**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Uso de óleos essenciais e doses de suplemento proteico
energético, para bovinos mantidos em pastagens: consumo,
digestibilidade aparente dos nutrientes, parâmetros ruminais e
crescimento microbiano**

Murilo Garrett Moura Ferreira dos Santos

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor
em Ciências. Área de concentração: Ciência Animal
e Pastagens

**Piracicaba
2019**

Murilo Garrett Moura Ferreira dos Santos
Médico Veterinário

Uso de óleos essenciais e doses de suplemento proteico energético, para bovinos mantidos em pastagens: consumo, digestibilidade aparente dos nutrientes, parâmetros ruminais e crescimento microbiano

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **FLÁVIO AUGUSTO PORTELA SANTOS**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Ciências. Área de concentração: Ciência Animal e Pastagens

Piracicaba
2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Santos, Murilo Garrett Moura Ferreira dos

Uso de óleos essenciais e doses de suplemento proteico energético para bovinos mantidos em pastagens: consumo, digestibilidade aparente dos nutrientes, parâmetros ruminais e crescimento microbiano / Murilo Garrett Moura Ferreira dos Santos. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2019.

63 p.

Tese (Doutorado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Forragem tropical 2. Suplementação a pasto 3. Promotores de crescimento 4. Metabolismo I. Título

**A Ari Crispiniano Ferreira dos Santos e a Maria Moura Santos, meus pais
e a meus irmãos Mauricio Kit e Maria Lizzia**

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me dado o dom da vida e ter me guiado para mais um sonho realizado.

Agradeço aos meus pais, Ari Crispiniano Santos e Maria Moura Santos, por todo amor, carinho educação, por sempre acreditarem em mim, pela educação e felicidade, por toda torcida, incentivo e todo esforço para proporcionar o caminho e a realização deste sonho. Vocês são a base deste sonho.

Aos meus irmãos, Maria Lizzia e Mauricio Kit, por toda a torcida, toda admiração e todo amor que nenhuma distância é capaz de superar. Que sejamos sempre companheiros e felizes sempre perto um do outro.

À Anesita e todos os demais familiares pela admiração, carinho, apoio e torcida.

À Débora agradeço pela admiração, carinho, apoio e pelo incentivo.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP) por me proporcionar um excelente treinamento acadêmico e, me capacitar para que eu possa continuar meu desenvolvimento profissional.

Ao Prof. Flávio Augusto Portela Santos pela orientação e amizade, por ter acreditado e aceitado esse desafio.

Aos amigos Pedro, Carol e ao Beto, João e família pelas conversas, conselhos e ajuda, que me auxiliaram no desenvolvimento deste projeto.

Aos meus colaboradores e amigos do Nutribov - Diogo Fleury, Camila, Titanik, Erika, Mauricio, Andres, Ludmila, Anzol por terem me ajudado durante a execução deste trabalho.

Aos funcionários de todo o Departamento de Zootecnia, principalmente ao Cesar e a Sandra.

A todos os funcionários da fazenda Caçadinha/MS e do centro de inovação e pesquisa da DSM, por ter me acolhido durante um ano, por ter me ajudado durante todo o experimento de campo, em especial ao Josivaldo e a Bruna. À empresa DSM/Tortuga pela confiança do trabalho desenvolvido na fazenda e pela parceria.

Ao CNPq/CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

E a todos que contribuíram direta e indiretamente na realização deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO.....	6
ABSTRACT.....	8
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	11
Referências.....	12
2 DOSES DE MISTURA DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO SUPLEMENTO PROTEICO-ENERGÉTICO (0,3% DO PC) PARA BOVINOS MANTIDOS EM PASTEJO DE CAPIM TROPICAL.....	15
RESUMO.....	15
ABSTRACT.....	15
2.1 INTRODUÇÃO.....	16
2.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
2.3 RESULTADOS.....	21
2.4 DISCUSSÃO.....	22
2.5 CONCLUSÃO.....	25
REFERÊNCIAS.....	25
ANEXOS.....	32
3 INTERAÇÕES ENTRE ADITIVOS (MONENSINA SÓDICA X MISTURA DE ÓLEOS ESSENCIAIS COMBINADO COM α -AMILASE) E DOSES DE SUPLEMENTO (1,0 X 1,5% DO PV) PARA BOVINOS TERMINADOS EM PASTAGENS.....	39
RESUMO.....	39
ABSTRACT.....	40
3.1 INTRODUÇÃO.....	41
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	43
3.3 RESULTADOS.....	47
3.4 DISCUSSÃO.....	48
3.5 CONCLUSÃO.....	52
REFERÊNCIAS.....	52
ANEXOS.....	59

RESUMO

Uso de óleos essenciais e doses de suplemento proteico energético, para bovinos mantidos em pastagens: consumo, digestibilidade aparente dos nutrientes, parâmetros ruminais e crescimento microbiano

A inclusão de óleos essenciais em suplementos concentrados de bovinos de corte recriados e terminados em pastejo pode melhorar a eficiência da fermentação ruminal, devido às suas propriedades antimicrobianas e terapêuticas. Dois experimentos foram conduzidos para investigar a inclusão de uma mistura de óleos essenciais (MOE; Crina®) composta por Timol, Eugenol, Vanilina e Limoneno sobre o consumo de forragem e total, digestibilidade aparente dos nutrientes, parâmetros ruminais e o crescimento microbiano. Para a realização do do Experimento 1, 12 bovinos machos não castrados, da raça Nelore com $436 \pm 34,14$ kg de peso corporal inicial médio (PCI) foram distribuídos em três Quadrados Latinos 4 X 4. Foram avaliadas doses da MOE e os tratamentos consistuídos por: Controle (0 mg), 100 mg, 200 mg e 400 mg de MOE para cada 100 kg peso corporal (PC). Todos os animais receberam suplemento proteico-energético na dose de 0,3% do PC (matéria natural) com os respectivos tratamentos. Os animais foram alocados em um piquete de 2,2 ha de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés, sob lotação contínua. No Experimento 2, foram utilizados oito bovinos, machos não castrados da raça Nelore com $481,8 \pm 28,2$ kg de PCI, dispostos em 2 Quadrados Latinos 4 X 4. Foram avaliados 2 aditivos, monensina sódica (Rumensin®) e MOE+AM (Crina® combinado com α -amilase) para bovinos na fase de terminação em pasto com dois níveis de suplementação (1% x 1,5% do PC). Os tratamentos testados foram: T1) monensina + 1% do PC; T2) monensina + 1,5% do PC; T3) MOE+AM + 1,0% do PC; T4) MOE+AM + 1,5% do PC de suplemento proteico-energético. Os animais foram alocados em um piquete de 2.2 ha de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés, sob lotação contínua. As análises estatísticas foram conduzidas com a utilização do programa estatístico SAS. **No Experimento 1** a inclusão de doses da MOE na dieta não afetou ($P>0,10$) o consumo e a digestibilidade aparente dos nutrientes, a concentração de AGCC totais, as proporções molares de acetato, propionato, butirato, isobutirato, isovalerato, a relação acetato:propionato e a concentração de N-NH₃ no fluido ruminal. Houve efeito linear positivo de doses crescentes da MOE na dieta sobre o pH ruminal e efeito quadrático na proporção molar de valerato. A inclusão de doses de MOE na dieta também não afetou ($P>0,10$) o N ingerido, N excretado (fezes), N absorvido e a síntese microbiana em bovinos mantidos em pastagens tropicais suplementados com suplemento proteico-energético na dose de 0,3% do PC. **No Experimento 2**, houve interação entre aditivo e nível de suplemento para todas as variáveis de consumo (kg e %PC) avaliadas ($P<0,10$). A suplementação com 1,5% do PC aumentou o CMSt, o CMO, CMSD e o CMOD dos animais suplementados com monensina, mas não nos animais suplementados com MOE+AM. Na presença de MOE+AM o nível alto de suplementação (1,5% do PC) causou redução no CMS de forragem e consequentemente no consumo de FDN. As digestibilidades da MS e da PB foram maiores nas dietas com nível de suplementação de 1,5% do PC que nas de 1% do PC ($P<0,10$) independente do aditivo fornecido. As digestibilidades da MS, MO, FDN e PB foram maiores nas dietas contendo monensina em comparação com MOE+AM, independentemente do nível de suplemento fornecido. A suplementação com MOE+AM resultou em menor pH ruminal, maior concentração

molar de AGCC e maior proporção molar de C2 que a monensina ($P<0,10$). A suplementação com 1,5% do PC reduziu o pH ruminal, a proporção molar de C2, e aumentou a concentração ruminal de N-NH₃, a concentração molar de AGCC e a proporção molar de valerato ($P<0,10$). Houve interação ($P<0,10$) entre nível de suplemento e aditivo para a proporção molar de C3, de isobutírico, de isovalérico e para a relação C2:C3. Tanto a monensina quanto o nível alto (1,5% PC) de suplementação aumentaram a proporção molar de C3, entretanto, não houve diferença entre os tratamentos monensina + 1,0% PC e MOE+AM + 1,5% PC. A relação C2:C3 foi reduzida tanto pela monensina quanto pelo nível de suplementação de 1,5% PC, entretanto, o efeito da monensina só ocorreu em combinação com suplementação a 1,0% PC. A suplementação com MOE+AM aumentou ($P<0,10$) a eficiência e a produção de proteína microbiana em comparação com a monensina, enquanto o nível de suplementação não teve efeito ($P>0,10$) sobre esses parâmetros.

Palavras-chave: Forragem tropical; Suplementação a pasto; Promotores de crescimento; Metabolismo

ABSTRACT

Use of essential oils and dose of protein energy supplement for grazing cattle: intake, apparent digestibility of nutrients, ruminal parameters and microbial growth

The inclusion of essential oils in supplements for growing and finishing grazing cattle can improve the efficiency of ruminal fermentation due to its antimicrobial and therapeutic properties. Two experiments were conducted to investigate the effects of the inclusion of a mixture of essential oils (EOM; Crina®) composed of Timol, Eugenol, Vanillin and Limonene in supplements for grazing beef cattle on forage intake, total dry matter intake, apparent digestibility of nutrients, ruminal parameters and microbial growth. In Experiment 1, twelve Nellore bulls with IBW of 436 ± 34.14 kg were allotted to three 4 X 4 Latin Squares. Four doses of EOM were evaluated: Control (0 mg), 100 mg, 200 mg e 400 mg for every 100 kg of body weight (BW). All the animals were fed an energy-protein supplement at 0.3% BW (AF). The animals grazed a 2.2 ha paddock of *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés, under continuous stocking. In Experiment 2, eight Nellore bulls with IBW of 481.8 ± 28.2 kg, were allotted to two 4 x 4 Latin Squares. Two feed additives, monensin (MON; Rumensin®) and a mixture of essential oil (EOM+AM; Crina® combined with exogenous α -amylase), were compared for grazing cattle fed an energy-protein supplement at 1.0 or 1.5% of BW (AF). Treatments were: MON+1%, M+1.5%, EOM+1.0% and EOM+1.5%. The animals grazed a 2.2 ha paddock of *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés, under continuous stocking. Statistical analyzes were performed using the SAS statistical program. **In Experiment 1**, doses of EOM had no effect ($P > 0.10$) on DMI, apparent digestibility of nutrients, ruminal concentration of SCFA, molar concentrations of acetate, propionate, butyrate, isobutyrate, isovalerate, the C2:C3 ratio and on the rumen concentration of N-NH₃. There was a positive linear effect ($P < 0.10$) of doses of EOM on rumen pH and a quadratic effect ($P < 0.10$) on proportion of valerate. The EOM had no effect ($P < 0.10$) on N ingested, N excreted, N absorbed and on microbial synthesis and efficiency. **In Experiment 2**, there was interaction between feed additive and supplement level for all consumption variables (kg and% BW) evaluated ($P < 0.10$). Supplementation with 1.5% of BW increased DMI, OMI, DDMI and DOMI of animals supplemented with monensin, but not in animals supplemented with EOM+AM. In the presence of EOM+AM, the high level of supplementation (1.5% of CP) caused a reduction in forage DMI and consequently in the consumption of NDF. The digestibilities of DM and CP were greater for cattle supplemented at 1.5% of BW than at 1.0% of BW ($P < 0.10$) regardless of the feed additive. The digestibilities of DM, OM, NDF and CP were greater in diets containing monensin compared to EOM+AM, regardless of the supplement level provided. The supplementation with EOM+AM resulted in lower ruminal pH, greater molar concentration of total VFA and greater molar proportion of C2 than monensin ($P < 0.10$). Feeding supplement at 1.5% of BW decreased rumen pH, molar proportion of C2, and increased the concentration of rumen N-NH₃, total VFA and the molar proportion of valerate ($P < 0.10$). There was interaction ($P < 0.10$) between feed additive and level of supplement for molar proportion of C3, isobutyrate, isovalerate and for the C2:C3 ratio. Both monensin and the high level of supplement (1.50% of BW) increased ruminal proportion of C3, however, there was no difference between the treatments monensin + 1.0% of BW and EOM+AM + 1.5% of BW. The ratio C2:C3 was decreased by both monensin and supplement fed at 1.50% of BW,

however, the monensin effect occurred only when combined with supplement fed at 1.0% of BW. The EOM+AM increased ($P<0.10$) the efficiency and production of microbial protein compared with monensin, while the level of supplement had no effect ($P>0.10$) on those parameters.

Keywords: Tropical forrages; Supplementation; Performance enhancer; Metabolism

1. INTRODUÇÃO GERAL

No intuito de aumentar a produtividade dos animais, abater animais jovens, com maior peso de carcaça, acabamento de gordura desejável e ao mesmo tempo, mitigar a produção de gases do efeito estufa oriundos da fermentação ruminal, práticas como manejo adequado das pastagens, suplementação com concentrado e uso de aditivos vêm sendo aplicadas de forma crescente por produtores nacionais. Para melhorar a eficiência e o desempenho animal em sistemas de pastejo, os produtores têm adotado cada vez mais a recria intensiva e terminação a pasto com alimentos concentrados, em níveis que variam normalmente de 0,3% a 2,0% do PC (base seca) (PAULINO et al., 2006, BOMFIM et al., 2001; REIS et al., 2011; SIQUEIRA et al., 2013; RESENDE et al., 2014; PEREIRA et al., 2017).

Devido às novas pressões regulatórias, o uso de antibióticos, seja como melhoradores de desempenho, seja como anticoccidianos, apresentam cada dia mais restrições. No caso dos ruminantes, o uso de ionóforos como promotores de crescimento foi banido pela União Europeia. Dessa forma, o uso de alternativas que modulem a fermentação no rúmen e a saúde intestinal vêm sendo estudadas. A primeira geração de substitutos foram as leveduras e probióticos bacterianos. Uma segunda geração são os óleos essenciais (OE), que podem ser usados isolados ou em sinergia, conferindo-lhes diferentes modos de ação, dificultando um possível aparecimento de resistência bacteriana (ACAMOVIC & BROOKER, 2005).

