EFEITO DE BICARBONATO DE SÓDIO E/OU LASALOCIDA
SOBRE OS PARÂMETROS RUMINAIS DE BOVINOS ALIMENTADOS
COM BAGAÇO DE CANA TRATADO À PRESSÃO DE VAPOR

SILA CARNEIRO DA SILVA

Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr.

VIDAL PEDROSO DE FARIA

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Agronomia. Área de Concentração: Nutrição Animal e Pastagens.

Piracicaba
Estado de São Paulo - Brasil
Novembro - 1990

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Livros da
Divisão de Biblioteca e Documentação - PCAP/USP

Silva, Sila Carneiro da
S586e Efeito de bicarbonato de sódio e/ou lasalocida so-
bre os parâmetros ruminais de bovinos alimentados com
bagaço de cana tratado à pressão de vapor. Piracicaba,
1990.
130p.

Diss. (Mestre) - ESALQ
Bibliografia.

1. Bagaço de cana-de-açúcar na alimentação animal
2. Bovino - Alimentação 3. Bovino - Nutrição 4. Bovino - Rúmen - Efeito do bicarbonato de sódio 5. Bovino - Rúmen - Efeito do lasalocida I. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

CDD 636.2084

EFEITO DE BICARBONATO DE SÓDIO E/OU LASALOCIDA
SOBRE OS PARÂMETROS RUMINAIS DE BOVINOS ALIMENTADOS
COM BAGAÇO DE CANA TRATADO À PRESSÃO DE VAPOR

SILA CARNEIRO DA SILVA

Aprovada em 20.12.1990

Comissão julgadora:

Prof. Dr. Raul Dantas d'Arce ESALQ/USP

Prof. Dr. Wilson Roberto Soares Mattos ESALQ/USP

Prof. Dr. Celso Boin (substituindo o orientador) ESALQ/USP

Prof. Dr. Vidal Pedroso de Faria

Orientador

AGRADECIMENTOS

- Ao Professor Vidal Pedroso de Faria pela amizade e orientação na condução do trabalho.
- Ao Professor Celso Boin pela colaboração, orientação e valiosas sugestões.
- Aos Amigos Flávio Augusto Portela Santos e Luiz Gustavo Nussio pelo incentivo e colaboração.
- Aos estagiários Cibele Longo, Marcelo Marteleto, Raul Menzen Campos e Renato Sprovieri Jr. pela colaboração na condução do trabalho.
- À Ana Maria Zani de Moura e Carlos Cesar Alves pela colaboração nas análises bromatológicas.
- À Roche do Brasil pelo fornecimento do ionóforo utilizado.
- À João Elias de Lara pelo trabalho de digitação e composição gráfica da tese.

SUMÁRIO

Página

AGRADECIMENTOS	i
LISTA DE FIGURAS	v
LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE TABELAS DO APÊNDICE	viii
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	xi
RESUMO	xii
SUMMARY	xiv
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. O bagaço de cana-de-açúcar como alimento volu- moso para bovinos	3
2.1.1. Métodos de tratamentos de resíduos vege- tais fibrosos para melhoria de seu va- lor nutritivo e alimentar	6
2.1.2. O Bagaço auto-hidrolisao e a alimenta- ção de ruminantes	12
2.1.3. Características do ambiente ruminal em dietas à base de bagaço auto-hidrolisa- do	15
2.2. Agentes tamponantes	18
2.2.1. Definição de agente tamponante	21
2.2.2. Tipos de agentes tamponantes	22
2.2.3. Modo de ação de agentes tamponantes ...	24

2.2.4. Efeitos de agentes tamponantes na digestibilidade, nos parâmetros ruminais e no desempenho de animais	26
2.3. Ionóforos	38
2.3.1. Definição de ionóforos	41
2.3.2. Modo de ação dos ionóforos	42
2.3.3. Efeitos de ionóforos na digestibilidade, nos parâmetros ruminais e no desempenho animal	50
2.4. Justificativas para a hipótese de trabalho ...	59
3. MATERIAL E MÉTODOS	61
3.1. Animais e instalações experimentais	61
3.2. Tratamentos e delineamento experimental	61
3.3. Período experimental	63
3.3.1. Coleta de dados referentes a consumo de água e de matéria seca	63
3.3.2. Coleta de fluido ruminal para determinação de AGV, N-NH ₃ e pH do rúmen	64
3.4. Métodos analíticos	65
3.4.1. Análises químico-bromatológicas	65
3.4.2. Análises de digestibilidade verdadeira "in vitro"	65
3.4.3. Metodologia de determinação de AGV	66
3.4.4. Metodologia de determinação de N-NH ₃ ..	68
3.4.5. Metodologia de determinação de pH	68
3.5. Análise estatística	68
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	70

4.1. Composição químico-bromatológica das dietas experimentais	70
4.2. Consumo de água e de matéria seca	71
4.3. Valores de pH do fluído ruminal	74
4.4. Concentração de N-NH ₃ no fluído ruminal	77
4.5. Ácidos graxos voláteis no fluído ruminal	82
4.6. Estimativas da quantidade de hexose fermentada e da produção de metano e gás carbônico	90
5.RESUMO E CONCLUSÕES	95
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1 - Variação diária do pH ruminal em função das dietas experimentais	76
Figura 2 - Variação diária da concentração de N-NH_3 (mg/100 ml) em função das dietas experimentais.....	81
Figura 3 - Variação da porcentagem molar de C_2 em função das dietas experimentais	86
Figura 4 - Variação da porcentagem molar de C_3 em função das dietas experimentais	87
Figura 5 - Variação da porcentagem molar de C_4 em função das dietas experimentais	88
Figura 6 - Variação diária da relação molar de AGV ($\text{C}_3/\text{C}_2 + \text{C}_4$) em função das dietas experimentais	89

LISTA DE TABELAS

Página

Tabela 1 - Composição químico-bromatológica do bagaço de cana-de-açúcar	4
Tabela 2 - Composição químico-bromatológica do bagaço "in natura" e do bagaço auto-hidrolisado tratado a uma pressão de 17 Kgf/cm ² durante 5 minutos (BAH 17/5)	14
Tabela 3 - Composição das dietas experimentais	62
Tabela 4 - Composição químico-bromatológica das dietas experimentais	70
Tabela 5 - Valores observados para as variáveis consumo de água e de matéria seca (% PV) durante o período experimental (médias por tratamento)	71
Tabela 6 - Valores médios de consumo de água e de matéria seca (% PV) por animal durante o período experimental	72
Tabela 7 - Valores médios diários para o pH ruminal (médias por tratamento)	74
Tabela 8 - Valores médios diários para N-NH ₃ do rúmen (médias por tratamento) (mg/100 ml)	78

Tabela 9 - Valores médios observados para as concentrações, porcentagens e relação molar dos ácidos graxos voláteis no fluído ruminal (médias por tratamento)	82
Tabela 10 - Valores médios estimados da produção de gases (CH_4 e CO_2) e da quantidade de hexose fermentada no rúmen (moles/100 moles AGV produzidos) (médias por tratamentos)	91

LISTA DE TABELAS DO APÊNDICE

Página

Tabela 1 - Composição químico-bromatológica e coeficientes de digestibilidade verdadeira "in vitro" dos alimentos utilizados (valores médios expressos em %)	117
Tabela 2 - Composição químico-bromatológica das sobras diárias das rações (valores médios expressos em %)	117
Tabela 3 - Valores observados para consumo de água e de matéria seca (médias por tratamento e por sub-período expressas em % PV)	118
Tabela 4 - Valores observados para o pH do fluído ruminal (médias por tratamento e por horário de coleta)	119
Tabela 5 - Valores observados para os níveis de $N-NH_3$ no fluído ruminal (médias por tratamento e por horário de coleta expressas em mg/100 ml)	120
Tabela 6 - Valores observados para a concentração molar de acetato no fluído ruminal (médias por horário de coleta expressas em mmoles/100 ml)	121

Tabela 7 - Valores observados para a concentração molar de propionato no fluído ruminal (médias por horário de coleta expressas em mmoles/100 ml)	122
Tabela 8 - Valores observados para a concentração molar de butirato no fluído ruminal (médias por horário de coleta expressas em mmoles/100 ml)	123
Tabela 9 - Valores observados para a concentração molar de AGV total no fluído ruminal (médias por horário de coleta expressas em mmoles/100 ml)	124
Tabela 10 - Valores observados para a porcentagem molar de acetato no fluído ruminal (médias por tratamento e por horário de coleta expressas em %)	125
Tabela 11 - Valores observados para a porcentagem molar de propionato no fluído ruminal (médias por tratamento e por horário de coleta expressas em %)	126
Tabela 12 - Valores observados para a porcentagem molar de butirato no fluído ruminal (médias por tratamento e por horário de coleta expressas em %)	127

- Tabela 13 - Valores observados para a relação molar de
AGV (C_3/C_2+C_4) no fluído ruminal (médias
por tratamento e por horário de coleta) .. 128
- Tabela 14 - Valores estimados para a produção de gás
carbônico durante o processo de fermenta-
ção ruminal (médias por tratamento e por
horários de coleta expressos em moles/100
de AGV produzidos) 129
- Tabela 15 - Valores estimados para a produção de gás
metano durante o processo de fermentação
ruminal (médias por tratamento e por horá-
rios de coleta expressos em moles/100 de
AGV produzidos) 130

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ADF	- fibra em detergente ácido
AGV	- ácidos graxos voláteis
BAH	- bagaço de cana-de-açúcar auto-hidrolisado
BIN	- bagaço de cana-de-açúcar "in natura"
CZ	- cinzas
C ₂	- ácido acético
C ₃	- ácido propiônico
C ₄	- ácido butírico
DVIV	- digestibilidade verdadeira "in vitro"
DVIVMS	- digestibilidade verdadeira "in vitro" da matéria seca
EE	- extrato etéreo
ENN	- extrativo não nitrogenado
FB	- fibra bruta
MS	- matéria seca
NDF	- fibra em detergente neutro
NDT	- nutrientes digestíveis totais
N-NH ₃	- nitrogênio amoniacal
PB	- proteína bruta

EFEITO DE BICARBONATO DE SÓDIO E/OU LASALOCIDA
SOBRE OS PARÂMETROS RUMINAIS DE BOVINOS ALIMENTADOS
COM BAGAÇO DE CANA TRATADO À PRESSÃO DE VAPOR

Autor: SILA CARNEIRO DA SILVA

Orientador: Prof. Dr. VIDAL PEDROSO DE FARIA

RESUMO

O presente trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos da adição de bicarbonato de sódio e/ou lasalocida sódica e da inclusão de bagaço "in natura" sobre os parâmetros ruminais de bovinos alimentados com dietas contendo como alimento volumoso principal o bagaço de cana-de-açúcar auto-hidrolisado.

A proporção volumoso:concentrado das dietas usadas foi de 60:40. Os tratamentos consistiram da presença, ausência e/ou associação dos dois aditivos e de uma fonte de fibra íntegra (bagaço "in natura") na dieta. Os níveis de bicarbonato de sódio e de lasalocida foram de 1% e 22 ppm,

base seca, respectivamente. O bagaço "in natura" entrou em substituição parcial do auto-hidrolisado ao nível de 5%.

Os parâmetros ruminais foram avaliados usando-se 5 vacas dotadas de cânulas ruminais e submetidas a um delineamento em quadrado latino 5x5.

Os resultados mostraram que não houve efeito dos aditivos sobre o consumo de água e de matéria seca ($P > 0,05$). Os valores de pH observados apresentaram-se superiores a 6,0, não havendo efeito da adição de bicarbonato de sódio, lasalocida e bagaço "in natura". O nível de $N-NH_3$ no fluido ruminal não diferiu entre os tratamentos ($P > 0,05$), mas ocorreu uma tendência para os tratamentos contendo a lasalocida e o bicarbonato de sódio associados reduzirem a concentração de $N-NH_3$ no rúmen. A adição de bicarbonato de sódio tendeu a aumentar a porcentagem molar de acetato. A lasalocida elevou a porcentagem molar de propionato e reduziu, relativamente, as porcentagens molares de acetato e butirato. A produção estimada de metano e gás carbônico (moles/ 100 moles AGV produzidos) tendeu a diminuir com a adição da lasalocida, sendo que para a associação lasalocida e bicarbonato de sódio a diminuição foi estatisticamente significativa ($P < 0,05$). A fonte de fibra íntegra usada não alterou o padrão de fermentação e a eficiência do processo fermentativo do rúmen.

A adição conjunta de bicarbonato de sódio e de lasalocida sódica apresentou um comportamento associativo ativo que parece indicar um efeito potencializador do bicarbonato de sódio sobre a ação do ionóforo utilizado, amplificando os seus efeitos.

EFFECT OF SODIUM BICARBONATE AND/OR SODIUM LASALOCID
ON THE RUMINAL PARAMETERS OF BOVINES FED DIETS BASED
ON STEAM PRESSURE TREATED SUGARCANE BAGASSE

Author: SILA CARNEIRO DA SILVA

Adviser: VIDAL PEDROSO DE FARIA, Dr.

SUMMARY

The present work aimed to evaluate the effects of sodium bicarbonate and/or sodium lasalocid and the inclusion of raw bagasse on the ruminal parameters of bovines fed diets based on steam pressure treated sugarcane bagasse as the main roughage feed.

The roughage:concentrate ratio of the diets was 60:40. The treatments consisted of the presence, absence and association of the two additives and of the inclusion of the raw bagasse as a fiber source. The sodium bicarbonate and lasalocid levels were 1% and 22ppm, on dry matter basis, respectively. The raw bagasse level was 5% in partial substitution for the steam pressure treated sugarcane bagasse.

The ruminal parameters were evaluated in five

ruminal cannulated cows using a 5x5 latin square design.

The results showed no effect of the additives on water and dry matter intakes ($P > 0.05$). The observed pH values were always above 6.0 and were not affected either by sodium bicarbonate, lasalocid or raw bagasse addition. Ruminal fluid N-NH₃ levels did not differ among treatments ($P > 0.05$), but there was a trend for the treatments containing both lasalocid and sodium bicarbonate to reduce the N-NH₃ concentration. The sodium bicarbonate addition had a trend to elevate the acetate molar percentage. The lasalocid increased the propionate and decreased the acetate and butyrate molar percentages. The estimated methane and carbonic gas production (moles/100 moles VFA) tended to decrease with the lasalocid. In the lasalocid and sodium bicarbonate association treatment the decrease in gas production was statistically significant ($P < 0.05$). The fiber source (raw bagasse) did not modify either the fermentation pattern or the efficiency of the fermentative process.

The combination of sodium bicarbonate with sodium lasalocid showed an associative effect that seemed to indicate a potentializing sodium bicarbonate effect on the ionophore action, increasing its effects.

1 - INTRODUÇÃO

No Brasil o interesse pela utilização do bagaço de cana-de-açúcar como uma fonte alternativa de alimento volumoso durante o período crítico de produção das plantas forrageiras tem crescido bastante. A grande quantidade deste resíduo agroindustrial e a época do ano em que se encontra disponível têm contribuído bastante para que trabalhos de pesquisa sejam realizados com o objetivo de se avaliar este material como um alimento para animais ruminantes. Dessa maneira, uma série de informações importantes tem sido levantada e muitos problemas resolvidos com relação à utilização deste sub-produto em dietas de bovinos. Foram desenvolvidos estudos sobre métodos e condições de tratamento com o objetivo de melhorar o seu valor nutritivo. O tratamento à base de pressão de vapor é o que tem despertado maior interesse em termos de custo e viabilidade de ser utilizado em escala industrial. Trabalhos de desempenho animal com dietas à base de bagaço de cana-de-açúcar tratado sob pressão de vapor têm mostrado que a eficiência alimentar obtida é inferior à esperada com base no valor energético estimado em laboratório. Estudos sobre o

processo digestivo têm mostrado que o ambiente ruminal de animais recebendo dietas à base de bagaço tratado sob pressão de vapor não é adequado para os microorganismos responsáveis pela digestão da fração fibrosa e que o processo fermentativo é bastante ineficiente.

A partir das informações disponíveis pode-se inferir que a manipulação do ambiente ruminal através da utilização de aditivos, como agentes tamponantes e ionóforos, poderia modificar de forma positiva o processo fermentativo no rúmen, fazendo com que sua eficiência fosse aumentada, favorecendo a obtenção de desempenhos superiores dos animais.

O presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito da adição de uma substância tamponante (bicarbonato de sódio) e um ionóforo (lasalocida sódica) sobre os parâmetros ruminiais de bovinos submetidos a dietas em que o principal alimento volumoso é o bagaço de cana-de-açúcar tratado sob pressão de vapor (BAH).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. O bagaço de cana-de-açúcar como alimento volumoso para bovinos

Resultante da moagem, sucessivas prensagens e lavagens da cana-de-açúcar, processo que tem por finalidade a extração máxima do caldo, ou seja, do conteúdo celular rico em açúcares, o bagaço constitui-se num alimento rico em constituintes da parede celular, de baixo conteúdo celular, baixa digestibilidade, baixa densidade, pobre em proteínas e minerais, apresentando, portanto, sérias limitações ao uso como alimento animal (BURGI, 1985; MATTOS, 1985; COSTA, 1987; LACORTE, 1987 e CASTRO, 1989). Este fato pode ser observado a partir da composição químico-bromatológica do BIN apresentada por MATTOS (1985), cujos valores encontram-se na tabela 1.

Como consequência de sua composição química, a digestibilidade do bagaço é bastante baixa (25 a 35%). Esta, associada a uma baixa densidade (150 Kg/m^3), resulta em limitação física de consumo, o que leva o bagaço "in natura"

(BIN) a apresentar um baixo valor alimentar.

Tabela 1 - Composição químico-bromatológica do bagaço de cana-de-açúcar.

Composição	% na Matéria Seca
Proteína Bruta (N x 6,25)	1,0 - 2,0
Extrato Etéreo	0,1 - 0,3
Fibra Detergente Neutro (FDN)	84,0 - 88,0
Fibra Detergente Ácido (FDA)	58,0 - 62,0
Celulose	44,0 - 48,0
Hemicelulose	24,0 - 28,0
Lignina	10,0 - 14,0
Cinzas	2,0 - 4,0
Sílica	1,0 - 2,0

FONTE: MATTOS (1985)

Vários foram os trabalhos realizados com o objetivo de se avaliar o BIN como alimento volumoso para bovinos. RANDEL (1966), obteve ganhos de peso de 1,10 e 1,15 Kg/cab/dia e conversão alimentar de 7,84 e 8,07 Kg MS/Kg GPV a partir de dietas para bovinos em acabamento utilizando, respectivamente, 20 e 30% do BIN na matéria seca. RANDEL (1970), trabalhando com vacas em lactação, obteve produções de leite de 20 a 25 Kg/vaca/dia a partir do fornecimento de uma dieta composta por 22,5% de BIN e 77,5% de concentrado na matéria seca. ROMAN-PONCE et alii (1975), utilizando níveis

de 30 a 40% de BIN peletizado na matéria seca de dietas experimentais, obtiveram produções de leite em torno de 15 Kg/vaca/dia durante 12 semanas de período experimental. Níveis crescentes de BIN peletizado também foram testados por MARSHALL & VAN-HORN (1975) em substituição à casca de semente de algodão em dietas para vacas em lactação. O melhor resultado que obtiveram foi com o nível de 25% de BIN na matéria seca, que possibilitou uma produção de 18,5 Kg leite/vaca/dia.

A utilização de níveis superiores a 40% de BIN na matéria seca da dieta resultou em redução de consumo e baixo ganho de peso dos animais (PACOLA et alii, 1977). BURGI (1985), trabalhando com bovinos confinados recebendo uma dieta com 60% de BIN base seca, obteve baixo consumo de matéria seca (1,91% do peso vivo), ganho de peso da ordem de 699 g/cab/dia e conversão alimentar de 9,60 Kg MS/Kg GPV. Observa-se, portanto, que a inclusão do BIN em dietas de bovinos é viável até níveis próximos a 40%, uma vez que níveis superiores a este resultarão em baixo consumo da dieta e baixo desempenho animal. Este fato fez com que pesquisadores buscassem métodos de tratamento do BIN a fim de elevar o seu valor alimentar através do aumento do potencial de digestão da fração fibrosa (celulose e hemicelulose, principalmente), visto ser este o componente mais importante na sua composição (68 a 76%), além de reduzir os efeitos da

lignina sobre a degradação da celulose e da hemicelulose pelos microorganismos do rúmen (MATTOS, 1985).

2.1.1. Métodos de tratamento de resíduos vegetais fibrosos para melhoria de seu valor nutritivo e alimentar.

Diferentes métodos têm sido pesquisados e desenvolvidos para o tratamento do bagaço de cana-de-açúcar e de outros alimentos volumosos grosseiros que se caracterizam pelo elevado teor de fibra lignificada, além do baixo teor de proteína, como as palhadas de culturas, cascas de cereais, palhas de capim e maravalha de madeira, com vistas a nutrição de ruminantes (JACKSON, 1978; citado por BURGI, 1985).

O objetivo dos tratamentos é promover a ruptura das complexas ligações químicas da lignina com a celulose e com a hemicelulose. Devido a essas ligações, a celulose e a hemicelulose perdem suas propriedades higroscópicas e o acesso a esses polissacarídeos, por parte dos microorganismos do rúmen e enzimas, fica prejudicado (GOSSELINK, 1982; citado por BURGI, 1985), diminuindo a taxa e a extensão da digestão da fibra. Surgiram, então, os processos químicos, biológicos e físicos para o tratamento desses resíduos fibrosos com alto teor de lignina, sendo que

os processos de natureza física e/ou química têm-se mostrado mais eficientes do que os biológicos.

