isto resultaria em distúrbios digestivos onerosos ao animal e ao produtor.

A transição entre as dietas torna-se menos nociva se for oferecido aos animais, no primeiro dia de cada nova dieta o mesmo montante de energia fornecido no último dia da dieta anterior (BARTLE; PRESTON, 1992). Estes autores utilizaram diferentes teores de energia em dietas, 2,1, 2,3, 2,5, e 2,7 vezes a energia líquida de manutenção (NEm)

considerando o peso vivo inicial dos animais, sendo a energia o fator a ser controlado durante a adaptação. Os autores observaram que, nos primeiros 28 dias de confinamento, os animais alimentados com 2,1 x NEm consumiram 6% menos MS. Porém, tiveram maior eficiência em ganhar peso em comparação aos animais dos outros grupos, em torno de 8,5%. Ao abate, notaram que os animais tratados com 2,1 x NEm, além de apresentarem maior eficiência de ganho durante todo o período de confinamento, também apresentaram maior número de papilas ruminais por cm², o que foi associado a menores distúrbios ruminais e maior capacidade absorptiva.

Em outro estudo, foi realizada uma comparação entre adaptação gradual e restritiva à dietas de alto concentrado, utilizando bezerros, sendo a dieta final com o mesmo teor de concentrados, ou seja, 92,5% para ambos os grupos. A adaptação gradual se caracterizou por fornecer dietas *ad libitum* com teores crescentes de concentrado, acrescido diariamente de 0,450 kg/animal/dia, caso não houvesse sobras no cocho. Já na adaptação restritiva, os animais iniciavam com o recebimento de 1,25% do peso vivo da dieta final acrescidos de 0,23 kg/ animal/dia, até a ingestão *ad libitum* com 92,5% de concentrados (CHOAT et al., 2002). Neste estudo, os animais submetidos à adaptação gradual apresentaram maior ganho de peso diário. O grupo com restrição apresentou IMS correspondente a 69,7% da ingestão apresentada pelos animais adaptados gradualmente até o dia 28 e somente alcançaram IMS semelhante entre os dias 29 e 56 dias, demonstrando que o método de adaptação pode ter induzido distúrbios digestivos e retardado o desempenho dos animais.

Existem muitos tipos de estratégias de adaptação às dietas de alto concentrado e estas dependem da experiência prévia do nutricionista, da resposta dos animais durante o processo e da disponibilidade de alimentos e aditivos.

3.7.2 Tolerância individual aos carboidratos

A quantidade de carboidratos consumidos por um animal é variável, e depende da habilidade ou capacidade do mesmo digerir e fermentar, os substratos e absorver os produtos da fermentação dos mesmos (BROWN; PONCE; PULIKANTI, 2006).

Em estudo desenvolvido por Dougherty et al.² (1975 apud NAGARAJA; TITGEMEYER, 2007), os autores forneceram 70 gramas por quilo de peso vivo, de grãos de milho e aveia moídos, para induzir acidose ruminal aguda, em animais não adaptados, à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis. As reações apresentadas pelos animais foram variadas, alguns animais apresentaram apenas desordens digestivas leves como diarreia, enquanto outros apresentaram quadro clássico de acidose aguda, evoluindo até mesmo para o óbito. Estes resultados demonstram que animais de raça e pesos semelhantes apresentam tolerância variável ao excesso de carboidratos fermentescíveis.

A forma de adaptação também auxilia na tolerância ao excesso de carboidratos fermentescíveis da dieta. Bevans et al. (2005) utilizaram 12 novilhas mestiças, que foram divididas em dois grupos, sendo um adaptado rapidamente e o outro adaptado gradualmente a uma dieta final com 90% de concentrados. Quando os animais foram submetidos à dieta final, o grupo com adaptação rápida apresentou três casos de acidose aguda. Em contrapartida, o outro grupo não apresentou nenhum caso.

O rúmen praticamente não possui limite para fermentar carboidratos. Os processos de distúrbios digestivos estão mais associados à velocidade de fermentação e a taxa de absorção dos AGCCs. Processos fermentativos intensos e rápidos, comuns quando há a ingestão de carboidratos rapidamente fermentescíveis, associados à lenta taxa de absorção e passagem dos AGCCs, resulta no acúmulo dos mesmos no conteúdo ruminal e reduzem o pH do meio (OWENS et al., 1998; NAGARAJA; TITGEMEYER, 2007).

O processamento da fonte de carboidrato tem grande influência neste ponto, pois grãos processados intensamente têm maior potencial fermentativo e contribuem para os distúrbios, como a acidose, timpanismo e abscessos hepáticos (HUNTINGTON, 1997).

3.7.3 pH ruminal durante a adaptação

A média de pH ruminal encontrada nos confinamentos que utilizam dietas de alto concentrado varia entre 5,6 e 6,2. Esta faixa de pH ruminal permite o desenvolvimento de uma microbiota capaz de utilizar o lactato, reduzindo o risco de acidose e permite a

²DOUGHERTY, R.W.; COBURN, K. S.; COOK, H. M.; ALLISON, M. J. A preliminary study of the appearance of endotoxin in the circulatory system of sheep and cattle after induced grain engorgement. *American Journal of Veterinary Research*, v.36, n. 6, p.831-832. 1975

fermentação por microrganismos produtores de acetato e a presença de protozoários (FULTON; KLOPFENSTEIN; BRITTON, et al., 1979b; SCHWARTZKOPF-GENSWEIN et al., 2003).

Em um estudo de transição de dietas de 40% para 90% de concentrados, realizado por Bevens et al. (2005), foram utilizados dois protocolos de adaptação, um rápido e outro gradual. O método rápido consistiu de apenas uma dieta intermediária com 65% de concentrados e quatro dias para atingir os 90%; o gradual consistiu de cinco dietas intermediárias com teores de concentrados variando de 48,0% a 81,7%, sendo que cada uma destas foi administrada por três dias. Os valores médios de pH observados após a introdução de 90% de concentrados foram semelhantes para ambos os grupos, já os valores mínimos obtidos foram 5,01 para o método rápido e 5,1 para a adaptação gradual. O pH ruminal nesta faixa pode indicar um quadro de acidose aguda. Porém, para se classificar a acidose deve-se, juntamente com a avaliação dos sinais clínicos, avaliar o tempo em que o pH ruminal permaneceu abaixo de 5,2 e a concentração de lactato ruminal, que num quadro de acidose aguda geralmente está acima de 50mM. O grupo com adaptação rápida apresentou tempo maior de recuperação de pH ruminal às 3h após a alimentação comparado ao grupo com adaptação gradual. O grupo com adaptação rápida também apresentou maior variação de pH ao longo das primeiras 22h de inclusão de 90% de concentrados. Evento, este, que contribui para a ocorrência de acidose aguda (OWENS et al., 1998; BEVANS et al., 2005).

Lyle et al. (1981) utilizaram quatro dietas num sistema de adaptação gradual, variando de 100% de forragem a 60% de concentrado contendo milho grão inteiro como dieta final, adicionadas de 660 ppm de monensina sódica e relataram redução no pH ruminal de 6,77 durante a dieta de 100% de forragem para 5,90 no 7º dia de adaptação e para 5,67 no 21º dia. Porém, os autores relatam que os valores de pH não decresceram tanto como em outros estudos que utilizam dietas com grãos moídos, laminados a seco e a vapor, indicando que a forma de apresentação do carboidrato tem grande influência sobre a fermentação e velocidade de produção de ácidos. Já Beauchemin et al. (2003) utilizaram dietas com 92% de concentrado e o valor médio de pH ruminal encontrado para o grupo controle foi de 5,68 e para o grupo recebendo leveduras e probiótico foi de 5,74, valores estes próximos aos encontrados por Fulton, Klopfenstein e Britton, (1979b) e Bevens et al. (2005).

A fonte do carboidrato também tem grande efeito sobre a variável pH ruminal durante a adaptação. Um estudo comparou duas fontes de carboidratos, milho e trigo, submetendo os animais a um protocolo de adaptação gradual de 35 a 90% de concentrado, contando com duas dietas intermediárias, utilizadas por 5 dias cada. Os autores relataram que os animais

alimentados com as dietas à base de trigo apresentaram menor IMS, pH médio inferior ao do grupo do milho (5,48 vs 5,58 respectivamente), maior frequência de pH inferior a 5,2, maior concentração de lactato (225 $\mu\text{g/mL}$ vs 183 $\mu\text{g/mL}$). O que indica que esta fonte de carboidrato tem maior potencial fermentativo e pode induzir mais facilmente os ruminantes a quadros de acidose (FULTON; KLOPFENSTEIN; BRITTON, 1979b).

Lettat et al. (2010) em estudo de indução à acidose sub-aguda, compararam três fontes de carboidratos, o trigo (rapidamente fermentável), milho (lentamente fermentável) e a polpa de beterraba (fibra facilmente digestível) e observaram que o valor médio de pH para o trigo foi inferior ao do milho (4,85 vs 5,61, respectivamente) e a polpa de beterraba (6,09). Além disso, a dieta à base de trigo aumentou em 10 vezes a concentração de lactato, o que corrobora com o observado por Fulton e Klopfenstein, Britton, (1979b).

3.7.4 Concentração total de AGCC durante a adaptação às dietas com alta proporção de carboidratos fermentescíveis

A concentração total de AGCC em animais recebendo dietas com alta proporção de carboidratos fermentescíveis, ou seja, entre 70 e 90% de concentrado, muitas vezes apresentam valores entre 100 e 160 mM. (FULTON; KLOPFENSTEIN; BRITTON, 1979b; GOAD et al., 1998; BEVANS et al., 2005). Isto ocorre, pois a introdução de grande quantidade de carboidratos fermentescíveis nas dietas aumenta a disponibilidade de glicose livre no rúmen, e esta ficando disponível para fermentação, estimula o crescimento microbiano aumentando assim a produção de AGCC e redução do pH ruminal (FULTON; KLOPFENSTEIN; BRITTON, 1979b; LYLE et al., 1981; OWENS et al., 1998; BEVANS et al., 2005; BROWN; PONCE; PULIKANTI, 2006). Porém, em um estudo sobre indução de acidose sub-aguda em ovinos, utilizando a administração intra ruminal abrupta de 1,2% do peso vivo (P.V.) de carboidratos rapidamente fermentescíveis, os autores relataram que houve redução na concentração total de AGCC, de 93,0 para 48,7 mM, utilizando trigo como fonte de carboidrato fermentescível. Esta fonte também induziu os animais à acidose aguda. Já o milho e polpa de beterraba somente foi provocada acidose sub-aguda. Entretanto, a redução nas concentrações totais de AGCC ocorreu somente depois de instalada a acidose aguda (durante o 2º e o 3º dias pós-desafio) induzida pelo trigo e por acúmulo de lactato. Este evento pode ter causado a diminuição da produção de AGCC por ter também reduzido o

consumo dos animais, resultando na falta de substrato para fermentação (LETTAT et al., 2010).

A participação do acetato e butirato na concentração total de AGCC tende a decrescer a partir da inclusão de concentrados na dieta. Isto por que, o incremento de concentrados resulta em maior concentração de H_2 no ambiente ruminal. Este é drenado via síntese de metano, processo este realizado por arqueas metanogênicas. O metano, então, produzido é eructado, resultando em perda energética para o sistema. Porém, ao se aumentar o teor de concentrado na dieta e o pH ruminal se aproximar de 6,0 ou abaixo desta faixa, ocorre a inibição destes microorganismos metanogênicos, com inibição da via de transferência de hidrogênio interespecies e da síntese de metano. Entretanto, para se evitar o acúmulo de H_2 , que seria nocivo à continuidade do processo fermentativo, ocorre mudança nas vias de fermentação, resultando na produção de lactato e propionato como novos drenos de H_2 . O lactato em si estaria aumentando o risco de acidose, embora possa ser convertido em propionato por microorganismos, como o *Megasphaera elsdenii*. O aumento da proporção deste AGCC aumenta a eficiência energética do processo digestivo, pois o propionato encerra maior quantidade de ligações carbono-hidrogênio na sua composição quando comparado ao acetato e butirato (MOSS; JOUANY; NEWBOLD, 2000; NUSSIO; CAMPOS; LIMA, 2006).

Goad et al. (1998) compararam animais já adaptados sob duas condições de dietas, uma rica em foragem (20% de concentrados) e outra de alto teor de concentrados (80%), e submeteram ambos os grupos a uma dieta de desafio que consistiu de 100% de concentrados. Os autores relataram que a concentração de acetato decresceu nos dois tratamentos e a de propionato aumentou, sendo que o resultado foi mais intenso no grupo adaptado à dieta com 80% de concentrados. Neste experimento, o pH ruminal no início do desafio (0h) para o grupo adaptado à dieta com 80% de concentrado era de aproximadamente 6,48, ou seja, acima de 6,0, ponto no qual a proporção molar de acetato era de 62,7 mol/mol. Este resultado é semelhante ao observado em um estudo onde se controlou o pH ruminal com infusão de hidróxidos durante um protocolo de adaptação à dieta de alta proporção de concentrados em bovinos de corte, o que resultou em maior proporção de acetato em relação ao propionato (FULTON; KLOPFENSTEIN; BRITTON, 1979a).

Em um estudo sobre adaptação, Bevans et al. (2005) observaram que a proporção molar de propionato ruminal aumentou quando os animais recebiam a dieta intermediária, com teor de 65% de concentrados, porém não ultrapassou a proporção molar de acetato. No período de administração da dieta intermediária até o 4º dia após a inclusão de 90% de

concentrados, os animais apresentaram relação A:P de 1,7 após 18h da administração de 65% de concentrados e de 1,2 às 0h do 4º dia, já com 90% de concentrados.

Este resultado foi semelhante ao apresentado por Goad et al. (1998), que relataram que, nos animais adaptados à dieta à base de forragem e que sofreram mudança abrupta de dieta, a relação A:P saiu de 5,5 nas 0h e foi para 1,4 nas 72 h após o desafio com 100% de concentrado. Porém, nos animais adaptados à dieta com alta proporção de concentrados, que vinham recebendo 80% de concentrados, o valor de relação A:P saiu de 3,8 às 0h e foi para 0,9 nas 72h após desafio. Esta relação de 0,9 ocorreu quando o pH ruminal estava abaixo de 5,5, sendo mais um indicativo de que as vias metabólicas para produção de propionato são estimuladas abaixo do pH 5,6.