Os primeiros dados com OE como moduladores da fermentação ruminal foram descritos na década de 50 (CRANE et al., 1957) quando foram demonstrados os efeitos dos OE sobre a fermentação ruminal, verificando que alguns desses óleos eram capazes de reduzir a formação de metano. Em diversos estudos “*in vitro*” (MCINTOSH et al., 2003; CASTILLEJOS et al., 2006) foi reportado o efeito positivo da MOE (CRINA® Ruminants, DSM Nutritional Products Ltd., Suíça) na redução da degradação ruminal da proteína, especialmente na deaminação de aminoácidos. O mesmo também tem sido observado em estudos “*in vivo*” (MOLERO et al., 2004; NEWBOLD et al. 2004; YANG et al., 2010; GERACI et al., 2012; MESCHIATTI et al., 2016) os quais demonstraram a redução na concentração ruminal de N-NH₃ com suplementação de MOE (CRINA® Ruminants, DSM Nutritional Products Ltd., Suíça) em combinação com amilase em comparação com monensina.

De acordo com Beauchemin & Mcginn et al. (2006), a inclusão de MOE em dietas para gado de corte confinado não teve efeito no consumo de MS em comparação com controle sem aditivo. Newbold et al. (2004) reportaram redução na deaminação de aminoácidos em ovinos que foram confinados. McIntosh et al. (2003) observaram inibição das bactérias hiper produtoras de amônia, enquanto Coneglian et al. (2009) relataram aumento do pH ruminal em dieta com teor alto de grãos

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi utilizar duas estratégias a fim de investigar a inclusão da MOE (Crina®) em dietas para bovinos de corte. No Experimento 1 foram avaliadas doses da MOE no suplemento proteico-energético para bovinos mantidos em pastagem tropical durante a recria, enquanto no Experimento 2 foi avaliada a interação entre fonte de aditivo (monensina x MOE) e nível de suplementação proteico-energética (1,0 x 1,5% do PC) para bovinos mantidos em pastagens durante a terminação. Em ambos, foi realizada a avaliação de consumo, digestibilidade aparente dos nutrientes, parâmetros ruminais, eficiência microbiana e crescimento microbiano.

Referências

- ACAMOVIC, T.; BROOKER, J. D. 2005. Biochemistry of plant secondary metabolites and their effects in animals. **The proceedings of the Nutrition Society**, Cambridge, v. 64, n. 3, p. 403-412.
- BEAUCHEMIN, K.A., MCGINN, S.M., 2006. Methane emissions from beef cattle: effects of fumaric acid, essential oil, and canola oil. **Journal of Animal Science**.84, 1489–1496.
- BONFIM, M.A.D.; REZENDE, C.A.P.; PAIVA, P.C.A.; ANDRADE, I.F.; MUNIZ, J.A.; SILVA, A.R.P. 2001. Níveis de concentrado na terminação de novilhos holandês x zebu suplementados a pasto na estação seca Ciênc. agrotec., Lavras, v.25, n.6, p.1457-1466.
- CASTILLEJOS, L., S. CALSAMIGLIA, ET AL. 2006. Effect of essential oil active compounds on rumen microbial fermentation and nutrient flow in in vitro systems. **Journal of Dairy Science** 89(7): 2649-2658.
- CONEGLIAN, S. M. 2009. Uso de óleos essenciais de mamona e caju em dietas de bovinos. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil, 101f.

CRANE, A.; NELSON, W. O.; BROWN, R. E. 1957. Effects of d-limonene and alfa-d-pinene on in-vitro carbohydrate dissimilation and methane formation by rumen bacteria. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 40, n. 10, p. 1317-1323.

GERACI, J. L.; GARCIARENA, A. D.; GAGLIOSTRO, G. A.; BEAUCHEMIN, K. A.; COLOMBATTO, D. 2012. Plants extract containing cinnamaldehyde, eugenol and capsicum oleoresin added to feedlot cattle diets: Ruminal environment, short term intake pattern and animal performance. **Animal Feed Science and Technology**, v.176, p.123-130.

MCINTOSH, WILLIAMS, P., LOSA, R., WALLACE, R.J., BEEVER, D.A., NEWBOLD, C.J., 2003. Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism. **Applied and Environmental Microbiology**. 69, 5011–5014.

MESCHIATTI, M. A. P. PELLARIN, L. A., BATALLA, C. D. A., ACEDO, T. S., TAMASSIA, L. F. M., CORTINHAS, C. S., GOUVEA, V. N. D., SANTOS, F. A. P., DOREA J. R. 2016. Effects of essential oils and exogenous enzymes on intake, digestibility, and rumen fermentation in finishing Nellore cattle. **Journal of Animal Science**, Volume 94, Issue suppl 5, Oct 2016, Pages 759.

MOLERO, R., IBARA, M., CALSAMIGLIA, S., FERRET, A., LOSA, R., 2004. Effects of a specific blend of essential oil compounds on dry matter and crude protein degradability in heifers fed diets with different forage to concentrate ratios. **Animal Feed Science and Technology** 114, 91–104

NEWBOLD, C.J., MCINTOSH, F.M., WILLIAMS, P., LOSA, R., WALLACE, R.J., 2004. Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. **Animal Feed Science and Technology**. 114, 105–112.

PAULINO, M.F.; DETMANN, E. E VALADARES FILHO, S.C. 2006. Suplementação animal em pasto: energética ou proteica? In: Simpósio sobre Manejo Estratégico da Pastagem, 3, 2006, Viçosa. **Anais...** Universidade Federal de Viçosa. Viçosa. pp. 359-392.

PEREIRA, L.C.; CARNEIRO, A.L.P.; ITAVO, L.C.V.; MATEUS, R.G.; MESSIAS, E.A.; SILVA, A.F.; LIMA, R.O.; MARTINS, J.V.S.; WANDERLEY, A.M. 2017. Desempenho e viabilidade econômica de novilhos em semi confinamento a pasto no Pantanal. **Pubvet – Medicina veterinária e zootecnia**. v.11, n.9, p.940-946.

REIS, R. A.; OLIVEIRA, A. A.; SIQUEIRA, G. R.; GATTO, E. Semi – confinamento para produção intensiva de bovinos de corte. 2011. I SIMBOV – I Simpósio Matogrossense de bovinocultura de corte

RESENDE F. D.; MORETTI M. H.; NETO J. A. A.; LIMA B. S.; SIQUEIRA G. R. 2014. Nível de oferta de suplemento na terminação de bovinos a pasto. VI Congresso Latino-Americano de Nutrição Animal, Estância de São Pedro, SP. CBNA

SIQUEIRA, G.R.; MORETTI, M. H; FERNANDES, R.M.; ROTH, M.T.P.; RESENDE, F.D.; JUNIOR, A.I.S. 2013. Associação pasto-confinamento na produção intensiva de carne bovina Anais... II SIMBOV – II Simpósio Matogrossense de bovinocultura de corte.

YANG, W.Z., BENCHAAR, C., AMETAJ, B.N., BEAUCHEMIN, K.A., 2010. Dose response to eugenol supplementation in growing beef cattle, ruminal fermentation and intestinal digestion. **Animal Feed Science and Technology** 158, 57–64.

2 DOSES DE MISTURA DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO SUPLEMENTO PROTEICO-ENERGÉTICO (0,3% DO PC) PARA BOVINOS MANTIDOS EM PASTEJO DE CAPIM TROPICAL

Resumo

O objetivo deste estudo foi investigar a inclusão de uma mistura de óleos essenciais (MOE; Crina®) composta por Timol, Eugenol, Vanilina e Limoneno sobre o consumo de forragem e total, digestibilidade aparente dos nutrientes, parâmetros ruminais e o crescimento microbiano. Foram utilizados 12 bovinos machos não castrados, da raça Nelore com $436 \pm 34,14$ kg de peso corporal inicial médio (PCI) distribuídos em três Quadrados Latinos 4 X 4. Foram avaliadas doses da MOE constituindo os seguintes tratamentos: Controle (0 mg), 100 mg, 200 mg e 400 mg de MOE para cada 100 kg peso corporal (PC). Todos os animais receberam suplemento proteico-energético na dose de 0,3% do PC (matéria natural) com os respectivos tratamentos. Os animais foram alocados em um piquete de 2,2 ha de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés, sob lotação contínua. As análises estatísticas foram conduzidas com a utilização do programa estatístico SAS. A inclusão de doses da MOE na dieta não afetou ($P>0,10$) o consumo e a digestibilidade aparente dos nutrientes, a concentração de AGCC totais, as proporções molares de acetato, propionato, butirato, isobutirato, isovalerato, a relação acetato:propionato e a concentração de N-NH₃ no fluido ruminal. Houve efeito linear positivo ($P<0,10$) de doses crescentes da MOE na dieta sobre o pH ruminal e efeito quadrático ($P<0,10$) na proporção molar de valerato. A inclusão de doses crescentes da MOE na dieta também não afetou ($P>0,10$) o N ingerido, N excretado (fezes), N absorvido e a síntese microbiana em bovinos mantidos em pastagens tropicais suplementados com suplemento proteico-energético na dose de 0,3% do PC. Em conclusão, a adição de MOE para animais em pastagens tropicais de boa qualidade, recebendo 0,3% PC de suplemento proteico-energético não melhorou a eficiência fermentativa no rúmen, a digestão de nutrientes no trato digestivo total e o metabolismo de N.

Palavras-chave: Bovinos de corte; Aditivos; Forragem tropical; Fermentação ruminal; Metabolismo de nutrientes; Eficiência microbiana

Abstract

The objective of this study was to evaluate the effects of the inclusion of a mixture of essential oils (MOE; Crina®) composed of Timol, Eugenol, Vanillin and Limonene in supplements for grazing beef cattle on forage intake, total dry matter intake, apparent digestibility of nutrients, ruminal parameters and microbial growth. Twelve Nelore bulls with IBW of 436 ± 34.14 kg were allotted to three 4 x 4 Latin Squares. Four doses of MOE were evaluated: Control (0 mg), 100 mg, 200 mg e 400 mg of MOE for every 100 kg of body weight (BW). All the animals were fed an energy-protein supplement at 0.3% BW (AF). The animals grazed a 2.2 ha paddock of *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés, under continuous stocking. Statistical analyzes were performed using the SAS statistical program. The doses of MOE had no effect ($P>0.10$) on DMI, apparent digestibility of nutrients, ruminal concentration of SCFA, molar concentrations of acetate, propionate, butyrate, isobutyrate, isovalerate, the C2:C3 ratio and on the rumen concentration of N-NH₃. There was a positive linear

effect ($P < 0.10$) of doses of MOE on rumen pH and a quadratic effect ($P < 0.10$) on proportion of valerate. The MOE had no effect ($P < 0.10$) on N ingested, N excreted, N absorbed and on microbial synthesis and efficiency. In conclusion, the addition of MOE to animals in tropical pastures of good quality, fed 0,3% BW of protein-energy supplement did not improve the efficiency of rumen fermentation, the total tract digestibility of nutrients and the metabolism of N.

Keywords: Beef cattle; Additives; Tropical forage; Ruminal fermentation; Nutrient metabolism; Microbial efficiency.

2.1 INTRODUÇÃO

O fornecimento de aditivos promotores de crescimento para bovinos em pastagem é ferramenta eficaz para melhorar o desempenho desses animais, seja em virtude de maior aporte de energia e de proteína, seja pela redução em distúrbios metabólicos ou efeitos positivos no sistema imune do animal (NICODEMO, 2001; PAGE 2003; SANTOS et al. 2014).

Contudo, alguns países, principalmente os da União Europeia, baniram o uso de antibióticos, como promotores de crescimento desde 2006 (artigo nº 11 do regulamento 1831/2003) com base na premissa da precaução quanto à possível transferência de resistência antimicrobiana dos animais para os seres humanos, impactando diretamente na saúde pública. Desta forma, o uso de alternativas que modulem a fermentação no rúmen e a saúde intestinal vêm sendo estudadas, incluindo o uso de leveduras, ácidos orgânicos, extratos de plantas, probióticos, entre outros (CALSAMIGLIA et al., 2006).

Dentre as diversas alternativas, os óleos essenciais (OE) são compostos secundários de plantas, extraídos mediante destilação ou por solventes, com propriedades aromáticas, antissépticas e conservantes. Possuem ação antioxidante, anti-inflamatória e antimicrobiana que lhes confere potencial como aditivo para uso em dietas de ruminantes (CALSAMIGLIA et al., 2006; BENCHAAAR et al., 2007). Esses compostos possuem princípios ativos que podem ser utilizados, isolados ou em sinergia, conferindo-lhes diferentes modos de ação, dificultando um possível aparecimento de resistência bacteriana (ACAMOVIC & BROOKER, 2005). Simultaneamente, grande parte deles possuem status GRAS (generally recognized as safe) (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION - FDA, 2004) para consumo humano, o que favorece a aceitação dos consumidores. A inclusão de MOE em

dietas para gado de corte confinado não teve efeito no consumo de MS em comparação com controle sem aditivo (BEAUCHEMIN & MCGINN et al. 2006), reduziu a deaminação de aminoácidos em ovinos confinados (NEWBOLD et al., 2004), causou inibição das bactérias hiper produtoras de amônia (MCINTOSH et al., 2003) e aumentou o pH ruminal em dieta com teor alto de grãos (CONEGLIAN et al., 2009). Porém dados sobre OE para bovinos em pastagens são escassos na literatura.

A hipótese deste trabalho é que existe uma dose ótima da MOE (Crina ®) para bovinos em pastejo suplementados diariamente com 0,3% PC de suplemento proteico-energético, a qual otimizaria a fermentação ruminal, a digestibilidade dos nutrientes e o metabolismo de N, sem deprimir o consumo de forragens. Desta forma, objetivou-se avaliar o efeito de doses de uma MOE (Crina ®) no suplemento proteico-energético para bovinos mantidos em pastagem tropical durante a terminação, sobre o consumo, digestibilidade aparente dos nutrientes, os parâmetros ruminais, e a eficiência e crescimento microbiano.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

O projeto obteve parecer favorável da comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), da Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, protocolo 201751097119 ESALQ/USP.

O experimento foi conduzido nas instalações do Centro de Pesquisa da DSM na fazenda Caçadinha, localizada no município de Rio Brilhante/MS, durante 80 dias, no período de março a junho de 2015. A área experimental era constituída por um piquete de 2,2 ha, formado com *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés, manejada sob lotação contínua.

Foram utilizados 12 machos, com 19 meses de idade, não castrados, da raça Nelore com peso corporal inicial médio de $436 \pm 34,14$ kg, com cânulas no rúmen. Os animais foram submetidos aos protocolos sanitários de rotina do Centro de Pesquisa da DSM como vacinações e controle de ectoparasitas e endoparasitas. Os animais foram previamente suplementados nos períodos de seca e águas que antecederam este estudo.

Os tratamentos consistiram de doses de uma (MOE): Controle (0 mg), 100 mg, 200 mg e 400 mg para cada 100 kg peso corporal (PC), adicionada ao suplemento comercial (Fosbovi® Proteico-Energético 25) com 67,5% de NDT, 25%

de PB, sendo 67,5% da PB representada por nitrogênio não proteico (NNP). A MOE continha Timol, Eugenol, Vanilina e Limoneno (CRINA® Ruminants, DSM Nutritional Products Ltd). O suplemento foi previamente pesado e administrado diretamente no rúmen do animal, via fístula ruminal, na dose de 0,3% PC (matéria natural), diariamente as 10:00 horas da manhã, a fim de garantir o consumo total da dose de aditivo de cada tratamento. O experimento teve quatro períodos de 20 dias, totalizando 80 dias. Cada período foi constituído de 12 dias de adaptação e oito dias de coletas. Os animais foram pesados no início de cada período para ajuste da quantidade diária de suplemento.