Segundo MATTOS (1985), um grande número de compostos químicos é conhecido por reagirem com materiais ligno-celulósicos e promoverem uma elevação de seu valor nutritivo; mas, quando são levados em consideração os requisitos necessários para a adoção de um composto químico em larga escala, apenas uns poucos compostos podem ser utilizados em escala industrial ou a nível de produtor, restando, basicamente, o hidróxido de sódio e a amônia (ou uréia), ambos conhecidos como substâncias alcalinas. Ainda, segundo o mesmo autor, o tratamento com álcalis promove a saponificação das ligações do tipo éster entre os resíduos de ácido acético e ácidos polifenólicos nos polissacarídeos e/ou lignina, além das ligações entre os resíduos de ácido urônico das hemiceluloses com a lignina; quando o tratamento envolve temperaturas elevadas, a lignina sofre uma hidrólise das ligações entre as unidades de fenil propano, o que resulta na liberação de compostos polifenólicos livres e um aumento da solubilidade da lignina; como consequência da hidrólise dessas ligações, a celulose, que se encontra incrustada no complexo lignina-hemicelulose, torna-se mais acessível à hidrólise enzimática no rúmen.

No Brasil os custos inerentes ao tratamento de resíduos lignocelulósicos com produtos químicos são muito

altos, uma vez que esses produtos são caros e, via de regra, requerem instalações, cuidados e equipamentos especiais, fazendo com que o efeito benéfico da elevação do valor nutritivo seja prejudicado.

Como método de tratamento biológico têm sido utilizados, normalmente, os fungos basidiomicetos e actinomicetos. O tempo de tratamento é longo, cerca de 1 a 3 meses, o incremento na digestibilidade é muito variável em função do tipo de microorganismo, do resíduo volumoso, do tempo e temperatura de tratamento e da adição de nutrientes para a fermentação (ZADRAZIL & BRUNNERT, 1980; citados por BURGI, 1985), além da dificuldade em se manter as culturas de fungos sem a contaminação por outros microorganismos indesejáveis (MATTOS, 1985). Em função das limitações citadas é um processo ainda pouco utilizado.

Uma outra maneira de se melhorar o valor nutritivo de resíduos fibrosos é através de processos físicos de tratamento, dentre os quais se destacam a irradiação, a moagem e o aquecimento sob pressão de vapor de água. A moagem tem por objetivo a redução do tamanho de partícula do alimento e a elevação de sua densidade aparente. Apesar de haver um decréscimo na digestibilidade do material moído, normalmente há um aumento de consumo de energia digestível que é responsável pelo pequeno aumento no desempenho animal

obtido. O processo de irradiação, através de raios X ou gama, visa a despolimerização da celulose, hemicelulose e lignina a fim de desagregar a fração fibrosa, incrementando a sua digestibilidade (BURGI, 1985 e MATTOS, 1985). Ambos os métodos, moagem e irradiação, apresentam custos elevados, além da irradiação apresentar problemas quanto à operacionalidade e riscos envolvidos durante o tratamento, fazendo com que sua utilização seja questionável (MATTOS, 1985).

O aquecimento sob pressão de vapor de água é uma outra modalidade de tratamento físico que vem sendo muito utilizada nos últimos anos, principalmente pelas usinas de açúcar e destilarias de álcool, para elevar o valor nutritivo do bagaço de cana-de-açúcar. A grande disponibilidade de vapor de água e bagaço nestas agro-indústrias tem sido os fatores decisivos no crescente uso desse método de tratamento. Sua eficiência é comparável àquela do tratamento com álcalis, o tempo de tratamento é curto, além do processo permitir a adição de compostos químicos. O tratamento consiste, basicamente, em submeter-se o material lignocelulósico a elevadas pressões e temperaturas, durante um determinado período de tempo, seguido de uma descompressão repentina. Este tratamento promove profundas alterações na composição das fibras, resultando, quando utilizado sob condições específicas de pressão e de tempo de tratamento, em

significativo aumento na digestibilidade do material tratado (BURGI, 1985). Convencionou-se chamar este processo de auto-hidrólise uma vez que ácido acético é liberado a partir da hemicelulose provocando a degradação da mesma e do complexo ligno-celulósico até as suas hexoses e pentoses formadoras. Com a rápida descompressão, a água contida nos fragmentos de bagaço vaporiza-se e sofre violenta expansão, promovendo o afrouxamento do material (BURGI, 1987). Segundo WALKER (1984), durante o tratamento ocorre a produção de outros compostos, como ácidos, furfural e compostos fenólicos, além da perda de matéria seca através da volatilização e/ou lixiviação de alguns compostos formados e/ou solubilizados. O equipamento utilizado é denominado hidrolisador e, o material tratado, bagaço auto-hidrolisado (BAH).

Entre os efeitos deste tratamento sobre os constituintes da parede celular, destaca-se o desaparecimento da hemicelulose, sendo que os teores de lignina e celulose são pouco afetados (RANGNEKAR et alii, 1982). Nos regimes de pressão e tempo de tratamento em que são obtidos incrementos máximos da digestibilidade "in vitro", o desaparecimento da hemicelulose é total. BURGI (1985), testando diferentes níveis de pressão de vapor associados a diferentes tempos de tratamento, obteve melhores resultados com a pressão de 17,5 Kgf/cm² durante 5 minutos, atingindo incremento da ordem de 30 pontos percentuais na digestibilidade verdadeira "in

vitro" da matéria seca. Outra característica é a elevação da concentração de monômeros fenólicos, uma vez que, com tempos de tratamento crescentes, ocorre degradação parcial da lignina e os produtos fenólicos formados passam a ser obtidos na fração de extrato etéreo do material (MARCOS, et alii, 1984).

A partir de uma revisão realizada sobre as implicações nutricionais de monômeros fenólicos e lignina JUNG & FAHEY Jr. (1983), observaram que estes compostos geralmente levam a uma depressão no crescimento e na atividade de microorganismos anaeróbicos, na atividade das enzimas digestivas e no consumo de alimentos pelos animais. Já MELLO Jr. (1987) observou que a extração dos monômeros fenólicos do BAH não aumentou a extensão e nem a taxa de digestão "in vitro" deste alimento. Uma possível explicação para este fato seria a de que JUNG & FAHEY Jr. (1983), em seu trabalho de revisão, enfocaram predominantemente compostos fenólicos encontrados em forragens, em sua forma livre ou associada à lignina, como os ácidos cinâmico, p-cumárico e ferrúlico e vanilina, entre outros. Os compostos produzidos durante o processo de auto-hidrólise, ainda não identificados, podem apresentar pequeno efeito sobre os microorganismos do rúmen.

2.1.2. O bagaço auto-hidrolisado e a alimentação de ruminantes

O BAH apresenta uma série de diferenças quando comparado com o BIN, como pode ser visualizado na tabela 2. É um alimento de acidez elevada, cor marrom (devido aos polímeros de Maillard e furfural formados durante o processo de hidrólise), friável, teor de conteúdo celular, digestibilidade da MS e densidade aparente superiores às do BIN e com níveis de proteína bruta e minerais similares ao BIN. Em função destas características, é um alimento de valor médio, incapaz de promover elevado desempenho animal, necessitando, para isto, suplementação com alimentos concentrados.

Trabalhos foram realizados utilizando-se o BAH como único alimento volumoso em dietas de bovinos a fim de se avaliar o desempenho animal obtido e o processo digestivo. PATE (1982), estudando o efeito de níveis crescentes de BAH na matéria seca da dieta (0,14,30 e 46%) de animais em confinamento, obteve ganhos de peso (g/dia), consumo de MS em Kg/dia e em % do peso vivo (PV) e conversão alimentar de: 1.100 10,21 2,47 e 9,28; 1.230 10,93 2,60 e 8,89; 1.400 11,45 2,70 e 8,18; 880 10,42 2,60 e 11,84, respectivamente. BURGI (1985), testando os níveis de 40, 50 e 60% de BAH na MS da dieta, obteve dados de ganho de peso

(g/dia), consumo de MS, em Kg/an/dia e em %PV, e conversão alimentar de 960 9,92 2,72 e 10,33; 816 10,00 2,79 e 12,25; 872 10,13 2,79 e 11,62, respectivamente. Observa-se que os dois trabalhos citados mostram que a adição do BAH em níveis superiores a 40% da MS da dieta levou a uma queda no ganho de peso e a uma elevação da conversão alimentar. LACORTE (1987), obteve médias para ganho de peso (g/dia), consumo de MS (%PV) e conversão alimentar de 804 2,63 e 12,3, respectivamente, em dietas contendo 50% de BAH na MS da dieta. LANNA e BOIN (1988), trabalhando com dietas que continham aproximadamente 55% de BAH na MS, obtiveram ganho de peso (g/dia), consumo de MS (%PV) e conversão alimentar de 932 2,79 e 7,21, respectivamente. Estes mesmos parâmetros de desempenho animal foram estudados por LIMA & ZANETTI (1989) a partir de dietas com 50% de BAH na MS, obtendo-se os seguintes valores médios: 1190 2,56 e 10,19. Já BERCHIELLI et alii (1989) obtiveram 934 2,36 e 6,0, respectivamente, para as variáveis já citadas. GUTMANIS (1990), a partir de uma dieta controle contendo cana-de-açúcar como único alimento volumoso, testou a adição de níveis crescentes de BAH na dieta (0, 10, 20, 30 e 40% da MS) sobre o desempenho de bovinos confinados. Foram avaliados ganho de peso (g/dia), consumo (% PV) e conversão alimentar e os seguintes resultados foram obtidos: 845 2,59 e 11,29; 1130 2,89 e 9,59; 1127 3,10 e 10,47; 1075 3,24 e 11,32; 967 3,25 e 12,58, respectivamente.

Tabela 2 - Composição químico-bromatológica do BIN e do BAH tratado a uma pressão de 17 Kgf/cm² durante 5 minutos (BAH 17/5).

Determinação	BIN	BAH
Matéria Seca (MS) %	48,31	40,32
pH	5,5	3,0
Densidade (Kg/m ³)	100-150	300-400
Friabilidade	(-)	(+)
Composição em g/100 MS:		
Proteína Bruta (PB)	1,86	1,67
Fibra Bruta (FB)	45,09	34,45
Extrato Etéreo (EE)	2,26	4,86
Matéria Mineral (MM)	2,73	4,77
Extrativo Não Nitrogenado (EnN)	48,06	54,25
Fibra Detergente Neutro (FDN)	85,24	58,16
Fibra Detergente Ácido (FDA)	62,33	62,65
Celulose	44,69	43,99
Hemicelulose	22,91	-----
Lignina em Detergente Ácido	14,89	15,06
Ca	n.d.	0,12
P	n.d.	0,02
K	n.d.	0,16
DIVMS*	33,31	64,82

Fonte: BURGI (1985)

* A estimativa da digestibilidade aparente "in vitro" da MS (DIVMS) foi calculada subtraindo-se 12,9 unidades percentuais da digestibilidade verdadeira "in vitro" da MS tanto para o BIN como para o BAH 17/5.

Um aspecto que chama a atenção nos resultados dos trabalhos citados é o alto nível de consumo obtido das dietas que contém o BAH. Estes valores variaram de 2,60 a 3,25% do PV. Segundo CASTRO (1989), o tratamento de auto-hidrólise do bagaço de cana altera a estrutura física deste alimento reduzindo o tamanho de partículas, aumentando a sua taxa de passagem pelo rúmen, e estimulando maior consumo. O

BAH apresenta taxa de passagem ruminal superior à do BIN, porém, a taxa de passagem pós-rúmen é menor para o alimento tratado quando comparado com o BIN, o que gera, como consequência, uma taxa de passagem semelhante pelo trato digestivo inteiro de ambos, BIN e BAH (CASTRO, 1989).

Diversos trabalhos apontam, como vantagem do BAH sobre o BIN, o maior consumo de matéria seca, fato este responsável pelos resultados satisfatórios de desempenho tanto a nível de pesquisa como a nível comercial (BURGI, 1985; BURGI, 1987; LACORTE, 1987).

2.1.3. Características do ambiente ruminal em dietas à base de bagaço auto-hidrolisado.

Considerando que o BAH é um alimento rico em parede celular, a sua utilização eficiente pelos ruminantes requer que a sua fração fibrosa seja degradada a nível de rúmen. Portanto, um ambiente ruminal adequado à atividade das bactérias celulolíticas é fundamental, principalmente no que se refere a aspectos como pH, nível de amônia no rúmen, tempo de retenção, disponibilidade de isoácidos e outros fatores (BERGEN & YOKOYAMA, 1977; BALDWIN & ALLISON, 1983; OWENS & GOETSCH, 1984).

O pH do rúmen possui uma importância muito

grande uma vez que exerce uma forte influência sobre o crescimento e a atividade de bactérias celulolíticas. KAUFFMAN et alii (1980) apontam como sendo ideal a faixa de pH compreendida entre os valores de 6,2 e 6,8. Trabalhos de pesquisa demonstraram que animais submetidos a dietas contendo BAH apresentaram valores de pH ruminal inferiores aos níveis citados (RANGNEKAR et alii, 1982 e COSTA, 1987).

Segundo CASTRO (1989), o abaixamento do pH ruminal pode ser resultado de vários fatores, como baixo pH do alimento, condições físicas do alimento que não estimulam a ruminação e, conseqüentemente, a produção de saliva, e presença de grande quantidade de carboidratos prontamente fermentecíveis na dieta. O BAH apresenta todas estas características, o que explicaria o baixo valor de pH ruminal encontrado em dietas à base deste alimento. Outros fatores que também afetam os valores de pH do rúmen são as taxas de produção e absorção de ácidos graxos voláteis (AGV), o nível de consumo e a troca de bicarbonato através do epitélio ruminal (WHEELER, 1980).

Valores de pH do BAH situam-se na faixa de 2,8 a 3,5 (BURGI, 1987), que associados à baixa atividade de ruminação causada por este alimento (LANNA & BOIN, 1988 e CASTRO, 1989), se constituem em características desfavoráveis à manutenção do pH ruminal adequado à degradação de fibra.

Este fato, em conjunto com a alta taxa de passagem do BAH pelo rúmen (CASTRO, 1989), prejudica seriamente a utilização de sua fração fibrosa. Por outro lado, a maior taxa de passagem pelo rúmen pode favorecer a utilização do alimento concentrado da dieta, uma vez que seria menos atacado no rúmen e digerido, preferencialmente, no intestino delgado (CASTRO, 1989). Segundo este mesmo autor o BAH possui alto teor de carboidratos solúveis, cerca de 20 a 25% da MS, principalmente de pentoses. Estes carboidratos alcançando o rúmen são rapidamente fermentados, produzindo grandes quantidades de AGV em períodos curtos de tempo, contribuindo para a queda do pH ruminal. RANGNEKAR et alii (1982) obtiveram um aumento na concentração molar de AGV quando o BIN foi substituído pelo BAH.

COSTA (1987), utilizando uma dieta com 10 % de feno e 65% de BAH para bovinos, encontrou valores de pH inferiores a 6,2. O nível mínimo atingido foi de 5,9 após 4 horas do fornecimento da dieta e somente 12 horas após o fornecimento da dieta o pH atingiu o valor de 6,2. CASTRO (1989), comentando o trabalho de COSTA (1987), chama a atenção para o fato de que mesmo com a utilização de feno, que deveria ter estimulado a ruminação e consequente produção de saliva, o pH ruminal permaneceu durante grande parte do dia na faixa prejudicial aos microorganismos celulolíticos responsáveis pela digestão da fração fibrosa da dieta.

2.2. Agentes tamponantes

O interesse pelo estudo de agentes tamponantes em nutrição de ruminantes não é recente. WHEELER (1980), em um trabalho de revisão sobre o assunto, cita que FORBES (1909) foi, provavelmente, o primeiro nutricionista a reconhecer a importância potencial da adição destes compostos em certas dietas de ovinos e bovinos. Entretanto, ainda segundo WHEELER (1980), este conceito permaneceu sem receber maior importância até o início da década de 1950.

Durante todo o século 20, tem havido um envolvimento gradual das indústrias de carne e leite no sentido da utilização de componentes alimentares com densidades energéticas mais altas visando aumentar a eficiência dos fatores produtivos (terra, animal e mão-de-obra) devido a pressões econômicas crescentes (DIVEN, 1975). Quantidades maiores de grãos de cereais e outros alimentos concentrados passaram então a ser utilizadas na composição das dietas dos animais, fazendo com que proporções de até 80 a 90% de concentrado na matéria seca sejam encontradas. Altas proporções de concentrados têm sido associadas a reduções nos coeficientes de digestibilidade da fração fibrosa e do amido em função do ambiente gastrintestinal desfavorável gerado por este tipo de dieta, especialmente quanto ao pH. Anormalidades e distúrbios fisiológicos como acidose láctica, a laminite e

o timpanismo, são também comuns em dietas ricas em carboidratos solúveis e amido. Dessa forma, os resultados de desempenho animal obtidos eram frequentemente muito aquém dos esperados em comparação com o valor nutritivo da dieta fornecida (WHEELER, 1980).

Em dietas ricas em concentrados, a produção de saliva, veículo dos agentes tamponantes naturais dos ruminantes, é diminuída devido à redução do tempo de ruminação (MOULD et alii, 1983; PUTNAM et alii, 1966 citado por STAPLES & LOUGH, 1989). A produção de AGV é aumentada uma vez que um substrato altamente fermentecível é fornecido, levando a uma queda no pH que é agravada pela menor capacidade de tamponamento do meio (STAPLES & LOUGH, 1989). Esta queda nos valores de pH pode afetar a absorção de AGV, fazendo com que a absorção relativa de propionato e butirato seja aumentada e a de acetato diminuída (MACLEOD et alii, 1984; citado por STAPLES & LOUGH, 1989). Sendo o ácido acético um ácido mais forte que o propiônico e o butírico, há a tendência de agravamento do problema. WHEELER (1980), citando os trabalhos de PERACE (1965) e SLYTER et alii (1970), comenta que houve inibição da ruminação com valores de pH abaixo de 5,5 e que esta faixa de pH estava associada a uma redução do crescimento de protozoários e de bactérias celulolíticas e a um aumento no número de bactérias lácticas, fazendo com que menos de 20% da digestão possível de fibra

detergente neutro fosse obtida (ARMENTANO & SOLORZANO, 1988). Em função de uma pequena proporção de volumoso, estas dietas caracterizam-se por possuírem um tamanho de partícula reduzido e por isso uma taxa de passagem pelo rúmen mais rápida, fazendo com que grande parte do amido tenha sua digestão realizada no intestino delgado. Antes de chegar a esta região do trato digestivo a digesta deve passar pelo omaso e abomaso fazendo com que seu pH, ao entrar no duodeno, seja de 2,0 a 3,0 (WHEELER, 1980). É fato conhecido que a atividade ótima de várias enzimas secretadas no intestino delgado de ruminantes é obtida a valores de pH próximos da neutralidade. Um exemplo é a alfa amilase pancreática que possui sua atividade ótima a um pH de 6,9 (LONG, 1961; citado por WHEELER, 1980). Dessa forma, devido à limitada capacidade de tamponamento das secreções desta porção do trato digestivo (WHITE et alii, 1959 e HARRISON & HILL, 1962; citados por WHEELER, 1980), a digesta ácida proveniente do abomaso é lentamente neutralizada o que prejudica o processo de digestão enzimática do amido e da proteína, resultando em reduções em seus coeficientes de digestibilidade.

A utilização de agentes tamponantes passou a ganhar um grande interesse, uma vez que a manutenção de um ambiente adequado no trato gastrintestinal é tido como fundamental para o processo digestivo de ruminantes.

2.2.1. Definição de agentes tamponantes

Agentes tamponantes ou "buffers" são compostos químicos utilizados para a manutenção do pH de um meio dentro de uma determinada amplitude, que é característica para cada agente tamponante. Segundo CHALUPA & SCHNEIDER (1985), citados por STAPLES & LOUGH (1989), um agente tamponante pode ser definido como um sal de um ácido, óxido ou hidróxido fraco que neutraliza ácidos presentes em componentes alimentares ou que são produzidos durante a digestão e o metabolismo de nutrientes. Um verdadeiro tamponante é caracterizado por seu pKa, ou seja, o valor de pH no qual metade de seu grupo ionizável encontra-se desprotonizado. Existem tamponantes com mais de um grupo ionizável, existindo, portanto, tantos valores de pKa quantos forem os grupos ionizáveis (ARMENTANO & SOLORZANO, 1988). A capacidade de tamponamento de uma substância é função da relação entre o número de equivalentes de ácido ou base adicionados e a variação ocorrida nos valores de pH do meio, sendo mais alta quando o pH do meio for igual ao seu pKa. Normalmente os agentes tamponantes oferecem resistência a mudanças de pH dentro de uma faixa de mais ou menos uma unidade de seu pKa.

Os agentes tamponantes, em função da maneira como são utilizados, podem exercer um efeito alcalinizante. Este fato ocorre quando grande quantidade é utilizada fazendo

com que o seu primeiro efeito seja a elevação do pH do meio. Existem substâncias que podem atuar como agentes tamponantes e alcalinizantes, uma vez que apresentam grupos ionizáveis com valores de pKa baixo e alto respectivamente (ARMENTANO & SOLORZANO, 1988). Alguns agentes alcalinizantes são, por isso, chamados, erroneamente, de tamponantes, apesar de não manterem o pH dentro de uma determinada amplitude. Classifica-se como agente alcalinizante um composto que neutraliza a acidez mas também eleva o pH do meio.

2.2.2. Tipos de agentes tamponantes

Vários compostos químicos foram avaliados em relação à sua capacidade de tamponamento sendo que apenas 5 mostraram-se como agentes tamponantes efetivos no fluído ruminal: bicarbonato de sódio, bicarbonato de potássio, carbonato de magnésio, carbonato de cálcio e bentonita. Como agentes alcalinizantes foram encontrados os carbonatos de sódio e potássio e o óxido de magnésio (HEROD et alii, 1978; citado por STAPLES & LOUGH, 1989). ARMENTANO & SOLORZANO (1988) atribuem aos sais de carbonato as funções de agentes alcalinizantes e tamponantes.