Beauchemin et al. (2003) utilizaram uma dieta com 92% de concentrado adicionada ou não de probióticos e relataram aumento da proporção molar de propionato, o que era esperado, pois microrganismos utilizadores de lactato geralmente tem o propionato como produto final de fermentação. Porém, ao mesmo tempo, ocorreu redução de butirato, mas não da concentração de acetato. Mesmo assim, a relação A:P decresceu, devido ao aumento da participação do propionato, resultado este que corrobora com o de Tajima et al. (2000).

O aumento na proporção molar de butirato em dietas com altaproporção de concentrados foi associado por Goad et al. (1998) ao crescimento da população de microrganismos utilizadores de lactato, principalmente ao *Megasphaera elsdenii*, principal produtor de butirato a partir de lactato. Os protozoários ciliados também são produtores de butirato, o que pode explicar a maior proporção molar de butirato, até 72 horas pós desafio. Já no grupo adaptado advindo da dieta de alta forragem, a população de protozoários foi duas vezes maior que no grupo adaptado à altaproporção de concentrados.

O protozoário *Butyrivibrio fibrisolvens* é um produtor de butirato durante a fermentação primária e este agente é considerado um dos predominantes durante a adaptação a dietas à base de grãos (HUNGATE, 1978).

3.7.5 Concentração ruminal de lactato durante a adaptação

Em quadros de acidose aguda são comuns concentrações de lactato que excedem 50mM geralmente, associadas a valores de pH entre 3,9 e 4,5. Porém, em casos de acidose

subaguda, o acúmulo de lactato dificilmente ocorre e valores de concentração de lactato acima de 10mM são raros (OWENS et al., 1998; BEAUCHEMIN et al., 2003; BEVANS et al., 2005).

Coe et al. (1999) utilizaram um protocolo de adaptação à dieta com alta proporção de concentrados que passou de 100% de forragem para 100% de concentrados em apenas 6 dias, utilizando um protocolo de adaptação gradual com duas dietas intermediárias, e relataram que a concentração de lactato nestas condições não excedeu 0,4mM.

Bevans et al. (2005) compararam 2 protocolos de adaptação, um rápido e outro gradual. Estes autores relataram que o acúmulo de lactato ocorreu com mais facilidade no grupo de animais com adaptação rápida, pois a grande disponibilidade de carboidratos fermentescíveis estimulou o crescimento de produtores de lactato, como o *S. bovis*, enquanto a população de utilizadores de lactato ainda não tinha se desenvolvido.

Quando o pH ruminal apresenta-se acima de 5,5, dificilmente ocorre acúmulo de lactato no rúmen, pois acima desta faixa de pH os utilizadores de lactato crescem com maior facilidade, reduzindo a concentração deste ácido (NOCEK, 1997).

3.7.6 Efeitos da adaptação às dietas ricas em carboidratos fermentescíveis sobre a microbiota ruminal

O rúmen, como já descrito, possui um intrincado ecossistema, muito complexo, constituído de bactérias como a população mais representativa, além de protozoários, fungos e vírus, contabilizando mais de 1700 espécies (FERNANDO et al., 2010).

A grande disponibilidade de carboidratos fermentescíveis oferecidos em dietas com alta proporção de concentrados, geralmente utilizadas em confinamentos, resulta em uma mudança muito intensa na disponibilidade e no tipo de substrato, promovendo um crescimento intenso de certos grupos de microrganismos, gerando grande produção de AGCC e, podendo resultar em acidose ruminal aguda ou subaguda (OWENS et al., 1998).

Durante a acidose, ocorre praticamente o desaparecimento dos microrganismos pertencentes ao gênero *Ruminococcus* e prevalência dos microrganismos produtores e utilizadores de lactato (TAJIMA et al., 2000). Porém, Beauchemin et al. (2003), ao administrarem probióticos produtores de lactato, não observaram efeito sobre a população de

utilizadores de lactato, amilolíticos ou sobre o número total de bactérias. Este fato surpreendeu os autores, já que era esperado o aumento das bactérias utilizadoras de lactato.

No estudo de Fulton, Klopfenstein e Britton, (1979a), os autores relataram que o período envolvido em alcançar o teor de 90% de concentrados, que foi de 9 dias, pode ter sido suficiente para a adaptação microbiana ocorrer, resultando em pouca acumulação de lactato, devido a uma mudança na microbiota, um indicativo de que haviam maiores populações de utilizadores lactato do que de produtores.

Quando se utiliza dietas com alta proporção de concentrado, espera-se que a grande disponibilidade de substratos prontamente fermentescíveis resulte no aumento da população total de bactérias. Esta observação pode ser confirmada pelo trabalho de Goad et al. (1998), onde a população total de microrganismos anaeróbios e amilolíticos aumentou ao longo do tempo nos dois grupos, após o desafio com 100% de concentrados. Às 60 h após o desafio, os animais adaptados à dieta com alta proporção de concentrados tinham contagens maiores no total de bactérias anaeróbicas e amilolíticas em comparação com os animais adaptados à forragem. Estes resultados são semelhantes aos encontrados por Brown, Ponce e Pulikanti (2006), os quais relataram aumento destas populações de microrganismos anaeróbios e amilolíticos a partir de 71% de concentrados nas dietas.

As contagens de *Streptococcus bovis* foram inicialmente mais elevadas nos animais adaptados à dieta com alta proporção de concentrados quando comparada a dos não-adaptados e parecia diminuir ao longo do tempo nos dois grupos (GOAD et al., 1998).

Nagaraja e Titgemeyer (2007) relataram aumento da população de *S.bovis* de 10^4 /g de conteúdo ruminal em dietas à base de forragem contra 10^7 /g em dietas de m alta proporção de concentrados, podendo até mesmo chegar a 10^{11} /g. A contagem de *Lactobacillus* apresentou efeito de dieta, com número 10 vezes maior nos animais adaptados ao alto concentrado que nos adaptados à forragem, sendo que as contagens aumentaram ao longo do tempo em ambos os grupos. As populações de bacterias utilizadoras de lactato também aumentaram ao longo do tempo em ambos os grupos, mas nos animais adaptados os valores eram maiores. Resultados semelhantes também foram observados por Brown, Ponce e Pulikanti (2006).

O microrganismo *S. bovis* é dos principais agentes envolvidos na evolução da acidose ruminal, pois tem a capacidade de dobrar sua população a cada 12 minutos, quando em condições apropriadas, como o que ocorre quando da grande disponibilidade de carboidratos fermentescíveis no rúmen. Associado a isto, o *S. bovis* em pH ruminal normal (6,5 a 7,0) é um microrganismo heterofermentativo produtor de acetato, formato e etanol a partir da

glicose. Porém, quando o pH encontra-se abaixo de 5,6, o *S. bovis* torna-se homofermentativo e passa a produzir apenas lactato como produto final de sua fermentação (NAGARAJA; TITGEMEYER, 2007).

A alta taxa de crescimento associada à produção de lactato em baixo pH torna o *S. bovis* um dos principais alvos no controle da acidose ruminal. Porém, a alta taxa de crescimento do *S. bovis* ocorre somente quando os animais são submetidos à dietas com alta disponibilidade de amido, sem prévia adaptação. Quando os animais são submetidos à adaptação, a população de *S. bovis* decresce por volta 10.000 vezes e passa a ter uma população com número semelhante a de animais adaptados à dieta à base de forragem (NAGARAJA; TITGEMEYER, 2007).

Fernando et al. (2010), ao utilizarem o protocolo de adaptação gradual à dieta com alta proporção de concentrados, notaram o decréscimo de 40 vezes na população de *Fibrobacter succinogenes*, importante microrganismo fibrolítico. Outro agente fibrolítico, o *Butyrivibrio fibrisolvens* também teve a sua população diminuída em 5 vezes com o avanço da adaptação. Já na dieta final com 80% de concentrados, ocorreu redução de 20 vezes em sua população. Porém, o *Butyrivibrio fibrisolvens* é capaz de utilizar tanto a celulose quanto o amido como fonte de carboidrato e produzir butirato como produto final de fermentação. Este microorganismo pode estar presente em grande quantidade durante a adaptação à dietas com alta proporção de alto concentrados, ou seja, principalmente em dietas de transição que encerram aproximadamente 60% de concentrados como relatado por Hungate (1978).

O protozoário *Megasphaera elsdenii* também apresenta aumento da sua população, mas somente durante a utilização das dietas de transição. Durante a dieta final o baixo pH pode exceder o limite fisiológico destes microrganismos e promover o decréscimo de até 5 vezes em sua população (GOAD et al., 1998; FERNANDO et al., 2010).

O aumento da proporção de propionato nas dietas com alta proporção de concentrados também pode ser explicado, em partes, pelo aumento da população de *Selenomonas ruminantium* que foi de 7 vezes no estudo de Brown, Ponce e Pulikanti (2006) e de 30 vezes, no estudo realizado por Fernando et al. (2010). Este microrganismo, juntamente com o *Megasphaera elsdenii*, são os principais produtores de propionato que utilizam tanto carboidratos fermentescíveis como lactato como substrato e auxiliam no controle da acidose.

O crescimento das populações de utilizadores de lactato, como *Selenomonas ruminantium* e *Megasphaera elsdenii*, pode ser um dos fatores que contribuíram para as baixas concentrações de lactato encontrados por Bevans et al. (2005) e Brown, Ponce e Pulikanti (2006) e contribuem para redução do risco à acidose.

Segundo Nagaraja e Titgemeyer (2007), é estimado que os microorganismos de espécie *Megasphaera elsdenii* possam fermentar 60 a 80% do lactato presente no rúmen. Após a introdução de dietas com alto teor de concentrado ocorre um aumento da população de microorganismos ruminais. Este aumento é dado principalmente pelo aumento da população de bactérias amilolíticas e de utilizadoras de lactato. Por este motivo, animais que foram submetidos a protocolos de adaptação gradual apresentaram concentrações mais baixas de lactato ruminal (NAGARAJA; TITGEMEYER, 2007).

Quanto ao comportamento da população de protozoários nas dietas com altos teores de concentrados, nota-se um aumento da população, principalmente dos utilizadores de amido, e redução da variabilidade de espécies, quando se inicia a inclusão de forma gradual. Porém, em altas proporções de concentrados ou desafios intensos, nota-se acentuado decréscimo de toda a população (FRANZOLIN; DEHORITY, 1996).

Goad et al. (1998) relataram aumento da população total de protozoários em animais que receberam 80% de concentrados em comparação à fase da adaptação, onde receberam 20% de concentrados. O gênero *Entodinium* foi o mais representativo, resultado também observado no estudo de Beauchemin et al. (2003).

Após 72 h do desafio com fornecimento de 100% de concentrados, os únicos gêneros passíveis de identificação foram *Entodinium*, *Isotricha* e *Dasytricha*, enquanto que o restante da população total tendeu à extinção. Isto se deve à maior resistência dos protozoários ciliados a baixos valores de pH (LYLE et al., 1981; GOAD et al., 1998).

Dietas com teor de concentrados, de até 75%, com adaptação adequada, que não promovam baixos valores de pH ruminal, não inibem o crescimento de protozoários (FRANZOLIN; DEHORITY, 1996).

A defaunação, não está associada somente aos baixos valores de pH ruminal que, possam ocorrer durante a administração de dietas com alta proporção de carboidratos. Acredita-se que existam outros fatores contribuintes, que promovam esta condição quando os animais são alimentados com estas dietas. Uma das hipóteses para a defaunação é o baixo pH ruminal, associado à alta taxa de passagem das dietas de alto concentrado, eventos, estes, comuns durante a adaptação. Enquanto o baixo pH dificulta o metabolismo e, por conseguinte a reprodução, a alta taxa de passagem remove grande parte da população de protozoários, o que reduz a capacidade de a mesma em se estabelecer e crescer (LYLE et al., 1981; FRANZOLIN; DEHORITY, 1996).

Os protozoários entodiniomórficos são de grande importância durante um protocolo de inclusão de altos teores concentrados nas dietas, pois, como utilizadores de amido, reduzem o

potencial fermentativo deste substrato por competição com as bactérias. Além disto, os protozoários do gênero *Entodinium* também são utilizadores de lactato, contribuindo ainda mais para a redução do risco de acidose subaguda ou aguda (GOAD et al., 1998; BEAUCHEMIN et al., 2003).

3.7.7 Antibióticos na adaptação às dietas de alta proporção de concentrados

A adaptação às dietas pode ser considerada a etapa mais sensível da fase de confinamento ou engorda. Com intuito de obter maior rentabilidade, os nutricionistas utilizam protocolos curtos de adaptação às dietas m alta proporção de concentrados. Entretanto, as mudanças que ocorrem nesta transição são muito bruscas. Os animais saem de dietas com baixos teores de carboidratos fermentescíveis, quase que exclusivamente à base de forragem e por volta de 7 a 15 dias passam a receber uma dieta com proporção volumoso:concentrados de 20:80 ou até mesmo 100% de concentrados.

Visando reduzir os efeitos deletérios causados pelo fornecimento deste montante de carboidratos fermentescíveis e facilitar esta transição entre dietas, faz-se uso de antibióticos. Os antibióticos mais utilizados para esta finalidade são os ionóforos, que, ao selecionarem a população bacteriana ruminal reduzem o risco de distúrbios digestivos, aumentam a eficiência energética e de ganho de peso (NAGARAJA et al., 1981; COE et al., 1999).

A principal ação dos ionóforos é controlar o crescimento de populações de bactérias gram-positivas, principalmente produtoras de lactato, evitando, assim, a redução do pH ruminal e o risco de acidose (NAGARAJA et al., 1981).

A monensina é o mais popular dos antibióticos ionóforos e a sua administração não impede a redução do pH ruminal, porém, impede grande variação deste pH, evitando que o mesmo atinja valores abaixo do valor 5,6. Reduzindo as flutuações do pH ruminal, os danos à população de microrganismos e ao animal também são reduzidos (ERICKSON et al., 2003).