A área de pastagem recebeu uma única aplicação de 60 kg N ha⁻¹ (via ureia) em 12 de março de 2015. As alturas do dossel pastejado foram tomadas em 20 pontos distintos ao longo da maior diagonal do piquete, com o uso de transparência e régua graduada em centímetros no 1º dia de cada período (FAGUNDES, 1999).

A massa de forragem foi estimada no 1º dia de cada período pelo método destrutivo, através do corte da planta a 3 cm do nível do solo, em 4 pontos do piquete, com utilização de moldura de 0,25 m x 0,25 m. As quatro amostras foram tomadas em pontos onde a altura de cada uma correspondia à altura média do dossel. As quatro amostras colhidas foram compostas, pesadas *in natura* e duas sub amostras de aproximadamente 300 g foram retiradas, uma para a determinação da matéria seca (MS) total e a outra para a determinação da composição morfológica, sendo estas últimas separadas em lâmina foliar, colmo (inclui bainha) e material senescente. As amostras foram secas em estufa a 55°C por 72 horas.

Para fins de análises bromatológicas, amostras do suplemento coletadas durante cada batida e compostas em uma única amostra e amostras do pastejo simulado, coletadas nos dias 1º, 7º e 14º de cada período também compostas em uma única amostra por período, foram secas em estufa a 55°C por 72 horas, moídas com peneira de malha de 1 mm (moinho tipo Willey) e analisadas para Matéria seca (MS), matéria mineral (MM), extrato etéreo (EE) segundo a AOAC (1990). O teor de proteína bruta (PB) foi obtido mediante combustão das amostras segundo o método Dumas, utilizando-se um auto-analizador de nitrogênio (LECO) (WILES et al., 1998). A fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina foram determinadas segundo Van soest (1991), utilizando amilase termoestável (somente para as amostras do suplemento) e sulfito de sódio. O N-FDN e o N-FDA foram determinados por método macro Kjeldahl (AOAC, 1990) após digestão das amostras

em solução detergente neutra e ácida (VAN SOEST et al., 1991). As amostras de forragens foram analisadas para nitrogênio solúvel (KRISHNAMOORTHY et al., 1982) e para nitrogênio não proteico (NNP) (LICITRA et al., 1996) para o fracionamento de proteínas de acordo com o CNCPS (SNIFFEN et al., 1992).

Nas Tabelas 1 e 2 são apresentados os dados descritivos da pastagem utilizada. Com base nos dados das Tabelas 1 e 2 fica demonstrado que os animais foram mantidos em pastagem de gramínea tropical bem manejada, com oferta de forragem e com composição morfológica favoráveis à colheita eficiente da forragem e com teores altos de PB, médios de FDN e baixos de lignina, que favorecem o processo de digestão de FDN no rúmen.

Todos os fatores mencionados acima criam condições favoráveis ao consumo elevado de forragem pelos animais em pastejo (da SILVA et al., 2006; SANTOS et al., 2014; NRBC, 2016). A oferta de forragem adequada foi mantida ao longo de todo o período experimental. A principal alteração qualitativa observada foi a redução das frações proteicas solúveis A e B1 e aumento das frações não solúveis e de média e lenta degradação ruminal B2 e B3 em função do tempo.

A ingestão de forragem foi calculada a partir da excreção fecal total e da digestibilidade dos alimentos. Durante os 17 primeiros dias de cada período, óxido de cromo previamente pesado em cápsulas de papel (5g cada cápsula) foi inserido no rúmen dos animais logo após o fornecimento do suplemento pela manhã (10h00min) e novamente à tarde (17h00min). As amostras fecais foram coletadas entre o 13º e o 17º dia de cada período, duas vezes por dia (10h00min e 17h00min) diretamente do reto dos animais (150 g por coleta) e congeladas à -20°C. Posteriormente, as amostras foram descongeladas, compostas por animal e período, secas em estufa a 55°C por 72 horas, e moídas com peneira de malha de 1 mm (moinho tipo Willey).

As amostras de fezes foram analisadas para matéria seca (MS) segundo a AOAC (1990). O teor de proteína bruta (PB) foi obtido mediante combustão das amostras segundo o método Dumas, utilizando-se um auto-analizador de nitrogênio (LECO) (WILES et al., 1998). A fibra em detergente neutro (FDN) foi determinada segundo Van Soest et al. (1991), em equipamento analisador de fibra Ankom200® utilizando amilase termoestável e sulfito de sódio.

As digestibilidades aparentes da MS, MO, PB e FDN das dietas foram estimadas utilizando os valores individuais de consumo, excreção fecal total e da concentração dos nutrientes nos alimentos e fezes.

As análises de cromo foram realizadas no laboratório multiusuário em produção vegetal do Departamento de Produção Vegetal da ESALQ/USP. As amostras foram irradiadas usando o espectrômetro de fluorescência de raios X por dispersão de energia (modelo EDX-720 Shimadzu) de acordo com Wastowski et al. (2010).

A excreção fecal total com o marcador externo foi calculada dividindo a quantidade do marcador administrado pela concentração do marcador nas fezes. Para a determinação de consumo de forragem foi utilizado o marcador interno FDNi. A contribuição fecal proveniente do concentrado foi determinada como sendo a quantidade de concentrado oferecida no período da avaliação, multiplicada por sua indigestibilidade. Do valor obtido da excreção fecal total foi descontada a contribuição do concentrado e o valor obtido foi dividido pelo resíduo indigestível das fezes (FDNi). O FDNi foi determinado de acordo com Krizsan & Huhtanen (2013).

No 18º dia foram realizadas as coletas de urina, obtendo-se amostras “spot” durante micção espontânea dos animais, aproximadamente quatro horas após o fornecimento dos suplementos, para determinação dos derivados de purina e cálculo da síntese microbiana. As sub-amostras de urina (10 mL) foram acidificadas (pH <3,0) utilizando 40 mL de H₂SO₄ 0,072N e armazenadas a -20°C conforme descrito por Broderick e Reynal (2009).

No 19º dia foram realizadas as coletas de líquido ruminal imediatamente antes da suplementação e 2, 4, 6 e 8 horas após o fornecimento do suplemento (10h00min, 12h00min, 14h00min, 16h00min e 18h00min, respectivamente). As amostras foram tomadas diretamente pela fístula ruminal, através de sonda ligeiramente flexível (DANÉS et al., 2013). A coleta foi composta por três pontos (retículo, saco ventral cranial e saco ventral caudal) de acordo com Gonçalves (2003) e o material coletado foi filtrado em uma camada tripla de gaze. O pH ruminal foi medido imediatamente após a coleta e foram tomadas duas alíquotas de 50 mL. Na primeira alíquota foi adicionado 1 mL de ácido sulfúrico (1:1), acondicionada em frasco de plástico com tampa de polietileno, identificada e congelada a -20°C para análises posteriores de N-NH₃ (nitrogênio amoniacal). A segunda alíquota de 50 mL foi acondicionada em frasco de plástico com tampa de polietileno, identificada e

congelada a -20°C para análises posteriores de AGCC. Ao término do período experimental as amostras de fluido ruminal foram descongeladas à temperatura ambiente, centrifugadas (15.000 g, 4°C , 30 min) e analisados para AGCC utilizando cromatografia gasosa (PALMQUIST, CONRAD, 1971) e N-NH_3 por colorimetria, pelo método de reação hipoclorito-fenol, segundo método proposto por Chaney e Marbach (1962).

As análises de purina foram realizadas pelo laboratório de Bioquímica e Fisiologia Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP). As análises das concentrações dos parâmetros Creatinina e Ácido Úrico foram realizadas por meio de kits comerciais (Bioclin® e CELM®) que utilizam método enzimático colorimétrico de ponto final e cinético, sendo a leitura realizada em analisador automático de bioquímica (Sistema de Bioquímica Automático SBA-200 - CELM®). A análise das concentrações do parâmetro Alantoína foram realizadas por meio de metodologia descrita por Young and Conway (1942), citada por Chen e Gomes (1992).

Para cálculos de síntese microbiana, a concentração de creatinina foi utilizada para estimar o volume total de urina. Após o cálculo de volume urinário e tendo as concentrações de alantoína e ácido úrico, foi calculada a excreção diária de derivados de purina de acordo com Chen e Gomes (1992).

O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino triplo 4×4 , com 3 animais por tratamento por período. Todas as variáveis foram analisadas pelo PROC MIXED do pacote estatístico STATISCAL ANALYSIS SYSTEM – SAS (2003), adotando-se as características do modelo específico para cada variável. As médias foram calculadas pelo LSMEANS e o efeito do tratamento foi avaliado pelos contrastes polinomiais ortogonais (avaliação dos efeitos lineares, quadráticos e cúbicos) considerando nível de significância a 10%. Obrigatoriamente, todos os conjuntos de dados foram testados antes da análise geral final com a intenção de assegurar que todas as premissas testadas da análise de variância (aditividades do modelo, independência dos erros, normalidade dos dados e homocedasticidade) estivessem sendo respeitadas.

2.3 RESULTADOS

A suplementação com MOE não teve efeito ($P>0,10$) sobre o consumo e a digestibilidade aparente da MS, MO, FDN e PB da dieta (Tabela 3).

Na Tabela 4 são apresentados os dados de fermentação ruminal. A suplementação com MOE não teve efeito ($P>0,10$) sobre a concentração de AGCC totais, sobre as proporções molares de acetato, propionato, butirato, isobutirato, isovalerato, relação C2:C3 e sobre a concentração de N-NH₃ no rúmen. Houve efeito quadrático ($P<0,10$) na proporção molar de valerato ruminal.

Os picos máximos de N-NH₃ nas 4 doses ocorreram duas horas após o fornecimento do suplemento proteico-energético, com quedas contínuas até 6 a 8 horas após a suplementação (Figura 2). Os valores mínimos observados foram entre 3 e 4 mg/dL no tempo 0 com os valores máximos ao redor de 23 mg/dL duas horas após o fornecimento do suplemento.

O pH ruminal aumentou de forma linear ($P<0,10$) com as doses de MOE entre 0 e 400 mg/100 kg PC. Os valores médios de pH ruminal variaram de 6,6 no tratamento controle a 6,72 no tratamento 400 mg/100 kg PC (Tabela 4). Os maiores valores de pH ruminal nos 4 tratamentos ocorreram duas horas após o fornecimento do suplemento proteico-energético, com quedas contínuas até 6 a 8 horas após a suplementação (Figura 1), acompanhando o padrão de concentração de N-NH₃. Apesar da variação de até 0,6 unidades de pH, o valor mínimo observado esteve sempre acima de 6,38 para todos os tratamentos.

A suplementação com MOE não teve efeito ($P>0,10$) sobre o consumo, excreção e absorção de nitrogênio, síntese de proteína microbiana e eficiência microbiana (Tabela 5).

2.4 DISCUSSÃO

Estudos *in vivo* e *in vitro* têm sido conduzidos para avaliar o impacto dos OE no metabolismo e no desempenho de ruminantes, mas os resultados têm sido inconsistentes, em virtude da grande diversidade de OE, das suas proporções nas misturas de OE, da dose do produto, da composição da dieta e do tipo de animal (MOLERO et al., 2004; NEWBOLD et al., 2004; CARDOZO et al. 2004; BEAUCHEMIN & MCGINN, 2006; BENCHAAR et al. 2006; CASTILLEJOS et al., 2006; KUNG et al., 2008; MEYER et al., 2009; YANG et al., 2010a, 2010b; BENCHAAR et al., 2012; GERACI et al., 2012; VAKILI et al., 2013; PATRA & YU, 2014; CASTRO-MONTOYA et al., 2015; KHORRAMI et al., 2015; TOMKINS et al., 2015; RIVAROLI et al., 2016; CHAGAS et al 2014; MESCHIATTI et al., 2016).

Diversos autores têm relatado ausência de efeito de MOE (CRINA® Ruminants, DSM Nutritional Products Ltd., Suíça) sobre o CMS de bovinos confinados (BEAUCHEMIN & MCGINN, 2006; BENCHAAAR et al. 2006; MEYER et al., 2009). Outros estudos também observaram que tanto o OE e a MOE não afetaram o CMS de bovinos tais como eugenol (YANG et al., 2010b) e timol ou cinemaldeído (VAKILI et al., 2013; KORRAMI et al., 2015). Nas comparações com OE ou MOE a monensina normalmente reduz o CMS de bovinos em confinamento (MEYER et al., 2009; CHAGAS et al., 2012a; MESCHIATTI et al. 2016). Dados sobre OE para bovinos em pastagens são escassos na literatura. Tomkins et al. (2015) não observaram efeito de MOE (CRINA® Ruminants, DSM Nutritional Products Ltd., Suíça) no consumo de bovinos alimentados com feno de gramínea (Rhodes) de média a baixa qualidade, assim como relatado no presente estudo (Tabela 3) com bovinos mantidos em pastagens de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés. Em virtude da ausência de efeito de doses da MOE no CMS e dos animais terem pastejados em grupo a mesma área de pasto, o consumo de nutrientes também não diferiu entre os tratamentos.

A ausência de efeito de MOE na digestibilidade dos nutrientes no presente estudo também tem sido observada por outros pesquisadores. No estudo de metabolismo com bovinos canulados no rúmen, Meschiatti et al. (2016) reportaram ausência de efeito de MOE (CRINA® Ruminants, DSM Nutritional Products Ltd., Suíça) na digestibilidade da MS da dieta em comparação com monensina. Chagas et al. (2012a) não observaram efeito negativo de MOE (ácido ricinoleico + ácido anacárdico; ESSENTIAL®) assim como Khorrami et al. (2015) não observaram efeito negativo de timol e de cinemaldeído na digestibilidade dos nutrientes no trato digestivo total. Yang et al. (2010b) não reportaram efeito negativo de Eugenol na degradação ruminal e digestibilidade aparente no trato digestivo total da MO e do amido. Entretanto, a digestibilidade da FDN foi reduzida linearmente por níveis crescentes de Eugenol. Beauchemin & McGinn (2006) relataram efeito negativo de MOE (CRINA® Ruminants, DSM Nutritional Products Ltd., Suíça) na digestibilidade de nutrientes no trato digestivo total de bovinos. Yang et al. (2010a) relataram efeito negativo de níveis altos (>400mg/d) de cinemaldeído na digestibilidade da MO, FDN e N tanto no rúmen quanto no trato digestivo total de bovinos.

No presente estudo a suplementação com MOE indicou ausência de efeito na degradação de proteínas e deaminação de aminoácidos. Estes resultados diferem

da maioria dos estudos revisados. Em estudos “*in vitro*” foi reportado efeito positivo da MOE (CRINA® Ruminants, DSM Nutritional Products Ltd., Suíça) (MCINTOSH et al., 2003; CASTILLEJOS et al., 2006) e de Vanilina (PRATA & YU, 2014) na redução da degradação ruminal da proteína, especialmente na deaminação de aminoácidos. Em estudos “*in vivo*” também foi reportado efeito positivo da MOE (CRINA® Ruminants, DSM Nutritional Products Ltd., Suíça) (MOLERO et al., 2004; NEWBOLD, et al. 2004), da MOE contendo Cinamaldeído, Eugenol e Capsicum (GERACI et al., 2012) e de OE como Eugenol (YANG et al., 2010b) na redução da degradação ruminal da proteína, especialmente na deaminação de aminoácidos. Meschiatti et al (2016) reportaram redução na concentração ruminal de N-NH₃ com suplementação de MOE (CRINA® Ruminants, DSM Nutritional Products Ltd., Suíça) em combinação com amilase em comparação com monensina.