Um grande número de trabalhos utilizou como agente tamponante ruminal os bicarbonatos de sódio ou potássio (pKa de 6,0 a 7,0) uma vez que são compostos

solúveis no fluído ruminal e possuem um pKa muito próximo aos valores de pH considerados ótimos para o ambiente ruminal (6,2 a 6,8) (KAUFMAN et alii, 1980).

TEH et alii (1985), comparando diferentes tipos de agentes tamponantes e seus modos de ação no rúmen e abomaso, obtiveram que para todas as dietas tamponadas ocorreu um aumento das secreções gástricas e este fato fez com que a acidez da digesta no duodeno fosse mais elevada, particularmente para a dieta tamponada com bicarbonato de sódio. Os autores citam o trabalho de VAN BRUCHEM (1977) que obteve um aumento na secreção ácida do abomaso quando infusões de bicarbonato de potássio foram realizadas em carneiros. Apesar de se garantir um ambiente ruminal adequado pelo uso de bicarbonatos de sódio e potássio, o ambiente duodenal é prejudicado fazendo com que a digestão de proteína e amido seja afetada. Esta hipótese tem sido confirmada por uma série de trabalhos nos quais a adição de compostos menos solúveis no rúmen favoreceu seu efeito tamponante no intestino delgado, permitindo a manutenção de um meio adequado à atividade das enzimas secretadas nesta porção do trato digestivo, o que elevou os coeficientes de digestibilidade do amido e da proteína (WHELLER et alii, 1981 abcd; JAMES & WOHLT, 1985 e RUSSELL et alii, 1980). Os bicarbonatos de sódio e potássio são sais cujos cátions são mais prontamente absorvidos a nível de rúmen do que o íon

cálcio, cátion constituinte dos sais de carbonato de cálcio utilizados na maioria dos trabalhos citados, o que explicaria a pequena influência dos bicarbonatos no tamponamento do intestino delgado (WHEELER, 1980).

Os sais de bicarbonato são os agentes tamponantes a nível de rúmen mais utilizados e pesquisados, sendo os sais de carbonato, principalmente de cálcio e magnésio, juntamente com o óxido de magnésio mais utilizados como compostos moduladores do pH do trato gastrintestinal inferior. Trabalhos realizados por WHEELER et alii (1981 bd) demonstraram uma grande influência da reatividade e dos tipos de calcário sobre o desempenho animal e a utilização de nutrientes por animais confinados, estabelecendo que calcários calcíticos de alta reatividade exerceram o efeito desejado a nível de intestino e também elevaram o pH do rúmen de dietas ricas em grãos. Este tipo de calcário mostrou-se mais efetivo que o dolomítico, uma vez que reage mais rapidamente com ácido em função de sua estrutura cristalina.

2.2.3. Modo de ação de agentes tamponantes

Pouco se sabe sobre o modo de ação dos tamponantes no organismo animal. Como o principal objetivo dos agentes tamponantes e alcalinizantes é evitar flutuações muito grandes de pH ao longo do trato gastrintestinal, a

maioria dos trabalhos existentes sobre este assunto contém informações sobre o pH nos diversos compartimentos do trato digestivo. Segundo ARMENTANO & SOLORZANO (1988), o principal efeito sistêmico indireto dos agentes tamponantes seria a alteração da relação acetato/propionato através de mudanças no padrão de fermentação ruminal. Um decréscimo nesta relação favorece a síntese de gordura no tecido corporal em detrimento à gordura do leite no caso de vacas em lactação. A redução no pH do rúmen faz com que ocorra um aumento na proporção de AGV não dissociados, fato este responsável pela redução na motilidade do rúmen (amplitude e frequência das contrações). Os AGV de cadeias mais longas (propionato e butirato) tornam-se agentes inibidores em concentrações mais baixas que as de acetato (GREGORY, 1987; citado por ARMENTANO & SOLORZANO, 1988). A utilização de tamponantes pode aumentar a motilidade ruminal através da manutenção do pH ruminal nos níveis adequados, o que causará uma redução na concentração total de AGV não dissociados e na proporção de propionato. A valores de pH de 5,5, 16% dos AGV do rúmen estão na forma não dissociada. Quando o pH é elevado para 6,5, menos que 2% permanecem nesta forma. Este fato favorece a maior ingestão de dietas mais energéticas quando da utilização de agentes tamponantes, aumentando a ingestão de nutrientes e o desempenho animal.

No trato digestivo inferior a atuação básica

do agente tamponante se dá através da neutralização da acidez excessiva, mantendo o pH em torno da neutralidade.

2.2.4. Efeitos de substâncias tamponantes na digestibilidade, nos parâmetros ruminais e no desempenho animal.

Um grande número de trabalhos encontra-se disponível na literatura sobre a utilização de diferentes agentes tamponantes e seus efeitos sobre o desempenho animal em confinamento, digestibilidade das dietas utilizadas e parâmetros ruminais tais como pH, ácidos graxos voláteis (AGV), nitrogênio amoniacal ($N-NH_3$), taxa de diluição, tempo de retenção, digestibilidade, retenção de cálcio (Ca) e fósforo (P), etc.

FULTON et alii (1979) realizaram um trabalho com o objetivo de avaliar o efeito da alteração do pH ruminal sobre a ingestão voluntária e o processo fermentativo em novilhos de corte alimentados com uma dieta contendo 90% de grãos de trigo esmagados através da infusão direta no rúmen de uma mistura equimolar de hidróxido de sódio e de potássio. Observaram efeito significativo com relação aos valores de pH, sendo que para os animais controle os valores foram mais baixos (5,39 vs 5,88, $P < 0,01$). A ingestão de alimento foi mais alta para os animais tratados com a mistura de

hidróxidos (9,87 Kg vs 8,39 Kg, $P < 0,10$), demonstrando uma possível relação entre pH do rúmen e ingestão voluntária de alimento. Quanto às proporções de AGV, os autores observaram aumento de acetato e isovalerato nos animais tratados em relação aos do controle.

RUSSELL et alii (1980) avaliaram o efeito da adição de bicarbonato de sódio (0,9%) e calcário (1,8%) sobre o desempenho e parâmetros ruminais e fecais de bovinos consumindo uma dieta contendo 90% de concentrado. Os autores não observaram efeito significativo dos tratamentos sobre o ganho de peso, conversão alimentar, proporção de AGV, área de olho lombo e peso de carcaça. A adição de 1,8% de calcário resultou em carcaças com graus de marmorização mais altos ($P < 0,05$) e elevou o pH do rúmen e das fezes. Uma correlação negativa ($r = -0,35$) foi observada entre pH e amido nas fezes.

As substâncias tamponantes mais tradicionalmente utilizadas são os bicarbonatos mas, em função dos resultados favoráveis obtidos a partir de sais de carbonato com relação a pH do rúmen e do intestino delgado, um interesse crescente vem surgindo na avaliação de fontes naturais como agentes tamponantes. Usando dieta contendo 15% de silagem de milho e 85% de concentrado, WHEELER et alii (1981a) estudaram os efeitos de calcários e pós oriundos da

fabricação de cimento (cement kiln dusts), ambos com alta (161 e 154 segundos) e baixa (4110 e 6244 segundos) reatividade (tempo requerido para se adicionar 50% do ácido clorídrico 1N necessário para neutralizar o agente tamponante ou alcalinizante a um pH definido (NOLLER & WHITE, 1980)) sobre a utilização de nutrientes, desempenho animal, mérito de carcaça e característica do trato gastrintestinal de bovinos confinados. Os materiais de reatividade mais alta apresentaram os melhores ganhos de peso, as melhores conversões alimentares e coeficientes de digestibilidade mais elevados para a matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, parede celular e amido. Não foram detectadas diferenças significativas entre fontes de reatividade semelhante quanto às variáveis avaliadas. Trabalhando com pó oriundo da fabricação de cimento e outros agentes tamponantes (bentonita de sódio, sais de buffer de McDougall e clinoptilolita) ao nível de 3% em dietas contendo 29% de concentrado, GALYEAN & CHABOT (1981) observaram aumento significativo no pH fecal mas não no pH do rúmen. Os materiais testados não apresentaram influência significativa sobre as concentrações de AGV e $N-NH_3$ e sobre a osmolalidade do rúmen.

WHEELER et alii (1981b) estudaram o efeito do tipo ou origem petrológica, do tamanho de partícula e da taxa de reatividade de calcários sobre a utilização de dietas

ricas em concentrado (75%) por bovinos de corte. Além do maior ganho de peso e da melhor conversão alimentar (Kg MS/Kg de ganho de peso), a dieta com calcário calcítico de alta reatividade (40 segundos) apresentou valores de pH fecal, da digesta do colo, intestino delgado e rúmen próximos a 6,7, valor este superior à aqueles encontrados para os calcários dolomítico (4830 segundos) e calcítico (2150 segundos) de baixa reatividade (média de 5,9). Coeficientes de digestibilidade mais altos para a matéria seca, matéria orgânica e amido foram obtidos para as dietas de calcário calcítico, principalmente para a dieta com o calcário de maior reatividade. A retenção de Ca e P também foi mais alta para esta fonte de calcário.

Em função dos resultados positivos obtidos em trabalhos anteriores com a utilização de calcário calcítico de alta reatividade, WHEELER et alii (1981c) estudaram os efeitos de combinações de níveis de cálcio (calcário calcítico de alta reatividade como fonte de cálcio) e níveis de bicarbonato de sódio sobre o desempenho animal e sobre a utilização de nutrientes em bovinos confinados à base de uma dieta contendo 15% de silagem de milho e 85% de concentrado. Os níveis testados de bicarbonato foram 0; 0,75; 1,50% e os de cálcio foram 0,35 e 0,70% na matéria seca, num delineamento fatorial (3x2). O nível mais elevado de cálcio aumentou o ganho de peso e melhorou a conversão alimentar,

com exceção da associação com o nível de 1,5% de bicarbonato de sódio. A adição de 0,75% de bicarbonato de sódio não mostrou melhora significativa, ao passo que o nível de 1,5% de bicarbonato reduziu o ganho de peso e a ingestão de alimentos, prejudicando a conversão alimentar. Coeficientes de digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica, parede celular e amido foram mais altos para o nível de 0,7% de Ca, fato este também observado com relação a retenção de Ca e P no organismo dos animais. A adição de bicarbonato diminuiu o peso das carcaças, sendo que o nível de 1,5% causou uma redução significativa ($P < 0,05$) nos graus de marmorização das mesmas. As concentrações de AGV total e $N-NH_3$ não foram alteradas, mas os níveis de 0,75 e 1,5% de bicarbonato reduziram o acetato e aumentaram o propionato no rúmen. Os mesmos autores, (WHEELER et alii, 1981d) usando dieta idêntica à do trabalho anterior, estudaram os efeitos de 3 níveis de cálcio (0,35; 0,65 e 0,95%) e 3 fontes de cálcio (calcários calcíticos de baixa (4078 segundos), média (63 segundos) e alta (4 segundos) taxas de reatividade) sobre a utilização da dieta por bovinos. Os resultados foram semelhantes aos do trabalho anteriormente citado, somente que para o calcário de reatividade mais alta, os níveis de 0,65 e 0,95% Ca foram prejudiciais. As concentrações de $N-NH_3$ e AGV total não foram alteradas nos diferentes tratamentos, o mesmo ocorrendo com o acetato e o propionato.

HAALAND & TYRRELL (1982) avaliando calcário (2,5% da matéria seca), bicarbonato (2%) e a associação calcário e bicarbonato (1,25% de cada um) adicionados a uma dieta contendo 65% de milho moído e 35% de silagem de milho, observaram que os diferentes tratamentos não apresentaram efeitos sobre o pH, as concentrações de N-NH_3 e de AGV total ou a capacidade de tamponamento do rúmen entre os valores de pH 5,5 a 7,0. O pH fecal foi aumentado ($P < 0,01$) por todas as dietas tamponadas em cerca de 0,5 unidade, sendo que as taxas de passagem de sólidos e líquidos não diferiram, estatisticamente, no nível de ingestão para manutenção. Quando o nível de ingestão foi aumentado em duas vezes, as dietas tamponadas diminuíram o pH ruminal em relação ao controle (6,03 vs 6,37), aumentaram a concentração de AGV total (115 vs 99 mmoles/litro) e as taxas de passagem de sólido e de líquido significativamente ($P < 0,01$). Nenhuma diferença estatística foi observada na relação acetato/propionato.

Trabalho avaliando níveis de proteína (11,14 ou 17%) e presença ou ausência de calcário na dieta mostrou que o calcário elevou o pH do rúmen somente no nível de proteína bruta de 11% ($P < 0,01$). Quando níveis de proteína foram elevados nas dietas sem calcário ocorreu um aumento significativo ($P < 0,01$) nos valores de pH ruminal. Para os níveis mais elevados de proteína na dieta as concentrações de

N-NH₃ observadas foram maiores, mas não sofreram influência da presença ou não do calcário (HAALAND et alii, 1982).

OKEKE et alii (1983) avaliaram o efeito de dois tipos de tamponantes (bicarbonato de sódio e mistura de sais de McDougall) em dietas contendo diferentes proporções de silagem de milho/concentrado (50/50 e 20/80). Níveis de 2,5 e 5% de bicarbonato aumentaram as taxas de passagem de sólidos e de líquidos, o pH ruminal, a concentração de N-NH₃, a relação acetato/propionato, e o desaparecimento de N no rúmen em relação ao tratamento testemunha. Os autores sugeriram que o pH ruminal acima de 6,0 aumenta a degradabilidade da proteína.

PEIRCE et alii (1983) avaliaram o efeito de bicarbonato de sódio (1%), óxido de magnésio (0,5%) ou uma mistura de bicarbonato com óxido de magnésio (1% e 0,5% respectivamente) em animais submetidos de forma abrupta a uma dieta com 85% concentrado na matéria seca. Observaram que o óxido de magnésio diminuiu a taxa de diluição do rúmen, efeito este não observado nos demais tratamentos. Não houve efeito dos agentes tamponantes no pH do rúmen e na relação acetato/propionato. Quanto à ingestão de matéria seca, somente o bicarbonato apresentou efeito positivo, diferindo do controle. O óxido de magnésio aumentou a digestibilidade da matéria seca, do amido e da fibra em detergente neutro, além do pH fecal. A associação entre bicarbonato e óxido de

magnésio não afetou qualquer dos parâmetros analisados.

Trabalho realizado por EL TAYEB et alii (1984) mostrou que em relação ao tratamento controle, o nível de 1,5% de um calcário calcítico numa dieta rica em concentrado (75%) permitiu a obtenção de aumentos significativos na digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica e amido ($P < 0,10$), energia, proteína bruta, fibra detergente ácido e celulose ($P < 0,05$). Neste mesmo trabalho, os autores observaram que ao passar do nível 0,6 para 3,0% de calcário ocorreu uma elevação na concentração de propionato no rúmen, com uma conseqüente redução na relação acetato/propionato.

HALL & THOMAS (1984) usando dieta com 80% de concentrado, observaram que a adição de bicarbonato de sódio "in vitro" aumentou o pH em comparação ao controle, assim como a digestão de amido e AGV total ($P < 0,05$), mas não alterou as proporções molares dos AGV. Quando utilizado na dieta contendo 50% de concentrado, o bicarbonato de sódio aumentou a digestão do amido e da celulose, assim como a concentração de AGV total e a proporção molar de acetato ($P < 0,05$).

BRINK et alii (1984), estudando o efeito da adição de calcário em dietas de bovinos de corte, observaram que o nível de 1,7% de calcário calcítico foi mais eficiente

que o de 0,8% para ganho de peso e conversão alimentar. Para estas mesmas variáveis, o calcário fino (reatividade de 5,2 segundos) foi superior ao grosseiro (315 segundos) com valores de probabilidade de 0,11 e 0,18 respectivamente. A elevação do nível de calcário de 0,8 para 1,7% causou redução no amido fecal e um aumento no pH das fezes ($P < 0,01$). O nível de 2,8% de calcário reduziu a ingestão e o ganho de peso.

TEH et alii (1985), comparando os diferentes agentes tamponantes e estudando o seu modo de ação, observaram que o bicarbonato de sódio (1,0%) e o calcário (1,2%) elevaram o pH do rúmen ($P < 0,05$) de novilhas submetidas a uma dieta contendo 60% de concentrado. Não houve efeito dos tamponantes utilizados sobre as taxas de diluição de líquidos do rúmen. A utilização de óxido de magnésio (0,48%) e calcário (1,2%) elevou o pH das fezes ($P < 0,05$), mas somente na dieta de calcário ocorreu redução na quantidade de matéria seca fecal. As dietas tamponadas diminuíram a concentração de $N-NH_3$ ($P < 0,05$). Segundo os autores a explicação para este fato é o aumento da solubilidade da proteína e do nitrogênio não protéico com o aumento do pH do rúmen nos estágios iniciais da fermentação, aumentando a absorção de amônia. Não houve efeito significativo sobre a concentração total de AGV e sobre as suas respectivas proporções.

JAMES & WOHLT (1985), estudando a adição de

diferentes aditivos, (0,52% cloreto de sódio; 0,18% óxido de magnésio; 0,75% bicarbonato de sódio e 0,47% de calcário (reatividade de 100 segundos), em dietas com cerca de 85% de concentrado, observaram reduções no nível de acetato pela utilização de cloreto de sódio, óxido de magnésio ou bicarbonato, e no de propionato pela adição de cloreto de sódio, bicarbonato e calcário. Contudo, calcário e bicarbonato elevaram a relação acetato/propionato, permanecendo inalterado o nível de butirato. O bicarbonato melhorou a digestibilidade da matéria seca e da fibra em detergente ácido. O calcário melhorou a digestibilidade da proteína bruta e do amido, sendo que este último teve sua digestão prejudicada pelo óxido de magnésio. Quanto ao pH do rúmen, não foram verificadas diferenças significativas, embora o tratamento com bicarbonato apresentasse tendência de aumentá-lo. Com exceção do cloreto de sódio, os demais aditivos elevaram o pH das fezes, mas sem apresentar diferenças entre si.

KOVACIK et alii (1986) avaliaram níveis crescentes de bicarbonato (0; 1,5; 3,0 e 4,5%) adicionados a uma dieta contendo 50% de concentrado. No nível de fornecimento "ad libitum", os valores de pH do rúmen aumentaram linearmente com os níveis de bicarbonato ($P < 0,05$), o mesmo ocorrendo com o desaparecimento do nitrogênio do farelo de soja e da matéria seca do feno fornecido. As taxas

de diluição das fases sólida e líquida não foram afetadas nas dietas tamponadas ($P > 0,10$). Os autores observaram que com a elevação do nível de bicarbonato aumentou a porcentagem de tempo no dia em que o pH do rúmen permanecia acima dos níveis críticos para digestão de matéria seca e proteína, mas a digestão de nutrientes no trato total não foi alterada.

JACQUES et alii (1986), utilizando dietas com 84 ou 50% de silagem de sorgo, observaram que o bicarbonato de sódio (1%) permitiu um aumento no consumo da dieta rica em volumoso. Os valores de pH, concentração e proporção de AGV no rúmen não foram alterados. Houve tendência para redução na concentração de $N-NH_3$. As taxas de passagem de líquidos e de sólidos não foram alteradas.

ROBY et alii (1987) estudaram o balanço de eletrólitos e ácido-base de novilhas leiteiras submetidas a dietas de volumosos e concentrado enriquecidas ou não com bicarbonato de sódio (2% base seca). Observaram que para as dietas de volumosos (feno de alfafa e silagem de milho) a capacidade tamponante metabólica foi maior que para a de concentrado (90% na matéria seca). Animais submetidos a esta dieta apresentaram valores de pH e bicarbonato no sangue inferiores, e ocorrência de acidúria e de fosfatúria. A adição de bicarbonato de sódio (2%) na dieta de alta proporção de concentrado evitou a ocorrência de acidúria. As

novilhas submetidas a esta última dieta, sem a adição de bicarbonato, apresentaram pH e bicarbonato do sangue e da urina mais baixos ($P < 0,05$), além de excretarem mais cálcio, fósforo e magnésio na urina quando comparadas àquelas que receberam a dieta enriquecida com o bicarbonato de sódio. Os autores concluíram que a adição de 2,0% de bicarbonato de sódio (base seca) permite evitar muitos dos efeitos prejudiciais oriundos de dietas ricas em concentrado.

BOERNER et alii (1987 ab) observaram efeitos favoráveis quando da adição de 1% de bicarbonato de sódio a uma dieta contendo 50% de concentrado na matéria seca. Este aditivo aumentou a digestibilidade da matéria seca e de constituintes solúveis das células ($P < 0,05$), da matéria orgânica e da proteína bruta ($P < 0,10$) da dieta. Não foram observadas alterações quanto aos níveis de acetato e de propionato.

CHRISTIANSEN & WEBB Jr. (1988) obtiveram tendência de melhora no fluxo de proteína para o duodeno com a utilização de 1,2% de calcário em dietas ricas em grãos, quando comparado com outros aditivos. Os autores citam que houve uma elevação na absorção intestinal da maioria dos aminoácidos essenciais, favorecendo a utilização da proteína por animais confinados com estas dietas. Não houve efeito sobre a digestibilidade do amido.