Com a utilização de ionóforos, a maioria dos autores relatou redução do consumo, mas o desempenho permaneceu estável ou superior aos grupos controle. A inibição do consumo pode ocorrer por duas vias ou pela combinação de ambas. Ao selecionar a microbiota ruminal, a monensina promove maior proporção molar de propionato. Este AGCC, ao ser absorvido e oxidado pelo fígado, tem forte efeito como inibidor do consumo. Associado a isto, tem-se a

baixa aceitabilidade da monensina pelos animais. A monensina também reduz a digestibilidade da FDN, promovendo maior tempo de permanência do material fibroso no rúmen e maior sensação de enchimento ruminal pelo animal, fatores estes que contribuem também para a redução do consumo (BURRIN; STOCK; BRITTON, 1988; NEWBOLD; WALLACE; MCKAIN, 1990; COE et al., 1999; ERICKSON et al., 2003; KATSUKI et al., 2006; MORAIS et al., 2006).

Burrin, Stock e Britton, (1988) utilizaram duas doses de tilosina (0 e 11mg/kg) associadas a três doses crescentes de monensina (0, 11, 33mg/Kg) e observaram maior taxa de crescimento nos animais que receberam monensina. Os autores associaram esta resposta ao aumento da eficiência energética da digestão, aumento da quantidade de nitrogênio da digesta que passa para o intestino delgado, resultando em maior retenção de nitrogênio. Os benefícios da monensina quanto ao desempenho dos animais, notados na fase de adaptação, podem não ser manifestados nas fases posteriores, quando os animais já estiverem adaptados às dietas com alta proporção de concentrados.

A virginamicina, apesar de não ser um ionóforo, é um antibiótico e tem ação contra bactérias gram-positivas, principalmente contra produtoras de ácido láctico. Coe et al. (1999) compararam a virginamicina e monensina + tilosina, como aditivos contra acidose, e relataram que não houve efeito deste produto sobre o pH ruminal ou a concentração de lactato. Entretanto, a população de *S. bovis* foi reduzida em comparação ao grupo controle e monensina + tilosina. Já quanto ao *Fusobacterium necrophorum*, os dois tratamentos monensina + tilosina ou virginamicina reduziram sua população concluindo que, assim como a monensina, a virginamicina tem potencial para moderar e estabilizar a fermentação.

Nagaraja et al. (1981) ao induzirem animais à acidose aguda e utilizar lasalocida ou monensina como aditivos contra acidose, relataram diminuição dos sinais clínicos como, desidratação, anorexia e aumento da fluidez do conteúdo ruminal, sinais estes encontrados nos animais controle. As concentrações de lactato nos animais que receberam ionóforos também foram menores, mesmo após 12 h do desafio. Nos animais que receberam os ionóforos por apenas 2 dias antes do desafio, não foi observado nenhum efeito benéfico. Isto indica que os ionóforos precisam ser administrados diariamente quando há o risco de acidose.

Paralelamente, é conhecido que tanto a lasalocida como a monensina aumentam a proporção molar de propionato no ambiente ruminal e este AGCC promove o desenvolvimento papilar e aumenta a área de absorção ruminal dos AGCCs (NAGARAJA et al., 1981; KLEEN et al., 2003).

Pacheco (2010) relatou que a monensina pode contribuir de forma indireta no controle do pH ruminal ao longo da adaptação, pois constatou que esse aditivo alimentar aumentou a proporção molar de propionato no dias subsequentes ao desafio, sem que o pH ruminal caísse para a faixa de risco de acidose aguda (abaixo de 5,0). Este evento pode ser explicado por Sarti et al. (2009), que observaram maior superfície de absorção de parede ruminal e maior área papilar (% da superfície de absorção) em animais que receberam monensina, o que corrobora com a teoria de que a monensina aumenta o desaparecimento dos AGCCs, por aumentar a capacidade de absorção ruminal destes ácidos e, por conseguinte, diminuir a chance do desenvolvimento de acidose.

Os animais tratados com monensina apresentaram melhor perfil fermentativo o que inibiu a acidose sub-aguda do 1º ao 4º dia de adaptação. Isto pode indicar que o uso deste aditivo seria interessante somente no período de adaptação ou em períodos curtos de aproximadamente uma semana (PACHECO, 2010).

A adoção de protocolos de adaptação as dietas com alta proporção de concentrados são ferramentas importantes na redução dos efeitos deletérios que a transição abrupta de dietas pode causar e é necessária para que ocorra a adaptação da microbiota aos novos substratos fermentescíveis presentes no rúmen. Além da mudança nas populações de microrganismos ruminais, também ocorrem mudanças nas vias metabólicas dos mesmos para que possam continuar presentes neste ambiente. Microrganismos incapazes de tal façanha ou permanecem inativos ou são extintos do ambiente ruminal.

A intervenção por meio de aditivos, principalmente antibióticos ionóforos, nesta fase, contribui para o estabelecimento mais rápido de uma microbiota especializada em fermentar carboidratos prontamente fermentescíveis reduzindo o risco de acidose tanto sub-aguda como aguda.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ANIMAIS E INSTALAÇÕES

O presente trabalho está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da “Comissão de Ética no Uso de Animais” da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 11/08/2010, sob número de protocolo 1982/2010. O projeto de pesquisa proposto foi conduzido na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (USP), *Campus* de Pirassununga – São Paulo.

Foram utilizadas seis fêmeas bovinas holandesas, não gestantes e não lactantes, com peso vivo médio de $740 \pm 88,38$ kg e portadoras de cânula ruminal com 10 cm de diâmetro e 7,5 cm de espessura. Os animais foram mantidos em galpão coberto com piso de concreto, em baias individuais. Estas possuíam área de descanso com camas de areia para cada animal, com cochos de cimento individuais e bebedouros automáticos comuns a cada dois animais.

4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ARRANJO DE TRATAMENTOS

O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino 3x3 duplicado. Os tratamentos foram em número de seis e estruturados em arranjo fatorial 3x2 com três diferentes aditivos (controle (CON), preparado de anticorpos policlonais na apresentação pó (PAPP) e PAP na apresentação líquida (PAPL)) e com programa de adaptação gradual (“step-up”) ou não à dieta com alta proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis.

O primeiro quadrado latino foi submetido a um protocolo de adaptação à dieta do tipo gradual ou “step-up”, onde a cada 5 dias ocorria o aumento do teor de concentrado na dieta oferecida aos animais. Do D0 a D4 foi fornecido 100% de forragem; do D5 ao D9, 30% de concentrado e do D10 a D14, 60% de concentrado. O segundo quadrado latino recebeu 100%

de forragem do D0 ao D14 (sem adaptação). Nos dias D15 e D16, todos os animais foram submetidos à dieta desafio que consistiu de 80% de concentrados.

O experimento consistiu de 3 períodos com 17 dias cada, com 2 fases de descanso com 10 dias cada, totalizando 71 dias de experimento.

A adição do preparado de anticorpos policlonais foi realizada duas vezes ao dia, antes de cada refeição, via fístula ruminal. O preparado em pó foi acondicionado em envelopes confeccionados em papel absorvente, sendo uma dose matinal e outra vespertina, totalizando 7g/animal/dia. Já o preparado na apresentação líquida foi administrado diretamente no lúmen ruminal com a utilização de uma seringa de 20 mL BD[®] graduada em 10,5 mL para cada dose (matinal e vespertina) totalizando 21 mL/animal/dia, este volume correspondente às 7g diárias do PAPP, pois a forma líquida continha 30% de matéria seca em sua constituição. O preparado de anticorpos policlonais (CAMAS Inc[®]) utilizado foi uma mistura de anticorpos contra bactérias ruminais específicas *Streptococcus bovis*, *Fusobacterium necrophorum*, *E.coli* e endotoxinas.

Os esquemas abaixo representam os tratamentos experimentais adotados:

1º Quadrado (Adaptação gradual à dieta com alta proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis)

Tratamento 1: controle (sem adição do preparado de anticorpos policlonais).

Tratamento 2: adição do preparado de anticorpos policlonais na apresentação pó (CAMAS Inc[®]) na dose de 7g/animal/dia.

Tratamento 3: adição do preparado de anticorpos policlonais na apresentação líquida (CAMAS Inc[®]) na dose de 21 mL/animal/dia.

Programa de alimentação (adaptação) do 1º quadrado

2º quadrado (Sem adaptação à dieta com alta proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis)

Tratamento 4: controle (sem adição do preparado de anticorpos policlonais).

Tratamento 5: adição do preparado de anticorpos policlonais na apresentação pó (CAMAS Inc[®]) na dose de 7g/animal/dia.

Tratamento 6: adição do preparado de anticorpos policlonais na apresentação líquida (CAMAS Inc[®]) na dose de 21 mL/animal/dia.

Programa de alimentação (sem adaptação) do 2º quadrado

4.3 MANEJO NUTRICIONAL

Os alimentos foram oferecidos duas vezes ao dia, às 0800 e 1600 h, na forma de ração completa. No 1º quadrado, os animais passaram por um protocolo de adaptação à dieta com alta proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis, onde a cada 5 dias era alterada a proporção volumoso:concentrado da dieta. O protocolo de adaptação foi iniciado com 100% de volumoso por 5 dias, nos 5 dias seguintes os animais passaram a receber uma dieta com a proporção volumoso:concentrado de 70:30, seguidos de mais 5 dias em uma dieta com proporção volumoso:concentrado de 40:60 e, após estes 5 dias, passaram a receber a dieta de desafio que consistiu em uma proporção volumoso:concentrado de 20:80. Em todas as dietas, a fonte de volumoso utilizada foi a cana-de-açúcar fresca e picada, com tamanho médio de partícula de 1,24 cm sendo este determinado pela Penn State Particle Size Separator, conforme metodologia proposta por Lammers et al. (1996). O concentrado era constituído por milho moído, farelo de soja, uréia, sal branco e sal mineral. As proporções dos diversos ingredientes na dieta e a composição bromatológica da mesma está descrita na Tabela 1. A dieta foi formulada segundo o software Spartan (1992) e avaliada com o programa NRC (2001).

Tabela 1 - Proporções de ingredientes e composição bromatológica estimada da dieta experimental, com base na matéria seca (%)

	Dietas (% de concentrado)			
	0 ¹	30 ¹	60 ¹	80 ¹
Ingredientes				
Cana de açúcar	93,4	70,0	40,0	20,0
Milho Fubá	-	12,5	46,9	70,2
Farelo soja	-	13,5	9,1	5,8
Uréia	4,1	1,5	1,5	1,5
Sal branco	0,5	0,5	0,5	0,5
Mistura mineral ²	2,0	2,0	2,0	2,0
Composição química				
Matéria seca (%)	33,2	46,8	64,6	76,3
Proteína bruta (%MS)	14,0	14,0	14,0	14,0
Proteína degradável no rúmen (% PB)	95,0	76,4	75,4	76,4
Proteína não-degradável no rúmen (%PB)	5,0	23,8	24,6	23,6
Fibra em detergente neutro (% MS)	54,1	44,4	31,2	22,3
FDN de forragem (% FDN)	54,1	40,7	23,3	11,6
Carboidratos não estruturais (% MS)	26,1	35,3	48,2	57,0
NDT (%)	54,8	62,7	71,6	77,2
Cálcio (% MS)	0,84	0,78	0,63	0,53
Fósforo (% MS)	0,40	0,47	0,43	0,45

¹Formuladas pelo Spartan (1992) e avaliadas e ajustadas no NRC (2001).

² Mistura mineral e vitamínica, quantidade por kg de produto: 180 g de cálcio, 130 g de fósforo, 100 mg de cobalto, 1.250 mg de cobre, 2.200 mg de ferro, 90 mg de iodo, 2.000 mg de manganês, 15 mg de selênio, 5.270 mg de zinco e 1.300 mg de flúor (máximo).

4.4 PERÍODO EXPERIMENTAL

O experimento consistiu de 3 períodos com 23 dias cada, com 2 fases de descanso com 10 dias cada, totalizando 89 dias de experimento.

Os animais foram pesados no início e ao final de cada subperíodo. As amostras de líquido ruminal foram coletadas via fístula, por intermédio de uma bomba de vácuo, às 3 h após a refeição matinal em todos os dias de cada período (do dia 0 ao 17).

A coleta de protozoários foi realizada nos dias 4, 9 e 14, de cada período sempre às 3 h após alimentação.

4.5 PREPARADO DE ANTICORPOS POLICLONAIS

Procedimentos similares aos descritos por Dilocenzo, Diez-Gonzalez e Dicostanzo (2006) foram utilizados para a geração dos PAP, com a exceção de que um PAP multivalente foi testado, ao invés de preparados específicos como descrito anteriormente. Os anticorpos policlonais foram produzidos pela CAMAS Inc. (Le Center, MN, USA). O produto comercial contém 46,0% de imunoglobulinas contra *Streptococcus bovis* (ATCC 9809), 23,0% contra *Fusobacterium necrophorum* (ATCC 27852), 15,4% contra *E. coli* O157:H7 e o restante 15,4%% contra endotoxinas. A espécie bacteriana *Streptococcus bovis* é uma das que mais produzem ácido láctico durante o processo de acidose; *Fusobacterium necrophorum* é o causador de abscessos hepáticos em animais com acidose; enquanto a *E. coli* é um patógeno para humanos que habita o rúmen. As endotoxinas são os lipopolisacarídeos que estão presentes nas paredes de bactérias ruminais gram-negativas, sendo liberadas em situações de morte bacteriana e podem debilitar o sistema imune do animal hospedeiro. O PAP com a forma de apresentação sólida foi obtido pelo processo de SPRAY-DRYER, o qual foi mantido em embalagens hermeticamente fechadas durante o período experimental, protegidas do calor e luz solar. Já o PAP na apresentação líquida foi transportado e mantido resfriado entre 2 e 8 °C e ao abrigo de luz.