O efeito positivo da MOE no pH ruminal médio, que variou de 6,60 a 6,72, difere da maioria dos estudos revisados com bovinos confinados, nos quais o pH ruminal médio não foi alterado pela suplementação com OE ou MOE (MEYER et al., 2009; YANG et al., 2010a; YANG et al., 2010b; GERACY et al., 2012; VALKILI et al., 2013; KHORRAMI et al., 2015; TOMKINS et al. 2015; CHAGAS et al., 2014; MESCHIATTI et al., 2016). Não há explicação razoável para o efeito positivo da MOE no pH ruminal de bovinos em pastagens, especialmente quando se analisa a não alteração nas concentrações de AGCC totais e de N-NH₃ no fluido ruminal. Apesar da variação entre tratamentos, os valores de pH ruminal estiveram sempre acima de 6,30 (Figura 1) e a curva de pH ruminal acompanhou a curva de N-NH₃, ambas com maior valor ao redor de 2 horas após o fornecimento do suplemento proteico-energético.

Assim como no presente estudo, na literatura revisada de modo geral a suplementação com OE não afetou a concentração de AGCC totais. A concentração molar de AGCC totais não foi alterada em 10 dos 12 estudos revisados “*in vivo*” e “*in vitro*” (NEWBOLD et al., 2004; BEAUCHEMIN & MCGINN, 2006; YANG et al., 2010a, 2010b; GERACI et al., 2012; LI et al., 2013; VAKILI et at., 2013; KHORRAMI et al., 2015; TOMKINS et al., 2015; CHAGAS et al. 2012b). Apenas Castillejos et al. (2007) e Meyer et al. (2009) observaram efeito positivo de MOE na concentração de AGCC totais.

Com relação às proporções molares de acetato, propionato e butirato, há certa inconsistência dos resultados. A proporção molar de acetato foi aumentada por MOE ou OE em 2 estudos (CASTILLEJOS et al., 2007; MEYER et al., 2009), reduzida em

3 estudos (VAKILI et al., 2013; YANG et al., 2010b; LI et al., 2013) e não afetada nos demais 7 estudos (NEWBOLD et al., 2004; BEAUCHEMIN & MCGINN, 2006; YANG et al., 2010a; GERACI et al., 2012; KHORRAMI et al., 2015; TOMKINS et al., 2015; CHAGAS et al. 2012b). A proporção molar de propionato foi aumentada por MOE ou OE em 3 estudos (VAKILI et al., 2013; Li et al., 2013; KHORRAMI et al., 2015), reduzida em 1 (CASTILLEJOS et al., 2007) e não afetada em 8 estudos (MEYER et al., 2009; NEWBOLD et al., 2004; BEAUCHEMIN & MCGINN, 2006; YANG et al., 2010a; 2010b; GERACI et al., 2012;; TOMKINS et al., 2015; CHAGAS et al. 2012b). A proporção molar de butirato foi aumentada em 2 estudos (VAKILI et al., 2013; TOMKINS et al., 2015) e reduzida em 1 (LI et al., 2013). Como pode ser observado com base nos 12 estudos acima revisados, de modo geral as MOE e os OE estudados não apresentaram efeito consistente na fermentação ruminal de bovinos alimentados tanto com dietas altas em concentrado quanto em forragem.

Em virtude da ausência de efeito da MOE no consumo de nutrientes (Tabela 3), nos parâmetros de fermentação ruminal (Tabela 4) e na digestibilidade dos nutrientes (Tabela 3), não seria de se esperar efeito significativo no metabolismo de N (Tabela 5). A suplementação com MOE não afetou o consumo, a excreção fecal e a absorção de N, assim como a eficiência de síntese e a produção microbiana. Benchaar et al. (2006) também não observaram efeito de MOE no metabolismo de N de bovinos confinados.

2.5 CONCLUSÃO

O fornecimento de MOE (CRINA® Ruminants, DSM Nutritional Products Ltd) para animais em pastagens tropicais de boa qualidade, recebendo 0,3% PC de suplemento proteico-energético não melhora o metabolismo de nutrientes no trato digestivo.

REFERÊNCIAS

ACAMOVIC, T.; BROOKER, J. D. 2005. Biochemistry of plant secondary metabolites and their effects in animals. **The proceedings of the Nutrition Society**, Cambridge, v. 64, n. 3, p. 403-412.

AOAC. 1990. **Official Methods of Analysis**. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists International, Arlington, VA.

BEAUCHEMIN, K.A., MCGINN, S.M., 2006. Methane emissions from beef cattle: effects of fumaric acid, essential oil, and canola oil. **Journal of Animal Science**.84, 1489–1496.

BENCHAAAR, C., H. V. PETIT, R. BERTHIAUME, D. R. OUELLET, J. CHIQUETTE, AND P. Y. CHOUINARD. 2007. Effects of essential oils on digestion, ruminal fermentation, rumen microbial populations, milk production, and milk composition in dairy cows fed alfalfa or corn silage. **Journal of Dairy Science**. 90:886–897.

BENCHAAAR, C., H. V. PETIT, R. BERTHIAUME, T. D. WHYTE, AND P. Y. CHOUINARD. 2006. Effects of addition of essential oils and monensin premix on digestion, ruminal fermentation, milk production, and milk composition in dairy cows. **Journal of Dairy Science**. 89:4352–4364.

BENCHAAAR, C., J. L. DUYNISVELD, AND E. CHARMLEY. 2006a. Effects of monensin and increasing dose levels of a mixture of essential oil compounds on intake, digestion and growth performance of beef cattle. **Canadian Journal of Animal Science** .86:91–96.

BENCHAAAR, C., MCALLISTER, T. A., CHOUINARD, P. Y., 2008. Digestion, ruminal fermentation, ciliate protozoal populations, and milk production from dairy cows fed cinnamaldehyde, quebracho condensed tannin, or Yucca schidigera saponin extracts. **Journal of Dairy Science**. 91, 4765–4777.

BENCHAAAR, C.; ROMERO-PÉREZ G.A.; CHOUINARD P.Y.; HASSANAT F.; EUGENE M.; PETIT H.V.; CÔRTEZ C. Supplementation of increasing amounts of linseed oil to dairy cows fed total mixed rations: effects on digestion, ruminal fermentation characteristics, protozoal populations, and milk fatty acid composition. **Jornal Dairy Science** 2012 Aug; 95(8): 4578-90.

BRODERICK, G. A. AND S. M. REYNAL 2009. Effect of source of rumen-degraded protein on production and ruminal metabolism in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science** 92(6): 2822-2834.

CALSAMIGLIA, S., CASTILLEJOS, L., BUSQUET, M. Alternatives to antimicrobial growth promoters in cattle.in: P.C. Garnsworthy, J. Wiseman (Eds.) **Recent Advances in Animal Nutrition**. Nottingham University Press, Nottingham, UK; 2006:129–167.

CARDOZO, P. W., S. CALSAMIGLIA, A. FERRET, AND C. KAMEL. 2004. Effects of plant extracts on ruminal protein degradation and fermentation profiles in continuous culture. **Journal of Animal Science**.82:3230–3236.

CARDOZO, P. W.; S. CALSAMIGLIA, FERRET, A. 2006. Effect of essential oil active compounds on rumen microbial fermentation and nutrient flow in in vitro systems. **Journal of Dairy Science** 89(7): 2649-2658.

CARDOZO, P. W., CALSAMIGLIA, S., FERRET, A., LOSA, R., 2007. Effects of dose and adaptation time of a specific blend of essential oils compounds on rumen fermentation. **Animal Feed Science and Technology** 132, 186–201.

CHAGAS, L. J.; SANTOS, M. G. M. F.; MELO, A. H. F.; DOREA, J. R. R.; COSTA, D. F. A.; SANTOS, F. A. P. 2014. Feeding monensin or essential oils in high corn or byproducts finishing diets for Nellore bulls. In: **Joint Annual Meeting of ASAS**, Kansas City. Proceedings of the Joint Annual Meeting of ASAS p. 15.

CHAGAS, L. J.; MARQUES, R. S.; SITTA, C.; MARTINS, C. G.; DE GOUVEA, V.N.; SOUZA, J.; BATISTEL, F.; SANTOS, F. A. P. 2012a. Feeding monensin, functional oils and combination of feed additives in high by-products finishing diets for Nellore bulls. In: **Joint Annual Meeting of ASAS**, 2012, Phoenix. Proceedings of the Joint Annual Meeting of ASAS.

CHAGAS, L. J.; MARQUES, R. S.; SITTA, C.; MARTINS, C. G.; DE GOUVEA, V.N.; SOUZA, J.; BATISTEL, F.; SANTOS, F. A. P. 2012b. Feeding monensin or functional oils in high corn finishing diets for Nellore bulls. In: **Joint Annual Meeting of ASAS**, 2012, Phoenix. Proceedings of the Joint Annual Meeting of ASAS.

CHANEY, A.L.; MARBACH, E.P. 1962. Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clinical Chemistry*, Glendale, v. 8, p. 130-137.

CHEN, X.B.; GOMES, M.J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives: an overview of technical details. Aberdeen: Rowett Research Institute; **International Feed Research Unit**, 1992. 21 p.

COUNCIL OF THE EUROPEAN UNION. Council regulation on the authorization of the additive avilamycin in feedingstuffs, 2003. Disponível em: <http://register.consilium.eu.int/pdf/en/03/st06/st06120en03.pdf>. Acesso em: 15 de julho 2018.

DANÉS, M.A.C.; CHAGAS, L.J.; PEDROSO, A.M.; SANTOS, F.A.P. Effect of protein supplementation on milk production and metabolism of dairy cows grazing tropical grass. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 96, p. 407-419, 2013.

GERACI, J. L.; GARCIARENA, A. D.; GAGLIOSTRO, G. A.; BEAUCHEMIN, K. A.; COLOMBATTO, D. 2012. Plants extract containing cinnamaldehyde, eugenol and capsicum oleoresin added to feedlot cattle diets: Ruminant environment, short term intake pattern and animal performance. **Animal Feed Science and Technology**, v.176, p.123-130.

GONÇALVES, A. L.; BOMFIM, M. A. D.; RODRIGUES, M. T.; HENRIQUE, D. S. 2003. Avaliação de duas diferentes técnicas de coleta de fluido ruminal caprino para a determinação de pH, amônia e AGVS. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40.,. Santa Maria, RS. Otimizando a produção animal: **Anais**. Santa Maria: Sociedade Brasileira de Zootecnia. 5 f. 1 CD ROM.

KHORRAMI B.; VAKILI, A.R.; MESGARAN, M.D. et al. 2015. Thyme and cinnamon essential oils: Potential alternatives for monensin as a rumen modifier in beef production systems. **Animal Feed Science and Technology**, v.200, p.8-16.

KRISHNAMOORTHY, U., T. V. MUSCATO, C.J. SNIFFEN, P.J. VAN SOEST; 1982. Nitrogen Fractions in Selected Feedstuffs. **Journal of Dairy Science** 65(2): 217-225.

KRIZSAN, S. J. AND P. HUHTANEN, 2013. Effect of diet composition and incubation time on feed indigestible neutral detergent fiber concentration in dairy cows. **Journal of Dairy Science** 96(3): 1715-1726.

KUNG L.JR., WILLIAMS, P.; SCHMIDT, R.J.; HU, W. 2008. A Blend of Essential Plant Oils Used as an Additive to Alter Silage Fermentation or Used as a Feed Additive for Lactating Dairy Cows. **Journal Dairy Science** 91:4793–4800.

LI Y. L., C. LI, K. A. BEAUCHEMIN AND W. Z. YANG; 2013. Effects of a commercial blend of essential oils and monensin in a high-grain diet containing wheat distillers' grains on in vitro fermentation. **Canadian Journal of Animal Science** 93(3): 387-398.

LICITRA, G., T. M. HERNANDEZ, ET AL; VANSOEST P. J.. 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology** 57(4): 347-358.

MCINTOSH, F. M., P. WILLIAMS, R. LOSA, R. J. WALLACE, D. A. BEEVER, AND C. J. NEWBOLD. 2003. Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism. **Applied and Environmental Microbiology**. 69:5011–5014.

MESCHIATTI, M. A. P. PELLARIN, L. A., BATALHA, C. D. A., ACEDO, T. S., TAMASSIA, L. F. M., CORTINHAS, C. S., GOUVEA, V. N. D., SANTOS, F. A. P., DOREA J. R. 2016. Effects of essential oils and exogenous enzymes on intake, digestibility, and rumen fermentation in finishing Nellore cattle. **Journal of Animal Science**, Volume 94, Issue suppl 5, 1 October 2016, Pages 759.

MEYER, N.F., ERICKSON, G.E., KLOPFENSTEIN, T.J., GREENQUIST, M.A., LUEBBE, M.K., WILLIAMS, P., ENGSTROM, M.A., 2009. Effect of essential oils, tylosin and monensin on finishing steer performance, carcass characteristics, liver abscesses, ruminal fermentation and digestibility. **Journal of Animal Science**.87, 2346–2354.

MOLERO, R., IBARA, M., CALSAMIGLIA, S., FERRET, A., LOSA, R., 2004. Effects of a specific blend of essential oil compounds on dry matter and crude protein degradability in heifers fed diets with different forage to concentrate ratios. **Animal Feed Science and Technology** 114, 91–104

NEWBOLD, C.J., MCINTOSH, F.M., WILLIAMS, P., LOSA, R., WALLACE, R.J., 2004. Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. **Animal Feed Science and Technology**. 114, 105–112.

NICODEMO, M. L. F., 2001. **Uso de aditivos na dieta de bovinos de corte**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte. 54 p. (doc. ISSN 1517-3747, 106).

PALMQUIST, D. L. AND H. R. CONRAD; 1971. Origin of Plasma Fatty Acids in Lactating Cows Fed High Grain or High Fat Diets. **Journal of Dairy Science** 54(7): 1025.

PATRA, A. K. AND Z. T. YU 2014. Effects of vanillin, quillaja saponin, and essential oils on in vitro fermentation and protein-degrading microorganisms of the rumen. **Applied Microbiology and Biotechnology** 98(2): 897-905.

PEREIRA, L.C.; CARNEIRO, A.L.P.; ITAVO, L.C.V.; MATEUS, R.G.; MESSIAS, E.A.; SILVA, A.F.; LIMA, R.O.; MARTINS, J.V.S.; WANDERLEY, A.M. 2017. Desempenho e viabilidade econômica de novilhos em semi confinamento a pasto no Pantanal. **Pubvet – Medicina veterinária e zootecnia**. v.11, n.9, p.940-946.

RIVAROLI D.C.; GUERRERO A.; VELANDIA VALERO M.; ZAWADZKI F.; EIRAS C.E.; CAMPO M.D.M.; SAÑUDO C.; MENDES JORGE A.; NUNES DO PRADO I. Effect of essential oils on meat and fat qualities of crossbred young bulls finished in feedlots. **Meat Science**. 2016. Nov. 121:278-284.