Pode-se inferir, portanto, que os bicarbonatos têm-se mostrado mais efetivos em modular o ambiente ruminal em termos, principalmente, de pH, favorecendo a digestão de proteína e frações fibrosas. Seu efeito no trato digestivo inferior é muito pequeno. Os níveis mais adequados de utilização situam-se entre 0,8 e 1,0% da matéria seca da dieta, sendo que nesta condição, um aumento na ingestão tem sido observado, aumento este devido a uma elevação da taxa de passagem de líquidos e de sólidos. O maior consumo permite uma maior produção de AGV, tendo pouco efeito sobre a relação molar entre eles. Alguns trabalhos mostram que em dietas ricas em concentrado, acima de 70% da matéria seca, tem apresentado uma redução da relação acetato/propionato, sendo observado o inverso em dietas com um nível em torno de 50% de concentrado.

2.3. Ionóforos

Normalmente os alimentos fornecidos aos ruminantes são sujeitos a dois tipos de processos digestivos: digestão fermentativa, realizada inicialmente pelos microorganismos do rúmen e digestão hidrolítica ou enzimática, realizada pelas enzimas contidas nas secreções dos diferentes compartimentos do trato digestivo (abomaso e intestino delgado). Protozoários e bactérias do rúmen digerem e fermentam estes alimentos com o objetivo de obterem

nutrientes para o seu crescimento (HUNGATE, 1966). O processo fermentativo só é vantajoso quando da utilização de materiais que não podem ser digeridos pelo aparato enzimático do animal ou que possuem um valor nutritivo muito baixo. A fermentação de amido, açúcares e proteína da dieta, além de produtos finais da digestão enzimática de polissacarídeos e polipeptídeos (hexoses e aminoácidos) é acompanhada de perdas em energia e em nitrogênio de aminoácidos (CHALUPA, 1980).

O ambiente ruminal é anaeróbico, fato este responsável pela oxidação incompleta de componentes alimentares, devido ao oxigênio (O_2) não encontrar-se disponível como aceptor de elétrons. Assim, como produtos finais formados durante o processo fermentativo, são produzidos AGV, metano (CH_4) e gás carbônico (CO_2). Os AGV e as células microbianas são utilizadas pelo animal hospedeiro em sua nutrição, sendo o metano e o gás carbônico perdidos durante o processo de eructação. A produção de metano é variável com o tipo de dieta, mas geralmente é responsável por perdas de 5 a 10% da energia bruta da dieta (RUSSELL, 1987).

Vários métodos têm sido desenvolvidos para influenciar favoravelmente a eficiência digestiva de ruminantes. Eles baseiam-se num balanço entre as digestões fermentativa e hidrolítica para os diferentes tipos de

dietas, em função de seus constituintes. Este balanço é obtido, de forma geral, por duas maneiras: proteção de componentes da dieta do ataque de microorganismos e suas enzimas, e controle da atividade e balanço das espécies → microbianas no rúmen (CHALUPA, 1980).

O interesse em se manipular e melhorar a eficiência do processo fermentativo ruminal é um desejo bastante antigo dos nutricionistas de ruminantes. Como melhora na eficiência entende-se um aumento na produção de ácido propiônico, redução da metanogênese e redução dos processos de proteólise e deaminação de proteínas da dieta pelos microorganismos do rúmen (BERGEN & BATES, 1984). HANEY Jr. & HOEHN (1967) citados por BERGEN & BATES (1984), observaram que um composto químico utilizado como agente coccidiostático em rações de aves domésticas possuía atividade moderada sobre microorganismos gram-positivos, e este fato fez com que surgisse o interesse em se estudar o seu efeito sobre os microorganismos do rúmen. Descobriu-se então um grupo de compostos, denominados ionóforos, que quando utilizados, ocasionavam as mudanças já citadas no processo fermentativo ruminal.

2.3.1 Definição de ionóforos

Ionóforos são moléculas com uma camada externa hidrofóbica e uma camada interna hidrofílica (RUSSELL & STROBEL, 1989), possuindo um arranjo de várias estruturas que contém átomos de oxigênio estrategicamente espaçados. Este arranjo é capaz de assumir conformações que dispõem os átomos de oxigênio em forma de anel ou cavidade dentro da qual um cátion pode ser mantido. Sua atividade biológica está relacionada com sua habilidade em modular o movimento de cátions como o sódio, o potássio e o cálcio através de membranas celulares (CHALUPA, 1980). Estes compostos são produzidos por várias cepas de *Streptomyces* e incluem monensina, lasalocida, salinomicina e narasina (BERGEN & BATES, 1984). Possuem peso molecular variando de 500 a 2000, e são tóxicos a muitas bactérias, protozoários, fungos e organismos superiores, sendo por isso classificados como antibióticos (RUSSELL & STROBEL, 1989).

A adição destes diferentes compostos em dietas de bovinos de corte vem sendo estudada e resultados semelhantes têm sido obtidos (OWENS, 1980; citado por BERGEN e BATES, 1984), com exceção feita à narasina que parece ser mais potente que os demais (SCHELLING, 1984).

2.3.2. Modo de ação dos ionóforos

O mecanismo de ação dos ionóforos está intimamente relacionado com a interação entre estes compostos e as membranas celulares (BERGEN & BATES, 1984), já que são capazes de interagir estequiometricamente com íons metálicos e servir como um transportador destes íons através da membrana celular das células dos microorganismos (OVCHINNIKOV, 1979; citado por BERGEN & BATES, 1984).

BERGEN & BATES (1984), em revisão sobre o modo de ação de ionóforos, descrevem o processo de transporte de íons. O ciclo de transporte começa com a forma aniônica do ionóforo confinada à interface da membrana celular, onde é estabilizada pela característica polar dessa superfície. Sendo um ânion, o ionóforo é capaz de combinar-se com um cátion metálico. Essa combinação inicia a formação de um complexo cátion-ionóforo cíclico e lipossolúvel capaz de difundir-se pelo interior da estrutura da membrana. Este complexo, ao chegar ao lado oposto da membrana, é colocado novamente num ambiente polar no qual as forças eletrostáticas que o estabilizavam não mais permitem a manutenção da forma cíclica. Assim o complexo é desfeito, o cátion liberado e o ionóforo volta a sua forma aniônica acíclica de baixa energia. Resultados experimentais sugerem que quando um cátion metálico (sódio) é carregado de um lado da membrana

num complexo 1:1 com monensina, a fase de retorno do ionóforo no ciclo de transporte se dá na forma protonada (SANDEAUX et alii, 1982; citados por BERGEN & BATES, 1984).

Reações específicas de troca catalizadas pelos diferentes ionóforos em uso são dependentes da sua afinidade pelo cátion e dos gradientes relativos de íons entre os ambientes extra e intra-celular (BERGEN & BATES, 1984 e RUSSELL, 1987).

BERGEN & BATES (1984), citando o trabalho de PRESSMAN (1976), onde foi estudada a aplicação biológica de ionóforos, mostram que a afinidade pelos diferentes cátions é variável. Monensina cataliza, principalmente, a troca de sódio (Na^+) por hidrogênio (H^+), uma vez que sua afinidade pelo sódio é 10 vezes maior que aquela por potássio (K^+). A lasalocida tem uma afinidade maior pelo potássio em relação a sódio e cálcio (Ca^{+2}). As afinidades da lasalocida por Na^+ e Ca^{+2} são semelhantes.

Trabalhos básicos de pesquisa foram realizados com estes compostos com o objetivo de se determinar como eles atuam sobre as células dos microorganismos do rúmen, resultando nas mudanças observadas no processo fermentativo quando são fornecidos aos animais (BERGEN & BATES, 1984; SCHELLING, 1984; RUSSELL, 1987). Os compostos mais estudados

são a monensina e a lasalocida, mas entre eles, a monensina tem recebido a maior concentração de esforços para se esclarecer o seu mecanismo exato de ação. Como estes compostos são moduladores do transporte de cátions através da membrana celular, torna-se importante conhecer o papel biológico das membranas no metabolismo da célula.

A maioria das bactérias expellem prótons aparentemente através da membrana celular e mantém um ambiente interno mais alcalino que o externo. Este fato é responsável pela geração de um gradiente de pH (ΔpH) e de um gradiente elétrico (ΔY) em função da diferença de potencial elétrico gerado através da membrana, uma vez que o interior da célula permanece carregado negativamente e o exterior positivamente. O efeito conjunto destes dois gradientes gera a força próton-motiva (ΔP). A expulsão de prótons constitui-se num meio de manter o pH intracelular favorável, mas a força próton-motiva pode ser usada para direcionar a absorção de solutos pela célula (KASHKET, 1985; citado por RUSSELL, 1987).

O gradiente de prótons é gerado pelas células de duas maneiras distintas, ou seja, transferência de elétrons ao longo de uma cadeia de citocromos acoplada à membrana ou por extrusão de prótons associada à hidrólise de uma molécula de ATP por uma ATPase ligada à membrana (BERGEN

& BATES, 1984). Esta enzima é comum a todas as células e é composta de duas extremidades, F0 e F1 (WILSON & SMITH, 1978; citados por BERGEN & BATES, 1984). Em bactérias anaeróbicas dependentes somente da fosforilação a nível de substrato para geração de ATP, esta enzima serve principalmente para a extrusão de prótons. A porção F1 hidrolisa a molécula de ATP, enquanto a porção F0 é considerada ser o canal através do qual prótons podem entrar na célula. Por outro lado, a associação entre a síntese de ATP e a força próton-motiva durante a fosforilação oxidativa (cadeia de citocromos) é acompanhada de um influxo de prótons através da porção F0 da enzima. Somente aquelas células capazes de fosforilação oxidativa são hábeis em utilizar a força próton-motiva desta maneira (BERGEN & BATES, 1984).

Dos trabalhos citados por BERGEN & BATES (1984) em sua revisão sobre o assunto, observa-se que quando a monensina foi adicionada ao meio ocorreu uma dissipação do gradiente de prótons através da membrana da célula, causando uma diminuição da força próton-motiva e uma exaustão total do ATP intracelular. O nível de energia da célula foi severamente diminuído uma vez que a célula não poderia gerar ATP suficiente para atender suas demandas biológicas e regenerar o pH. Esse influxo de prótons (H^+) foi obrigatoriamente acompanhado por um efluxo de sódio (Na^+), visto que o gradiente eletrostático era mantido praticamente

inalterado. Esses autores consideraram, durante o raciocínio utilizado em seu trabalho, somente os gradientes de prótons e sódio, não citando os gradientes de outros cátions competidores pelo mesmo ionóforo, como o potássio, apesar da menor afinidade da monensina por estes íons.

RUSSELL (1987), trabalhando com *Streptococcus bovis*, uma bactéria ruminal gram-positiva, obteve que a adição de monensina no meio causou uma inversão no gradiente de pH através da membrana da célula, tornando seu interior mais ácido que o meio externo ($P < 0,05$). Esta inversão de pH provavelmente refletiu a inabilidade das culturas tratadas com monensina em expelir os prótons provenientes da produção de lactato ou do influxo de prótons. O gradiente elétrico não foi alterado ($P < 0,05$), mas a inversão do gradiente de prótons levou a um decréscimo na força próton-motiva ($P < 0,05$). Como o potencial elétrico não mudou, um influxo de prótons deve ter sido combinado a um efluxo de cátions ou um influxo de ânions. As concentrações dos meios intra e extracelulares quanto a prótons (H^+), sódio (Na^+) e potássio (K^+) foram avaliadas. Observou-se que K^+ e Na^+ possuíam uma maior concentração no interior das células, fazendo com que gradientes de 70 e 2,7 vezes ocorressem respectivamente, através da membrana nas culturas controle. Com a adição da monensina, o gradiente de potássio foi diminuído para 15 vezes e o de sódio aumentado para 5,8 vezes. Este resultado

é contraditório àquele de BERGEN & BATES (1984), uma vez que segundo estes autores a expectativa seria de uma redução, ao invés de um aumento, no gradiente de Na^+ . Normalmente a monensina é um "antiporter" (transportador de) Na^+/H^+ em função de sua afinidade pelo Na^+ ser dez vezes superior àquela pelo K^+ , mas pode realizar a troca K^+/H^+ (PRESSMAN & FAHIM, 1982; citado por RUSSEL, 1987). Seria esperado um maior efluxo de Na^+ do que de K^+ , mas o obtido foi um efluxo de K^+ que foi trocado pelo H^+ , uma vez que, apesar da maior afinidade da monensina pelo Na^+ , o gradiente relativo entre K^+ e Na^+ era de 25 a 26 vezes em favor do potássio. O efluxo de K^+ levaria a um acúmulo de H^+ e um decréscimo no pH intracelular. Com o pH interno mais baixo em relação ao meio, o influxo de sódio poderia ser dirigido por um efluxo de prótons (RUSSELL, 1987). O autor cita que somente a redução no pH interno não seria o responsável pela inibição do crescimento de *S. bovis*, e que a utilização de ATP para expelir o excesso de prótons da célula possuiu um papel bastante importante.

RUSSELL & STROBEL (1989) confirmaram os resultados experimentais de RUSSELL (1987) e comentaram que a proposição de BERGEN & BATES (1984) não foi baseada em determinações experimentais e não se considerou o efeito da monensina sobre o potássio. Portanto, o ionóforo promove uma desestabilização no balanço eletrolítico e uma desorganização

do gradiente de íons nas células, normalmente formado no sistema de transporte ativo da bactéria, essencial para o seu metabolismo (MACHADO & MADEIRA, 1990). Este fato faz com que a célula gaste energia (ATP) para expelir prótons e manter o meio interno sem variação, o que resulta no seu esgotamento. Para a lasalocida o princípio de funcionamento seria o mesmo, como descrito por RUSSELL (1987) para a monensina, uma vez que não foram detectadas diferenças entre estes dois ionóforos quanto ao seu mecanismo de ação (NUZBACK & NAGARAJA, 1987; citado por RUSSELL & STROBEL, 1989).

Acredita-se que os efeitos dos ionóforos (monensina e lasalocida) sobre o processo de fermentação ruminal são devidos a mudanças na ecologia dos microorganismos do rúmen. BERGEN & BATES (1984), em seu trabalho de revisão sobre o assunto, mostraram que os microorganismos mais sensíveis a estes antibióticos são os gram-positivos quando comparados aos gram-negativos. Este fato se dá uma vez que as células gram-positivas possuem, como única forma de gerar a força próton-motiva, a extrusão de prótons a partir da hidrólise de ATP. Estas células, quando submetidas ao ionóforo, sofrem uma desestruturação de seu equilíbrio eletrolítico em função do influxo constante de prótons em seu interior, fazendo com que o nível energético destas células seja reduzido e elas venham a morrer com o tempo. Por outro lado, as gram-negativas possuem, como

mecanismo alternativo para geração da força próton-motiva, a extrusão de prótons à partir do processo de respiração anaeróbica, ou seja, o transporte de elétrons através de uma cadeia de citocromos, que ocorre a nível de membrana. Este fato faz com que estas células sejam menos afetadas pelo ionóforo, permitindo a sua sobrevivência e a manutenção de um nível de força próton-motiva que dá continuidade aos processos de transporte primário relacionados com a absorção ativa de nutrientes. Assim, não há dúvida que uma adaptação ao inóforo, a longo prazo, envolve uma mudança nas populações microbianas do rúmen. Bactérias gram-positivas são as principais produtoras de acetato, butirato, gás hidrogênio (H_2) e formato, sendo que a grande maioria das gram-negativas produz como produto final de fermentação o succinato, que é precursor do propionato (VAN NEVEL & DEMEYER, 1977). Justifica-se dessa maneira o efeito mais marcante dos ionóforos sobre o metabolismo animal. Ocorre um aumento na proporção molar de ácido propiônico, com um concomitante decréscimo na proporção molar dos ácidos acético e butírico, sem alteração na concentração total de AGV no rúmen (CHALUPA, 1980 e BERGEN & BATTES, 1984). Normalmente esta mudança na proporção molar de AGV é acompanhada por decréscimo na produção de metano sem o acúmulo de gás hidrogênio (CHALUPA, 1980).

2.3.3. Efeitos de ionóforos na digestibilidade, nos parâmetros ruminais e no desempenho animal.

FULLER & JOHNSON (1981) estudaram os efeitos da adição de monensina e lasalocida sobre a fermentação "in vitro" de substratos ricos em grãos e em volumosos. Diferentes níveis dos ionóforos foram usados e comparados a um processo fermentativo testemunha. Observaram que, em ambas as dietas, a produção de metano foi diminuída ($P < 0,001$). Os padrões de produção de AGV individuais foram modificados sem que ocorresse alteração na produção de AGV total. A produção de ácido butírico foi diminuída por ambos os ionóforos, enquanto a de ácido propiônico aumentou somente para os substratos ricos em grãos. A digestibilidade da energia não foi alterada e a produção de $N-NH_3$ foi diminuída em 29 e 48% ($P < 0,001$), respectivamente, para os substratos ricos em grãos e em volumosos. Concluíram que os efeitos gerais da lasalocida sobre a fermentação "in vitro" pareceram ser iguais àqueles da monensina, mas quantidades maiores de lasalocida foram necessárias para que efeitos biológicos semelhantes fossem obtidos.

MUNTIFERING et alii (1981) trabalharam com monensina com o propósito de se estudar o seu efeito sobre o local, a extensão da digestão de milho e a síntese de proteína microbiana em novilhos de corte com cânulas no abomaso. A dieta utilizada possuía 94% de concentrado e 33

ppm de monensina na matéria seca. O ionóforo causou uma redução de 21% e 19% na digestão ruminal da matéria orgânica ($P<0,10$) e do amido ($P<0,10$), respectivamente, embora a digestão aparente no trato total não tenha sido alterada. Os coeficientes de digestibilidade aparente da proteína bruta no rúmen e no trato total não foram alterados. A monensina reduziu em 11% a participação de N bacteriano e aumentou em 16% a do N alimentar no teor de N total do abomaso, fazendo com que uma maior proporção de N e do amido da dieta sofresse o processo de digestão no pós-rúmen. A eficiência de síntese de proteína bacteriana (gramas de proteína bruta de bactérias/ 100 g de matéria orgânica digerida ruminalmente) não foi alterada.

Uma comparação entre monensina e lasalocida foi realizada por THONNEY et alii (1981). Trabalhando com novilhos de corte alimentados com uma dieta rica em volumoso (alfafa), observaram que os animais tratados com monensina (183 mg/dia) apresentaram uma menor ingestão de alimentos ($P<0,01$) e ganharam menos peso ($P<0,005$) do que aqueles tratados com lasalocida. A resposta das variáveis taxa de crescimento, eficiência alimentar e nível de glucose no plasma para a lasalocida ocorreu de forma quadrática ($P<0,025$). Novilhos que receberam como suplemento diário 175 mg deste ionóforo cresceram mais rápido e eficientemente e apresentaram concentrações de glucose mais elevadas no

plasma. Os animais tratados com monensina apresentaram relações acetato/propionato do plasma ($P < 0,10$) e do rúmen ($P < 0,005$) menores do que os valores encontrados para os animais suplementados com lasalocida.

STARNES et alii (1984) estudaram a influência da monensina e da lasalocida sobre o metabolismo de minerais e a atividade da urease em novilhos. Observaram que a ingestão de minerais não foi alterada pelo fornecimento de monensina (33 ppm na dieta) ou de lasalocida (33 ppm). Ambos os ionóforos aumentaram a absorção aparente de sódio, magnésio e fósforo, mas não afetaram a do potássio e a do cálcio. Retenções de magnésio e fósforo foram mais altas para os animais tratados. A concentração sérica de todos os macrominerais não foi alterada. O fornecimento de ambos os ionóforos reduziu as concentrações de potássio e cálcio solúveis no fluido ruminal e a osmolalidade do rúmen. A atividade da urease bacteriana foi reduzida em 28 e 66% nos animais tratados com lasalocida e monensina, respectivamente.

Em uma análise de experimentos realizados para documentar os efeitos da monensina em bovinos confinados, abrangendo aproximadamente 16.000 cabeças, GOODRICH et alii (1984) observaram que os animais alimentados com dietas contendo o ionóforo ganharam peso 1,6% mais rápido, consumiram 6,4% menos ração e requereram 7,5% menos alimento para ganho de peso. Dentro da amplitude de concentrações de

monensina utilizadas nos experimentos analisados ($31,8 \pm 7,5$ mg/Kg de MS), altas concentrações do ionóforo não melhoraram a conversão alimentar em relação às concentrações mais baixas. Os dados de metabolismo de energia mostraram uma melhora na digestibilidade da matéria seca, redução do incremento calórico e um aumento maior nos valores de energia líquida de manutenção em relação aos valores de energia líquida de ganho. A adição de monensina em dietas com várias concentrações de proteína ou fonte de N suplementar resultou numa economia de proteína da dieta.

SPEARS & HARVEY (1984) estudando o efeito da lasalocida (0, 200 e 300 mg de lasalocida/dia/animal) sobre novilhos mantidos em pastagens obtiveram resultados semelhantes àqueles de STARNES et alii (1984). Observaram que os ganhos de peso dos animais suplementados com o ionóforo foram superiores aos do controle ($P < 0,05$). A proporção molar de propionato foi mais alta ($P < 0,05$) e as de butirato e valerato foram mais baixas ($P < 0,10$) para os dois níveis de lasalocida. O acetato ruminal foi menor somente até o 28º dia do experimento. A concentração de glucose no sangue só foi elevada, em relação ao controle, para o nível de 300 mg do ionóforo/dia. Concentrações séricas de magnésio e potássio foram mais baixas para os animais suplementados ($P < 0,01$). Os níveis de N-uréia no plasma e $N-NH_3$ no rúmen não foram afetados.