4.6 PARÂMETROS DE AVALIAÇÃO

4.6.1 Consumo de matéria seca

Os cochos de alimentação eram avaliados todos os dias pela manhã às 0630h, antes da alimentação. Se não existissem sobras, a próxima alimentação era acrescida em 10%. Se houvessem sobras, a próxima alimentação era reduzida em 10%. Se a sobra existente no cocho se aproximasse de 10% do oferecido ao animal na última refeição, a quantidade de alimento fornecida era mantida. Todos os dias pela manhã, antes da alimentação, o conteúdo dos cochos (sobras) era colhido e pesado para se calcular o consumo de alimentos.

4.6.2 Fermentação ruminal

4.6.2.1 Descrição das coletas de conteúdo ruminal

Em cada horário de coleta com auxílio de uma bomba de vácuo, foram retirados em três pontos diferentes do rúmen (retículo-rúmen, saco ventral e saco caudal) pelo menos 500 mL de conteúdo ruminal, que foram devolvidos ao pró-ventrículo, após colheita das devidas alíquotas.

4.6.2.2 Metodologia de determinação do pH do líquido ruminal

Imediatamente após a coleta, 100 mL de fluido ruminal foram utilizados para a determinação do pH em potenciômetro digital portátil (HANNA instruments HI8424), calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e pH 7,0.

4.6.2.3 Metodologia de determinação dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCCs) e lactato total

Para a determinação dos ácidos graxos de cadeia curta, uma fração de aproximadamente 100 mL de conteúdo ruminal foi centrifugada a 3500 rpm por 15 minutos; 1 mL do sobrenadante foi colocado em tubo de ensaio arrolhado, sendo acondicionado com 0,2 mL de ácido fórmico e mantido em congelador (-20 °C) até o momento da análise. Esta foi realizada através de cromatografia gasosa, segundo método descrito por Erwin et al. (1961). Para esta avaliação foi utilizado cromatógrafo a gás (Thermo Scientific®, modelo Focus GC) com injetor automático de amostras (Thermo Electron Corporation®, modelo AS-3000) equipado com coluna de vidro de 2 m de comprimento e 1/5 de polegada (5,08 mm) de diâmetro externo, empacotada com fase estacionária 80/120 Carbopack® B-DA/4% Carbowax® 20M (Supelco®) e detetor de ionização de chama (FID) mantido à 270°C. O forno do cromatógrafo a gás foi mantido a 190°C durante as análises e a temperatura do injetor foi

de 220 °C. O gás de arraste foi o H₂ de alta pureza, mantido em fluxo de 30 mL/min. O número de repetições por amostra foi aquele necessário para que a diferença entre leituras fosse inferior a 5%.

A concentração de ácido láctico total foi mensurada pela técnica colorimétrica, segundo Pryce (1969).

4.6.2.4 Metodologia de determinação da concentração de nitrogênio amoniacal

Para determinação da concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH₃), frações de 2 mL de líquido ruminal foram colocadas em tubos de ensaio contendo 1 mL de solução de ácido sulfúrico a 1N e armazenadas sob refrigeração até a realização das análises. Estas foram realizadas por colorimetria, segundo método descrito por Kulasek (1972) e adaptado por Foldager (1977).

4.7 CONTAGEM TOTAL E DIFERENCIAL DE PROTOZOÁRIOS RUMINAIS

As coletas para contagem total e diferencial de protozoários foram realizadas nos dias 4, 9 e 14 de cada subperíodo experimental, às 3 h após a alimentação matinal. O conteúdo ruminal foi coletado manualmente por varredura do assoalho ruminal e 10 mL deste material foram armazenados em frasco contendo 20 mL de formaldeído 50% (v/v). Para posterior realização da contagem diferencial dos protozoários foi utilizado 1 mL da amostra diluída com formol e, nesta, adicionadas 2 gotas de corante verde brilhante a 2 %, deixando repousar por 4 h. Em seguida, foram adicionados 9 mL de glicerol a 30% e homogeneizada a mistura, tornando a alíquota do líquido ruminal diluída 30 vezes.

Para as contagens diferenciais dos protozoários foi utilizada uma câmara de contagem “Sedgwick-Rafter” composta por retículo de 0,5 mm x 0,5 mm de área, com subdivisões de 25 quadrículos. Esta câmara foi avaliada na ocular com aumento de 10 vezes e objetiva com aumento de 10 vezes em um microscópio da marca Olympus modelo CH2, conforme técnica descrita por Dehority (1993).

Com a câmara acoplada ao microscópio, foram contados 100 campos óticos através do retículo, onde as identificações das espécies dos protozoários foram estabelecidas, bem como suas proporções na amostra.

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados pelo programa Statistical Analysis System (SAS Institute Inc., 2008). Os dados de consumo foram submetidos à análise de variância analisadas pelo procedimento MIXED do SAS que separou como causas de variação efeito de aditivo, efeito de adaptação e efeito de interação entre aditivo e adaptação, bem como efeito de período e efeito de animal dentro de quadrado. O efeito principal de aditivo foi separado através do teste de Tukey. Para as variáveis pH, concentração total e proporção molar dos AGCC, lactato total e nitrogênio amoniacal foram adicionados ao modelo, o fator medidas repetidas no tempo, referente às diferentes horas de amostragem. No modelo os efeitos de aditivo, adaptação, interação entre aditivo e adaptação e tempo foram considerados fixos e os efeitos de período e animal dentro de quadrado foram considerados aleatórios. O nível de significância adotado para os resultados das variáveis estudadas foi de 5%.

Tabela 2 - Esquema da análise de variância para delineamento em quadrado latino duplicado, adicionado do fator de medidas repetidas no tempo, com arranjo fatorial de tratamentos

Causas de variação	Graus de Liberdade
Tratamentos	5
Aditivo (Adi)	[2]
Adaptação (Adap)	[1]
Interação Adi x Adap	[2]
Período	2
Animal (quadrado)	4
Resíduo A	6
Parcelas	17
Tempo	16
Tempo x Tratamento	80
Tempo x Período	32
Tempo x Animal (quadrado)	64
Resíduo B	96
Sub-parcelas	305

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CONSUMO DE MATÉRIA SECA

A variável consumo de matéria seca apresentou efeito de interação entre tempo e adaptação à dieta com alta proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis ($P<0,0001$) do dia 0 ao dia 17, onde o grupo dos animais adaptados apresentou maior consumo quando comparado com os animais não adaptados (12,37 vs 6,57 kg de MS, respectivamente) (Figura 1). Foi possível observar picos de consumo nos dias da troca de dietas (dias 5,10 e 15) nos animais com adaptação à dieta com alta proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis.

Figura 1 - Consumo de matéria seca (kg/d) de animais adaptados ou não a dieta de alta proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis

Não houve efeito de interação entre tempo e aditivo ($P=0,9913$), bem como efeito de aditivo ($P=0,9285$), para a variável consumo de matéria seca (Figura 2).

Figura 2 - Consumo de matéria seca (kg/d) de animais que receberam um preparado de anticorpos policlonais (PAP) na apresentação líquida, em pó mais o grupo controle submetidos à adaptação ou não à dieta de alta proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis

5.1.1 Consumo de Matéria Seca por Porcentagem do Peso ‘Vivo

Houve interação entre tempo e adaptação para a variável consumo de MS por porcentagem do P.V. ($P < 0,0001$) do dia 5 ao dia 16, onde os animais adaptados apresentaram consumo mais elevado em relação aos animais não adaptados (1,79 vs 0,95 % do P.V., respectivamente) (Figura 3).

Figura 3 - Consumo de matéria seca em % do peso vivo (%PV) de animais adaptados ou não a dieta de alta proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis

Não foi observado para esta variável efeito de interação entre tempo e aditivo ($P=0,5017$), bem como efeito de aditivo ($P=0,9093$) (Figura 4).

Figura 4 - Consumo de matéria seca em % do peso vivo (%PV) de animais que receberam um preparado de anticorpos policlonais (PAP) na apresentação líquida, em pó mais o grupo controle submetidos à adaptação ou não à dieta de alta proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis

O consumo de MS tanto total como em porcentagem do peso vivo, foram mais elevados, ao longo dos dias, para os animais adaptados à dieta com alta proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis. Este resultado era esperado segundo Allen (1996) e Silva (2006), pois estes animais receberam dietas com teores crescentes de concentrado. O alimento concentrado possui maior aceitabilidade pelos animais por sua palatabilidade. Além disto, apresenta menor efeito de enchimento ruminal, devido ao menor teor de fibra na sua composição. Associando a isso, o concentrado apresenta maior taxa de passagem se comparado à forrageira. Todos estes fatores associados permitiram que os animais submetidos à adaptação consumissem mais alimento.

Picos de consumo também foram observados nos dias de troca de dietas de 0% de concentrado para 30% (dia 5), de 30% para 60% (dia 10) para o grupo dos animais adaptados (Figuras 1 e 3) e na dieta desafio com 80% de concentrado (dia 15) tanto para os animais adaptados como não-adaptados (Figura 4). Estes picos de consumo foram acompanhados de uma queda de consumo do dia posterior, ou seja, no segundo dia na nova dieta. Os picos de consumo provavelmente ocorreram devido ao maior interesse dos animais pelas novas dietas, associado à menor capacidade de enchimento ruminal da nova dieta quando comparada a anterior, permitindo que os animais consumissem mais. Porém, no segundo dia das trocas de

dieta (dias 6, 11 e 16) ocorreu um aumento na concentração total de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) (Figura 17) e redução do pH ruminal (Figura 13), nos animais adaptados às dietas com alta proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis. Estes fatores podem ter contribuído para a inibição do consumo, posteriormente à troca de dieta, segundo Conrad, Pratt e Hibbs, (1964); Fulton, Klopfenstein e Britton, (1979a) e Goad et al. (1998).

5.2 DIGESTIBILIDADE APARENTE TOTAL

Para a variável digestibilidade da MS não foi observado efeito de interação entre proporção de carboidrato na dieta, adaptação e aditivo ($P>0,05$). Foi observado efeito de adaptação ($P<0,0001$), sendo que nos animais adaptados, a digestibilidade da MS, foi superior (65,85) à dos animais não adaptados (55,28) (Figura 5). A maior digestibilidade de MS apresentada pelo grupo dos animais adaptados, pode ser esperada já que o grande constituinte da MS destas dietas, é composto por amido e outros carboidratos não estruturais, de fácil e rápida digestão ruminal (VALADARES FILHO; PINA, 2006).

Figura 5 - Digestibilidade da matéria seca em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis

Foi também observado efeito de aditivo ($P=0,0186$), independentemente da proporção de carboidratos na dieta utilizada, onde os animais tratados com PAP na apresentação líquida apresentaram maior digestibilidade da matéria seca (63,63%), quando comparados aos animais tratados com PAP pó e o grupo controle (58,45 e 59,62, respectivamente) (Figura 6).

Figura 6 - Digestibilidade da matéria seca em animais que receberam um preparado de anticorpos policlonais (PAP) na apresentação líquida, em pó e o grupo controle submetidos ou não a adaptação à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis

Outros trabalhos que avaliaram o aditivo PAP não relataram efeito deste aditivo sobre a digestibilidade da MS (OTERO, 2008; BASTOS, 2009; MARINO et al., 2011). No presente trabalho, o aditivo PAP ao apresentar maior digestibilidade da matéria seca, independentemente da dieta utilizada, indica que provavelmente houve uma melhora no padrão fermentativo, talvez pela seleção de microrganismos mais eficientes na digestão tanto de fibra quanto de carboidratos não estruturais.

Quando avaliada a variável digestibilidade da proteína bruta, esta não apresentou efeito de interação entre a proporção de concentrado na dieta, adaptação e aditivo ($P>0,05$). Foi observado efeito de interação entre proporção de carboidratos na dieta e o tipo de adaptação ($P<0,0001$), onde os animais adaptados apresentaram maior digestibilidade da proteína bruta (83,16%) em comparação os animais não-adaptados (79,33%), no momento que ambos os grupos foram alimentados com 100% de forragem (Semana 1). Na segunda semana, não houve diferença ($P>0,05$) entre os grupos quanto à digestibilidade da PB, onde os animais adaptados receberam 30% de concentrado na dieta. Na terceira semana, momento no qual os animais adaptados, receberam dieta com 60% de concentrados, estes apresentaram

menor digestibilidade da proteína bruta (69,37%), quando comparados ao grupo de animais não adaptados (83,59%) (Figura 7).

Figura 7 - Digestibilidade da proteína bruta em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis

Quanto à digestibilidade da fibra em detergente neutro não ocorreu interação entre a proporção de carboidratos na dieta, adaptação e aditivo ($P>0,05$). Foi observado efeito de adaptação ($P=0,0332$) bem como efeito de aditivo ($P=0,0248$).

Os animais adaptados apresentaram maior digestibilidade da FDN (40,55%) quando comparados aos animais não adaptados (36,26%) (Figura 8). A maior digestibilidade da FDN nos animais adaptados pode ter ocorrido pela estimulação do crescimento tanto da população de microrganismos amilolíticos como também de celulolíticos que podem utilizar tanto açúcares estruturais como de não estruturais como substratos para crescer, resultando assim no maior consumo da FDN. Resultado este semelhante aos relatados por Goad et al. (1998); Brown, Ponce e Pulikanti (2006) e Fernando et al. (2010).

Figura 8 - Digestibilidade da fibra em detergente neutro em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis

Quanto ao efeito de aditivo ($P=0,0248$), os animais tratados com o aditivo PAP líquido apresentaram maior digestibilidade da FDN (44,05%), quando comparados aos animais tratados com o PAP pó (36,23%) e o grupo controle (35,37%)(figura 9). Este efeito observado pode ter sido resultado da seleção de microrganismos com maior capacidade de digestão da FDN pelo PAP na apresentação líquida. Porém, nenhum resultado semelhante foi citado em trabalhos que estudaram os anticorpos policlonais (DAHLEN et al., 2003; DILORENZO et al., 2008; BASTOS, 2009; BLANCH et al., 2009; MARINO et al., 2011).