SANTOS, F.AP., DÓREA J.R.R.; SOUZA, J.; BATISTEL. F.; COSTA, D.F.A. Forage management and methods to improve nutrient intake in grazing cattle. In: Florida Ruminant Nutrition Symposium, 25., 2014, Gainesville. **Proceedings...**[S.I.; s. n.], p. 144-165.

DA SILVA, J. F. C. BERCHIELLI, T.T.; OLIVEIRA, S.G.; PIRES, A.V. Mecanismos reguladores de consumo. In: **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 583, cap. 3, p. 57 - 78.

SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 70, p. 3562-3577, 1992.

TOMKINS, N. W., S. E. DENMAN, ET AL. 2015. Manipulating rumen fermentation and methanogenesis using an essential oil and monensin in beef cattle fed a tropical grass hay. **Animal Feed Science and Technology** 200: 25-34.

VAKILI, A.R.; KHORRAMI, B.; DANESH, M.; PARAND, E. 2013. The effects of thyme and cinnamon essential oils on performance, rumen fermentation and blood metabolites. in Holstein calves consuming high concentrate diet The Asian-Australasian. **Journal Animal Science**, v.26, p.935-944.

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

WALLACE, R. J., N. R. MCEWAN, ET AL., 2002. Natural products as manipulators of rumen fermentation. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences** 15(10): 1458-1468.

YANG, W. Z., AMETAJ, B. N., BENCHAAR, C., & BEAUCHEMIN, K. A., 2010a. Dose response to cinnamaldehyde supplementation in growing beef heifers: ruminal and intestinal digestion. **Journal of Animal Science**, 88(2), 680-688.

YANG, W.Z., BENCHAAR, C., AMETAJ, B.N., BEAUCHEMIN, K.A., 2010b. Dose response to eugenol supplementation in growing beef cattle, ruminal fermentation and intestinal digestion. **Animal Feed Science and Technology** 158, 57–64.

YOUNG, E. G. and CONWAY, C.F., 1942. On the estimation of allantoin by the Rimini-Schryver reaction. **Journal of Biological Chemistry** , 142:839-852.

WASTOWSKI, A. D. et al.; 2010. Caracterização dos Níveis de Elementos Químicos em Solo, Submetidos a diferentes Sistemas de uso e manejo, utilizando Espectrometria de Fluorescência de Raios-X por Energia Dispersiva (EDXRF)'. In: Química Nova. São Paulo/BRA: SBQ

WILES, P.G.; GRAY, K.; KISSLING, R. C. 1998. Routine analysis of proteins by kjeldahl and Dumas methods: review and inter laboratory study using dairy products. **Journal of AOAC International**, v. 81, n.3, p.620-632.

ANEXOS

Tabela 1. Caracterização estrutural e composição morfológica da *Brachiaria Brizantha* cv. Xaraés durante o período experimental.

	Períodos				Média
	27/03	17/04	08/05	29/05	
Altura, cm	21,5	18,9	19	19	19,6
Massa de forragem, kg.ha ⁻¹	4972	4365	4877	3003	4304
Folha, kg.ha ⁻¹	1973	1565	1681	1161	1595
Haste, kg.ha ⁻¹	1547	1587	1585	868	1397
Material Morto, kg.ha ⁻¹	1452	1213	1611	974	1312
Folha, %MS	39,68	35,86	34,46	38,66	37,16
Haste, %MS	31,11	36,36	32,51	28,89	32,22
Material Morto, %MS	29,21	27,78	33,03	32,45	30,62
Folha: Haste	1,28	0,99	1,06	1,34	1,16

Tabela 2. Composição bromatológica e fracionamento da proteína e dos carboidratos do *Brachiaria Brizantha* cv. Xaraés durante o período de abril a junho de 2015.

	27/03	17/04	08/05	29/06	Média	Suplemento
MO ¹	91,45	90,93	90,27	90,15	90,70	86,77
MM ¹	8,55	9,07	9,73	9,85	9,30	13,23
PB ¹	14,74	11,76	15,53	14,07	14,03	26,14
FDN ¹	55,64	63,94	65,76	63,32	62,17	10,65
FDA ¹	26,52	30,42	33,72	31,09	30,44	3,07
LIG ¹	1,57	2,29	2,39	2,34	2,15	0,81
EE ¹	2,58	2,19	2,60	2,66	2,51	1,92
Fração proteica						
A, %PB	5,72	7,36	5,47	6,01	6,14	
B1, %PB	34,62	32,35	13,22	8,11	22,08	
B2, %PB	45,72	37,08	52,24	56,15	47,80	
B3, %PB	6,72	14,28	20,17	23,13	16,08	
C, %PB	7,21	8,93	8,89	6,60	7,91	
Fração dos carboidratos						
CHOT, %MS	73,91	76,85	72,15	73,34	74,06	
A+B1, %CHOt	22,51	13,33	7,27	11,84	13,74	
B2, %CHOt	72,39	79,52	84,78	80,50	79,30	
C, %CHOt	5,10	7,15	7,95	7,66	6,96	

¹=% da matéria seca; MM= matéria mineral; PB= proteína bruta; FDN= fibra em detergente neutro; FDA= fibra em detergente ácido; LIG= lignina; EE= extrato etéreo.

Tabela 3. Valores médios dos consumos de MS total (CMSt), forragem (CMSf), matéria orgânica (CMO), matéria seca digestível (CMSD), fibra em detergente neutro (CFDN), matéria orgânica digestível (CMOD), proteína (CPB) e a digestibilidade aparente da matéria seca (DMS), matéria orgânica (DMO), fibra em detergente neutro (DFDN) e da proteína (DPB) da dieta.

Item	Nível de MOE ² , mg/100 kg PC				EPM	L	Contrastes	
	0	100	200	400			Q	C
	Kg/animal/dia							
CMSt	9,91	9,86	9,46	9,48	0,466	0,448	0,789	0,708
CMSf	8,67	8,60	8,22	8,21	0,452	0,417	0,789	0,732
CMO	8,94	8,90	8,54	8,56	0,423	0,450	0,792	0,708
CMSD	6,37	6,56	6,23	6,18	0,358	0,559	0,895	0,576
CFDN	5,49	5,48	5,20	5,23	0,290	0,435	0,779	0,668
CPB	1,54	1,55	1,48	1,47	0,092	0,498	0,945	0,671
CMOD	5,82	5,98	5,68	5,61	0,326	0,515	0,883	0,592
	% Peso Corporal							
CMSt	2,16	2,13	2,03	2,01	0,105	0,269	0,754	0,767
CMSf	1,89	1,85	1,76	1,76	0,105	0,297	0,764	0,761
CMO	1,95	1,92	1,83	1,81	0,096	0,269	0,755	0,747
CMSD	1,39	1,41	1,34	1,31	0,084	0,384	0,959	0,655
CFDN	1,23	1,21	1,15	1,13	0,057	0,200	0,779	0,769
CPB	0,34	0,34	0,32	0,32	0,020	0,337	0,958	0,770
CMOD	1,27	1,29	1,21	1,19	0,077	0,362	0,960	0,647
	Digestibilidade da dieta							
DMS, %	62,97	65,18	64,27	63,53	1,340	0,983	0,342	0,478
DMO, %	65,69	67,89	67,13	66,09	1,255	0,917	0,258	0,498
DFDN, %	59,10	61,57	60,60	59,45	1,770	0,894	0,375	0,565
DPB, %	70,01	72,63	70,01	70,46	2,161	0,880	0,767	0,370

¹EPM=Erro padrão da média; ²MOE= Mistura de óleos essenciais; ³Valores de P para efeito Níveis (N), aditivos (A), interação (N*A).

Figura 1. Variação do pH ruminal ao longo do dia em função das doses de MOE.

Tabela 4. Valores médios do pH, N-NH₃ ruminal, e perfil dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) em função dos níveis de MOE na suplementação.

Item	Nível de MOE ⁴ , mg/100 kg PC				Contrastes ⁵			EPM
	0	100	200	400	L	Q	C	
pH ruminal	6,60	6,65	6,70	6,72	0,005	0,947	0,238	0,055
N-NH ₃ ¹	14,84	13,84	14,32	14,21	0,680	0,531	0,425	1,519
AGCC total ²	56,76	63,32	60,60	59,62	0,758	0,209	0,266	5,291
Ác. Acético ³	69,35	70,13	69,99	69,54	0,998	0,056	0,410	0,831
Ac. Propiônico ³	17,60	17,25	17,09	17,39	0,650	0,155	0,976	0,481
Ac. Isobutírico ³	0,84	0,81	0,87	0,86	0,203	0,829	0,038	0,032
Ac. Butírico ³	10,10	9,79	10,08	10,06	0,830	0,667	0,314	0,341
Ac. Isovalérico ³	1,13	1,09	1,18	1,18	0,124	0,887	0,152	0,077
Ac. Valérico ³	0,79	0,76	0,79	0,82	0,022	0,0860	0,177	0,042
C2:C3 ³	3,96	4,10	4,11	4,01	0,761	0,069	0,717	0,150

¹: mg dL; ²:mM; ³:mol/100 mol; ⁴MOE= Mistura de óleos essenciais; ⁵=Valores de P dos contrastes (L= Linear, Q= Quadrático, C= Cúbico).

Figura 2. Variação da concentração de N-NH_3 ruminal ao longo do dia em função das doses de MOE.

Tabela 5. Efeito do nível de suplementação de MOE no N ingerido, N excretado (urina), N excretado (fezes), N absorvido, síntese microbiana, e eficiência microbiana.

Item	Nível de MOE ² , mg/100 kg PC				Contrastes ³			EPM
	0	100	200	400	L	Q	C	
N fezes, g/dia	71,43	67,01	67,33	66,95	0,405	0,492	0,661	3,20
N ingerido, g/dia	250,72	253,42	240,63	239,83	0,508	0,936	0,665	15,17
N absorvido, g/dia	179,12	186,65	172,95	172,67	0,582	0,940	0,541	13,58
Síntese microbiana, g/dia	525,82	405,84	510,2	483,32	0,968	0,691	0,266	77,91
Eficiência microbiana ¹	93,45	117,50	114,05	116,58	0,634	0,674	0,755	28,01

¹= g Proteína microbiana/kg MOD; EPM=Erro padrão da média, ²MOE= Mistura de óleos essenciais; ³=Valores de P dos contrastes (L= Linear, Q= Quadrático, C= Cúbico).

3 INTERAÇÕES ENTRE ADITIVOS (MONENSINA SÓDICA X MISTURA DE ÓLEOS ESSENCIAIS E α -AMILASE EXÓGENA) E DOSES DE SUPLEMENTO (1,0 X 1,5% DO PV) PARA BOVINOS TERMINADOS EM PASTAGENS

Resumo

Objetivou-se avaliar a inclusão de uma mistura de óleos essenciais (MOE+AM) composta por Timol, Eugenol, Vanilina e Limoneno (Crina®) combinado com α -amilase exógena sobre o consumo de forragem e total, digestibilidade aparente dos nutrientes, parâmetros ruminais e o crescimento microbiano. Foram utilizados oito bovinos, machos não castrados da raça Nelore com $481,8 \pm 28,2$ kg de peso corporal inicial médio (PCI), dispostos em 2 Quadrados Latinos 4 X 4. Foram avaliados 2 aditivos, monensina sódica (Rumensin®) e MOE+AM (Crina®) combinado com α -amilase exógena para bovinos na fase de terminação em pasto com dois níveis de suplementação (1% x 1,5% do PC). Os tratamentos testados foram: T1) monensina + 1% do PC; T2) monensina + 1,5% do PC; T3) MOE+AM + 1,0% do PC; T4) MOE+AM + 1,5% do PC de suplemento proteico energético. Os animais foram alocados em um piquete de 2.2 ha de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés, sob lotação contínua. As análises estatísticas foram conduzidas com a utilização do programa estatístico SAS. Houve interação entre aditivo e nível de suplemento para todas as variáveis de consumo (kg e %PC) avaliadas ($P < 0,10$). A suplementação com 1,5% do PC aumentou o CMSt, o CMO, CMSD e o CMOD dos animais suplementados com monensina, mas não nos animais suplementados com MOE+AM. Na presença de MOE+AM o nível alto de suplementação (1,5% do PC) causou redução no CMS de forragem e consequentemente no consumo de FDN. As digestibilidades da MS e da PB foram maiores nas dietas com nível de suplementação de 1,5% do PC que nas de 1% do PC ($P < 0,10$) independente do aditivo fornecido. As digestibilidades da MS, MO, FDN e PB foram maiores nas dietas contendo monensina em comparação com MOE+AM, independentemente do nível de suplemento fornecido. A suplementação com MOE+AM resultou em menor pH ruminal, maior concentração molar de AGCC e maior proporção molar de C2 que a monensina ($P < 0,10$). A suplementação com 1,5% do PC reduziu o pH ruminal, a proporção molar de C2, e aumentou a concentração ruminal de N-NH₃, a concentração molar de AGCC e a proporção molar de valerato ($P < 0,10$). Houve interação ($P < 0,10$) entre nível de suplemento e aditivo para a proporção molar de C3, de isobutírico, de isovalérico e para a relação C2:C3. Tanto a monensina quanto o nível alto (1,5% PC) de suplementação aumentaram a proporção molar de C3, entretanto, não houve diferença entre os tratamentos monensina + 1,0% PC e MOE+AM + 1,5% PC. A relação C2:C3 foi reduzida tanto pela monensina quanto pelo nível de suplementação de 1,5% PC, entretanto, o efeito da monensina só ocorreu em combinação com suplementação a 1,0% PC. A suplementação com MOE+AM aumentou ($P < 0,10$) a eficiência e a produção de proteína microbiana em comparação com a monensina, enquanto o nível de suplementação não teve efeito ($P > 0,10$) sobre esses parâmetros. Em conclusão, para animais em pastagens tropicais de boa qualidade, o nível de suplementação entre 1 e 1,5% PC interage com a fonte de aditivo e o aumento na ingestão de energia com nível alto de suplementação ocorre em presença de monensina mas não de MOE+AM. A Monensina e MOE+AM estabelecem padrões de fermentação ruminal distintos, com valores de pH ruminal e proporções molares de propionato mais altos com

monensina e com concentrações de AGCC, de acetato, eficiência e síntese microbiana mais altos com MOE+AM.