RICKE et alii (1984) trabalharam com carneiros com o objetivo de estudar os efeitos da lasalocida e da monensina (33 mg/Kg MS) sobre a digestão de nutrientes, metabolismo e as características do rúmen. Observaram que os coeficientes de digestibilidade para matéria seca, fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA) e hemicelulose não foram influenciados pelos ionóforos. A lasalocida aumentou o N absorvido ($P < 0,05$) em relação à monensina. Somente a monensina reduziu os níveis de $N-NH_3$ no rúmen ($P < 0,05$), mas ambos os ionóforos aumentaram a concentração de propionato e reduziram a relação acetato/propionato ruminal ($P < 0,05$).

RUSSELL & MARTIN (1984) testaram diferentes inibidores da produção de metano sobre a fermentação de aminoácidos por microorganismos do rúmen "in vitro". Observaram que a produção de metano foi diminuída em 51 e 44%, respectivamente, pela monensina e pela lasalocida e o nível de $N-NH_3$ foi reduzido em mais de 50%. Os ionóforos reduziram os níveis de isoácidos como o isovalerato e o 2 metil-butirato, mas o seu efeito mais pronunciado foi uma redução na concentração de acetato. Segundo os autores, o decréscimo na produção de $N-NH_3$ foi devido a redução na taxa de proteólise e deaminação no rúmen, com consequente diminuição da síntese de proteína microbiana.

ANDERSEN & HORN (1987) trabalharam com diferentes níveis de lasalocida para novilhos em pastejo (0, 100 e 200 mg/cab/dia) e bovinos fistulados (0 e 300 mg/cab/dia). Observaram que somente com o nível de 200 mg/dia do ionóforo ocorreu um aumento nos ganhos de peso, e este foi da ordem de 0,11 Kg superior à média dos demais tratamentos ($P < 0,05$). A lasalocida não afetou a ingestão de forragem ($P > 0,10$) e os coeficientes de digestibilidade para a matéria seca e matéria orgânica ($P > 0,05$). Ambos os níveis do ionóforo elevaram as concentrações de $N-NH_3$ no rúmen ($P < 0,05$), mas não diferiram entre si. A concentração de AGV total não foi afetada, mas nos bovinos fistulados, obteve-se que a relação acetato/propionato diminuiu ($P < 0,10$).

JACQUES et alii (1987), ao contrário dos trabalhos já citados, não obtiveram resposta devida a adição de diferentes níveis de lasalocida (0, 100, 200 e 300 mg/cab/dia) sobre a digestibilidade da matéria orgânica e da dieta total, pH do rúmen, $N-NH_3$, AGV total, proporções molares de AGV individuais e consumo de matéria seca em bovinos de corte submetidos a pastejo de forragem de inverno de baixa qualidade. Segundo BERGEN & BATES (1984) a qualidade da dieta tem relação com o efeito do ionóforo. Dietas ricas em carboidratos fermentecíveis geralmente sofrem redução de consumo sem alteração no ganho de peso. Dietas ricas em volumoso não sofrem redução no consumo, mas os ganhos de peso

são aumentados. Em ambos os casos a eficiência alimentar é melhorada.

DELFINO et alii (1988) estudando o efeito da lasalocida sobre o desempenho e a utilização da energia em bovinos observaram que a adição do ionóforo ao nível de 36 mg/Kg MS reduziu a energia digestível perdida como metano de 7,5 para 7,1% em relação ao controle ($P<0,10$), e melhorou a densidade de energia metabolizável da dieta ($P<0,05$). O valor de energia líquida para manutenção aumentou de 10 a 21% ($P<0,05$), enquanto que a energia líquida de ganho não foi afetada. Este resultado está de acordo com as conclusões de GOODRICH et alii (1984).

CHIRASE et alii (1988) trabalharam com vacas de corte sob regime de pastejo em aveia para testar o efeito da suplementação com lasalocida. O nível utilizado foi de 200 mg/cab/dia. Observaram que o ionóforo não alterou as concentrações séricas de magnésio, potássio ou zinco ($P>0,05$), mas aumentou as de cálcio ($P<0,05$) e diminuiu as de sódio ($P<0,05$). As proporções molares de acetato e butirato foram diminuídas ($P<0,05$), diminuindo a relação acetato/propionato ($P<0,05$).

RUMPLER et alii (1986) avaliaram o efeito de altas concentrações de cátions sobre a metanogênese em

novilhos suplementados ou não com ionóforos. Os níveis utilizados de lasalocida e monensina foram 226 mg/dia e os sais adicionados à dieta foram o cloreto de sódio e o cloreto de potássio. Sódio e potássio foram aumentados para 2,5% da matéria seca da dieta. Em relação ao grupo controle, a adição de sódio reduziu a produção de metano em 19% no grupo tratado com monensina ($P < 0,05$) e tendeu a diminuir a produção deste gás no grupo tratado com lasalocida ($P < 0,10$). A adição de potássio não causou alteração significativa, mas tendeu a aumentar a produção de metano nos grupos controle e tratado com lasalocida, e diminuir no grupo tratado com monensina.

DAWSON & BOLING (1987) estudaram o efeito de níveis crescentes do íon potássio em relação a atividade de ionóforos sobre microorganismos do rúmen "in vitro". Observaram que com o aumento da concentração de potássio no meio os valores de concentração mínima dos ionóforos na qual não ocorria crescimento microbiano aumentava. Estes dados dão suporte à teoria proposta por RUSSELL (1987) sobre o mecanismo de ação dos ionóforos e sugerem que o aumento da concentração externa de potássio diminui a magnitude do gradiente deste cátion, diminuindo o efluxo de potássio das células expostas a ionóforos, dificultando a dissipação do potencial existente entre os meios interno e externo e moderando a atividade dos ionóforos contra bactérias ruminais sensíveis e resistentes a estes compostos.

Trabalhos realizados com os ionóforos têm mostrado a sua efetividade em evitar distúrbios metabólicos como a acidose láctica em animais recebendo dietas com altos níveis de concentrado. NAGARAJA et alii (1981) observaram efeito favorável do fornecimento de ionóforos (lasalocida ou monensina) em prevenir a ocorrência deste distúrbio metabólico.

NAGARAJA et alii (1982) testaram diferentes compostos quanto à sua efetividade em prevenir a ocorrência de acidose láctica (lasalocida, monensina e tiopeptina). Observaram que dos três antibióticos utilizados a lasalocida se mostrou o mais efetivo. A concentração de AGV total não foi alterada, mas uma redução significativa na proporção molar de acetato e um aumento na de propionato foram observados. BRITTON & STOCK (1989) em revisão sobre o problema da acidose láctica em bovinos alimentados com dietas ricas em grãos, citam, como agentes controladores deste distúrbio, a monensina e a lasalocida. STROBEL et alii (1989) também realizaram trabalho sobre a utilização de ionóforos para o controle da acidose.

Trabalhos como o de ARMSTRONG & SPEARS (1988), no qual foi realizada a infusão intravenosa de ionóforos, têm mostrado que estes compostos podem afetar o metabolismo no ruminante independente das alterações causadas no metabolismo

microbiano do rúmen. No caso da monensina, as concentrações séricas de potássio, magnésio ($P < 0,05$) e fósforo ($P < 0,10$) diminuíram e a secreção de insulina foi alterada. As concentrações de glucose e ácidos graxos livres aumentaram ($P < 0,05$) em relação ao grupo controle. Alterações em insulina, glucose e ácidos graxos livres podem refletir mudanças na composição corporal alterando a eficiência alimentar e o ganho. Para lasalocida estes fatos não foram observados, e não são conhecidas ainda as razões para as diferenças observadas entre monensina e lasalocida.

2.4. Justificativas para a hipótese de trabalho

O tratamento de auto-hidrólise aumenta o potencial de utilização do bagaço de cana-de-açúcar como alimento volumoso para ruminantes melhorando a degradabilidade potencial da principal fração que compõe este alimento, a fração fibrosa. Dietas contendo o BAH como único alimento volumoso caracterizam-se por gerarem um ambiente ruminal desfavorável à digestão de fibra em função da alta taxa de passagem deste alimento e dos baixos valores de pH observados no fluído ruminal, fazendo com que os efeitos benéficos do tratamento não sejam aproveitados e o processo de digestão seja lento e ineficiente, devido à produção de gases, principalmente o metano.

Assim, técnicas que visem a melhoria do ambiente ruminal podem favorecer a atividade de bactérias celulolíticas e permitir que a degradação da fração fibrosa do BAH possa ocorrer de forma mais eficiente, permitindo uma maior disponibilidade de energia e, conseqüentemente, um melhor desempenho animal.

Os trabalhos disponíveis mostram o efeito controlador sobre o pH ruminal do bicarbonato de sódio, mantendo-o próximo à neutralidade, condição ideal para o desenvolvimento e atividade das bactérias celulolíticas e suas enzimas, e à sensível melhora na eficiência do processo fermentativo proporcionado pelos ionóforos, devido à maior retenção de carbono e à elevação da proporção molar de propionato em relação a acetato e butirato.

Um possível efeito associativo entre bicarbonato de sódio e ionóforos permitiria a melhor atuação destes antibióticos, aumentando ainda mais a eficiência do processo digestivo.

O presente trabalho tem por objetivo estudar o efeito da adição de um agente tamponante (bicarbonato de sódio) e um ionóforo (lasalocida sódica) sobre o processo digestivo de ruminantes submetidos a dietas à base de BAH, a partir da avaliação de seus parâmetros ruminais.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Animais e instalações experimentais

Na condução do trabalho foram utilizadas 5 vacas mestiças holandês x zebu, com grau de sangue variável, dotadas de cânula ruminal. Os animais encontravam-se em regime prévio de pastejo em pastagens de capim elefante. As instalações utilizadas foram aquelas pertencentes ao estábulo experimental do Departamento de Zootecnia da ESALQ/USP, que consistem, basicamente, de baias, cochos e bebedouros individuais.

3.2. Tratamentos e delineamento experimental

O delineamento experimental adotado foi o de Quadrado Latino 5x5. A tabela 3 mostra a composição das dietas experimentais. Os tratamentos consistiram da presença ou ausência dos aditivos (bicarbonato de sódio e lasalocida) e do bagaço "in natura" (BIN), utilizado como fonte de fibra íntegra para os animais. As dietas foram formuladas para serem isoproteicas (11% PB) e isoenergéticas (57% NDT). O

nível de lasalocida sódica utilizado foi de 22 mg/Kg MS e o de bicarbonato de sódio de 1%.

Tabela 3 - Composição das dietas experimentais.

Alimento	Tratamentos				
	A	B	C	D	E
BIN (%)	5,00	5,00	5,00	5,00	-----
BAH (%)	55,00	55,00	55,00	55,00	60,00
Milho Grão moído (%)	24,16	23,52	24,14	23,52	23,52
Farelo Algodão 40 (%)	12,08	11,76	12,08	11,76	11,76
Uréia (%)	1,52	1,48	1,52	1,48	1,48
Calcário Calcítico (%)	1,00	1,00	1,02	1,00	1,00
Cloreto de Potássio (%)	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84
Suplemento Mineral ***	0,27	0,27	0,27	0,27	0,27
ROMIVIX A 500* (ppm)	5,12	5,12	5,12	5,12	5,12
Bicarbonato de sódio(%)	-----	1,00	-----	1,00	1,00
Taurotec** (ppm)	-----	-----	152,00	152,00	152,00

* Produto comercial da ROCHE do Brasil que possui 500.000 UI/kg

** Produto comercial da ROCHE do Brasil que possui 15% de lasalocida sódica.

*** Suplemento mineral: 52,870% de cloreto de sódio; 28,120% de óxido de magnésio; 17,250% de enxofre ventilado; 1,510% de sulfato de zinco; 0,230% de sulfato de cobre; 0,009% de sulfato de cobalto; 0,022% de iodeto de potássio e 0,006% de selenito de sódio.

Os alimentos concentrados e os aditivos foram misturados previamente em misturador vertical. Por ocasião do fornecimento da alimentação, eram pesadas as quantidades de volumosos (60% base seca) e de mistura de concentrados (40% base seca) e posteriormente combinados para a obtenção da ração completa de cada animal. O fornecimento foi realizado uma vez ao dia, pela manhã (07:30 hs). A quantidade fornecida

foi calculada em função da estimativa de consumo dos dias anteriores, de forma a prever-se uma sobra diária de 10 a 15%.

3.3. Período experimental

O período experimental teve a duração de 80 dias. Em função do delineamento adotado, foi subdividido em 5 sub-períodos de 16 dias cada um. Ao longo dos 15 primeiros dias os animais eram submetidos aos tratamentos e no 16º dia era realizada a coleta de amostras de fluído ruminal para a determinação dos parâmetros ruminais. Após cada coleta, os animais eram submetidos ao rodízio nos tratamentos, conforme estabelecido pelo delineamento experimental utilizado. Foram realizadas pesagens dos animais no início e no final de cada sub-período.

3.3.1. Coleta de dados referentes a consumo de água e de matéria seca

Os dados de consumo de matéria seca foram obtidos através da diferença entre quantidade de MS fornecida e a da sobra. O consumo de água foi obtido por leituras realizadas nos hidrômetros instalados juntamente com os bebedouros individuais. A coleta destes dados foi realizada diariamente ao longo de cada sub-período experimental. Estes

valores foram utilizados para se compor os valores médios de consumo de cada animal em cada sub-período.

3.3.2. Coleta de fluido ruminal para determinação de AGV, N-NH_3 e pH do rúmen

Esta etapa teve a duração de 1 dia, quando coletou-se amostras de fluido ruminal em diferentes tempos após o fornecimento das dietas. Os horários de coleta utilizados foram 0, 1, 2, 4, 8 e 12 horas. A coleta no tempo zero foi realizada antes do fornecimento das dietas aos animais.

As amostras de conteúdo ruminal foram filtradas em quatro camadas de tecido de algodão obtendo-se, aproximadamente, 300 ml de filtrado. Destes, foram retiradas 3 alíquotas. Uma primeira alíquota de 50 ml foi transferida para um becker para a determinação do pH. A segunda alíquota, de 50 ml, foi transferida para tubo de centrífuga, já imerso em água com gelo, a fim de inibir o processo fermentativo, e posteriormente centrifugada a 5.000 g durante 20 minutos. Duas alíquotas de 2 ml cada do sobrenadante foram transferidas para frasco de vidro de 5 ml, tipo "snap cap". Após adição de 0,4 ml de ácido fórmico por frasco, as amostras foram armazenadas em congelador a -14 graus Celsius para posterior determinação de AGV. A terceira alíquota, de

4 ml, foi transferida para tubo de centrífuga contendo 2 ml de solução de tungstato de sódio a 10%, adicionando-se, posteriormente, 2 ml de solução de ácido sulfúrico gelado 1,7N. Após centrifugação a 5000 g durante 20 minutos, o sobrenadante foi transferido, em duplicata, para frasco de vidro de 5 ml, tipo "snap cap", e armazenado em congelador a -14 graus Celsius para posterior determinação de N-NH_3 .

3.4. Métodos analíticos

3.4.1. Análises químico-bromatológicas

As determinações de MS em estufa, extrato etéreo (EE), fibra bruta (FB), extrativo não nitrogenado (ENN) e cinzas (CZ) foram efetuadas segundo a A.O.A.C (1965).

As determinações de fibra detergente neutro (FDN) e fibra detergente ácido (FDA) foram efetuadas segundo GOERING e VAN SOEST (1970).

3.4.2. Análises de digestibilidade verdadeira "in vitro"

As análises de digestibilidade verdadeira "in vitro" (DVIV) nas amostras de BIN e BAH foram efetuadas segundo o método de TILLEY & TERRY (1963), substituindo o 20

estágio da digestão por uma extração com solução detergente neutro segundo GOERING & VAN SOEST (1970).

3.4.3. Metodologia de determinação de AGV

A determinação de AGV foi feita por cromatografia gasosa. O aparelho utilizado foi o cromatógrafo a gás CG/ 37-D da Instrumentos Científicos CG LTDA, equipado com coluna de vidro de 4 pés de comprimento e 1/8 de polegada de diâmetro empacotada com carbopack, e com detector de ionização de chamas. Os gases utilizados foram: arraste - nitrogênio na vazão de 30 ml/minuto; comburente - oxigênio na vazão de 400 ml/minuto; combustível - hidrogênio na vazão de 40 ml/minuto. As temperaturas de operação do vaporizador, coluna de separação e detector foram, respectivamente de 195, 120 e 205 graus Celsius.

As determinações foram efetuadas injetando-se 1 microlitro de amostra para cada determinação sendo o resultado obtido através de um integrador que utilizou, como base para cálculo das concentrações de AGV, uma solução padrão contendo 65% de ácido acético (C_2), 20% de ácido propiônico (C_3), 10% de ácido butírico (C_4) e 5% divididos em partes iguais para os isoácidos isobutírico, 2-metil-butírico, isovalérico e valérico. O número de repetições por amostra foi aquele necessário para que a diferença entre

leituras fosse inferior a 5%. A solução padrão foi injetada a cada dez injeções sucessivas de amostras de líquido ruminal, com o objetivo de evitar problemas de distorções das leituras em função de contaminação da coluna.

A partir dos resultados de concentração molar individual dos AGV, em mM/100 ml, foram calculadas as seguintes variáveis: concentração total de AGV (CT) (mM/100 ml), porcentagem molar de cada AGV, relação molar entre ácido propiônico e a soma dos ácidos acético e butírico (C_3/C_2+C_4), estimativa da quantidade de hexose fermentada a nível de rúmen e a produção de metano (CH_4) e gás carbônico (CO_2), segundo o método de WOLIN (1960):

$$Y + Z = A + 2W$$

$$Y - Z = \frac{B + 2W}{2}$$

$$X = \frac{2A + 3B + 4W + Y + Z}{6}$$

onde: A, B e W são as porcentagens molares de C_2 , C_3 e C_4 , considerando-se estes ácidos como sendo os únicos produzidos durante o processo de fermentação.

3.4.4. Metodologia de determinação de N-NH₃

As determinações de N-NH₃ foram efetuadas por colorimetria segundo o método de CHANEY & MARBACH (1962). Este método é conhecido como método do fenolato. As leituras de absorbância foram realizadas em espectrofotômetro Coleman modelo 295 da Coleman Instruments Division. Os valores de absorbância foram utilizados em equação de regressão do tipo $y = ax + b$, obtidas a partir da calibração do aparelho com soluções padrão, e transformados em mg N-NH₃/100 ml.

3.4.5. Metodologia de determinação de pH

Os valores de pH do fluído ruminal foram determinados em um potenciômetro digital da Digimed, modelo TE - 902.

3.5. Análise estatística

O delineamento experimental adotado foi o de Quadrado Latino 5x5 em parcelas subdivididas (split-plot). Os efeitos de tratamento, animal e período foram testados com relação às parcelas. A interação horário de coleta x tratamentos e efeito de horário foram testados com relação às sub-parcelas. A análise estatística dos resultados foi realizada através do procedimento GLM de análise de variância

do SAS (1988), para parcelas subdivididas. O efeito de horário de coleta após o fornecimento foi avaliado para as variáveis pH, AGV e N-NH_3 do rúmen. O quadro geral da análise de variância (ANOVA) foi o seguinte:

Causa da Variação	Graus de Liberdade
Animal	4
Sub-Período	4
Tratamento (T)	4
Resíduo (A)	12
Parcelas	24
Horário (H)	5
T x H	20
Resíduo B	100
Sub-parcelas	149

A comparação entre médias para todas as variáveis foi feita através do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Composição químico-bromatológica das dietas experimentais.

A composição químico-bromatológica estimada a partir dos resultados das análises laboratoriais dos alimentos que compunham as dietas experimentais utilizadas encontra-se na tabela 4.

Tabela 4 - Composição químico-bromatológica das dietas experimentais (% MS).

Tratamento	MS	PB	ADF	NDT ^x
A	59,60	10,62	46,10	61,08
B	59,69	11,13	45,91	61,13
C	59,86	11,22	46,56	60,99
D	59,65	10,80	46,12	60,93
E	58,86	10,80	46,15	61,99
média	59,53	10,91	46,17	61,22
desvio padrão	0,38	0,25	0,24	0,43
CV (%)	0,64	2,29	0,52	0,70

^x estimado segundo equação de regressão de KEARL (1982), compilada por BOIN (1988).

Observa-se, a partir dos valores de desvio padrão e de coeficiente de variação, que as dietas apresentaram composições semelhantes, mostrando-se isoenergéticas e isoproteicas. Os níveis de proteína bruta (PB) e nutrientes digestíveis totais (NDT) obtidos foram próximos àqueles planejados, 11 e 57% respectivamente.

4.2. Consumo de água e de matéria seca

Os dados referentes ao consumo de água e de matéria seca são mostrados na tabela 5. Tanto os valores de consumo de água como os de matéria seca foram calculados e expressos em porcentagem do peso vivo (% PV) médio de cada animal. O grupo de animais utilizado caracterizava-se por apresentar os seguintes pesos vivos médios ao longo do período experimental: V1 = 640 Kg; V2 = 413 Kg; V3 = 546 Kg; V4 = 544 Kg e V5 = 595 Kg.

Tabela 5 - Valores observados para as variáveis consumo de água e de MS (% PV) durante o período experimental (médias por tratamento).

Tratamento	cons. água	cons. MS
A	8,91 ± 1,16	2,29 ± 0,50
B	11,49 ± 2,68	2,66 ± 0,76
C	9,39 ± 2,47	2,43 ± 0,59
D	10,44 ± 2,43	2,50 ± 0,50
E	11,03 ± 2,70	2,60 ± 0,58

A análise estatística de variância demonstrou efeito não significativo dos tratamentos sobre estas variáveis ($P > 0,05$). Com relação ao consumo de água, ocorreu uma tendência ($P = 0,1550$) para que os tratamentos contendo bicarbonato de sódio (B, D, E) apresentassem valores mais elevados que os demais. Para a variável consumo de matéria seca foi observada uma tendência ($P = 0,1507$) de aumento para os tratamentos contendo os aditivos (B, C, D, E) em relação ao controle (A). Não houve efeito significativo de sub-período. Foi detectado efeito significativo de animal sobre o consumo de água ($P = 0.0034$) e de matéria seca ($P = 0,0001$). A tabela 6 mostra como se comportaram as variáveis em função de cada animal.