Figura 9 - Digestibilidade da fibra em detergente neutro em animais que receberam um PAP líquido, em pó e o grupo controle, submetidos ou não a adaptação à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis

Para a digestibilidade do amido, não foi observada interação entre proporção de carboidratos na dieta, adaptação e aditivo ($P>0,05$). Porém, foi observada interação entre dieta e adaptação ($P<0,05$), onde na segunda semana, o grupo dos animais adaptados apresentou maior digestibilidade do amido (92,79%) quando comparado ao grupo dos não adaptados (73,91%). Neste momento, os animais adaptados recebiam 30% de concentrado na dieta e os animais não-adaptados 100% de forragem. Nas outras dietas (semanas) não foram observadas diferenças ($P>0,05$) entre os grupos (Figura 10).

Figura 10 - Digestibilidade do amido em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis

Na terceira semana, os animais adaptados foram alimentados com uma dieta com 60% de concentrado. Neste momento, não foi observado efeito de adaptação, pois a sobrecarga de carboidratos, resultou num excedente de amido, constituído principalmente por milho moído. Este excedente associado a maior taxa de passagem da dieta permitiu menor possibilidade de ataque dos microrganismos ruminais ao amido reduzindo assim a sua digestibilidade (SILVA, 2006; VALADARES FILHO; PINA, 2006).

Para a digestibilidade de carboidratos totais não foi observada interação entre proporção de carboidratos na dieta, adaptação e aditivo ($P>0,05$). Foi observado efeito de adaptação ($P<0,0001$), onde o grupo dos animais adaptados apresentou maior digestibilidade quando comparados aos não adaptados (66,44% vs 55,51, respectivamente) (Figura 11).

Figura 11 - Digestibilidade de carboidratos totais em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis

Foi também observado efeito de aditivo ($P=0,0312$), onde os animais que receberam o tratamento com PAP líquido, apresentaram maior digestibilidade (63,93%) de carboidratos totais, quando comparados aos animais tratados com PAP pó (59,04%) e ao grupo controle (59,9%), sem diferença entre os animais tratados com PAP pó e ao grupo controle (Figura12).

Figura 12 - Efeito do aditivo sobre a digestibilidade de carboidratos totais em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis

A maior digestibilidade de carboidratos totais encontrada nos animais adaptados pode ter ocorrido, pela maior digestibilidade dos carboidratos constituintes da dieta destes animais,

que continha 30% e 60% de concentrados na segunda e terceira semanas, respectivamente. Concentrados estes, que possuíam como fonte principal de carboidrato, o milho moído, fonte esta, rica em amido, carboidrato de fácil digestão ruminal.

O resultado apresentado pelo efeito das dietas ou semanas, onde a segunda e terceira semana apresentaram maior digestibilidade, confirma o efeito apresentado na adaptação, de que quando os animais adaptados receberam as dietas de 30% e 60% de concentrados, que continham como constituintes carboidratos de mais fácil digestão apresentaram maior digestibilidade de carboidratos totais.

De forma geral, em relação ao efeito de aditivos sobre a digestibilidade o PAP em apresentação líquida obteve melhores resultados elevando a digestibilidade da MS, FDN e CHOs totais.

5.3 FERMENTAÇÃO RUMINAL

5.3.1 pH ruminal

Para a variável pH ruminal foi observado efeito interação entre tempo e adaptação às três horas após a alimentação ($P < 0,0001$) entre o dia 2 e o dia 16, sendo que o grupo dos animais adaptados apresentou menores valores de pH quando comparados ao grupo dos animais não adaptados (6,40 vs 6,77, respectivamente). Nos dias 15 e 16, nos quais os animais foram submetidos à dieta desafio, com 80% de concentrado, foi observado a queda brusca do pH ruminal nos animais não adaptados (Figura 13).

Figura 13 - Valores de pH ruminal de animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis

Foi observado também efeito de aditivo sobre a variável pH ruminal ($P=0,0432$), efeito este, independente de tempo e de adaptação, onde o PAP na apresentação líquida apresentou maiores valores (6,62) quando comparado ao PAP pó (6,57) e ao controle (6,56) (Figura 14).

Figura 14 - Efeito dos aditivos sobre o pH ruminal em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis

A redução de pH ruminal ao longo dos dias nos animais adaptados em comparação aos animais não adaptados era esperada, devido a maior disponibilidade de carboidratos prontamente fermentescíveis nas dietas resultando em maior produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) reduzindo assim o pH do meio de acordo com o apresentado por Owens et al. (1998) e Nagaraja e Titgemeyer (2007).

No dia 16, segundo dia após a introdução de 80% de concentrado nos dois grupos, os animais do grupo não adaptado apresentou menor pH ruminal. Este resultado foi obtido, devido à grande disponibilidade de carboidratos prontamente fermentescíveis no ambiente ruminal, que foram fermentados principalmente em AGCCs, pois a concentração de lactato não foi alterada. Sendo assim, a queda do pH ruminal neste grupo foi associada com a maior concentração total de AGCC, caracterizando assim quadros de acidose subaguda segundo Owens et al. (1998). Quadro este, de acidose subaguda, caracterizado pela perda de estratificação ruminal, produção excessiva de gases, diarreia e hematoquesia (Figuras 15 e 16).

No presente trabalho, o pH ruminal independentemente de tratamento não foi inferior a 5,5, o que também contribuiu para redução do risco de produção de lactato (OWENS et al., 1998; GALYEAN; RIVERA, 2003).

Quanto ao efeito dos aditivos, o PAP na apresentação líquida mostrou ser mais eficiente em evitar a redução do pH ruminal nas 3 h após a alimentação. Este resultado corrobora com os relatados por DiLorenzo et al. (2007) e Marino et al. (2011), e contrário aos resultados encontrados por Dahlen et al. (2003); DiLorenzo et al. (2008); Blanch et al. (2009) e Bastos (2009) que relataram ausência de efeito do PAP sobre o pH ruminal.

Porém, no presente estudo a redução do pH ruminal não foi associada ao aumento da concentração de lactato, que não ultrapassou 0,7 mM. Foi associada à produção excessiva de AGCCs resultado este semelhante aos relatados por Coe et al. (1999) e Pacheco (2010). Desta forma, o efeito do PAP líquido poderia estar associado com a redução na concentração total de AGCC evitando assim a queda do pH ruminal no pico da fermentação após a alimentação. Entretanto, este evento não foi observado, visto que não houve efeito de aditivo sobre a concentração total de AGCC.

Apesar de não ter ocorrido diferença significativa entre as diferentes apresentações do aditivo sobre a concentração de lactato, o grupo dos animais tratados com o PAP líquido apresentou menor oscilação na concentração de lactato ao longo dos dias, efeito este que pode ter afetado o pH ruminal.

Figura 15 - Escape abrupto de gases e conteúdo ruminal sem estratificação nos animais adaptados à dieta com alta proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis

Figura 16 - Diarréia e hematoquesia em animais adaptados à dieta com alta proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis

5.3.2 Concentração total de ácidos graxos de cadeia curta (tAGCC)

Para a variável concentração total de ácidos graxos de cadeia curta (tAGCC) foi observado efeito de interação entre tempo e adaptação ($P < 0,0001$), do dia 1 ao dia 15, onde o

grupo dos animais adaptados apresentou valores mais elevados em relação ao grupo dos animais não adaptados (100,33 vs 77,72, respectivamente). Porém, exclusivamente no dia 16, os animais adaptados apresentaram um valor inferior ao dos animais não adaptados (107,89 vs 121,18, respectivamente) (Figura 17).

Figura 17 - Concentração total de AGCC no líquido ruminal de animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis

Não foi observado efeito de interação entre tempo e aditivo ($P=0,5364$) ou efeito de aditivo para a concentração total de AGCC ($P=0,3229$) (Figura 18).

Figura 18 - Efeito dos aditivos sobre a concentração total de AGCC no líquido ruminal em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis

O grupo dos animais adaptados apresentou maior produção de AGCC durante a adaptação, devido inclusão de teores crescentes de carboidratos prontamente fermentescíveis nas dietas, apresentando uma média de 109,24 mM, valor semelhante aos relatados por Fulton, Klopfenstein e Britton, (1979a); Goad et al. (1998) e Bevans et al. (2005).

Com uma maior disponibilidade de substrato rico em carboidrato fermentescível ocorreu maior produção de AGCC em relação ao grupo de animais não adaptados. Entretanto, isto ocorreu somente até o dia do desafio (dia 15), período no qual os animais não adaptados recebiam somente forragem. Quando os animais não adaptados receberam dieta contendo 80 % de concentrado (dia 15), a concentração total de AGCC foi superior ao do grupo de animais adaptados (121,18 vs 107,89 mM, respectivamente). Esta produção abrupta de AGCC demonstra que o rúmem possui grande capacidade para fermentar carboidratos como descrito por Huntington (1997). Porém, isto reduz rapidamente o pH ruminal e predispõem o animal à acidose ruminal, contra indicando assim a adaptação rápida ou abrupta. Estes resultados são semelhantes aos descritos por Fulton, Klopfenstein e Britton, (1979a); Lyle et al. (1981); Owens et al. (1998) e Brown, Ponce e Pulikanti (2006).

A inclusão do aditivo PAP tanto na apresentação líquida como pó não alterou a concentração total de AGCC. Resultado este, semelhante aos descritos por Dahlen et al. (2003); DiLorenzo et al. (2008); Bastos (2009); Blanch et al. (2009) e Marino et al. (2011).

O efeito da adaptação ao aumentar a concentração total dos AGCCs nos animais adaptados era esperada e desejável. Neste momento, cabe ressaltar também, que o PAP não interferiu negativamente, reduzindo a produção de AGCCs, efeito este também foi considerado desejável.

5.3.3 Proporção molar de acetato

A variável proporção molar de acetato apresentou interação entre tempo e adaptação ($P<0,0001$), como também interação entre tempo e aditivo ($P=0,0302$) (Figura 19).

Figura 19 - Proporção molar de acetato em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis

Foi possível observar a menor proporção de acetato nos animais adaptados do dia D0 ao dia D11, quando comparados ao grupo não adaptado (58,71 vs 61,56, respectivamente). Porém, dos dias D12 ao D14, observou-se o aumento na proporção molar de acetato nos animais adaptados não sendo mais apresentada diferença entre os grupos. E após a administração da dieta desafio, realizada no D15, foi observada a maior proporção molar de acetato nos animais adaptados quando comparados ao grupo dos animais não adaptados (62,51 vs 58,83, respectivamente) (Figura 19).

Figura 20 - Efeito de aditivo sobre a proporção molar de acetato em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis

Quanto ao efeito de aditivo, foi observada interação entre tempo e aditivo ($P=0,0302$). No dia 4, a proporção de acetato foi mais elevada para o grupo controle em relação ao grupo PAP líquido e, sem diferença do grupo PAP pó para os demais (Figura 20). Resultado este, contrário aos relatados por Dahlen et al. (2003); DiLorenzo et al. (2008); Bastos (2009); Blanch et al. (2009) e Marino et al. (2011) que não observaram alteração das proporções molares dos ácidos graxos com a utilização de diferentes apresentações do PAP.

Quanto ao acetato, sua proporção molar foi crescente, durante a adaptação, porém, este resultado foi controverso. A hipótese criada é de que o tempo de adaptação usado neste estudo, que foi de 5 dias por etapa, não seja suficiente para que as vias metabólicas da microbiota ou os próprios microorganismos, mudem de produtores de acetato para sintetizadores de propionato. Sendo assim, a síntese de acetato é a única rota presente, imediatamente no momento da sobrecarga de carboidratos, capaz de drenar o excedente de íons H^+ resultando no aumento da sua proporção, em relação aos outros AG.

5.3.4 Proporção molar de propionato

Quanto à proporção molar de propionato, também ocorreu interação entre tempo e adaptação ($P<0,0001$), sendo observado entre os dias 5 a 7, diferença entre o grupo dos

animais adaptados (29,01) e o grupo dos não adaptados (27,14). Entre os dias 11 e 16, esta posição se inverte e os animais adaptados passaram a apresentar menores valores da proporção molar de propionato quando comparado aos animais adaptados (22,07 vs 25,61, respectivamente) (Figura 21).

Figura 21 - Proporção molar de propionato em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis

Não foi observada interação entre tempo e aditivo ($P=0,7677$), bem como efeito de aditivo ($P=0,2666$) para a proporção molar de propionato (Figura 22).

Figura 22 - Efeito de aditivo sobre a proporção molar de propionato em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis

5.3.5 Relação acetato: propionato

Para a variável relação acetato:propionato (Ac:Pr), houve efeito de interação entre tempo e adaptação ($P < 0,0001$). Nos dias 2, 5, 6 e 7, o grupo dos animais adaptados apresentou menor relação Ac:Pr quando comparados aos animais não adaptados (2,29 vs 1,96, respectivamente). Porém, nos dias 12 a 16, houve inversão desta relação e os animais adaptados passaram a apresentar maior relação Ac:Pr (2,87) quando comparados ao grupo dos não adaptados (2,41) (Figura 23).

Figura 23 - Relação molar acetato:propionato em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis

O aumento da proporção molar de propionato no grupo dos animais adaptados era esperada, devido a grande quantidade de substrato rico em carboidratos fermentescíveis presentes no rúmen, causando a redução do pH ruminal e excedente de H_2 disponível para a síntese deste ácido, segundo Goad et al. (1998); Moss, Jouany e Newbold (2000); Bevans et al. (2005) e Nussio, Campos e Lima (2006). Porém, isto é observado em condições onde o processo fermentativo no rúmen já está estável e os microorganismos ruminais já adaptados ao novo substrato. Isto ocorreu até o dia 7, porém a partir do dia 11, observou-se o decréscimo da proporção molar de propionato nestes animais.

Este resultado pode ser explicado, pois o pH ruminal médio não foi inferior a 6,0, assim não houve inibição da drenagem de H_2 pela produção de metano, via esta intimamente relacionada a produção de acetato. Por este motivo, não houve necessidade de mudança das vias metabólicas dos microorganismos ruminais para a via do propionato, para drenar ou aproveitar o excedente de H_2 gerado pela inclusão de concentrados (MOSS; JOUANY; NEWBOLD, 2000). Além disso, a troca de dietas, realizada a cada 5 dias, e com níveis crescentes de concentrados, possivelmente, não permitiu que a população de microorganismos ruminais predominantemente fermentadora de carboidratos estruturais, alterasse para uma população de fermentadoras de carboidratos não estruturais. A partir da literatura, foi possível observar que o tempo, para que esta mudança ocorra, está compreendido entre aproximadamente 7 a 10 dias quando os animais são mantidos na mesma dieta (OWENS et

al., 1998; SCHWARTZKOPF-GENSWEIN et al., 2003; BEVANS et al., 2005; NAGARAJA; TITGEMEYER, 2007; PACHECO, 2010).