Palavra-chave: Forragem tropical; Terminação; Fermentação ruminal; crescimento microbiano

Abstract

The objective of this study was to investigate the effects of the inclusion of a mixture of essential oils composed of Timol, Eugenol, Vanillin and Limonene (EOM; Crina®) combined with exogenous α -amylase in supplements for grazing beef cattle on forage intake, total dry matter intake, apparent digestibility of nutrients, ruminal parameters and microbial growth. Eight Nellore bulls with IBW of 481.8 ± 28.2 kg, were allotted to two 4 x 4 Latin Squares. Two feed additives, monensin (Rumensin®) and EOM (Crina®) combined with exogenous α -amylase, were compared for grazing cattle fed an energy-protein supplement at 1.0 or 1.5% of BW (AF). Treatments were: M+1%, M+1.5%, OEM+AM +1.0% and OEM+AM +1.5%. The animals grazed a 2.2 ha paddock of *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés, under continuous stocking. Statistical analyzes were performed using the SAS statistical program. There was interaction between feed additive and supplement level for all consumption variables (kg and% BW) evaluated ($P < 0.10$). Supplementation with 1.5% of BW increased DMI, OMI, DDMI and DOMI of animals supplemented with monensin, but not in animals supplemented with EOM+AM. In the presence of EOM+AM, the high level of supplementation (1.5% of CP) caused a reduction in forage DMI and consequently in the consumption of NDF. The digestibilities of DM and CP were greater for cattle supplemented at 1.5% of BW than at 1.0% of BW ($P < 0.10$) regardless of the feed additive. The digestibilities of DM, OM, NDF and CP were greater in diets containing monensin compared to EOM+AM, regardless of the supplement level provided. The supplementation with EOM+AM resulted in lower ruminal pH, greater molar concentration of total VFA and greater molar proportion of C2 than monensin ($P < 0.10$). Feeding supplement at 1.5% of BW decreased rumen pH, molar proportion of C2, and increased the concentration of rumen N-NH₃, total VFA and the molar proportion of valerate ($P < 0.10$). There was interaction ($P < 0.10$) between feed additive and level of supplement for molar proportion of C3, isobutyrate, isovalerate and for the C2:C3 ratio. Both monensin and the high level of supplement (1.50% of BW) increased ruminal proportion of C3, however, there was no difference between the treatments monensin + 1.0% of BW and EOM+AM + 1.5% of BW. The ratio C2:C3 was decreased by both monensin and supplement fed at 1.50% of BW, however, the monensin effect occurred only when combined with supplement fed at 1.0% of BW. The EOM+AM increased ($P < 0.10$) the efficiency and production of microbial protein compared with monensin, while the level of supplement had no effect ($P > 0.10$) on those parameters. In conclusion, for cattle grazing tropical forage of good quality, the level of supplementation between 1.0 and 1.5% of BW interacts with monensin and EOM+AM. Feeding supplement at 1.5% of BW increases energy intake (CMSD and CMOD) when monensin is fed, but not when EOM+AM is fed. Monensin and EOM+AM establish different rumen fermentation patterns, with monensin causing greater values of rumen pH and of molar proportions of C3, and MOE causing greater molar concentrations of VFA, C2, microbial efficiency and yield.

Keywords: Tropical forage; Finishing; Ruminal fermentation; Microbial growth

3.1 INTRODUÇÃO

Mais de 90% dos bovinos abatidos no Brasil são terminados em pastagens (ANUALPEC, 2016). No intuito de aumentar a produtividade desse sistema de terminação, de abater animais jovens, com maior peso e acabamento de carcaça, nutricionistas têm recomendado e produtores têm adotado cada vez mais a suplementação com alimentos concentrados em níveis que variam normalmente de 0,8 a 2,0% do PC (base seca) (PAULINO, et al., 2006, BOMFIM et al., 2001; REIS et al., 2011; RESENDE et al., 2014).

Sistemas exclusivos de pastagens impõem limitações no desempenho animal, quanto ao ganho de peso diário, peso final de carcaça à idade jovem e quanto ao grau de acabamento da carcaça (PAULINO et al., 2006). A suplementação com concentrado proteico-energético nas doses entre 0,8 a 1,5% do PC tem permitido GPD da ordem de 1,137 a 1,409 kg/cabeça para bovinos terminados em pastagens (RESTLE et al., 1999; BOMFIM et al., 2001; RESENDE et al., 2014; PAULINO, et al., 2006, 2002; BARONI, 2007; MENDEIROS et al., 2009; SILVA, 2009; SOUZA, 2011; REIS et al., 2011; BERTI, 2013; MENDES, 2013; LIMA, 2014; SIMÕES, 2016; FERRARI, 2016) em sistemas convencionalmente denominados de semi-confinamento. Sistemas com suplementação de até 2,0% do PC também têm sido estudados (RESENDE et al., 2014).

Com o intuito de aumentar a eficiência de uso tanto da forragem quanto do suplemento fornecido, aditivos são normalmente incluídos nos suplementos para animais em terminação em pastagens (SANTOS et al., 2014). Os aditivos mais estudados para animais em pastagens têm sido os antibióticos, ionóforos e não ionóforos, com capacidade comprovada para melhorar o desempenho desses animais (PAGE, 2003). O efeito positivo desses antibióticos é resultado da combinação de vários fatores promovidos por esses aditivos: a) maior eficiência fermentativa do rúmen, com aumento na proporção molar de propionato e redução das perdas energéticas via metano, b) redução na produção de lactato ruminal, contribuindo para redução da incidência de acidose, c) redução na deaminação de aminoácidos e maior aporte destes nutrientes para o intestino delgado, d) redução da ocorrência de timpanismo, e) efeito coccidicida.

Em virtude da política que foi adotada por países desenvolvidos, principalmente da União Europeia, de banir o uso de antibióticos como promotores de crescimento na produção animal, tem crescido o interesse por aditivos alternativos, dentre eles os óleos essenciais (OE) ou mistura de OE (MOE) (CALSAMIGLIA et al., 2007). Os primeiros dados com OE como moduladores da fermentação ruminal datam da década de 50 (CRANE et al., 1957) quando foram demonstrados os efeitos dos OE sobre a fermentação ruminal, verificando que alguns desses óleos eram capazes de reduzir a formação de metano. Em diversos estudos “*in vitro*” foi reportado efeito positivo da MOE (MCINTOSH et al., 2003; CASTILLEJOS et al., 2007) e de Vanilina (PRATA & YU, 2014) na redução da degradação ruminal da proteína, especialmente na deaminação de aminoácidos. O mesmo também foi observado em estudos “*in vivo*” (MOLERO et al., 2004; NEWBOLD, et al. 2004; YANG et al., 2010; GERACI et al., 2012). Como observado por Meschiatti et al., (2019) houve a redução na concentração ruminal de N-NH₃ com suplementação de MOE em combinação com amilase em comparação com a monensina.

Animais recebendo suplementos ricos em amido, nos níveis entre 1 e 1,5% do PC consomem quantidades razoáveis de amido. A inclusão de amilase na dieta pode ter efeito positivo no uso desses suplementos (ACEDO et al., 2015).

Entretanto, não foram encontrados trabalhos na literatura que avaliaram as interações entre nível de suplementação e fontes de aditivos para bovinos mantidos em pastagens durante a terminação.

A hipótese deste trabalho é que a MOE+AM para bovinos em pastejo recebendo suplemento proteico-energético em doses diárias entre 1,0 a 1,5% do PC constitui-se em alternativa à monensina como aditivo alimentar. Desta forma, estudou-se a interação entre fonte de aditivo (monensina x MOE+AM) e nível de suplementação proteico energética (1,0 x 1,5% do PC) para bovinos em pastagens na fase de terminação com relação ao consumo e a digestibilidade aparente dos nutrientes, os parâmetros ruminais, o metabolismo de N, e a eficiência o crescimento microbiano.

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

O projeto obteve parecer favorável da comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), da Universidade de São Paulo/Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, protocolo 201751097119 ESALQ/USP.

O experimento foi conduzido nas instalações do Centro de Pesquisa da Dsm Produtos Nutricionais Brasil S.A. na fazenda Caçadinha, localizada no município de Rio Brillhante/MS, durante 80 dias, de junho a setembro de 2015. A área experimental era constituída por um piquete de 2,2 ha, formado com *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés, manejado sob lotação contínua.

Foram utilizados 8 machos não castrados da raça Nelore, com 21 meses de idade e peso corporal inicial médio de $481,75 \pm 28,15$ kg, com cânulas no rúmen. Os animais foram submetidos aos protocolos sanitários de rotina do Centro de Pesquisa da DSM como vacinações e controle de ectoparasitas e endoparasitas. Os animais foram suplementados durante o período da seca e das águas que antecederam este experimento.

Os tratamentos testados foram: Suplemento proteico-energético fornecido na dose de 1% ou 1,5% do PC (base de MN) contendo monensina sódica (MON) (867 mg/kg núcleo mineral) ou MOE com α -amilase (3000 mg CRINA®/kg núcleo mineral e 18.670 mg Ronozyme Rumistar®/kg núcleo mineral, respectivamente) conforme descrito na Tabela 1. A monensina sódica utilizada foi o produto comercial (Rumensin®, Elanco Animal Health, Indianapolis, IN) e a MOE testada continha os OE Timol, Eugenol, Vanilina e Limoneno (CRINA® Ruminants, DSM Nutritional Products Ltd) em combinação com α -amilase (Ronozyme Rumistar®, DSM Nutritional Products Ltd).

Os suplementos previamente pesados foram fornecidos diariamente, diretamente no rúmen do animal, via fístula ruminal, metade da dose foi fornecida às 10h00min da manhã e a outra metade às 17h00min.

O experimento teve quatro períodos de 20 dias, totalizando 80 dias. Cada período teve 12 dias de adaptação e 8 dias de coletas. Os animais foram pesados no início de cada período para ajuste da quantidade de concentrado fornecido diariamente.

A área de pastagem recebeu uma única aplicação de 60 kg N/ha (via ureia) em 12 de março de 2015. As alturas do dossel pastejado foram tomadas em 20

pontos distintos ao longo da maior diagonal do piquete, com o uso de transparência e régua graduada em centímetros no 1º dia de cada período (FAGUNDES, 1999).

A massa de forragem foi estimada no 1º dia de cada período, pelo método destrutivo, através do corte da planta a 3 cm do nível do solo, em 4 pontos do piquete, com utilização de moldura de 0,25 m x 0,25 m. As quatro amostras foram tomadas em pontos onde a altura de cada uma correspondia à altura média do dossel. As quatro amostras colhidas foram compostas, pesadas in natura e duas sub amostras de aproximadamente 300 g foram retiradas, uma para a determinação da matéria seca (MS) da massa de forragem total e a outra para a determinação da composição morfológica, sendo estas últimas separadas em lâmina foliar, colmo (inclui bainha) e material senescente. As amostras foram armazenadas em freezer a -20°C e posteriormente foram descongeladas e secas em estufa a 55°C por 72 horas. As sub amostras para determinação da MS da massa de forragem total foram posteriormente secas segundo a AOAC (1990).

Para fins de análises bromatológicas, amostras do suplemento coletadas durante cada batida e compostas em uma única amostra e amostras do pastejo simulado, coletadas nos dias 1º, 7º e 14º de cada período também compostas em uma única amostra por período, foram secas em estufa a 55°C por 72 horas, moídas com peneira de malha de 1 mm (moinho tipo Willey) e analisadas para Matéria seca (MS), matéria mineral (MM) e estrato etéreo (EE) segundo a AOAC(1990). O teor de proteína bruta (PB) foi obtido mediante combustão das amostras segundo o método Dumas, utilizando-se um auto-analizador de nitrogênio (LECO) (WILES et al., 1998). A fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina foram determinadas segundo Van Soest (1991), utilizando amilase termoestável e sulfato de sódio. O N-FDN e o N-FDA foram determinadas por método Kjeldahl (AOAC, 1990) após digestão das amostras em solução detergente neutro e ácido respectivamente (VAN SOEST et al., 1991). As amostras de forragens foram analisadas para nitrogênio solúvel (KRISHNAMOORTHY et al., 1982) e para nitrogênio não proteico (NNP) (LICITRA et al., 1996) para o fracionamento de proteínas de acordo com o CNCPS (SNIFFEN et al., 1992). Nas Tabelas 2, 3 e 4 são apresentados os dados descritivos da pastagem e dos suplementos utilizados.

A ingestão de forragem foi calculada a partir da excreção fecal total e da digestibilidade dos alimentos. Durante os 17 primeiros dias de cada período, dióxido de titânio (TiO₂) previamente pesado em cápsulas de papel (5g cada cápsula) foi

inserido no rúmen dos animais logo após o fornecimento do suplemento pela manhã (10h00min) e novamente à tarde (17h00min). As amostras fecais foram coletadas entre o 13º e o 17º dia de cada período, duas vezes por dia (10h00min e 17h00min) diretamente do reto dos animais (150g por coleta) e congeladas à -20°C. Posteriormente, as amostras foram descongeladas, compostas por animal e período, secas em estufa a 55°C por 72 horas, e moídas com peneira de malha de 1 mm (moinho tipo Willey).

As amostras foram analisadas para matéria seca (MS) segundo a AOAC (1990). O teor de proteína bruta (PB) foi obtido mediante combustão das amostras segundo o método Dumas, utilizando-se um auto-analizador de nitrogênio (LECO) (WILES et al., 1998). A fibra em detergente neutro (FDN) foi determinada segundo Van Soest et al. (1991), em equipamento analisador de fibra Ankom200 utilizando amilase termoestável e sulfito de sódio.

As digestibilidades aparentes da MS, MO, PB e FDN presentes na dieta foram estimadas utilizando os valores individuais de consumo, excreção fecal total e da concentração dos nutrientes nos alimentos e fezes.

As análises de titânio foram realizadas no laboratório multiusuário em produção vegetal do Departamento de Produção Vegetal da ESALQ/USP. As amostras foram irradiadas usando o espectrômetro de fluorescência de raios X por dispersão de energia (modelo EDX-720 Shimadzu) de acordo com Wastowski et al. (2010).

A excreção fecal total com o marcador externo foi calculada dividindo a quantidade do marcador administrado pela a concentração do marcador nas fezes. Para a determinação de consumo de forragem foi utilizado o marcador interno FDNi. A contribuição fecal proveniente do concentrado foi determinada como sendo a quantidade de concentrado oferecida no período da avaliação, multiplicada por sua indigestibilidade. Do valor obtido da excreção fecal total foi descontada a contribuição do concentrado e o valor obtido foi dividido pelo resíduo indigestível das fezes (FDNi). O FDNi foi determinado de acordo com Krizsan & Huhtanen (2013).

No 18º dia foram realizadas as coletas de urina, obtendo-se amostras “spot” durante micção espontânea dos animais, aproximadamente quatro horas após o fornecimento dos suplementos, para determinação dos derivados de purina e cálculo da síntese microbiana. As sub-amostras de urina (10 mL) foram acidificadas (pH

<3,0) utilizando 40 mL de H_2SO_4 0,072N e armazenadas a -20°C conforme descrito por Broderick e Reynal (2009).

No 19º dia foram realizadas as coletas de líquido ruminal imediatamente antes da suplementação e 2, 4, 6 e 8 horas após o fornecimento do suplemento (10h00min, 12h00min, 14h00min, 16h00min e 18h00min, respectivamente). As amostras foram tomadas diretamente pela fístula ruminal, através de sonda ligeiramente flexível (DANÉS et al., 2013). A coleta foi composta por três pontos (retículo, saco ventral cranial e saco ventral caudal) de acordo com (GONÇALVES, 2003) e o material coletado foi filtrado em uma camada tripla de gaze.

O pH do fluido ruminal foi medido imediatamente após a coleta e duas alíquotas de 50 mL foram tomadas. A primeira alíquota foi adicionada de 1 mL de ácido sulfúrico (1:1), acondicionada em frasco de plástico com tampa de polietileno, identificada e congelada a -20°C para análises posteriores de N-NH_3 (nitrogênio amoniacal). A segunda alíquota de 50mL foi acondicionada em frasco de plástico com tampa de polietileno, identificada e congelada a -20°C para análises posteriores de AGCC. Ao término do período experimental as amostras de fluido ruminal foram descongeladas à temperatura ambiente, centrifugadas (15.000 g, 4°C , 30 min) e analisadas para AGCC utilizando cromatografia gasosa (PALMQUIST, CONRAD, 1971) e N-NH_3 por colorimetria, pelo método de reação hipoclorito-fenol, segundo método proposto por Chaney e Marbach (1962).