Tabela 6 - Valores médios de consumo de água e de matéria seca (% PV) por animal durante o período experimental.

Animal	Consumo água			Consumo MS		
	média	desvio	CV (%)	média	desvio	CV (%)
V1	8,21 ^b	1,32	16,07	1,92 ^c	0,12	6,24
V2	8,62 ^b	1,54	17,86	2,80 ^{ab}	0,30	10,72
V3	13,25 ^a	1,13	8,52	3,22 ^a	0,30	9,32
V4	11,23 ^{ab}	2,46	21,90	2,59 ^b	0,21	8,10
V5	9,93 ^{ab}	2,29	23,06	1,94 ^c	0,21	10,84

^{abc} Médias de uma mesma coluna seguidas de letras diferentes diferem ao nível de 5% de probabilidade.

Pela análise da tabela 6 pode-se observar que a variação ocorrida para cada animal durante o período experimental foi pequena, exceção feita às vacas 4 e 5 em relação à variável consumo de água. Este fato deve ter ocorrido em função do hábito destes dois animais em jogar a água do bebedouro para fora, fazendo com que as estimativas de seu consumo fossem prejudicadas. Pode-se inferir, portanto, que a variação devida a cada animal foi repetida em todos os tratamentos e a cada sub-período, comportando-se de forma homogênea durante todo o período experimental. As médias gerais para consumo de água e de matéria seca foram 10,25 e 2,49% PV com coeficientes de variação de 16,70 e 8,87% respectivamente. Os dados contidos nas tabelas 5 e 6 mostram uma íntima relação entre consumo de matéria seca e de água. O aumento na ingestão de matéria seca é acompanhado, via de regra, por um aumento no consumo de água.

Os dados de consumo de matéria seca das dietas observados são muito próximos daqueles obtidos por uma série de trabalhos com bagaço auto-hidrolisado. Nestes trabalhos os valores têm-se situado dentro da amplitude de 2,60 a 3,25% do PV. Aparentemente, a ausência da fonte de fibra íntegra na dieta (BIN) não interferiu no seu consumo. Seria esperado que a ausência do BIN levasse a uma redução da atividade de ruminação resultando em menor consumo. Os resultados observados pela adição de lasalocida neste tipo de dieta

sobre o consumo de MS estão coerentes com aqueles citados por BERGEN & BATES (1984), uma vez que não ocorreu variação na ingestão de alimentos. Quanto à adição de bicarbonato de sódio, esperava-se que ocorresse um aumento no consumo de matéria seca em função da melhora nas condições do ambiente ruminal, principalmente pH, favorecendo a degradação da fração fibrosa do alimento, ou devido a uma elevação da taxa de passagem de líquidos. Pode-se observar na tabela 5 que ocorreu uma tendência nesse sentido para todos aqueles tratamentos que possuíam o bicarbonato de sódio (B, D, E).

4.3. Valores de pH do fluido ruminal

Os resultados médios diários do pH do rúmen são mostrados na tabela 7.

Tabela 7 - Valores médios diários para o pH ruminal (médias por tratamento).

Tratamento	pH	desvio-padrão	CV (%)
A	6,68 ^a	0,16	2,38
B	6,83 ^a	0,29	4,23
C	6,75 ^a	0,20	3,04
D	6,77 ^a	0,17	2,52
E	6,66 ^a	0,18	2,67

^a Médias seguidas de mesma letra não diferem a 5% de probabilidade.

Não houve efeito da adição de bicarbonato de sódio ou lasalocida sobre o pH do rúmen em relação ao controle ($P > 0,05$).

Os resultados mostram um efeito sensível do horário de coleta de fluido sobre o pH ruminal ($P = 0,0001$). A figura 1 mostra que o pH ruminal permaneceu o dia todo dentro da faixa considerada ideal (6,2 a 6,8). Os menores valores de pH ocorreram entre 8 e 12 horas após a alimentação, sendo que o valor mais baixo observado foi de 6,28 às 8 horas para o tratamento E. Esperava-se que a dieta controle (A) apresentasse oscilações de pH no decorrer do dia e que atingisse valores inferiores a 6,0, como observados por COSTA (1987) e CASTRO (1989). Uma possível explicação para este fato pode ter sido o tipo de calcário utilizado. Trabalhos como os de RUSSEL et alii (1980), WHEELER et alii (1981abcd), HAALAND & TYRREL (1982) e TEH et alii (1985) demonstraram a efetividade dos calcários calcíticos de alta reatividade em tamponarem o pH do rúmen.

Figura 1 - Variação diária do pH ruminal em função das dietas experimentais.

O pH ruminal é um dos importantes fatores físico-químicos com ação seletiva sobre os microorganismos do rúmen (PRINS & CLARKE, 1980) e sobre sua taxa de crescimento (RUSSELL et alii, 1979), principalmente quando ocorrem grandes variações ao longo do dia. O efeito inibidor do pH baixo sobre a atividade de bactérias está associado não só ao aumento na concentração de íons H^+ , mas principalmente devido à elevação na concentração de AGV que ocorre como consequência do abaixamento do pH (PRINS & CLARKE, 1980; COSTA, 1987; MACLEOD et alii, 1984; citados por STAPLES & LOUGH, 1989).

A análise estatística de variância demonstrou o efeito não significativo ($P = 0,6237$) da interação tratamento x horário de coleta. Houve efeito de animal ($P < 0,05$) sobre o pH ruminal. Este fato pode ter sido devido aos hábitos diferentes de consumo apresentados pelos animais, como frequência e taxa de ingestão de água e de matéria seca.

A média geral para os valores de pH observados foi de 6,74 com um coeficiente de variação de 2,27%.

4.4. Concentração de $N-NH_3$ no fluido ruminal

Os resultados médios diários das concentrações de $N-NH_3$ (mg/100 ml) são mostrados na tabela 8.

Tabela 8 - Valores médios diários para N-NH_3 do rúmen (médias por tratamento) (mg/100 ml).

Tratamento	N-NH_3	desvio-padrão	CV (%)
A	7,93 ^a	4,42	55,74
B	6,90 ^a	4,35	63,04
C	7,53 ^a	4,06	53,92
D	5,58 ^a	3,26	58,42
E	5,55 ^a	3,95	71,17

^a médias seguidas da mesma letra não diferem a nível de 5% de probabilidade.

Os dados mostram que a concentração média de N-NH_3 ruminal não diferiu estatisticamente entre tratamentos ($P > 0,05$). Este fato deve ter sido devido ao alto coeficiente de variação observado para este parâmetro (48,8%). É possível notar que os tratamentos contendo o bicarbonato de sódio e a lasalocida, juntos apresentaram médias bem inferiores aos demais, mostrando que houve uma tendência de efeito associativo entre os dois aditivos em diminuir a concentração de N-NH_3 no fluído ruminal. Trabalhos de pesquisa têm mostrado resultados variáveis com relação à efetividade da lasalocida em controlar o nível de N-NH_3 no rúmen. SPEARS & HARVEY (1984) e JACQUES et alii (1987) não observaram efeito algum deste ionóforo sobre a concentração de N-NH_3 ruminal. ANDERSEN & HORN (1987) observaram um aumento no N-NH_3 do rúmen. Por outro lado, FULLER & JOHNSON (1981) em estudos "in vitro" observaram redução ($P < 0,05$),

variando entre 29 e 48% para dietas ricas em concentrado e em volumoso respectivamente. Estes resultados foram também observados em trabalhos "in vitro" por RUSSELL & MARTIN (1984), no qual a concentração de $N-NH_3$ foi reduzida em mais de 50%. Estes autores justificaram os resultados como sendo devidos a uma redução na proteólise e na deaminação no rúmen, com consequente redução na síntese de proteína microbiana.

O tratamento contendo apenas a lasalocida apresentou uma concentração de $N-NH_3$ superior aos tratamentos contendo lasalocida e bicarbonato de sódio ($7,53 \times 5,56$). Este fato, apesar de não significativo, demonstra uma tendência de efeito potencializador do bicarbonato de sódio sobre a ação do ionóforo. A explicação pode ser obtida a partir da teoria proposta por RUSSELL (1987) sobre o mecanismo de ação dos ionóforos, onde demonstrou que a adição de sódio no meio pode amplificar o efeito destes aditivos, de forma contrária ao proposto por BERGEN & BATES (1984). Outra possível causa da redução do $N-NH_3$ ruminal pode ter sido a redução da atividade da urease bacteriana a partir da lasalocida (STARNES et alii, 1984).

Houve um efeito altamente significativo do horário de coleta sobre a concentração de $N-NH_3$ no fluido ruminal ($P = 0,0001$) (figura 2), como observado por COSTA (1987) e CASTRO (1989). Não houve interação significativa entre tratamento e horário de coleta ($P = 0,8625$), assim como para efeito de animal e de sub-período ($P > 0,05$). A média

geral obtida para a concentração diária de N-NH_3 no fluido ruminal foi $6,70 \pm 3,27$ (mg/100 ml).

Observa-se na figura 2 que ocorreu uma rápida elevação das concentrações de N-NH_3 ruminal atingindo um pico 2 horas após a alimentação. A partir daí as concentrações foram diminuindo em função de sua eliminação através da utilização por microorganismos, absorção pela parede ruminal e transporte com a digesta. COSTA (1987), com um fornecimento diário apenas, obteve o mesmo comportamento desta variável com um coeficiente de variação também elevado (72,8%). O autor justificou o fato em função da grande variação ocorrida nas concentrações de N-NH_3 ao longo do dia devido ao critério de fornecimento da dieta (uma vez ao dia) e às diferentes taxas de ingestão apresentadas pelos animais, fazendo com que o comportamento individual de cada animal em relação a esta variável não tenha ocorrido de forma uniforme.

Os níveis médios de N-NH_3 por tratamento no fluido ruminal observados apresentaram-se superiores ao valor de 5 mg/100 ml, considerado por SATTER & SLYTER (1974) a concentração mínima necessária de N-NH_3 para a máxima degradação de fibra.

Figura 2 - Variação diária da concentração de N-NH₃ (mg/100 ml) em função das dietas experimentais.

4.5. Ácidos graxos voláteis no fluido ruminal

Os dados referentes a ácidos graxos voláteis (AGV) são mostrados na tabela 9.

Tabela 9 - Valores médios observados para as concentrações, porcentagens e relação molar dos ácidos graxos voláteis no fluido ruminal (médias por tratamento).

variável	Tratamento					Média Geral	CV (%)
	A	B	C	D	E		
Conc. molar (mmoles/100 ml)							
C ₂	4.38±0.52 ^a	4.30±0.47 ^a	4.29±0.30 ^a	4.04±0.57 ^a	4.35±0.59 ^a	4.27	6.41
C ₃	1.79±0.28 ^{bc}	1.62±0.17 ^c	2.18±0.28 ^{ab}	2.19±0.36 ^{ab}	2.45±0.35 ^a	2.05	10.25
C ₄	0.48±0.16 ^a	0.46±0.07 ^a	0.37±0.0 ^{-ab}	0.27±0.06 ^b	0.38±0.09 ^{ab}	0.39	14.25
Total de AGV	6.65±0.90 ^a	6.38±0.56 ^a	6.82±0.52 ^a	6.48±0.81 ^a	7.18±0.96 ^a	6.70	5.80
Porcentagem molar (%)							
C ₂	66.02±2.56 ^{ab}	67.37±2.47 ^a	62.97±2.60 ^{bc}	62.11±3.36 ^{bc}	60.68±1.81 ^c	63.83	1.55
C ₃	26.89±2.81 ^{bc}	25.43±2.67 ^c	31.88±3.31 ^{ab}	33.82±4.13 ^a	34.08±1.71 ^a	30.42	3.36
C ₄	7.10±1.61 ^c	7.21±0.82 ^a	5.37±0.92 ^b	4.19±0.74 ^c	5.25±0.65 ^b	5.52	8.46
Relação molar							
C ₃ /C ₂ +C ₄	0.37±0.05 ^{bc}	0.34±0.05 ^c	0.47±0.07 ^{ac}	0.51±0.09 ^a	0.52±0.04 ^a	0.44	4.69

- ^{abc} Médias de uma mesma linha seguidas de letras diferentes diferem ao nível de 5% de probabilidade.

Os dados mostram que, apesar de não ter ocorrido variação significativa na concentração total de AGV, alterações nas concentrações de AGV individuais ocorreram ($P < 0,05$). Este fato fica bastante evidente através da observação dos dados referentes a porcentagem molar de cada ácido graxo analisado. A dieta contendo o bicarbonato de sódio (B) apresentou a porcentagem de C_2 mais elevada, apesar da concentração molar de C_2 (mmoles/100 ml) não ter sido alterada.

A adição conjunta de bicarbonato de sódio e lasalocida na dieta contendo o BIN (D) não diferiu do controle (A) e foi inferior à dieta contendo apenas o bicarbonato de sódio (B) para a porcentagem molar de C_2 . Quando a fonte de fibra íntegra foi retirada da dieta (E), a porcentagem molar de C_2 caiu sensivelmente, tornando-se inferior à dieta controle (A) ($P < 0,05$), provavelmente devido ao maior teor de carboidratos solúveis que passaram a estar disponíveis para serem fermentados até ácido propiônico (CASTRO, 1989) e menor teor de fibra na dieta. Quanto à porcentagem molar de C_3 , observou-se que as dietas contendo a lasalocida (C, D, E) apresentaram os valores mais elevados. Ocorreu um efeito favorável da adição conjunta dos dois aditivos (bicarbonato de sódio e lasalocida) sobre esta variável. A adição de bicarbonato de sódio neste tipo de dieta tendeu a reduzir a porcentagem molar de C_3 em relação

ao controle (A), embora nenhuma diferença significativa ($P > 0,05$) tenha sido observada. O tratamento contendo somente a lasalocida (C) não diferiu do controle (A) para esta variável ($P > 0,05$), apesar de ter ocorrido uma tendência de elevação da porcentagem molar de C_3 . Este fato pode ter sido devido ao nível utilizado deste ionóforo (22 ppm na matéria seca da dieta), que era aquele recomendado pelo fabricante do produto. Os níveis normalmente utilizados são de 33 ppm de lasalocida ou monensina na dieta. FULLER & JOHNSON (1981) observaram que, para que efeitos biológicos semelhantes dos ionóforos (lasalocida e monensina) fossem obtidos, eram necessárias quantidades maiores de lasalocida. O aumento na porcentagem molar de C_3 foi devido a uma redução da concentração molar de C_4 e uma elevação da concentração de C_3 .

A adição do ionóforo na presença ou ausência de bicarbonato de sódio (tratamentos C, D, E) reduziu ($P < 0,05$) a porcentagem molar de C_4 em relação ao controle (A), que por sua vez não diferiu do tratamento contendo bicarbonato de sódio (B). A relação molar (C_3/C_3+C_4) apresentou o mesmo comportamento da variável porcentagem molar de C_3 .

A análise estatística de variância demonstrou um efeito significativo do horário de coleta sobre as variáveis concentração molar de C_2 ($P = 0,0001$), C_3 ($P =$

0,0001), C_4 ($P = 0,0001$), total de AGV ($P = 0,0001$); porcentagem molar de C_2 ($P = 0,0001$) e C_3 ($P = 0,0001$); relação molar (C_3/C_2+C_4) ($P = 0,0001$) e porcentagem molar de C_4 ($P = 0,0064$). A variação da porcentagem molar de cada um dos ácidos: acético (C_2), propiônico (C_3) e butiríco (C_4) e da relação molar entre eles (C_3/C_2+C_4) ao longo do dia, pode ser observada nas figuras 3, 4, 5 e 6 respectivamente. A maior concentração total de AGV ocorreu por volta de 8 horas após a alimentação. Para nenhuma destas variáveis a interação tratamento x horário de coleta mostrou-se significativa, sendo, também, não observados efeitos significativos de sub-período e de animal ($P > 0,05$). Não foi possível a análise da concentração de isoácidos, uma vez que era muito baixa. Mesmo com grau de sensibilidade máximo no gás cromatógrafo não foi possível sua leitura.

Embora a concentração de AGV no rúmen seja alterada pela velocidade de absorção através do epitélio ruminal e pela taxa de diluição do meio (PRINS & CLARKE, 1980), sabe-se que a concentração de AGV reflete a sua produção (SUTTON, 1980). Desta maneira, pode-se inferir que as quantidades totais de AGV produzidas para as diferentes dietas não foram alteradas ($P > 0,05$). Ocorreu, apenas, uma alteração na proporção de AGV produzidos. Esta deve ter sido resultado da atuação do ionóforo sobre a população microbiana do rúmen reduzindo as bactérias gram-positivas produtoras de

acetato, butirato, gás hidrogênio e formato, em relação àquelas gram-negativas produtoras de succinato, precursor do ácido propiônico. Esta é a provável explicação do aumento na porcentagem molar de ácido propiônico e da relação C_3/C_2+C_4 .

Figura 3 - Variação da porcentagem molar de C_2 em função das dietas experimentais.

Figura 4 - Variação da porcentagem molar de C_3 em função das dietas experimentais.

Figura 5 - Variação da porcentagem molar de C_4 em função das dietas experimentais.

Figura 6 - Variação diária da relação molar de AGV (C_3/C_2+C_4) em função das dietas experimentais.

Através da observação destas variáveis na tabela 9, pode-se notar que há um efeito associativo do uso conjunto do bicarbonato de sódio e da lasalocida, potencializando a ação do ionóforo. As dietas contendo estes dois aditivos (D, E) tenderam ($P < 0,05$) a apresentar um padrão de fermentação mais eficiente e desejável em relação àquela que continha apenas o ionóforo (C). Esta não diferiu da dieta controle (A), que foi inferior ($P < 0,05$) às dietas com ambos os aditivos (D, E).

4.6. Estimativas da quantidade de hexose fermentada e da produção de metano e gás carbônico.

A partir dos dados referentes a porcentagem molar de C_2 , C_3 e C_4 estimou-se, conforme tabela 10, a produção dos gases metano (CH_4) e carbônico (CO_2) e a quantidade de hexose fermentada a nível de rúmen.

Os dados mostram que a produção de CO_2 foi menor ($P < 0,05$) para os tratamentos contendo lasalocida (C, D, E). O tratamento com bicarbonato de sódio (B) não diferiu do controle (A) ($P > 0,05$). A produção de CH_4 apresentou o mesmo comportamento, mas o tratamento com bicarbonato de sódio (B) apresentou a média mais elevada, tendendo a ser superior ao controle (probabilidade próxima a 5%). Dos tratamentos contendo a lasalocida, aquele com o ionóforo

exclusivo não diferiu estatisticamente ($P > 0,05$) do controle, mas foi superior àquele do bicarbonato de sódio ($P < 0,05$). A adição conjunta do ionóforo e do agente tamponante (D, E) resultou em efeito significativo e reduziu a produção de ambos os gases ($P < 0,05$). A presença ou não da fonte de fibra íntegra (BIN) não alterou o comportamento destas variáveis ($P > 0,05$).

Tabela 10 - Valores médios estimados da produção de gases (CH_4 e CO_2) e da quantidade de hexose fermentada no rúmen (moles/100 moles AGV produzidos) (médias por tratamento).

Variável	Tratamento					Média Geral	CV %
	A	B	C	D	E		
Gás carbônico	50,38±2,05 ^a	50,85±1,22 ^a	47,51±1,46 ^c	45,80±1,70 ^b	46,73±0,61 ^c	48,25	1,37
Metano	29,84±2,11 ^{ab}	30,93±2,00 ^a	26,20±2,35 ^{bc}	24,70±3,04 ^c	24,44±1,28 ^c	27,22	2,30
Hexose	53,55±0,82 ^a	53,60±0,41 ^a	52,79±0,60 ^b	52,16±0,44 ^b	52,62±0,32 ^b	52,94	0,75

Médias de uma mesma linha seguidas de letras diferentes diferem ao nível de 5% de probabilidade.

valores estimados segundo WOLIN (1960)

A quantidade de hexose fermentada foi menor ($P < 0,05$) para os tratamentos contendo o ionóforo (C, D, E) em relação aos tratamentos controle (A) e com bicarbonato de sódio (B). Não houve diferença entre os tratamentos em que o ionóforo participou (C, D, E), o mesmo ocorrendo entre os tratamentos controle (A) e o com bicarbonato de sódio (B) (P

> 0,05). Pode-se inferir que a eficiência do processo fermentativo foi alterada de forma positiva e significativa pela adição da lasalocida nas dietas. Nos tratamentos contendo este ionóforo ocorreu uma menor produção de gases (CH_4 e CO_2), que são perdidos através da eructação (RUSSELL & STROBEL, 1989), e um menor gasto de hexose no processo de fermentação. Os dados de produção total, porcentagem molar e relação molar de AGV mostram que não houve alteração da produção total de ácidos apesar da menor quantidade de substrato fermentado e que a proporção molar de ácido propiônico (C_3) aumentou em relação aos ácidos acético (C_2) e butírico (C_4). Este fato pode ter sido devido aos átomos de carbono que eram perdidos na forma de gases passarem a ser utilizados para a produção de ácido succínico. É fato conhecido que bactérias gram-positivas, sensíveis à lasalocida, são produtoras dos ácidos acético, butírico e fórmico e do gás hidrogênio, estes últimos sendo utilizados como substrato por bactérias metanogênicas. Já as gram-negativas, resistentes aos ionóforos, são produtoras do ácido succínico, precursor do ácido propiônico. Trabalhos como os de CHEN e WOLIN (1979) mostraram que *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens* e *Butyrivibrio fibrisolvens*, bactérias ruminais produtoras de acetato, butirato, formato, gás hidrogênio e CO_2 , são altamente sensíveis à monensina. *Bacteroides succinogenes* e *Bacteroides ruminicola*, produtoras de acetato e, principalmente, succinato, são menos sensíveis

e *Selenomonas ruminantium*, que descarboxila o succinato a propionato, é altamente resistente. Desta maneira, o ionóforo deve ter realizado uma seleção na flora microbiana favorecendo aquelas espécies de bactérias produtoras de propionato e succinato, reduzindo as perdas de energia através de gases e aumentando a eficiência fermentativa do rúmen. Este fato já havia sido observado nos trabalhos de VAN NEVEL & DEMEYER (1977) e CHALUPA (1980). Desde que o rúmen é um ecossistema anaeróbico, oxidações de substratos devem estar intimamente associadas a reações de redução. Quando a metanogênese é diminuída, outros produtos reduzidos (mais notadamente o propionato) aumentam em relação ao acetato (WALLACE et alii, 1980). O propionato possui uma entalpia mais elevada do que o acetato e pode ser oxidado pelo animal hospedeiro, fazendo com que mais energia do alimento esteja disponível para propósitos produtivos (RUSSELL & STROBEL, 1989). Como consequência desta maior retenção de carbono ocorre um aumento na energia metabolizável para o animal.