O resultado obtido pode indicar que seria interessante que o pH ruminal, em dietas com alta proporção de concentrados, se estabeleça abaixo de 6,0, para viabilizar a via de síntese de propionato, e acima de 5,5, nível crítico para a produção de lactato, associando maior eficiência energética sem risco de ocorrência de um quadro de acidose ruminal aguda.

A proporção de propionato não sofreu alteração pela inclusão do PAP tanto na apresentação líquida como em pó. Resultado este que corrobora com os encontrados por Dahlen et al. (2003); DiLorenzo et al. (2008); Bastos (2009); Blanch et al. (2009) e Marino et al. (2011).

A relação Ac:Pr, apresentada no presente trabalho ilustra o relatado anteriormente, onde ocorreu aumento da proporção de acetato e manutenção e leve redução da proporção de propionato, resultando em um aumento da relação Ac:Pr. Este evento, pode não ser desejável em um aditivo alimentar, voltado à desempenho e produtividade. Visto, que neste caso, só o que se deseja é aumentar a participação de propionato na proporção dos principais AGCC do rúmem, pois seu potencial de manutenção da energia do alimento é maior, quando comparados a produção de acetato e butirato pela fermentação.

5.3.6 Proporção molar de butirato

Para a variável proporção molar de butirato, foi observada interação entre tempo e adaptação ($P=0,0004$) nos dias D0 a D15. O grupo dos animais adaptados apresentou maiores valores (14,68) em relação ao grupo dos animais não adaptados (12,06), exceto no dia 16 (Figura 24).

Figura 24 - Proporção molar de butirato em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis

Foi também observado efeito de interação entre tempo e aditivo ($P=0,0059$) sobre a proporção molar de butirato apenas no dia 16, sendo que o grupo controle apresentou maior proporção de butirato (20,73) quando comparado aos animais tratados com PAP líquido (17,69) e PAP pó (16,62) (Figura 25).

Figura 25 - Efeito de interação tempo e aditivo sobre a proporção molar de butirato em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis

A proporção molar de butirato foi mais elevada em animais adaptados quando comparados aos animais não adaptados. O grupo dos animais adaptados iniciou o período experimental com a proporção molar média de butirato de 13,12 e ao término do período experimental apresentavam a proporção média de butirato de 18,95. Este aumento provavelmente ocorreu devido ao crescimento de microorganismos utilizadores de lactato como o *Megasphaera*

elsdenii que possui como produto final de fermentação do lactato o butirato (GOAD et al., 1998).

Resultado este que difere dos observados por Dahlen et al. (2003); Dilozenzo et al. (2008); Bastos (2009); Blanch et al. (2009) e Marino et al. (2011) e corrobora com os resultado apresentado por Pacheco (2010). Porém, a composição do PAP nestes trabalhos apresenta variações em sua composição em relação ao utilizado neste estudo.

A proporção molar de butirato foi afetada tanto pela adaptação como pelo aditivo. Nos animais adaptados, a proporção deste ácido graxo foi superior, quando comparados aos não adaptados, evento este, que provavelmente ocorreu pelo crescimento do microorganismo *Megasphaera elsdenii* consumidor de lactato e produtor de butirato. Já o PAP tanto na apresentação líquida como em pó, foram capazes de reduzir a proporção de butirato, resultado este desejável quanto à preservação da energia inicial do alimento.

5.3.7 Concentração de Lactato

A concentração de lactato no líquido ruminal não sofreu efeito de interação entre tempo e adaptação ($P=0,7393$), como também, efeito de adaptação ($P=0,1275$), não excedendo valor médio de 0,7 mM (Figura 26).

Figura 26 - Concentração de lactato em mM em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis

Para a concentração de lactato também não foi observado efeito de interação entre tempo e aditivo ($P=0,3921$), bem como efeito de aditivo ($P=0,4206$) (Figura 27).

Figura 27 - Concentração de lactato em mM em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis, tratados com PAP líquido, PAP pó e grupo controle

A concentração de lactato não foi afetada ($P>0,05$) pela adaptação a dietas ou pelos aditivos. A concentração máxima observada foi de 0,63 mM no grupo controle no dia 10, quando os animais foram submetidos a 60% de concentrado. Esta concentração é muito baixa quando comparada a 50 mM concentração esta comumente encontrada em quadros de acidose aguda, segundo Owens et al. (1998); Beauchemin et al. (2003) e Bevans et al. (2005). A concentração de lactato pode ter se mantido baixa, pois as condições de pH ruminal encontradas neste estudo permitiram o desenvolvimento de microorganismos utilizadores de lactato. Estes microorganismos são inibidos somente abaixo do pH 5,5 (NAGARAJA; TITGEMEYER, 2007), e neste estudo, estes valores de pH não foram atingidos. Isto pode indicar que a introdução de altos teores de carboidratos prontamente fermentescíveis tanto de forma gradual como abrupta não foi capaz de induzir a acidose aguda ou acúmulo de lactato suficiente para isto.

Em outros estudos utilizando o PAP, as concentrações de lactato também foram baixas. No estudo de Marino et al. (2011) o grupo controle apresentou maior concentração de lactato (0,91 mM), quando comparados aos animais tratados com PAP (0,16 mM), porém, os valores médios não excederam 1,0 mM. Pacheco (2010) relatou concentração máxima de lactato em seu estudo de 0,23 mM independentemente de tratamento, resultado estes semelhantes ao observado neste estudo. Porém, Blanch et al. (2009) relataram que seus animais do tratamento controle apresentaram concentração de lactato de 20 mM, enquanto os animais tratados com PAP apresentaram concentrações insignificantes. Isto pode indicar, que no presente estudo, a condição para que o aditivo possa agir, não foi atingida.

5.3.8 Nitrogênio Amoniacal

Para a variável concentração de nitrogênio amoniacal foi observada interação entre tempo e adaptação ($P=0,0003$), nos dias 5 a 7, 10, 11 e 13, onde o grupo dos animais adaptados apresentou maiores valores quando comparado ao dos não adaptados (24,68 vs 15,97 mg/dL) (Figura 28).

Figura 28 - Concentração de nitrogênio amoniacal (mg/dL) em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis

Porém, não foi observado efeito de interação entre tempo e aditivo ($P=0,8865$), bem como efeito de aditivo ($P=0,2855$) para esta variável (Figura 29).

Figura 29 - Concentração de nitrogênio amoniacal (mg/dL) em animais adaptados ou não à dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis, tratados com um preparado de anticorpos na apresentação líquida, pó e grupo controle

A concentração de nitrogênio amoniacal ruminal, tanto dos animais adaptados como não dos adaptados foi de 19,06 mg/dL, concentração esta suficiente para maximizar a síntese microbiana em dietas com alto teor de carboidratos de alta degradabilidade, segundo o preconizado por Santos (2006), que varia de 3,3 a 8,0 mg/dL.

Os animais adaptados apresentaram maior concentração de nitrogênio amoniacal, provavelmente devido à maior ingestão de MS, e subsequente maior ingestão de compostos nitrogenados, que foram degradados em nitrogênio amoniacal para ser utilizados pelas bactérias ruminais na síntese de proteína bacteriana, que não foi mensurada neste estudo.

Não foram observados efeitos do PAP para esta variável, resultado este que corrobora com os encontrados por Dahlen et al. (2003); Dilorenzo et al. (2008); Bastos (2009), Blanch et al. (2009) e Marino et al. (2011), em estudos anteriores que avaliaram diversas composições dos preparados de anticorpos policlonais.

5.4 CONTAGEM RUMINAL DE PROTOZOÁRIOS

Os dados referentes à contagem de protozoários estão apresentados na forma de gráficos, por dia de coleta, por adaptação e em contagem relativa (%) da população

encontrada. Os gêneros encontrados no presente trabalho foram *Dasytricha sp*, *Diplodinium sp*, *Entodinium sp*, *Epidinium sp*, *Isotricha sp*.

Foi observada interação entre tempo, adaptação e aditivo para as populações de *Dasytricha sp* ($P=0,0305$) e *Entodinium sp* ($P=0,0398$), sendo que o efeito foi observado no dia 14 *Dasytricha sp* ($P=0,0188$) com 18% da população nos animais adaptados e 51,67% nos animais não adaptados e *Entodinium sp* ($P=0,0136$), com 80,78% da população nos animais adaptados e 45,33% nos animais não adaptados. Nos animais que receberam PAP líquido, a população de *Dasytricha sp* foi superior (38,33%) quando comparados às populações dos animais tratados com PAP pó (31,50%) e grupo controle (34,67%), sem diferença entre estes últimos dois grupos. Quanto a população de *Entodinium sp*, os animais que receberam o tratamento com o PAP líquido apresentaram menor porcentagem deste gênero de protozoários (58,50%) quando comparados ao grupo controle (64,00%) e ao tratamento PAP pó (66,67%).

Nos animais adaptados ocorreu aumento da população de *Entodinium sp* e redução nas populações dos outros protozoários encontrados. Já nos animais não adaptados ocorreu aumento da população de *Dasytricha sp*. Resultados diversos foram observados por Otero (2008). Em um estudo que avaliou um preparado de anticorpos policlonais contra *Streptococcus bovis*, *Fusobacterium necrophorum* e cepas de bactérias proteolíticas e diferentes fontes energéticas na dieta, foi observado aumento da população de *Isotricha sp*. Efeito este relacionado à fonte energética usada, polpa cítrica, e não pelo efeito do aditivo PAP.

No grupo dos animais adaptados, houve aumento da população de *Entodinium sp*. Resultado semelhante foi relatado por Franzolin e Dehority (1996) e Arcuri, Lopes e Carneiro, (2006) que afirmam que com o acréscimo de concentrados na dieta até um teor próximo a 60 a 70% este gênero de protozoários tende a prevalecer frente as outros gêneros. Isto por que, este gênero de protozoário é utilizador de amido e também pode processar o lactato como fonte energética, condições comuns em fases de adaptação às dietas com alta proporção de carboidratos. É possível observar o aumento da população de *Entodinium sp*, de acordo com o acréscimo de concentrado na dietas (Figura 30 a., c. e e.). Enquanto que nos animais não adaptados não ocorreu mudança significativa nas populações ao longo da adaptação (Figura 30 b., d. e f.).

Figura 30 - População relativa de protozoários nos dias 4, 9 e 14 em animais adaptados e não adaptados a dieta com alta proporção de carboidratos fermentescíveis

Quanto ao efeito de aditivo e de adaptação sobre a população de protozoários é difícil precisar a contribuição de cada fator, já que ocorreu interação entre estes dois fatores mais o tempo, ou seja, o efeito observado foi dependente do tempo, aditivo e adaptação. Mas foi possível identificar a população de protozoários prevalente em cada uma das condições de adaptação. Nos animais não adaptados, com dieta a base de forragem, o protozoário prevalente na população foi da espécie *Dasytricha* sp (51,67%). Enquanto nos animais adaptados, com dieta contendo carboidratos fermentescíveis em níveis crescentes, a espécie de protozoário mais prevalente foi a *Entodinium* sp (80,78%).

6 CONCLUSÕES

O preparado de anticorpos policlonais tanto na apresentação líquida como em pó não alterou o consumo de matéria seca bem como a concentração total de ácidos graxos de cadeia curta, proporção molar de acetato, propionato e butirato, assim como a concentração ruminal de lactato e nitrogênio amoniacal.

O preparado de anticorpos policlonais na apresentação líquida melhorou a digestibilidade de vários nutrientes, como matéria seca, fibra em detergente neutro e carboidratos totais. Quanto ao pH ruminal, o PAP na apresentação líquida, se mostrou mais eficiente, em evitar a sua redução, quando comparado ao preparado na apresentação em pó e que o grupo controle durante o pico de fermentação.

A adaptação melhorou a digestibilidade da matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido e carboidratos totais. Proporcionou também aumento na população de protozoários do gênero *Entodinium* sp, importante nas dietas ricas em carboidratos não estruturais. Como também proporcionou aumento nas concentrações ruminais de AGCC, evidenciado principalmente na proporção molar de acetato, sem que ocorresse o aumento nas concentrações de lactato.

7 IMPLICAÇÕES

O preparado de anticorpos policlonais se mostrou um potencial aditivo para alimentação de bovinos recebendo dieta rica em carboidratos fermentescíveis. E a apresentação líquida se mostrou mais eficiente quando comparada a apresentação em pó. Este resultado reforça a suspeita de que o processo de secagem do produto por spray dryer desnatura os anticorpos presentes no produto, resultando na redução da sua eficiência.

A adaptação mostrou ser uma fase de grande importância na transição entre, dietas exclusivamente a base de forragem, para dietas com alta proporção de carboidratos fermentescíveis. Melhorando a digestibilidade de muitos dos nutrientes da dieta, modificando as populações de protozoários e também aumentando as concentrações de AGCC, sem o aumento nas concentrações de lactato, eventos estes desejáveis em condições que utilizam dietas com alta proporção de carboidratos fermentescíveis.

O método de adaptação utilizado não foi suficiente para induzir um quadro de acidose aguda, porém foi capaz de induzir um processo de acidose sub aguda, por acúmulo de AGCC, condição esta mais comum nos sistemas de criação de animais confinados recebendo dietas de alta proporção de carboidratos fermentescíveis. Além disto, o tempo utilizado em cada etapa da adaptação, que foi de 5 dias, mostrou-se insuficiente, para que ocorra a mudança no padrão de fermentação da microbiota ruminal, com conseqüente aumento na proporção de propionato. Por este motivo o autor recomenda a utilização de períodos maiores para cada etapa. A proposta para novos estudos, seriam etapas de 7 a 10 dias em cada fase ou dieta, proposta esta baseada nos resultados obtidos neste trabalho, no de Pacheco (2010) e na revisão de literatura.