As análises de purina foram realizadas pelo laboratório de Bioquímica e Fisiologia Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP). As análises das concentrações dos parâmetros Creatinina e Ácido Úrico foram realizadas por meio de kits comerciais (Bioclin® e CELM®) que utilizam método enzimático colorimétrico de ponto final e cinético, sendo a leitura realizada em analisador automático de bioquímica (Sistema de Bioquímica Automático SBA-200 - CELM®). A análise das concentrações do parâmetro Alantoína foram realizadas por meio de metodologia descrita por Young e Conway (1942), citada por Chen e Gomes (1992).

Para cálculos de síntese microbiana, a concentração de creatinina foi utilizada para estimar o volume total de urina. Após o cálculo de volume urinário e tendo as concentrações de alantoína e ácido úrico, foi calculada a excreção diária de derivados de purina de acordo com Chen e Gomes (1992).

O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino duplo 4 X 4, com 2 animais por tratamento por período. Todas as variáveis foram analisadas pelo PROC MIXED do pacote estatístico STATISCAL ANALYSIS SYSTEM – SAS (2003). A análise de variância e as médias obtidas pelo método dos quadrados mínimos (LSMEANS) foram comparados pelo teste de Tukey a 10% de significância pelo procedimento proc MIXED do SAS. Obrigatoriamente, todos os conjuntos de dados foram testados antes da análise geral final, na intenção de assegurar que todas as premissas da análise de variância (aditividades do modelo, independência dos erros, normalidade dos dados e homocedasticidade) estivessem sendo respeitadas.

3.3 RESULTADOS

Na Tabela 5 são apresentados os dados de consumo e digestibilidade dos nutrientes.

Houve interação entre aditivo e nível de suplemento para todas as variáveis de consumo (kg e %PC) avaliadas ($P < 0,10$). A suplementação com 1,5% do PC aumentou o CMSt, o CMO, CMSD e o CMOD dos animais suplementados com monensina, mas não nos animais suplementados com MOE+AM. Na presença de MOE+AM o nível alto de suplementação (1,5% do PC) causou redução no CMS de forragem e consequentemente no consumo de FDN. Os animais suplementados com 1,5% do PC consumiram mais proteína comparado aos que foram suplementados com 1,0% do PC. Para os animais suplementados com 1,0% do PC a MOE+AM propiciou maior consumo de PB do que a monensina em virtude do maior CMS de forragem.

As digestibilidades da MS e da PB foram maiores nas dietas com nível de suplementação de 1,5% do PC que nas de 1% do PC ($P < 0,1$) independente do aditivo fornecido. As digestibilidades da MS, MO, FDN e PB foram maiores nas dietas contendo monensina em comparação com MOE+AM, independentemente do nível de suplemento fornecido.

Na Tabela 6 estão apresentados os resultados de fermentação ruminal.

A suplementação com MOE+AM resultou em menor pH ruminal, maior concentração molar de AGCC e maior proporção molar de C2 que a monensina ($P < 0,10$). A suplementação com 1,5% do PC reduziu o pH ruminal, a proporção molar de C2, e aumentou a concentração ruminal de N-NH₃, a concentração molar

de AGCC e a proporção molar de valerato ($P<0,10$). Houve interação ($P<0,1$) entre nível de suplemento e aditivo para a proporção molar de C3, de isobutírico, de isovalérico e para a relação C2:C3. Tanto a monensina quanto o nível alto (1,5% PC) de suplementação aumentaram a proporção molar de C3, entretanto, não houve diferença entre os tratamentos monensina + 1,0% PC e MOE+AM + 1,5% PC. A monensina aumentou a proporção molar de isobutirato e isovalerato nos animais suplementados com 1,5% do PC, mas não nos suplementados com 1,0% do PC. A relação C2:C3 foi reduzida tanto pela monensina quanto pelo nível de suplementação de 1,5% PC, entretanto, o efeito da monensina só ocorreu em combinação com suplementação a 1,0% PC.

Na Tabela 7 são apresentados os resultados de metabolismo de N e síntese microbiana.

Houve interação entre fonte de aditivo e nível de concentrado para a ingestão de N ($P<0,10$) e para a absorção de N ($P<0,10$). Houve efeito de aditivo para a excreção fecal de N ($P<0,10$), para a síntese microbiana ($P<0,10$) e para a eficiência de síntese ($P<0,10$).

A ingestão de N foi maior ($P<0,10$) nos animais suplementados com 1,5% do PC em comparação com 1% do PC, entretanto, esse efeito foi maior nos animais suplementados com monensina sódica que nos animais suplementados com MOE+AM. A quantidade de N excretado nas fezes foi maior ($P<0,01$), para os animais suplementados com MOE do que com a monensina. A suplementação com 1,5% do PC aumentou a absorção de N com ambos os aditivos testados, entretanto, a monensina sódica aumentou a absorção de N dos animais suplementados com 1,5% do PC mas não houve efeito de aditivo para os animais suplementados com 1% do PC ($P<0,10$). A suplementação com MOE+AM aumentou ($P<0,10$) eficiência e a produção de proteína microbiana em comparação com a monensina, enquanto o nível de suplementação não teve efeito ($P>0,10$) sobre esses parâmetros.

3.4 DISCUSSÃO

Diversos autores têm relatado efeito benéfico do fornecimento de nível alto de suplemento sobre o CMS total de bovinos em pastejo (RESTLE et al., 1999; BONFIM et al., 2001; BARONI, 2007; SILVA, 2009; BARONI, 2012; SIMÕES, 2016; OLIVEIRA, 2017), assim como observado no presente estudo para os animais

suplementados no nível de 1.5% do PC em comparação com 1.0% do PC. Entretanto, este efeito só ocorreu na presença de monensina, mas não quando os animais foram suplementados com MOE+AM. Na presença de monensina, aumentar o nível de suplemento de 1,0 para 1,5% do PC não afetou o consumo de forragem, ou seja, não houve efeito substitutivo adicional, ao passo que na presença de MOE+AM, houve redução significativa no consumo de forragem, indicando efeito substitutivo. Em um copilado realizado por Silva et al. (2009), foi observado que o consumo de MS de forragem foi reduzido à medida que se aumentou o nível de suplementação. Esse resultado foi semelhante ao encontrado por Oliveira (2017) ao suplementar novilhas nos níveis de 1,0% ou 1,5% do PC. Observou-se redução no tempo de pastejo de 100 min entre os tratamentos, mostrando nítida redução do consumo de forragem. Oliveira e Bonfim (2001) também observaram redução no tempo de pastejo quando novilhos foram suplementados com 0,9%, 1,2% e 1,5% do PC na terminação, sugerindo redução no consumo de forragem.

A redução no CMSf com suplementação de níveis altos de concentrado pode ocorrer em virtude de efeitos negativos no pH ruminal e consequente redução na digestão de FDN (CAREY et al., 1993). No presente estudo, a monensina sódica manteve valores de pH ruminal mais elevados que a MOE+AM, sempre acima de 6,0, assim como valores mais elevados de DFDN, DMS e DMO no trato digestivo total que a MOE+AM. A combinação de MOE+AM com suplementação de 1,5% do PC resultou em pH ruminal de 5,86, tratamento este que apresentou efeito substitutivo marcante. Apesar de reduzir o pH ruminal, a suplementação com 1,5% do PC não causou redução na DFDN e aumentou da DMS e a DP. Caton e Dhuyvetter (1997) afirmaram que alterações no pH ruminal, normalmente citadas como a principal causa da redução de consumo de forragem e da digestão da fibra, podem não estar envolvidas no processo. Nos trabalhos de Martin & Hibberd (1990), Chase & Hibberd (1987), Pordomingo et al. (1991), Carey et al. (1993), Faulkner et al. (1994), Hess et al. (1996), Elizalde et al. (1998), Bodine et al. (2003) e de Sales et al. (2008), a suplementação energética reduziu o consumo de forragem, mas em apenas 3 deles (CAREY et al., 1993; FAULKNER et al., 1994; SALES et al., 2008) houve redução no pH ruminal significativamente. Em todos os trabalhos o pH ruminal foi maior que 6,0. De acordo com Orskov (1982) e Mertens (1977), o crescimento microbiano começa a ser prejudicado apenas quando o pH ruminal cai abaixo de

6,2. As digestibilidades da forragem ou da FDN foram avaliadas em 9 dos 10 trabalhos onde houve redução no consumo de forragem com a suplementação energética e em 5 desses trabalhos houve efeito negativo nas digestibilidades. Em apenas 1 desses 5 trabalhos (CAREY et al., 1993) a suplementação energética reduziu significativamente o pH ruminal. Portanto, assim como relatado por Caton e Dhuyvetter (1997) é difícil estabelecer relação consistente entre queda de pH ruminal, redução na digestão da MS ou da FDN e redução no consumo de forragem de animais suplementados com fontes energéticas. Contudo, nesses estudos a suplementação energética não chegou a patamares de 1,5% do PC como no presente estudo.

O aumento no CMS e no CMO concomitante ao aumento na digestibilidade da MS resultou em aumento no CMSD de 27% e no CMOD de 28,5% quando os animais foram suplementados com 1,5% do PC em comparação com 1,0% do PC em presença de monensina. Quando os animais foram suplementados com MOE+AM, aumentar em 50% a dose de concentrado (1,5 x 1,0% do PC) não aumentou o CMSD e o CMOD, em virtude do efeito substitutivo marcante, que causou redução de 30,38% no CMSf e manteve os CMS e CMO inalterados.

Quando os animais foram suplementados com 1.0% do PC, os animais que consumiram dietas com MOE+AM apresentaram maior CMSt que os suplementados com monensina sódica em virtude do maior CMSf, apesar do valor mais baixo de pH ruminal com MOE+AM (6,18 x 6,07), porém ambos os valores acima de 6,0. Entretanto, os CMSD e CMOD não foram diferentes entre os aditivos testados, em virtude da menor digestibilidade dessas frações quando MOE+AM foi fornecida em comparação com a monensina sódica.

O efeito positivo da monensina sódica na digestibilidades da MS, MO, FDN e PB das dietas em comparação com a MOE+AM pode estar relacionado aos valores mais elevados de pH ruminal com esse aditivo, entretanto, essa maior digestibilidade dos nutrientes nas dietas com monensina sódica não resultou em maior concentração de AGCC em comparação com as dietas contendo MOE+AM, assim como a maior digestibilidade da PB nas dietas com monensina não afetou a concentração ruminal de N-NH₃.

A suplementação com 1,5% do PC aumentou as digestibilidades da MS e da PB em comparação com 1% do PC. O aumento na digestibilidade da MS da dieta de

animais suplementados com 1,5% do PC é consequência da maior participação de concentrado na dieta total e da maior digestibilidade de alimentos concentrados em comparação com forragens (NASEM, 2016)). Essa maior digestibilidade da MS das dietas dos animais suplementados com 1,5% do PC é corroborada pelas maiores concentrações ruminais de AGCC, maiores proporções molares de ácido propiônico, menores relações C2:C3 e valores menores de pH ruminal. As concentrações mais altas de N-NH₃ no fluido ruminal de bovinos suplementados com 1,5% do PC, deve-se primeiramente à maior ingestão de N, e em segundo lugar, provavelmente à maior digestibilidade da PB dessas dietas.

Apesar da ausência de efeito de aditivos na concentração ruminal de N-NH₃, a suplementação com MOE+AM reduziu as proporções molares de ácido isobutírico e isovalérico no rúmen, sugerindo menor deaminação de AA de cadeia ramificada com o uso desse aditivo ou maior utilização desses compostos para o crescimento microbiano. Tanto a eficiência quanto a produção de proteína microbiana foram mais altas nos animais suplementados com MOE+AM que com monensina. É difícil explicar o aumento de 29,8% em síntese microbiana com a suplementação de MOE+AM sem redução concomitante dos níveis de N-NH₃ no fluido ruminal, assim como não é possível relacionar a variação na síntese microbiana com os CMOD no presente estudo. Entretanto, nos animais suplementados com MOE+AM as concentrações molares de AGCC no rúmen foram mais elevadas e os valores de pH ruminal foram mais baixos, indicativos de processo fermentativo mais intenso no rúmen desses animais em comparação com os animais suplementados com monensina sódica.

De acordo com Orskov (1982) e Mertens (1977), o crescimento microbiano começa a ser prejudicado apenas quando o pH ruminal cai abaixo de 6,2. No presente estudo, a redução no pH ruminal de 6,18, nos animais suplementados com monensina e 1% do PC para 5,86 nos animais suplementados com MOE+AM e 1,5% do PC não foi deletéria para a eficiência de síntese microbiana, pelo contrário, houve aumento na eficiência e na produção microbiana.

Considerando os valores médios de N absorvido e de proteína microbiana produzida pelos animais nos tratamentos com monensina e com MOE+AM, e o valor de 64% de proteína metabolizável para a proteína microbiana (NRC, 1996), a

suplementação com MOE+AM aumentou a proporção de proteína microbiana na proteína metabolizável de 55,94% para 83,47% em comparação com a monensina.

3.5 CONCLUSÃO

Em conclusão, para animais em pastagens tropicais de boa qualidade, o nível de suplementação entre 1 e 1,5% PC interage com a fonte de aditivo e o aumento na ingestão de energia com nível alto de suplementação ocorre em presença de monensina mas não de MOE+AM. A Monensina e MOE+AM estabelecem padrões de fermentação ruminal distintos, com valores de pH ruminal e proporções molares de propionato mais altos com monensina e com concentrações de AGCC, de acetato, eficiência e síntese microbiana mais altos com MOE+AM.

REFERÊNCIAS

- ANUALPEC. Anuário de pecuária Brasileira. São Paulo: Informa Economics FNP, 2016. Disponível em: < <http://www.anualpec.com.br/InformaEconomicsFNP,2016> > Acesso em 11 mai. 2018.
- ACEDO, T. S., DOREA, J. R. R., CORTINHAS, C. S. 2015. O uso de enzimas exógenas na dieta de ruminantes. V Simpósio de Nutrição de ruminantes – Perspectivas de interação econômico-ambiental na produção intensiva de carne. **Anais...** 5th Brazilian ruminants nutrition conference.
- AOAC. 1990. **Official Methods of Analysis**. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists International, Arlington, VA.
- BARONI, C.E.S. Níveis de suplemento para novilhos nelore terminados a pasto na região centro-oeste durante o período da seca. Dissertação (mestrado) Universidade Federal de Viçosa. Dissertação. 82p. 2007
- BARONI, C.E.S.; LANA, R.P.; FREITAS, J.A.; MANCIO, A.B.; SVERZUT, C.B.; QUEIROZ, A.C.; LEÃO, M.I. Níveis de suplemento para novilhos nelore terminados a pasto na seca: consumo e digestibilidade. **Archivos de Zootecnia**. 61 (233): 31-41. 2012.
- BERTI, G.F.; RESENDE, F.D.; SIQUEIRA, G.R.; MORETTI, M.H.; SILVA, M.B.; FERNANDES, R.M.; ALVES, M.A.P.; GONÇALVES, P.H. Efeito de diferentes estratégias de suplementação sobre o comportamento animal durante a terminação de bovinos em pastejo. VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica 2013 Campinas, SP N.13313

BODINE, T. N., & PURVIS, H. T. Effects of supplemental energy and/or degradable intake protein on performance, grazing behavior, intake, digestibility, and fecal and blood indices by beef steers grazed on dormant native tallgrass prairie. **Journal of Animal Science**, 81(1), 2003. 304-317.