A associação lasalocida x bicarbonato de sódio (D e E) ocorreu novamente, sendo seu efeito superior ao controle (A) ($P < 0,05$) em relação à produção de gases. O tratamento contendo apenas a lasalocida não deferiu ($P < 0,05$) do controle (A) apesar de ter apresentado a tendência em reduzir a produção de metano.

Para as variáveis contidas na tabela 10 houve efeito do horário de coleta, o que é explicado pelas variações ocorridas nas concentrações dos AGV nos diferentes horários de coleta. Esse fato não ocorreu para animal e sub-período ($P > 0,05$). Os valores observados para a produção de CH_4 por 100 moles de AGV produzidos são inferiores àqueles obtidos por CASTRO (1989) a partir de dieta contendo BAH (27,22 x 54,26 moles), mas a quantidade de hexose fermentada por 100 moles de AGV produzidos foi semelhante (52,94 x 54,95 moles), mostrando que ocorreu sensível melhora na eficiência da fermentação ruminal.

5. Resumo e Conclusões

A adição de bicarbonato de sódio e/ou lasalocida sódica não afetou o consumo de matéria seca nem o consumo de água dos animais.

O pH ruminal observado apresentou-se, sempre, em valores superiores a 6,0 não havendo efeito da adição da fonte de fibra íntegra (BIN), bicarbonato de sódio e lasalocida.

O ionóforo (lasalocida) tendeu a aumentar a proporção molar de ácido propiônico em relação aos ácidos acético e butírico.

Houve um efeito associativo positivo entre a lasalocida e o bicarbonato de sódio fazendo com que a proporção molar de ácido propiônico fosse elevada significativamente e que a produção estimada de gases (metano e carbônico) fosse reduzida nos tratamentos em que ambos os aditivos participaram conjuntamente. Este mesmo efeito associativo foi observado em relação à concentração de N-NH_3 .

no fluido ruminal. As dietas contendo a lasalocida e o bicarbonato tenderam a reduzir o nível de N-NH_2 .

A eficiência do processo fermentativo foi aumentada pelo uso conjunto do agente tamponante e do ionóforo devido a um aumento na retenção de carbono, uma diminuição na produção de gases e uma menor quantidade estimada de substrato utilizado pelos microorganismos no rúmen no processo de fermentação.

A adição de bicarbonato de sódio na dieta contendo lasalocida pareceu aumentar o efeito do ionóforo utilizado.

A utilização do bagaço "in natura" como fonte de fibra íntegra parece não ter afetado a eficiência do processo fermentativo.

Para o melhor aproveitamento de dietas à base de bagaço de cana tratado à pressão de vapor é recomendável a utilização de bicarbonato de sódio e lasalocida sódica.

Referências Bibliográficas

ANDERSEN, M.A. & HORN, G.W. Effects of lasalocid on weight gains, ruminal fermentation and forage intake of stocker cattle grazing winter wheat pasture. Journal of Animal Science, 65(4):865-871, 1987.

A.O.A.C. Official methods of analysis Association of Official Agricultural Chemists. Tenth edition. Washington, D.C., 1965.

ARMENTANO, L.E. & SOLORZANO, L.C. Choice of buffers should depend on diet, environment. Feedstuffs, 60(3):19-62, 1988.

ARMSTRONG, J.D. & SPEARS, J.W. Intravenous administration of ionophores in ruminants: effects on metabolism independent of the rumen. Journal of Animal Science, 66(7):1807-1817, 1988.

BALDWIN, R.L. & ALLISON, M.J. Rumen metabolism, Journal of Animal Science, 57:461, 1983.

BERCHIELLI, T.T.; ANDRADE, P.; PINOTTI, R.F. & KRONKA, S.N.

Níveis de concentrado e uréia na alimentação de bovinos nelore com bagaço de cana hidrolisado. In: SBZ Anais da XXVI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Porto Alegre - RS, 1989. p. 157.

BERGEN, W.G. & YOKOYAMA, M.T. Productive limits to rumen fermentation. Journal of Animal Science, 45(3):573-584, 1977.

BERGEN, G.W & BATES, D.B. Ionophores: their effect on production efficiency and mode of action. Journal of Animal Science, 58(6):1465-1483, 1984.

BOIN, C. Formulação de rações para bovinos de corte em confinamento. In: PERES, F.C. & MARQUES, P.V., ed. Manual de Cálculo de Rações de Custo Mínimo. Piracicaba, FEALQ, 1988. cap. 6, p.141-191.

BOERNER, B.J.; BYERS, F.M.; SCHELLING, G.T.; COPPOCK, C.E. & GREENE, L.W. Trona and sodium bicarbonate in beef cattle diets: effects on site and extent of digestion. Journal of Animal Science, 65(1):303-308, 1987a.

BOERNER, B.J.; BYERS, F.M.; SCHELLING, G.T.; COPPOCK, C.E. & GREENE, L.W. Trona and sodium bicarbonate in beef cattle diets: effects on pH and volatile fatty acid concentrations. *Journal of Animal Science*, 65(1):309-316, 1987b.

BRINK, D.R.; TURGEON Jr., O.A.; HARMON, D.L.; STEELE, R.T.; MADER, T.L. & BRITTON, R.A. Effects of additional limestone of various types on feedlot performance of beef cattle fed high corn diets differing in processing method and potassium level. *Journal of Animal Science*, 59(3):791-797, 1984.

BRITTON, R. & STOCK, R. Acidosis: a continual problem in cattle fed high grain diets. In: Conference for Feed Manufacturers. Proceedings. Cornell Nutrition, Syracuse Marriott, East Syracuse, N.Y., 1989. p. 8-15.

BURGI, R. Produção do bagaço de cana-de-açúcar (*Saccharum* sp.L.) auto-hidrolisado e avaliação do seu valor nutritivo para ruminantes. Piracicaba, 1985. 61 p. (Mestrado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" / USP).

BURGI, R. O bagaço de cana-de-açúcar no confinamento de bovinos de corte. 6º Congresso Paulista de Agronomia, apostila, 1987, 6p.

CASTRO, F.B. Avaliação do processo de digestão do bagaço de cana-de-açúcar (*Saccharum* sp.L) auto-hidrolisado em bovinos. Piracicaba, 1989. 123 p. (Mestrado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" / USP).

CHALUPA, W. Chemical control of rumen microbial metabolism. In' RUCKEBUSH & THIVEND, ed. Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants. AVI Publishing Co., Westport, CT, 1980. p 325-347.

CHANEY, A.L. & MARBACH, E.P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. Journal Clinical Chemistry, 8:130-132, 1962.

CHEN, M. e WOLIN, M.J. Effect of monensin and lasalocid sodium on the growth of methanogenic and rumen saccharolytic bacteria. Appl. Environ. Microbiol., 38:72, 1979.

CHIRASE, N.K.; GREENE, L.W.; LUNT, D.K; BAKER, J.F. & KNUTSON; R.E. Serum and ruminal fluid characteristics of beef cows grazing oat pasture and supplemented with or without lasalocid. Journal of Animal Science, 66(7):1746-1754, 1988.

CHRISTIANSEN, M.L. & WEBB Jr., K.E. Starch and protein digestibility and amino acid absorption in beef cattle fed a high concentrate diet with mineral acid-neutralizing compounds. Virginia Tech. Livestock Reaserch Report, 1987/1988, pg. 100-105.

COSTA, L.R.O. Suplementação de uréia em dietas de bagaço de cana (*Saccharum* sp. L.) auto-hidrolisado para ruminantes. Piracicaba, 1987. 111 p. (Mestrado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz" / USP).

DAWSON, K.A. & BOLING, J.A. Effects of potassium ion concentrations on the antimicrobial activities of ionophores against ruminal anaerobes. Applied Enviromental Microbiology, 53(10):2363-2367, 1987.

DELFINO, J,; MATHISON, G.W. & SMITH, M.W. Effect of lasalocid on feedlot performance and energy partitioning in cattle. Journal of Animal Science, 66(1):136-150, 1988.

DIVEN, R.H. Bicarbonates in ruminants nutrition and physiology. Feedstuffs, August 4:21-26, 1975.

EL TAYEB, A.E.; GALYEAN, M.L. & KIESLING, H.E. Influence of limestone level in high concentrate and high roughage diets on site and extent of digestion in lambs. Journal of Animal Science, 59(1):217,226, 1984.

FULLER, J.R. & JOHNSON, D.E. Monensin and lasalocid effects on fermentation "in vitro". Journal of Animal Science, 53(6):1574-1580, 1981.

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, 49(3):785-789, 1979.

GALYEAN, M.L. & CHABOT, R.C. Effects of sodium bentonite, buffer salts, cement kiln dust and chinoptilolite on rumen characteristics of beef steers fed a high roughage diet. Journal of Animal Science, 52(5):1197-1204, 1981.

GOERING, H.K. & VAN SOEST, P.J. Forage fiber analyses (Apparatus reagents, procedures and some applications). Washington, D.C. Agricultural Research Service, USDA. 19 p. Agriculture Handbook, p. 379, 1970.

GOODRICH, R.D. GARRETT, J.E.; GAST, D.R.; KIRICK, M.A.; LARSON, D.A. & MEISKE, J.C. Influence of monensin on the performance of cattle. Journal of Animal Science, 58(6):1484-1498, 1984.

GUTMANIS, D. Níveis de bagaço auto-hidrolisado e de cana-de-açúcar na alimentação de bovinos confinados. Piracicaba, 1990. 110 p. (Mestrado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" / USP).

HAALAND, G.L. & TYRRELL, H.F. Effects of limestone and sodium bicarbonate buffers on rumen measurements and rate of passage in cattle. Journal of Animal Science, 55(4):935-942, 1982.

HAALAND, G.L.; TYRREL, H.F.; MOE, P.W. & WHEELER, W.E. Effect of crude protein level and limestone buffer in diets fed at two levels of intake on rumen pH, ammonia-nitrogen, buffering capacity and volatile fatty acid concentration of cattle. Journal of Animal Science, 55(4):943-950, 1982.

HALL, M.W. & THOMAS, E.E. Effect of selected dietary buffers upon utilization of concentrate or roughage-based cattle diets: laboratory studies. *Journal of Animal Science*, 59(1):227-236, 1984.

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

JACQUES, K.A.; AXE, D.E.; HARRIS, T.R.; HARMON, D.L.; BOLSEN, K.K. & JOHNSON, D.E. Effect of sodium bicarbonate and sodium bentonite on digestion, solid and liquid flow, and ruminal fermentation characteristics of forage sorghum silage-based diets fed to steers. *Journal of Animal Science*, 63:923-932, 1986.

JACQUES, K.A.; COCHRAN, R.C.; CORAH, L.R.; AVERY, T.B.; ZOELLNER, K.O. & HIGGINBOTHAM, J.F. Influence of lasalocid level on forage intake, digestibility, ruminal fermentation, liquid flow and performance of beef cattle grazing winter range. *Journal of Animal Science*, 65(3):777-785, 1987.

JAMES, L.G. & WOHLT, J.E. Effect of supplementing equivalent cation amounts from NaCl, MgO, NaHCO₃ e CaCO₃ on nutrient utilization and acid-base status of growing dorset lambs fed high concentrate diets. Journal of Animal Science, 60(1):307-315, 1985.

JUNG, H.G. & FAHEY Jr., G.C. Nutritional implications of phenolic monomers and lignin: a review. Journal of Animal Science, 57(1):206-219, 1983.

KAUFMANN, W.; HAGEMEISTER, H.; DIRKSEN, G. Adaptation to changes in dietary composition, level and frequency of feeding. In: RUCKEBUSH, Y. & THIVEND, P. Digestive physiology and metabolism in ruminants. Connecticut, Avi. Publishing Company. Inc., 1980 - p. 587-602.

KOVACIK, A.M.; LOERCH, S.C. & DEHORITY, B.A. Effect of supplemental sodium bicarbonate on nutrient digestibilities and ruminal pH measured continuously. Journal of Animal Science, 62:226-234, 1986.

LACORTE, M.C.F. Desempenho de bovinos confinados à base de bagaço de cana-de-açúcar auto-hidrolisado, levedura e vinhaça, subprodutos da indústria de açúcar e álcool. Piracicaba, 1987. 71p. (Mestrado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" / USP).

LANNA, D.P.D. & BOIN, C. Substituição de feno por bicarbonato de sódio e ou bagaço "in natura" em rações à base de bagaço hidrolisado como volumoso. In: SBZ. Anais da XXV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Viçosa - MG, 1988. p. 101.

LIMA, M.L.P. & ZANETTI, M.A. Utilização do bagaço hidrolisado como alimento volumoso para bovinos confinados. In: SBZ. Anais da XXVI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Porto Alegre, RS, 1989. p. 156.

MACHADO, P.F. & MADEIRA, H.M.F. Manipulação de nutrientes em nível de rúmen - efeitos do uso de ionóforos. In: Novas Técnicas de Produção Animal, SBZ, Campinas - SP, 1990. p.41-58.

MARCOS, A.C.M.; LEME, P.R. & BOIN, C. Efeito do tempo de tratamento a pressão de vapor na composição química e na digestibilidade "in vitro" da matéria seca do bagaço de cana-de-açúcar. Zootecnia. Nova Odessa, SP, 22(4):383-395, 1984.

- MARSHALL, S.P. & VAN-HORN, H.H. Complete rations for dairy cattle. II. Sugarcane bagasse pellets as roughage in blended rations for lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 58(6):896-900, 1975.
- MATTOS, W.R.S. Utilização do bagaço de cana-de-açúcar na alimentação de ruminantes. In: D'ARCE, R.D.; BOIN, C. & MATTOS, W.R.S. Utilização de resíduos agro-industriais da cana-de-açúcar na alimentação de ruminantes. Piracicaba - SP, FEALQ, 1985. p. 53-72.
- MELLO Jr, C.A. Efeitos do tratamento com pressão e vapor sobre a composição e cinética da fermentação "in vitro" do bagaço de cana-de-açúcar (*Saccharum* sp. L.), Piracicaba, 1987. 100 p. (Mestrado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" / USP).
- MUNTIFERING, R.B.; THEURER, B. & NOON, T.H. Effects of monensin on site and extent of whole corn digestion and bacterial protein synthesis in beef steers. *Journal of Animal Science*, 53(6):1565-1573, 1981.
- 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*, 53(1):206-215, 1981.

- NAGARAJA, T.G.; AVERY, T.B.; BARTLEY, E.E.; ROOF, S.K. & DAYTON, A.D. Effect of lasalocid, monensin or thiopeptin on lactic acidosis in cattle. *Journal of Animal Science*, 54(3):649-658, 1982.
- NOLLER, C.H.; WHITE, J.L. & WHELLER, W.E. Characterization of cement kiln dusts and animal response. *Journal of Dairy Science*, 63(11):1947-1952, 1980.
- OKEKE, G.C.; BUCHANAN-SMITH, J.G.. & GROVUM, W.L. Effects of buffers on ruminal rate of passage and degradation of soybean meal in steers. *Journal of Animal Science*. 56(6):1393-1399, 1983.
- OWENS, F.N. e GOETSCH, A.L. Digesta passage and microbial protein synthesis. In: Sixth International Symposium on Ruminant Physiology, Canadá. Proceedings, 1984.
- PACOLLA, L.J.; RAZOOK, A.G. & LIMA, F.P. Aproveitamento do bagaço de cana-de-açúcar na engorda de bovinos confinados. *Boletim da Indústria Animal*, 34:25-28, 1977.
- PATE, F.M. Value of treating bagasse with steam under pressure for cattle fed. *Tropical Agriculture*, 59(4):293-297, 1982.

PEIRCE, S.B.; MULLER, L.D. & HARPSTER, H.W. Influence of sodium bicarbonate and magnesium oxide on digestion and metabolism in yearling beef abruptly changed from high forage to high energy diets. *Journal of Animal Science*, 56(6):1561-1567, 1983.

PRINS, R.A. & CLARKE, T.J. Microbial ecology of the rumen. In: RUCKEBUSH, Y. & THIVEND, P. ed. *Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants*. Connecticut, Avi Publishing Company, Inc., 1980. p. 179-204.

RANDELL, P.F. Dairy beef production from mixtures of sugarcane bagasse and concentrates. *Journal of Agriculture of University of Puerto Rico*, 50:237-246, 1966.

RANDEL, P.F. "Ad libitum" feeding of either a complete ration based on sugarcane bagasse or a conventional concentrates mixtures to dairy cows. *Journal of Agriculture of University of Puerto Rico*, 54:429, 1970.

RANGNEKAR, D.V.; BADVE, V.C.; KHARAT, S.T.; SOBALE, B.N. & JOSHI, A.L. Effect of high pressures steam treatment on chemical composition and digestibility "in vitro" of roughages. *Animal Feed Science Technology*, 7:61-70, 1982.

- RICKE, S.C.; BERGER, L.L.; VAN DER AAR, R.J. & FAHEY Jr, G.C. Effects of lasalocid and monensin on nutrients digestion, metabolism and rumen characteristics of sheep. *Journal of Animal Science*, 58(1):194-202, 1984.
- ROBY, K.A.W.; CHALUPA, W.; ORSINI, J.A.; ELSE, A.H. & KRONFELD, D.S. Acid-base and electrolyte balance in dairy heifers fed forage and concentrate rations: effects of sodium bicarbonate. *Am. J. Vet. Res.*, 48(6):1012-1016, 1987.
- ROMAN-PONCE, H.; VAN-HORN, H.H.; MARSHALL, S.P.; WILCOX, C.J. & RANDEL, P.F. Complete rations for dairy cattle. V. Interaction of sugarcane bagasse quantity and form with soybean meal, urea, and starea. *Journal of Dairy Science*, 58(9):1320-1327, 1975.
- RUMPLER, W.V.; JOHNSON, D.E. & BATES, D.B. The effect of high dietary cation concentration on methanogenesis by steers fed diets with and without ionophores. *Journal of Animal Science*, 62(6):1737-1741, 1986.
- RUSSELL, J.B.; SHARP, W.M. & BALDWIN, R.L. The effect of pH on maximum bacterial growth rate and its possible role as a determinant of bacterial competition in the rumen. *Journal of Animal Science*, 48(2): 251-5, 1979.

RUSSELL, J.B. & MARTIN, S.A. Effects of various methane inhibitors on the fermentation of amino acids by mixed rumen microorganism "in vitro". Journal of Animal Science, 59(5):1329-1337, 1984.

RUSSELL, J.B. A proposed mechanism of monensin action in inhibiting ruminal bacterial growth: effects on ion flux and protonmotive force. Journal of Animal Science, 64(5):1519-1525, 1987.

RUSSELL, J.B. & STROBEL, H.J. Effect of ionophores on ruminal fermentation. Applied and Environmental Microbiology, 55(1):1-6, 1989.

RUSSELL, J.R.; YOUNG, A.W. & JORGENSEN, N.A. Effect of sodium bicarbonate and limestone additions to high grain diets on feedlot performance and ruminal and fecal parameters in finishing steers. Journal of Animal Science, 51(4):996-1002, 1980.

SAS Institute Inc. SAS/STAT User's Guide ed. Cary, NC, 1988.

SATTER, L.D. & SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production "in vitro". Br. J. Nutr., 32:199-208, 1974.

- SCHELLING, G.T. Monensin mode of action in the rumen. Journal of Animal Science, 58(6):18-27, 1984.
- SPEARS, J.W. & HARVEY, R.W. Performance, ruminal and serum characteristics of steers fed lasalocid on pasture. Journal of Animal Science, 58(2):460-464, 1984.
- STAPLES, C.R. & LOUGH, D.S. Efficacy of supplemental dietary neutralizing agents for lactating dairy cows. A review. Animal Feed Science and Technology, 28:277-303, 1989.
- STARNES, S.R.; SPEARS, J.W.; FROETSCHER, M.A. & CROOM Jr., W.J. Influence of monensin and lasalocid on mineral metabolism and ruminal urease activity in steers. The Journal of Nutrition, 114(3):518-525, 1984.
- STROBEL, H.J.; CHOW, J.M. & RUSSELL, J.B. Ruminal ionophores: manipulating fermentation and control of acidosis. In: Conference for Feed Manufacturers. Proceedings Cornell Nutrition, Syracuse Marriott, East Syracuse, N.Y., 1989. p. 16-21.

SUTTON, L.D. & SILTER, L.L. Digestion and end products formation in the rumen from production rations. In: Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants. RUCKEBUSH, Y. & THIVEND, P., ed. Connecticut, Avi Publishing Company, Inc., 1980, p. 271-90.