REFERÊNCIAS

AKIN, D. E. Interaction of Ruminant Bacteria and Fungi with Southern Forages. **Journal of Animal Science**, v. 63, n. 3, p. 962-977, 1986.

AKIN, D. E.; RIGSBY, L. L. Mixed fungal populations and lignocellulosic tissue degradation in the bovine rumen. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 53, n. 9, p. 1987-1995, 1987.

ALLEN, M. S. Physical constraints on voluntary intake of forages by ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 74, n. 12, p. 3063-3075, 1996.

ARCURI, P. B.; LOPES, F. C. F.; CARNEIRO, J. C. microbiologia do rúmem. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V. ; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. p.111-140.

BALCH, C. C.; CAMPLING, R. C. Regulation of voluntary food intake in ruminants. **Nutrition Abstracts and Reviews**, v. 32, n. 2, p. 669-686, 1962.

BARDUCCI, R. S.; SARTI, L. M. N.; ARRIGONI, M. D. B.; PACHECO, R. D. L.; MILLEN, D. D.; MARTINS, C. L.; BALDIN, S. R.; PARRA, F. S.; RONCHESEL, J. R.; TOMAZELLA, D.; LEIVA, T.; H. D. ROSA¹, MARIANI, T. M.; BASTOS, J. P. S. T.; PUTAROV, T. C. Feedlot performance of Brangus cattle fed monensin or polyclonal antibody preparation against lactate-producing rumen bacteria. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 87, p. 283- 284, 2009. Supplement 2.

BARTLE, S. J.; PRESTON, R. L. Roughage level and limited maximum intake regimens for feedlot steers. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 11, p. 3293-3303, 1992.

BASTOS, J. P. S. T. **Efeito de diferentes dosagens do preparado de anticorpos policlonais específicos sobre as variáveis ruminais, degradabilidade in situ e digestibilidade in vivo de bovinos alimentados com dieta de alto concentrado**. 2009. 112 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Botucatu, 2009.

BAUCHOP, T. The anaerobic fungi in rumen fibre digestion. **Agriculture and Environment**, v. 6, n. 2-3, p. 339-348, 1981.

BEAUCHEMIN, K. A.; YANG, W. Z.; MORGAVI, D. P.; GHORBANI, G. R.; KAUTZ, W.; LEEDLE, J. A. Z. Effects of bacterial direct-fed microbials and yeast on site and extent of digestion, blood chemistry, and subclinical ruminal acidosis in feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v. 81, n. 6, p. 1628-1640, 2003.

BERGEN, W. G.; BATES, D. B. Ionophers: Their effect on production efficiency and mode of action. **Journal of Animal Science**, v. 58, n. 61, p. 1465-1483, 1984.

BERGMAN, E. N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. **Physiological Reviews**, v. 70, n. 2, p. 567-590, 1990.

BEVANS, D. W.; BEAUCHEMIN, K. A.; SCHWARTZKOPF-GENSWEIN, K. S.; MCKINNON, J. J.; MCALLISTER, T. A. Effect of rapid or gradual grain adaptation on subacute acidosis and feed intake by feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v. 83, n. 5, p. 1116-1132, 2005.

BEAUCHEMIN, K. A.; YANG, W. Z.; MORGAVI, D. P.; GHORBANI, G. R.; KAUTZ, W.; LEEDLE, J. A. Z. Effects of bacterial direct-fed microbials and yeast on site and extent of digestion, blood chemistry, and subclinical ruminal acidosis in feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v. 81 n. 6, p. 1628-1640, 2003.

BLANCH, M.; CALSAMIGLIA, S.; DILORENZO, N.; DICOSTANZO, A.; MUETZEL, S.; WALLACE, R. J. Physiological changes in rumen fermentation during acidosis induction and its control using a multivalent polyclonal antibody preparation in heifers. **Journal of Animal Science**, v. 87, n. 5, p. 1722-1730, 2009.

BLAXTER, K. L. **Energy metabolism of ruminants**. Springfield: Charles C. Thomas, 1962. 329 p.

BROWN, M. S.; PONCE, C. H.; PULIKANTI, R. Adaptation of beef cattle to high-concentrate diets: Performance and ruminal metabolism. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. 13, p. E25-E33, 2006. Supplement.

BURRIN, D. G.; STOCK, R. A.; BRITTON, R. A. Monensin Level during Grain Adaption and Finishing Performance in Cattle. **Journal of Animal Science**, v. 66, n. 2, p. 513-521, 1988.

CARVALHO, F. A. N.; BARBOSA, F. A.; MCDOWELL, L. R.; CARVALHO, F. A. N.; BARBOSA, F. A. **Nutrição de Bovinos a Pasto**. Belo Horizonte: Papelform, 2003. 428 p.

CHOAT, W. T.; KREHBIEL, C. R.; BROWN, M. S.; DUFF, G. C.; WALKER, D. A.; GILL, D. R. Effects of restricted versus conventional dietary adaptation on feedlot performance, carcass characteristics, site and extent of digestion, digesta kinetics, and ruminal metabolism. **Journal of Animal Science**, v. 80, n. 10, p. 2726-2739, 2002.

CHURCH, D. C. **El ruminante-fisiología digestiva y nutrición**. Zaragoza: Acribia, 1993.

COE, M. L.; NAGARAJA, T. G.; SUN, Y. D.; WALLACE, N.; TOWNE, E. G.; KEMP, K. E.; HUTCHESON, J. P. Effect of virginiamycin on ruminal fermentation in cattle during

adaptation to a high concentrate diet and during an induced acidosis. **Journal of Animal Science**, v. 77, n. 8, p. 2259-2268, 1999.

CONAB. ACOMPANHAMENTO DA SAFRA BRASILEIRA. **Acompanhamento da Safra brasileira**: grãos oitavo levantamento, Maio/2011, Brasil. Brasília: CONAB, 2011. Publicação mensal. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11_01_06_08_41_56_boletim_graos_4o_lev_safra_2010_2011..pdf>. Acesso em: 20 abr. 2011.

CONRAD, H. R.; PRATT, A. D.; HIBBS, J. W. Regulation of Feed Intake in Dairy Cows. I. Change in Importance of Physical and Physiological Factors with Increasing Digestibility1. **Journal of Dairy Science**, v. 47, n. 1, p. 54-62, 1964.

COUNETTE, G. H. M.; PRINS, R. A. Regulation of lactate metabolism in the rumen. **Veterinary research Communicatons**, v. 5, n.3, p. 101-115, 1981.

DAHLEN, C. R.; DICOSTANZO, A.; MITTENESS, B. M.; NASH, P.; LARSON, J. E.; DILORENZO, N.; MARX, G. D. Influence of a polyclonal antibody preparation against rumen proteolytic bacteria on rumen fermentation and yield of milk and milk components. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 58, 2003. Supplement, 1.

DAHLEN, C. R.; DILORENZO, N.; DICONSTANZO, A.; LAMB, G. C.; SMITH, L. J. Effects of feeding a polyclonal antibody preparation against *Streptococcus bovis* or *Fusobacterium necrophorum* on performance and carcass characteristics of feedlot steers. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 270, 2004. Supplement, 1.

DEHORITY, B. A. **Laboratory manual for classification and morphology of rumen ciliate protozoa**. Florida: CRC Press Inc. 96p. 1993.

DILORENZO, N.; DIEZ-GONZALEZ, F.; DICOSTANZO, A. Effects of feeding polyclonal antibody preparations on ruminal bacterial populations and ruminal pH of steers fed high-grain diets. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. 8, p. 2178-2185, 2006.

DILORENZO, N.; DAHLEN, C. R.; LARSON, J. E.; GILL, R. K.; DICOSTANZO, A. Effects of feeding a polyclonal antibody preparation against selected rumen bacteria on rumen pH of lactating dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 85, p. 135, 2007. Supplement, 2.

DILORENZO, N.; DAHLEN, C. R.; DIEZ-GONZALEZ, F.; LAMB, G. C.; LARSON, J. E.; DICOSTANZO, A. Effects of feeding polyclonal antibody preparations on rumen fermentation patterns, performance, and carcass characteristics of feedlot steers. **Journal of Animal Science**, v. 86, n. 11, p. 3023-3032, 2008.

DONOHU, A. L. Biochemical Studies on the Fate of Monensin in Animals and in the Environment. **Journal of Animal Science**, v. 58, n. 6, p. 1528-1539, 1984.

EIFERT, E. D. C.; LANA, R. D. P.; LEÃO, M. I.; ARCURI, P. B.; VALADARES FILHO, S. D. C.; LEOPOLDINO, W. M.; OLIVEIRA, J. D. S.; SAMPAIO, C. B. Efeito da combinação de óleo de soja e monensina na dieta sobre o consumo de matéria seca e a digestão em vacas lactantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 6, p. 297-308, 2005.

ERICKSON, G. E.; MILTON, C. T.; FANNING, K. C.; COOPER, R. J.; SWINGLE, R. S.; PARROTT, J. C.; VOGEL, G.; KLOPFENSTEIN, T. J. Interaction between bunk management and monensin concentration on finishing performance, feeding behavior, and ruminal metabolism during an acidosis challenge with feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v. 81, n. 11, p. 2869-2879, 2003.

ERWIN, E.S.; MARCO, G.J.; EMERY, E.M. Volatile fatty acids analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. **Journal of Dairy Science**, v. 44,n.9, p.1768- 1771, 1961.

EUROPA. **Regulation EC On additives foruse in animal nutrition No 1831/2003**. 2003. Disponível em: <http://ec.europa.eu/food/food/animalnutrition/feedadditives/comm_register_feed_additives_1831-03.pdf>. Acesso em: 05 maio 2010.

FAO Food and Agriculture Organization of the United Nations. The State of Food Insecurity in the World 2004: monitoring progress towards the World Food Summit and Millennium Development Goals. Summary report. 43 p. Disponível em: <<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/007/y5650e/y5650e00.pdf>>. Acesso em: 20 abr. 2011.

FERNANDO, S. C.; PURVIS II, H. T.; NAJAR, F. Z.; SUKHARNIKOV, L. O.; KREHBIEL, C. R.; NAGARAJA, T. G.; ROE, B. A.; DESILVA, U. Rumen Microbial Population Dynamics during Adaptation to a High-Grain Diet. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 76, n. 22, p. 7482-7490, 2010.

FOLDAGER, J. **Protein requirement and non protein nitrogen for high producing cow in early lactation**. Tese (Doutorado). Michigan State University, East Lasing, MI 1977.

FONDEVILA, M. Processo implicado en la digestión microbiana de los forrajes de baja calidad. **Revista de la Facultad de Agronomía**, v. 15, pp. 87-106, 1998.

FOSSA, M. V.; PACHECO, R. D. L.; MILLEN, D. D.; AL, E. Fatty acid profile, meat cholesterol and total lipids of Bos indicus based types bullocks fed monensin or polyclonal antibodies against lactate-producing rumen bacteria. **Journal of Animal Science**, v. 86, p. 200, 2008. Supplement, 2.

FRANZOLIN, R.; DEHORITY, B. A. Effect of prolonged high-concentrate feeding on ruminal protozoa concentrations. **Journal of Animal Science**, v. 74, n. 11, p. 2803-2809, 1996.

FULTON, W. R.; KLOPFENSTEIN, T. J.; BRITTON, R. A. Adaptation to High Concentrate Diets by Beef Cattle. II. Effect of Ruminal pH Alteration on Rumen Fermentation and Voluntary Intake of Wheat Diets. **Journal of Animal Science**, v. 49, n. 3, p. 785-789, 1979a.

FULTON, W. R.; KLOPFENSTEIN, T. J.; BRITTON, R. A. Adaptation to High Concentrate Diets by Beef Cattle. I. Adaptation to Corn and Wheat Diets. **Journal of Animal Science**, v. 49, n. 3, p. 775-784, 1979b.

GALYEAN, M. L.; RIVERA, J. D. Nutritionally related disorders affecting feedlot cattle. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 83, n. 1, p. 13-20, 2003.

GILL, H. S.; SHU, Q.; LENG, R. A. Immunization with *Streptococcus bovis* protects against lactic acidosis in sheep. **Vaccine**, v. 18, n. 23, p. 2541-2548, 2000.

GOAD, D. W.; GOAD, C. L.; NAGARAJA, T. G. Ruminal microbial and fermentative changes associated with experimentally induced subacute acidosis in steers. **Journal of Animal Science**, v. 76, n. 1, p. 234-241, 1998.

GRENET, E.; FONTY, G.; JAMOT, J.; BONNEMOY, F. Influence of diet and monensin on development of anaerobic fungi in the rumen, duodenum, cecum, and feces of cows. **Applied Environmental Microbiology**, v. 55, n. 9, p. 2360-2364, 1989.

HAU, J.; COENRAAD, F. M. H. Refinement of polyclonal antibody production by combining oral immunization of chickens with harvest of antibodies from the egg yolk. **ILAR Journal**, v. 46, n. 3, p. 294-299, 2005.

HUBER, T. L. Physiological Effects of Acidosis on Feedlot Cattle. **Journal of Animal Science**, v. 43, n. 4, p. 902-909, 1976.

HUNGATE, R. E. The rumen protozoa. In: KREIER, J. P. (Ed.). **Parasitic protozoa**. New York: Academic Rea, 1978. v. 2, p. 65-95.

HUNTINGTON, G. B. Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. **Journal of Animal Science**, v. 75, n. 3, p. 852-867, 1997.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Rebanho bovino cai para 205,9 milhões de cabeças em 2006**. Brasília: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2007. Disponível em:

<http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=1053>. Acesso em: 23 de agosto de 2010.

JOYNER JR., A. E.; BROWN, L. J.; FOGG, T. J.; ROSSI, R. T. Effect of Monensin on Growth, Feed Efficiency and Energy Metabolism of Lambs. **Journal of Animal Science**, v. 48, n. 5, p. 1065-1069, 1979.

KAMRA, D. N. Rumen microbial ecosystem. **Current Science**, v. 89, n. p. 2005 Disponível em: <<http://www.ias.ac.in/currsci/jul102005/124.pdf>>. Acesso em: 09 maio 2011.

KATSUKI, P. A.; MIZUBUTI, I. Y.; PEREIRA, E. S.; RAMOS, B. M. O.; RIBEIRO, E. L. A.; MOREIRA, F. R.; ROCHA, M. A.; PINTO, A.; ALVES, T. C. Cinética ruminal de degradação de nutrientes da silagem de milho em ambiente ruminal inoculado com diferentes aditivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 6, p. 2421-2426, 2006.

KLEEN, J. L.; HOOIJER, G. A.; REHAGE, J.; NOORDHUIZEN, J. P. T. M. Subacute Ruminal Acidosis (SARA): a review. **Journal of Veterinary Medicine Series A**, v. 50, n. 8, p. 406-414, 2003.

KULASEK, G.A. A micromethod for determination of urea in plasma, whole blood cells using urease and phenol reagent. **Polskie Archiwum Weterynaryjne**. v15, n.4, p. 801-810, 1972.

LAMMERS, B.P.; BUCKMASTER, D.R.; HEINRICH, E A.J. S.. A simple method for the analysis of particle sizes of forage and total mixed rations. **Journal of Dairy Science**, v. 79, n.5 , p 922-928, 1996.

LETTAT, A.; NOZIERE, P.; SILBERBERG, M.; MORGAVI, D. P.; BERGER, C.; MARTIN, C. Experimental feed induction of ruminal lactic, propionic, or butyric acidosis in sheep. **Journal of Animal Science**, v. 88, n. 9, p. 3041-3046, 2010.

LYLE, R. R.; JOHNSON, R. R.; WILHITE, J. V.; BACKUS, W. R. Ruminal Characteristics in Steers as Affected by Adaptation from Forage to All-Concentrate Diets. **Journal of Animal Science**, v. 53, n. 5, p. 1383-1390, 1981.

MARIANI, T. M.; Millen, D. D.; Pacheco, R. D. L.; Arrigoni, M. D. B.; Martins, C. L.; Bastos, J. P. S. T.; Barducci, R. S.; Sarti, L. M. N.; Baldin, S. R.; Tomazella, D.; Ogawa, E. S.; Parra, F. S.; Ronchesel, J. R.. Feeding behavior of Nelore and Brangus cattle fed monensin or polyclonal antibody preparation against lactate-producing rumen bacteria. **Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 87, p. 275, 2009. Supplement 2.

MARIANI, T. M. **Suplementação de anticorpos policlonais ou monensina sódica sobre o comportamento ingestivo e desempenho de bovinos brangus e nelore confinados**. 2010. 90 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Botucatu, 2010.

MARINO, C. T. **Efeito do preparado de anticorpos policlonais sobre o consumo alimentar, fermentação ruminal e digestibilidade in vivo de bovinos suplementados com três fontes energéticas.** 2008. **107 p.** (Tese Doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Botucatu, 2008.

MARINO, C. T.; OTERO, W. G.; RODRIGUES, P. H. M.; DICOSTANZO, A.; MILLEN, D. D.; PACHECO, R. D. L.; DILORENZO, N.; MARTINS, C. L.; ARRIGONI, M. D. B. Effects of adding polyclonal antibody preparations on ruminal fermentation patterns and digestibility of cows fed different energy sources. **Journal of Animal Science**, v. 89, n. 10, p. 3228-3235, 2011.

MERTENS, D. R. **Regulation of forage intake:** secondary title. Lincoln, Nebraska: American Society of Agronomy 1994. 450-493 p.

MILLEN, D. D.; PACHECO, R. D. L.; ARRIGONI, M. D. B.; PARRILI, M.; MATSUHARA, S. A.; FOSSA, M. V.; SARTI, L. M. N.; MARTINS, C. L.; BASTOS, J. P. S. T.; MARIANI, T. M. Feedlot performance and rumen parakeratosis incidence in *Bos indicus* type bullocks fed high-grain diets and monensin or polyclonal antibodies preparations against rumen bacteria. In: 2007 Joint Annual Meeting, San Antonio, Texas. ABSTRACT - **Journal of Animal Science**, San Antonio: ASAS – American Society of Animal Science, v. 85, p. 552, 2007.

MILLEN, D. D.; PACHECO, R. D. L.; ARRIGONI, M. D. B.; GALYEAN, M. L.; VASCONCELOS, J. T. A snapshot of management practices and nutritional recommendations used by feedlot nutritionists in Brazil. **Journal of Animal Science**, v. 87, n. 10, p. 3427-3439, 2009.

MORAIS, J. A. S.; BERCHIELLI, T. T.; REIS, R. A. Aditivos. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V. ; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de ruminantes.** Jaboticabal Funep, 2006. p. 539-561.

MOSS, A. R.; JOUANY, J.-P.; NEWBOLD, J. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. **Annales de Zootechnie**, v. 49, n. 3, p. 231-253, 2000.

NAGARAJA, T. G.; AVERY, T. B.; BARTLEY, E. E.; GALITZER, S. J.; DAYTON, A. D. Prevention of Lactic Acidosis in Cattle by Lasalocid or Monensin. **Journal of Animal Science**, v. 53, n. 1, p. 206-216, 1981.

NAGARAJA, T. G.; CHENGAPPA, M. M. Liver abscesses in feedlot cattle: a review. **Journal of Animal Science**, v. 76, n. 1, p. 287-298, 1998.

NAGARAJA, T. G.; TITGEMEYER, E. C. Ruminal Acidosis in Beef Cattle: The Current Microbiological and Nutritional Outlook^{1,2}. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 90, p. E17-E38, 2007.

NEWBOLD, C. J.; WALLACE, R. J.; MCKAIN, N. Effects of the ionophore tetracycline on nitrogen metabolism by ruminal microorganisms in vitro. **Journal of Animal Science**, v. 68, n. 4, p. 1103-1109, 1990.

NOCEK, J. E. Bovine Acidosis: implications on Laminitis. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 5, p. 1005-1028, 1997.

NUSSIO, L. G.; CAMPOS, F. P.; LIMA, M. L. M. Metabolismo de carboidratos estruturais. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V. ; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. p.183-223.

ORSKOV, E. R. Starch digestion and utilization in ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 63, n. 5, p. 1624-1633, 1986.

OTERO, W. G. **Avaliação da diversidade microbiana e degradabilidade in situ em animais tratados com preparado de anticorpos policlonais contra bactérias produtoras de lactato e bactérias proteolíticas**. 2008. 85 p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade da São Paulo, USP, Pirassununga, 2008.

OWENS, F. D.; GOETSCH, A. L. Ruminal fermentation. In: CHURCH, D. C. (Ed.). **The ruminant animal: digestive physiology and nutrition**. Waveland: Long Grove, 1988. p.145-171.

OWENS, F. N.; GOETSCH, A. L. Fermentación ruminal. In: CHURCH, D. C. (Ed.). **El ruminante, fisiología digestiva y nutrición**. Zaragoza, España: Acríbia, 1993, p. 159-190.

OWENS, F. N.; SECRIST, D. S.; HILL, W. J.; GILL, D. R. Acidosis in cattle: a review. **Journal of Animal Science**, v. 76, n. 1, p. 275-286, 1998.

PACHECO, R. D. L. **Monensina sódica ou anticorpos policlonais contra Bactérias precursoras de distúrbios nutricionais em bovinos induzidos à acidose ruminal**. 2010. **116 p.** (Tese Doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Botucatu, 2010.

PRYCE, J.D. Modification of the Barker-Summerson method for the determination of lactic acid. **Analyst**, v. 94, p.1151-1152, 1969.

RODRIGUES, M. T.; VIEIRA, R. A. M. Metodologias aplicadas ao fracionamento dos alimentos. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V. ; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. p. 25-55.

RODRIGUES, P. H. M.; K. C.; P. J.; MORGULLIS, S. C. F.; SILVA, E. J. A.; MEYER, P. M.; PIRES, A. V. Avaliação da monensina administrada pela forma convencional ou por dispositivo de liberação lenta em bovinos alimentados com forragens de baixo valor nutritivo e suplementados ou não com uréia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 6, p. 1937-1944, 2007.

RUSSELL, J. B.; STROBEL, H. J. Effect of Ionophores on Ruminal Fermentation. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 55, n. 1, p. 1-6, 1989.

RUSSELL, J. B.; O'CONNOR, J. D.; FOX, D. G.; VAN SOEST, P. J.; SNIFFEN, C. J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 11, p. 3551-3561, 1992.

RUSSELL, J. B.; WILSON, D. B. Why Are Ruminal Cellulolytic Bacteria Unable to Digest Cellulose at Low pH? **Journal of Dairy Science**, v. 79, n. 8, p. 1503-1509, 1996.

RUSSELL, J. B. **Rumen microbiology and its role in ruminant nutrition**: Ithaca: Russell, J.B., 2002. 119 p.

SANTOS, F. A. P. Metabolismo de proteínas. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V. ; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. p. 151-179.

SANTOS, F. A. P. D.; BALSALOBRE, M. A. A. Por que confinar? In: PEIXOTO, A. M.; MOURA, J. C. D.; FARIA, V. P. **Confinamento de Bovinos de Corte**. Piracicaba: Fealq, 2000. p. 148.

SARTI, L. M. N.; BARDUCCI, R. S.; MILLEN, D. D.; PACHECO, R. D. L.; ARRIGONI, M. D. B.; MARTINS, C. L.; COSTA, S. F.; MELO, L. Q.; PARRA, F. S.; RONCHESEL, J. R.; OMAZELLA, D.; ROSA, H. D.; LEIVA, T.; BALDIN, S. R.; CÔNSOLO, N. R. B. Rumen papillae measurements of feedlot cattle fed monensin or polyclonal antibody preparation against lactate-producing rumen bacteria. **Journal of Animal Science**, v. 87, p. 284, 2009. Supplement, 2.

SAS. STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. **SAS/STAT User's guide**. version 9.2. Cary: SAS, 2008.

SCHADE, R.; STAAK, C.; HENDRIKSEN, C.; ERHARD, M. H. H.; ; KOCH, G.; LARSSON, A.; POLLMANN, W.; REGENMORTEL; M. V.; RIJKI, E.; SPIELMANN, H.; TEINBUSCH, H.; STRAUGHAN, D. The production of avian (Egg Yolk) antibodies: IgY. **Alternatives to Laboratory Animals**. Workshop, v.24. p 925-934. 1996. Disponível em: <<http://altweb.jhsph.edu/pubs/ecvam/ ecvam21.html>>. Acesso em: 13 maio 2011.

SCHADE, R. B. I.; ERHARD, M. **Chicken egg yolk antibodies production and application IgY-Technology**. Alemanha: Springer, 2001. 255 p.

SCHWARTZKOPF-GENSWEIN, K. S.; BEAUCHEMIN, K. A.; GIBB, D. J.; CREWS, D. H., JR.; HICKMAN, D. D.; STREETER, M.; MCALLISTER, T. A. Effect of bunk management on feeding behavior, ruminal acidosis and performance of feedlot cattle: A review. **Journal of Animal Science**, v. 81, n. 14, p. E149-158, 2003. Supplement, 2.

SHU, Q.; GILL, H. S.; HENNESSY, D. W.; LENG, R. A.; BIRD, S. H.; ROWE, J. B. Immunisation against lactic acidosis in cattle. **Research in Veterinary Science**, v. 67, n. 1, p. 65-71, 1999.

SHU, Q.; GILL, H. S.; LENG, R. A.; ROWE, J. B. Immunization with a *Streptococcus bovis* Vaccine Administered by Different Routes Against Lactic Acidosis in Sheep. **The Veterinary Journal**, v. 159, n. 3, p. 262-269, 2000.

SILVA, J. F. C.; LEÃO, M. I. **Fundamentos de nutrição dos ruminantes**. Piracicaba-SP: Livroceres, 1979. 380 p.

SILVA, J. F. C. Mecanismos reguladores de consumo. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V. ; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. p. 57-77.

SPARTAN SOFTWARE LABORATORY. **Spartan Ration Evaluator/ Balancer for Dairy Cattle**. Version 2. Michigan State University, East Lansing. 1992.

STEWART, C. S.; FLINT, H. J.; BRYANT, M. P. The rumen bacteria. In: HOBSON, P. N. E STEWART, C. S. (Ed.). **The rumen microbial ecosystem**. London: Chapman & Hall, 1997. p.10-72.

STOCK, R. A.; LAUDERT, S. B.; STROUP, W. W.; LARSON, E. M.; PARROTT, J. C.; BRITTON, R. A. Effect of monensin and monensin and tylosin combination on feed intake variation of feedlot steers. **Journal of Animal Science**, v. 73, n. 1, p. 39-44, 1995.

TAJIMA, K.; ARAI, S.; OGATA, K.; NAGAMINE, T.; MATSUI, H.; NAKAMURA, M.; AMINOV, R. I.; BENNO, Y. Rumen Bacterial Community Transition During Adaptation to High-grain Diet. **Anaerobe**, v. 6, n. 5, p. 273-284, 2000.

THORNTON, J. H.; OWENS, F. N. Monensin Supplementation and in vivo Methane Production by Steers. **Journal of Animal Science**, v. 52, n. 3, p. 628-634, 1981.

VALADARES FILHO, S. C.; PINA, D. S. Fermentação ruminal. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V. ; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. p. 151-179.

VAN KESSEL, J. A. S.; RUSSELL, J. B. The effect of pH on ruminal methanogenesis. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 20, n. 4, p. 205-210, 1996.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476 p.

VANCE, R. D.; PRESTON, R. L.; KLOSTERMAN, E. W.; CAHILL, V. R. Utilization of Whole Shelled and Crimped Corn Grain with Varying Proportions of Corn Silage by Growing-Finishing Steers. **Journal of Animal Science**, v. 35, n. 3, p. 598-605, 1972.

VASCONCELOS, J. T.; GALYEAN, M. L. Nutritional recommendations of feedlot consulting nutritionists: The 2007 Texas Tech University survey. **Journal of Animal Science**, v. 85, n. 10, p. 2772-2781, 2007.

WESTON, R. Some aspects of constraint to forage consumption by ruminants. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 47, n. 2, p. 175-197, 1996.

WILLIAMS, A. G. Rumen holotrich ciliate protozoa. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 50, n. 1, p. 25-49, 1986.