TEH, T.H.; HEMKEN, R.W. & HARMON, R.J. Comparasions of buffers and their modes in the rumen and abomassum. Nutritional Reports International, 32(6):1339-1348, 1985.

THONNEY, M.L; HEIDE, E.K.; DUHAIME, D.J.; HAND, R.J. & PEROSIO, D.J. Growth, feed efficiency and metabolite concentrations of cattle fed high forage diets with lasalocid or monensin supplements. Journal of Animal Science, 52(2):427-433, 1981.

TILLEY, J.M.A. & TERRY, R.A. A two stage technique for the "in vitro" digestion of forage crops. Journal Brit. Grassl. Soc., 18:104-111, 1963.

VAN NEVEL, C.J. & DEMEYER, D.I. Effect of monensin on rumen metabolism in vitro. Appl. Microbiol, 34:251, 1977.

- WALKER, H.G. Physical treatment. In: SUNDSTOL, F. & OWEN, E. ed. Straw and other fibrous by-products as feed. Amsterdam, Elsevier Sci. Publ., 1984. pg. 79-105.
- WALLACE, R.J.; CHENG, K.J. & CZERKAWSKY, J.W. Effect of monensin on fermentation characteristics of the artificial rumen. Appl. Environ Microbiol, 40:672-74, 1980.
- WHEELER, W.E. Gastrointestinal tract pH environment and the influence of buffering materials on the performance of ruminants. Journal of Animal Science, 51(1):224-235, 1980.
- WHELLER, W.E.; NOLLER, C.H. & WHITE, J.L. Comparasion between limistones and cement kiln dusts of similar rates of reactivity used in high concentrate diets for beef steers. Journal of Animal Science, 52(4):873-881, 1981a.
- WHEELER, W.E.; NOLLER, C.H. & WHITE, J.L. Influence of petrological type of limestone on utilization of high concentration diets by beef steers. Journal of Animal Science, 53(1):231-241, 1981b.

WHEELER, W.E.; NOLLER, C.H.; WHITE, J.L. Effect of level of calcium and sodium bicarbonate in high concentrate diets on performance and nutrient utilization by beef steers. Journal of Animal Science, 53(2):499-514, 1981c.

WHEELER, W.E.; NOLLER, C.H. & WHITE, J.L. Influence of rate of reactivity of calcitic limestones and level of calcium addition on utilization of high concentrate diets by beef steers. Journal of Animal Science, 53(4):1120-1134, 1981d.

WOLIN, M.J. A theoretical rumen fermentation balance Journal of Dairy Science, 43:1452-1459, 1960.

Apêndice

Tabela 1 - Composição químico-bromatológica e coeficientes de digestibilidade verdadeira "in vitro" dos alimentos utilizados (valores médios expressos em %).

Alimento	MS	PB	EE	ENN	FB	NDF	ADF	CZ	DVIV
BC	54,71	-----	-----	-----	-----	90,87	68,78	3,62	30,36
BAH	38,94	-----	-----	-----	-----	68,73	69,42	3,95	51,62
C ¹	88,62	26,55	2,63	55,32	7,24	-----	11,25	8,25	-----
C ²	88,85	27,83	2,82	52,92	6,91	-----	10,73	9,52	-----
C ³	89,27	28,05	2,70	53,74	7,87	-----	12,36	7,63	-----
C ⁴	88,74	26,99	2,68	54,29	7,56	-----	11,24	8,47	-----

Tabela 2 - Composição químico-bromatológica das sobras diárias das rações (valores médios expressos em %).

Sobra	MS	PB	NDF	ADF	CZ
A	42,24	9,89	63,22	52,58	5,79
B	42,37	9,81	62,69	52,84	6,80
C	43,75	11,44	60,50	49,23	5,63
D	41,31	9,73	61,67	51,57	6,08
E	41,04	10,01	61,71	52,11	6,00

Tabela 3 - Valores observados para consumo de água e de matéria seca (médias por tratamento e por sub-período expressas em %PV).

Animal	Sub-Per	Trat	Con_Água	Con_MS
V1	P1	TA	7,11	2,00
V1	P2	TB	7,81	1,97
V1	P3	TC	7,02	1,77
V1	P4	TD	9,02	1,83
V1	P5	TE	10,10	2,05
V2	P1	TB	10,06	2,92
V2	P2	TC	8,81	2,76
V2	P3	TD	8,99	2,95
V2	P4	TE	9,26	3,06
V2	P5	TA	6,00	2,30
V3	P1	TC	13,59	3,02
V3	P2	TD	14,22	3,04
V3	P3	TE	12,49	3,25
V3	P4	TA	11,70	3,06
V3	P5	TB	14,27	3,73
V4	P1	TD	11,54	2,37
V4	P2	TE	14,99	2,66
V4	P3	TA	9,51	2,38
V4	P4	TB	11,53	2,78
V4	P5	TC	8,60	2,78
V5	P1	TE	8,32	1,96
V5	P2	TA	10,21	1,73
V5	P3	TB	13,80	1,88
V5	P4	TC	8,91	1,83
V5	P5	TD	8,42	2,29

Tabela 4 - Valores observados para o pH do fluido ruminal
(médias por tratamento e por horário de coleta).

TRAT	HORA	pH	
		Média	Desvio
TA	0	6.86800000	0.18130085
TA	1	6.95200000	0.18376616
TA	2	6.90600000	0.15946787
TA	4	6.76400000	0.09262829
TA	8	6.31000000	0.21154196
TA	12	6.30400000	0.12700394
TB	0	6.96000000	0.32023429
TB	1	7.02000000	0.24627221
TB	2	7.02000000	0.19583156
TB	4	6.93400000	0.17672012
TB	8	6.55600000	0.42787849
TB	12	6.48600000	0.36514381
TC	0	6.92600000	0.27790286
TC	1	6.96400000	0.21512787
TC	2	6.88600000	0.14876155
TC	4	6.69200000	0.13065221
TC	8	6.49800000	0.24681977
TC	12	6.52400000	0.20995238
TD	0	6.99600000	0.18049931
TD	1	7.08200000	0.12111978
TD	2	6.93600000	0.19333908
TD	4	6.76400000	0.19007893
TD	8	6.51800000	0.18471600
TD	12	6.34600000	0.15175638
TE	0	6.91200000	0.18992104
TE	1	6.97000000	0.18384776
TE	2	6.85600000	0.15175638
TE	4	6.67400000	0.20243517
TE	8	6.28000000	0.15811388
TE	12	6.29800000	0.18061008

Tabela 5 - Valores observados para os níveis de N-NH_3 no fluido ruminal (médias por tratamento e por horário de coleta expressas em mg/100 ml).

TRAT	HORA	NNH_3	
		Média	Desvio
TA	0	1.7322000	0.93110778
TA	1	9.6516000	4.90359519
TA	2	12.1346000	6.65411086
TA	4	12.2374000	6.56203625
TA	8	7.7462000	5.31499922
TA	12	4.1016000	2.15465271
TB	0	1.1004000	0.77306002
TB	1	7.9946000	3.63701235
TB	2	12.7180000	9.79787650
TB	4	10.9106000	6.08745561
TB	8	4.4150000	3.42910229
TB	12	4.2518000	2.40210225
TC	0	1.9272000	0.76519749
TC	1	9.8250000	4.30198018
TC	2	13.2658000	6.82109201
TC	4	10.2836000	5.71203128
TC	8	5.7014000	4.15316780
TC	12	4.1668000	2.59802871
TD	0	1.2366000	0.70587201
TD	1	9.4422000	5.29220726
TD	2	8.2842000	4.41751261
TD	4	8.2376000	3.71766920
TD	8	4.2806000	4.13808516
TD	12	2.0120000	1.28228176
TE	0	1.8086000	1.96576659
TE	1	7.8656000	4.10581104
TE	2	8.2684000	4.22932681
TE	4	7.2168000	3.62319634
TE	8	4.5468000	5.11069943
TE	12	3.5734000	4.69909276

Tabela 6 - Valores observados para a concentração molar de acetato no fluido ruminal (médias por tratamento e por horário de coleta expressas em mmoles/100 ml).

TRAT	HORA	C ₂	
		Média	Desvio
TA	0	4.49240000	0.64028611
TA	1	3.87840000	0.51565715
TA	2	4.01260000	0.37213546
TA	4	4.31880000	0.28519239
TA	8	4.91520000	0.95124797
TA	12	4.67060000	0.74207264
TB	0	4.29560000	0.77219285
TB	1	3.88060000	0.39743213
TB	2	3.95120000	0.27486669
TB	4	4.13440000	0.44750173
TB	8	4.86740000	0.44826253
TB	12	4.66320000	0.45704836
TC	0	4.53340000	0.65790790
TC	1	3.80600000	0.25137522
TC	2	3.83900000	0.20003125
TC	4	4.30960000	0.26291501
TC	8	4.84160000	0.12034451
TC	12	4.41600000	0.30312786
TD	0	3.84720000	0.56182266
TD	1	3.45140000	0.58921499
TD	2	3.88100000	0.65484998
TD	4	4.09240000	0.47556840
TD	8	4.36720000	0.46893784
TD	12	4.50240000	0.68435393
TE	0	4.49500000	0.76360166
TE	1	3.82060000	0.60615782
TE	2	4.11520000	0.83910142
TE	4	4.22240000	0.55887056
TE	8	4.78300000	0.33513579
TE	12	4.65480000	0.45441303

Tabela 7 - Valores observados para a concentração molar de propionato no fluido ruminal (médias por tratamento e por horário de coleta expressas em mmols/100 ml).

TRAT	HORA	C ₃	
		Média	Desvio
TA	0	2.01100000	0.33999338
TA	1	1.55080000	0.17173293
TA	2	1.52900000	0.17452077
TA	4	1.65780000	0.17338599
TA	8	2.05580000	0.50202958
TA	12	1.92960000	0.34515113
TB	0	1.70340000	0.15370198
TB	1	1.41140000	0.12743351
TB	2	1.40080000	0.09480348
TB	4	1.45160000	0.10332134
TB	8	1.88820000	0.24692347
TB	12	1.87800000	0.26968686
TC	0	2.43920000	0.21966383
TC	1	1.90420000	0.19124905
TC	2	1.89040000	0.20737116
TC	4	2.09040000	0.30925928
TC	8	2.45580000	0.38151370
TC	12	2.28880000	0.40362817
TD	0	2.22700000	0.27139363
TD	1	1.80440000	0.19774934
TD	2	1.98380000	0.27252009
TD	4	2.10320000	0.38970591
TD	8	2.45780000	0.51273161
TD	12	2.58520000	0.51575740
TE	0	2.66220000	0.60160967
TE	1	2.08320000	0.40081380
TE	2	2.22200000	0.42406780
TE	4	2.27480000	0.24735946
TE	8	2.74200000	0.19648537
TE	12	2.72200000	0.24272206

Tabela 8 - Valores observados para a concentração molar de butirato no fluido ruminal (médias por tratamento e por horário de coleta expressas em mmoles/100 ml).

TRAT	HORA	C_t	
		Média	Desvio
TA	0	0.52060000	0.18300628
TA	1	0.42340000	0.13419501
TA	2	0.40720000	0.08629137
TA	4	0.44480000	0.11375940
TA	8	0.55300000	0.21870414
TA	12	0.54040000	0.21070548
TB	0	0.49720000	0.17443824
TB	1	0.41140000	0.04041411
TB	2	0.42400000	0.05432771
TB	4	0.45380000	0.07019402
TB	8	0.50160000	0.03285270
TB	12	0.47680000	0.07773159
TC	0	0.43800000	0.12051556
TC	1	0.31000000	0.07459893
TC	2	0.31860000	0.06285937
TC	4	0.36600000	0.06623821
TC	8	0.40860000	0.04969205
TC	12	0.36440000	0.05306411
TD	0	0.28500000	0.06830447
TD	1	0.23840000	0.05952982
TD	2	0.25260000	0.05285641
TD	4	0.24680000	0.02868275
TD	8	0.29180000	0.05555358
TD	12	0.31580000	0.08677384
TE	0	0.44960000	0.14188834
TE	1	0.35040000	0.08447366
TE	2	0.33900000	0.11777521
TE	4	0.34840000	0.06462430
TE	8	0.39560000	0.05620320
TE	12	0.39880000	0.08110919

Tabela 9 - Valores observados para a concentração molar de AGV total no fluido ruminal (médias por tratamento e por horário de coleta expressas em mmoles/100 ml).

TRAT	HORA	Total AGV	
		Média	Desvio
TA	0	7.02400000	1.06310559
TA	1	5.85260000	0.74353097
TA	2	5.94880000	0.54026216
TA	4	6.42140000	0.42603087
TA	8	7.52200000	1.51543096
TA	12	7.14060000	1.09909044
TB	0	6.49620000	1.03792037
TB	1	5.70340000	0.41599856
TB	2	5.77600000	0.27120195
TB	4	6.03980000	0.49659913
TB	8	7.25720000	0.58224883
TB	12	7.01800000	0.65089592
TC	0	7.33660000	1.01280862
TC	1	6.02020000	0.37809880
TC	2	6.04800000	0.27586591
TC	4	6.76600000	0.51382731
TC	8	7.70600000	0.44727844
TC	12	7.06920000	0.47733395
TD	0	6.35920000	0.78274051
TD	1	5.49420000	0.77147664
TD	2	6.11740000	0.88896277
TD	4	6.38840000	0.59156682
TD	8	7.11680000	0.80236413
TD	12	7.40340000	1.01768870
TE	0	7.60680000	1.47942800
TE	1	6.25420000	1.06762456
TE	2	6.67620000	1.35935856
TE	4	6.84560000	0.83908212
TE	8	7.92060000	0.48966039
TE	12	7.77560000	0.68067121

Tabela 10 - Valores observados para a porcentagem molar de acetato no fluido ruminal (médias por tratamento e por horário de coleta expressas em %).

TRAT	HORA	%C ₂	
		Média	Desvio
TA	0	64,083983	2,110671
TA	1	66,272758	2,314797
TA	2	67,478520	2,165139
TA	4	67,293543	2,425940
TA	8	65,527932	3,193193
TA	12	65,456933	3,144319
TB	0	65,999286	2,120555
TB	1	67,953761	2,798898
TB	2	68,356643	2,185276
TB	4	68,342402	2,329217
TB	8	67,054798	2,394823
TB	12	66,484303	3,010640
TC	0	61,809877	2,690238
TC	1	63,251081	2,608938
TC	2	63,496819	2,398518
TC	4	63,785115	2,594179
TC	8	62,952142	2,946438
TC	12	62,550468	3,587417
TD	0	60,400343	2,645087
TD	1	62,626505	2,628554
TD	2	63,322013	3,085961
TD	4	63,994056	3,583422
TD	8	61,509384	4,093342
TD	12	60,797777	4,136133
TE	0	59,347018	2,288218
TE	1	61,197192	1,863581
TE	2	61,665117	1,711530
TE	4	61,638478	1,511003
TE	8	60,376356	1,423582
TE	12	59,846139	2,047101

Tabela 11 - Valores observados para a porcentagem molar de propionato no fluído ruminal (médias por tratamento e por horário de coleta expressas em %).

TRAT	HORA	%C.	
		Média	Desvio
TA	0	28,678795	2,577683
TA	1	26,625795	2,502822
TA	2	25,719853	1,982068
TA	4	25,826643	2,227568
TA	8	27,312419	3,520766
TA	12	27,158745	4,077511
TB	0	26,519223	2,951711
TB	1	24,835787	2,745368
TB	2	24,318453	2,366305
TB	4	24,155404	2,615475
TB	8	25,994973	2,435049
TB	12	26,751427	2,917705
TC	0	33,606851	3,890201
TC	1	31,640972	2,731581
TC	2	31,227496	2,828092
TC	4	30,804372	2,854647
TC	8	31,739290	3,197474
TC	12	32,253052	4,383346
TD	0	35,139169	3,439373
TD	1	33,065212	3,223546
TD	2	32,571251	3,359865
TD	4	32,865477	4,543353
TD	8	34,339489	5,033412
TD	12	34,944594	5,188727
TE	0	34,848787	1,696471
TE	1	33,247554	1,785173
TE	2	33,355643	1,214987
TE	4	33,301636	1,507874
TE	8	34,637347	1,803617
TE	12	35,061198	2,272875

Tabela 12 - Valores observados para a porcentagem molar de butirato no fluido ruminal (médias por Tratamento e por horário de coleta expressas em %).

TRAT	HORA	%C ₄	
		Média	Desvio
TA	0	7,237223	1,947673
TA	1	7,101447	1,577655
TA	2	6,801627	1,146155
TA	4	6,879814	1,505045
TA	8	7,181199	1,770638
TA	12	7,384322	1,896977
TB	0	7,481491	1,605618
TB	1	7,210452	0,428728
TB	2	7,324904	0,696412
TB	4	7,502193	0,862051
TB	8	6,950230	0,763447
TB	12	6,764270	0,567036
TC	0	5,906354	1,032169
TC	1	5,107947	0,885436
TC	2	5,275685	1,040448
TC	4	5,410513	0,914533
TC	8	5,308568	0,660304
TC	12	5,196480	1,001494
TD	0	4,460488	0,828569
TD	1	4,308283	0,746739
TD	2	4,106736	0,356167
TD	4	3,877870	0,469627
TD	8	4,151127	0,977114
TD	12	4,257628	1,088126
TE	0	5,804195	0,895061
TE	1	5,555254	0,477621
TE	2	4,979240	0,915229
TE	4	5,059886	0,402219
TE	8	4,986297	0,595734
TE	12	5,092662	0,619497

Tabela 13 - Valores observados para a relação molar de AGV (C_3/C_2+C_4) no fluido ruminal (médias por tratamento e por horário de coleta).

TRAT	HORA	C_3/C_2+C_4	
		Média	Desvio
TA	0	0.40361882	0.05228539
TA	1	0.36418190	0.04784454
TA	2	0.34703428	0.03652571
TA	4	0.34918783	0.04141769
TA	8	0.37837898	0.07036594
TA	12	0.37651430	0.08190548
TB	0	0.36267341	0.05523084
TB	1	0.33188402	0.05011477
TB	2	0.32238530	0.04235628
TB	4	0.31979170	0.04735415
TB	8	0.35246984	0.04598715
TB	12	0.36700960	0.05635673
TC	0	0.49803429	0.06996902
TC	1	0.46473690	0.05858736
TC	2	0.45603868	0.05987557
TC	4	0.44719018	0.06097861
TC	8	0.46757068	0.06937045
TC	12	0.48105474	0.09614368
TD	0	0.54514796	0.07985129
TD	1	0.49670880	0.07056492
TD	2	0.48591680	0.07202696
TD	4	0.48835366	0.09152550
TD	8	0.52990138	0.11285742
TD	12	0.54468639	0.11818446
TE	0	0.53573524	0.04054810
TE	1	0.49890361	0.03885238
TE	2	0.50090220	0.02743434
TE	4	0.49989839	0.03379837
TE	8	0.53085085	0.04191278
TE	12	0.54141264	0.05363537

Tabela 14 - Valores estimados para a produção de gás carbônico durante o processo de fermentação ruminal (médias por tratamento e por horários de coleta expressos em moles/100 moles de AGV produzido).

TRAT	HORA	CO ₂	
		Média	Desvio
TA	0	50,067524	2,388398
TA	1	50,444998	1,931116
TA	2	50,371663	1,303003
TA	4	50,423153	1,706106
TA	8	50,363869	2,308156
TA	12	50,594636	2,687400
TB	0	50,851686	2,195680
TB	1	51,001505	0,791599
TB	2	51,245290	1,078050
TB	4	51,463342	1,307794
TB	8	50,451486	1,071320
TB	12	50,076413	0,892322
TC	0	48,166183	1,318988
TC	1	47,197704	1,268891
TC	2	47,468811	1,553818
TC	4	47,709420	1,381878
TC	8	47,373745	1,252828
TC	12	47,133217	2,010133
TD	0	45,675696	1,675019
TD	1	46,041980	1,488948
TD	2	45,963923	1,142583
TD	4	46,030202	1,299483
TD	8	45,566254	2,218522
TD	12	45,521480	2,369922
TE	0	47,091998	0,769294
TE	1	47,243366	0,642500
TE	2	46,640329	0,880926
TE	4	46,734477	0,584781
TE	8	46,326960	0,976499
TE	12	46,327363	1,022951

Tabela 15 - Valores estimados para a produção de metano durante o processo de fermentação ruminal (médias por tratamento e por horários de coleta expressos em moles/100 moles de AGV produzido).

TRAT	HORA	CH ₄	
		Média	Desvio
TA	0	28,490904	1,933263
TA	1	30,030654	1,877117
TA	2	30,710110	1,486551
TA	4	30,630018	1,670676
TA	8	29,526461	2,650388
TA	12	29,630941	3,058133
TB	0	30,110583	2,213783
TB	1	31,373159	2,059026
TB	2	31,761160	1,774729
TB	4	31,883447	1,961607
TB	8	30,503770	1,826287
TB	12	29,936430	2,188279
TC	0	25,456403	2,096251
TC	1	26,269271	2,048685
TC	2	26,579378	2,121069
TC	4	26,896721	2,140985
TC	8	26,195532	2,398105
TC	12	25,810211	3,287509
TD	0	23,645623	2,579530
TD	1	25,201091	2,417660
TD	2	25,571562	2,519899
TD	4	25,719594	3,062805
TD	8	24,245383	3,775059
TD	12	23,791554	3,891546
TE	0	23,863410	1,272353
TE	1	25,064335	1,338880
TE	2	24,983268	0,911240
TE	4	25,023773	1,130906
TE	8	24,021990	1,352713
TE	12	23,704101	1,704656