BONFIM, M.A.D.; REZENDE, C.A.P.; PAIVA, P.C.A.; ANDRADE, I.F.; MUNIZ, J.A.; SILVA, A.R.P. Níveis de concentrado na terminação de novilhos holandês x zebu suplementados a pasto na estação seca **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.25, n.6, p.1457-1466, nov./dez., 2001

BRODERICK, G. A. AND S. M. REYNAL 2009. Effect of source of rumen-degraded protein on production and ruminal metabolism in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science** 92(6): 2822-2834.

CALSAMIGLIA, S., BUSQUET, M., CARDOZO, P.W., CASTILLEJOS, L., FERRET, A., 2007. Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**. 90, 2580–2595.

CAREY, D. A.; CATON, J. S.; BIONDINI, M. Influence of energy source on forage intake, digestibility, in situ forage degradation, and ruminal fermentation in beef steers fed medium-quality brome hay. **Journal of animal science**, v. 71, n. 8, p. 2260-2269, 1993.

CASTILLEJOS L., CALSAMIGLIA, S., FERRET, A., LOSA, R., 2007. Effects of dose and adaptation time of a specific blend of essential oils compounds on rumen fermentation. **Animal Feed Science and Technology** 132, 186–201.

CATON, J. S., and D. V. DHUYVETTER. Influence of energy supplementation on grazing ruminants: requirements and responses. **Journal of Animal Science** 75.2 1997. 533-542.

CHANEY, A.L.; MARBACH, E.P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clinical Chemistry*, Glendale, v. 8, p. 130-137, 1962.

CHASE JR, C. C., AND C. A. HIBBERD. Utilization of low-quality native grass hay by beef cows fed increasing quantities of corn grain. **Journal of Animal Science** 65.2. 1987. 557-566.

CHEN, X.B.; GOMES, M.J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives: an overview of technical details. Aberdeen: Rowett Research Institute; **International Feed Research Unit**, 1992. 21 p.

CRANE, A.; NELSON, W. O.; BROWN, R. E. Effects of d-limonene and alfa-d-pinene on in-vitro carbohydrate dissimilation and methane formation by rumen bacteria. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 40, n. 10, p. 1317-1323, 1957.

DANÉS, M.A.C.; CHAGAS, L.J.; PEDROSO, A.M.; SANTOS, F.A.P. Effect of protein supplementation on milk production and metabolism of dairy cows grazing tropical grass. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 96, p. 407-419, 2013.

ELIZALDE, J. C., CREMIN JR, J. D., FAULKNER, D. B., & MERCHEN, N. R. Performance and digestion by steers grazing tall fescue and supplemented with energy and protein. **Journal of Animal Science**, 76(6), 1998. 1691-1701.

FAGUNDES, J.L.; Da SILVA, S.C; PEDREIRA, C.G.S.; CARNEVALLI, R.A.; CARVALHO, C.A.B.; SBRISSIA, A.F.; PINTO, L.F.M. Intensidades de pastejo e a composição morfológica de pastos de *Cynodon* spp. **Scientia Agricola**, v.56, n.4, p.897-908, 1999

FAULKNER, D. B., HUMMEL, D. F., BUSKIRK, D. D., BERGER, L. L., PARRETT, D. F., & CMARIK, G. F.. Performance and nutrient metabolism by nursing calves supplemented with limited or unlimited corn or soyhulls. **Journal of Animal Science**, v. 72, n. 2, p. 470-477, 1994.

FERRARI, A. C. Qualidade da carne de bovinos recriados em pastagens associada a suplementação e terminação a pasto ou no confinamento. 2016. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Jaboticabal, xv, 90 p. : il. ; 28 cm .

GERACI, J. L.; GARCIARENA, A. D.; GAGLIOSTRO, G. A.; BEAUCHEMIN, K. A.; COLOMBATTO, D. Plants extract containing cinnamaldehyde, eugenol and capsicum oleoresin added to feedlot cattle diets: Ruminal environment, short term intake pattern and animal performance. **Animal Feed Science and Technology**, v.176, p.123-130, 2012

GONÇALVES, A. L., BOMFIM, M., RODRIGUES, M. T., & HENRIQUE, D. S. Avaliação de duas diferentes técnicas de coleta de fluido ruminal caprino para a determinação de ph, amônia e AGVS. In Embrapa Caprinos e Ovinos-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria, RS. Otimizando a produção animal: **anais**. Santa Maria: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2003. 5 f. 1 CD ROM..

HESS, B. W., KRYSL, L. J., JUDKINS, M. B., HOLCOMBE, D. W., HESS, J. D., HANKS, D. R., & HUBER, S. A. Supplemental cracked corn or wheat bran for steers grazing endophyte-free fescue pasture: effects on live weight gain, nutrient quality, forage intake, particulate and fluid kinetics, ruminal fermentation, and digestion. **Journal of Animal Science**, 74(5), 1996. 1116-1125.

KRISHNAMOORTHY, U., T. V. MUSCATO, C.J. SNIFFEN, P.J. VAN SOEST; 1982. Nitrogen Fractions in Selected Feedstuffs. **Journal of Dairy Science** 65(2): 217-225.

KRIZSAN, S. J. AND P. HUHTANEN, 2013. Effect of diet composition and incubation time on feed indigestible neutral detergent fiber concentration in dairy cows. **Journal of Dairy Science** 96(3): 1715-1726.

LICITRA, G., T. M. HERNANDEZ, ET AL; VANSOEST P. J.. 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology** 57(4): 347-358.

LIMA, Beatriz da Silva. Suplementação de alto consumo na terminação de tourinhos Nelore em pastagem de b. brizantha cv. Marandu. 2014 Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Jaboticabal, xi, 71 p. : il. ; 28 cm.

MARTIN, S. K., AND C. A. HIBBERD. Intake and digestibility of low-quality native grass hay by beef cows supplemented with graded levels of soybean hulls. **Journal of Animal Science** 68.12. 1990. 4319-4325.

MCINTOSH, F.M., WILLIAMS, P., LOSA, R., WALLACE, R.J., BEEVER, D.A., NEWBOLD, C.J., 2003. Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism. **Applied and Environmental Microbiology**. 69, 5011–5014.

MEDEIROS, F. S., OSPINA PATINO, H., CANO, M. A. S., ROCHA, D. C., & DIAZ GONZALEZ, F. H. Desempenho e características de carcaça de novilhos terminados em pastagem de aveia preta e azevém anual com diferentes níveis de suplementação energética. **Ciência rural, Santa Maria**. Vol. 40, n. 1. 2010. p. 141-148.

MENDES, F.B.L. Níveis de suplementação em dietas de novilhos terminados em pastagens. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Itapetinga-BA: UESB, 93f. 2013.

MERTENS, D. R. Dietary fiber components: relationship to the rate and extent of ruminal digestion. In: **Federation Proceedings**. 1977. p. 187-192.

MESCHIATTI, M. A., GOUVÊA, V. N., PELLARIN, L. A., BATALHA, C. D., BIEHL, M. V., ACEDO, T. S., DÓREA J. R. R., TAMASSIA L. F. M. , OWENS F. N. , SANTOS F. A. P. 2019. Feeding the combination of essential oils and exogenous α -amylase increases performance and carcass production of finishing beef cattle. **Journal of Animal Science**, 97(1), 456-471.

MOLERO, R., IBARA, M., CALSAMIGLIA, S., FERRET, A., LOSA, R., 2004. Effects of a specific blend of essential oil compounds on dry matter and crude protein degradability in heifers fed diets with different forage to concentrate ratios. **Animal Feed Science and Technology** 114, 91–104

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requirements for beef cattle, 7.ed. Washington, D.C.:National Academic Press, National Academy of Science, 1996

NATIONAL ACADEMIES OF SCIENCES, ENGINEERING AND MEDICINE - nutrient requirements of beef cattle. 2016. 8th rev. ed. The National Academies Press, Washington, DC.

NEWBOLD, C.J., MCINTOSH, F.M., WILLIAMS, P., LOSA, R., WALLACE, R.J., 2004. Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. **Animal Feed Science and Technology** 114, 105–112.

OLIVEIRA, A. S., VALADARES, R. F. D., VALADARES FILHO, S. C. Et, al. Consumo, digestibilidade aparente, produção e composição do leite em vacas alimentadas com quatro níveis de compostos nitrogenados não protéicos. **Revista Brasileira de zootecnia**, 30(4): p. 1358-1366. 2001.

OLIVEIRA, R.A.; Suplementação de novilhas na recria e erminação. Dissertação: Universidade Federal do tocantins – Campos Universitário de Araguaina. Araguaina, TO, 2017

ORSKOV, E.R. Protein nutrition in ruminants. New York: **Academic Press**, 1982. 162 p.

PAGE, S. W. The role of enteric antibiotics in livestock production. Australia: Avcare Limited, 2003. 337 p.

PALMQUIST, D. L. AND H. R. CONRAD; 1971. Origin of Plasma Fatty Acids in Lactating Cows Fed High Grain or High Fat Diets. **Journal of Dairy Science** 54(7): 1025.

PATRA, A. K. AND Z. T. YU 2014. Effects of vanillin, quillaja saponin, and essential oils on in vitro fermentation and protein-degrading microorganisms of the rúmen. **Applied Microbiology and Biotechnology** 98(2): 897-905.

PAULINO, M. F., DETMANN, E., VALADARES FILHO, S. D. C., & LANA, R. D. P.; 2002. Soja grão e caroço de algodão em suplementos múltiplos para terminação de bovinos mestiços em pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 31(1), 484-491.

PAULINO, M.F.; MORAES, E.H.B.K.; ZERVOUDAKIS, J.Y.; ALEXANDRINO, E.; FIGUEREDO, D.M. Terminação de novilhos mestiços leiteiros sob pastejo, no período das águas, recebendo suplementação com soja. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n.1, p. 154-158, 2006.

PORDOMINGO, A. J.; WALLACE, J.D.; FREEMAN, A.S. AND GALYEAN, M.L. Supplemental corn grain for steers grazing native rangeland during summer. **Journal of Animal Science**, v. 69, n. 4, p. 1678-1687, 1991.

REIS, R. A.; OLIVEIRA, A. A.; SIQUEIRA, G. R.; GATTO, E. Semi – confinamento para produção intensiva de bovinos de corte. 2011. I SIMBOV – I Simpósio Matogrossense de bovinocultura de corte

RESENDE F. D.; MORETTI M. H.; NETO J. A. A.; LIMA B. S.; SIQUEIRA G. R.. Nível de oferta de suplemento na terminação de bovinos a pasto. VI Congresso Latino-Americano de Nutrição Animal, 2014 Estância de São Pedro, SP. CBNA

RESTLE, J.; SOARES, A.B.; FERREIRA, M.V.B.; BRONDANI, I.L.; CALÇA, K.G. Suplementação associada com lasalocida para novilhos em terminação em pastagem cultivada de inverno. **Ciência Rural**, Santa Maria, ISSN 0103-8478. v. 29, n. 3, p. 555-559, 1999.

SALES, M. F. L., PAULINO, M. F., PORTO, M. O., VALADARES FILHO, S. C., ACEDO, T. S., & COUTO, V. R. M. Níveis de energia em suplementos múltiplos para terminação de novilhos em pastagem de capim-braquiária no período de transição águas-seca. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 37(4), 2008. 724-733.

SALLES, M.S.V.; LUCCI, C.S. Monensina para bezerros ruminantes em crescimento acelerado. 2. Digestibilidade e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.2, p.582- 588, 2000.

SANTOS, F. A. P. 2014. Aditivos para bovinos de corte e leite. ESALQ/USP, Piracicaba, SP. VI Congresso Latino-Americano de Nutrição Animal, Estância de São Pedro, SP. CBNA

SAS INSTITUTE. 2003. SAS/STAT 9.1 User's Guide. Version 9.1 ed. SAS Inst. Inc., Cary, NC.

SILVA, F.F.; SÁ, J.F.; SCHIO, A.R.; ITAVO, L.C.V.; SILVA, R.R.; MATEUS, R.G. Suplementação a pasto: disponibilidade e qualidade x níveis de suplementação x desempenho **Revista Brasileira Zootecnia**, v.38, p.371-389, 2009

SIMÕES, R.R.; Terminação de cordeiros da raça corriedale em pastagem cultivada de azevém (*lolium multiflorum lam.*) com diferentes níveis de suplementação com farelo de arroz integral. *Dissertação* (mestrado) Universidade Federal de Santa Maria. 90p. 2016

SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 70, p. 3562-3577, 1992.

SOUZA, C.E.; Desempenho de bovinos nelore terminados em sistema de semiconfinamento em pasto de brachiaria brizantha cv. Marandu. *Dissertação*: Universidade de Brasília. Brasília DF, 2011

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

WASTOWSKI, A. D. et al. Caracterização dos Níveis de Elementos Químicos em Solo, Submetidos a diferentes Sistemas de uso e manejo, utilizando Espectrometria de Fluorescência de Raios-X por Energia Dispersiva (EDXRF)'. 2010. In: Química Nova. São Paulo/BRA: SBQ

WILES, P.G.; GRAY, K.; KISSLING, R. C. Routine analysis of proteins by kjeldahl and Dumas methods: review and inter laboratory study using dairy products. **Journal of AOAC International**, v. 81, n.3, p.620-632, 1998.

YANG, W.Z., BENCHAAR, C., AMETAJ, B.N., BEAUCHEMIN, K.A., 2010. Dose response to eugenol supplementation in growing beef cattle, ruminal fermentation and intestinal digestion. **Animal Feed Science and Technology** 158, 57–64.

YOUNG, E. G. and CONWAY, C.F., 1942. On the estimation of allantoin by the Rimini-Schryver reaction. **Journal of Biological Chemistry** , 142:839-852.

ANEXOS

Tabela 1. Proporção dos ingredientes e composição química dos concentrados fornecidos.

Ingredientes ¹	Monensina		MOE+AM ²	
	1%	1,5%	1%	1,5%
Milho moído ¹	75,47	77,22	74,39	76,40
Farelo de Soja ¹	18,21	18,03	18,18	18,01
Ureia ¹	1,86	1,40	1,86	1,40
Mineral (Monensina) ¹	4,46	3,35	-	-
Mineral (Crina RumiStar) ¹	-	-	5,57	4,19
Total ¹	100,00	100,00	100,00	100,00

¹= %MS da dieta; ²MOE+AM= Mistura de óleos essenciais combinado com α -amilase.

Tabela 2. Caracterização estrutural e composição morfológica da *Brachiaria Brizantha* cv. Xaraés durante o período experimental.

Períodos	30/06	20/07	9/08	29/08	Média
Altura, cm	34,5	32,0	32,5	29,3	32,1
Massa de forragem, kg ha ⁻¹	8289	7740	7574	7388	7748
Folha, %MS	2854	2419	2393	2281	2487
Haste, %MS	2435	2669	2812	2597	2628
Material Morto, %MS	3000	3201	3084	3411	3174
Folha, kg ha ⁻¹	34,42	29,18	28,86	27,52	30,00
Haste, kg ha ⁻¹	29,38	32,19	33,92	31,32	31,71
Material Morto, kg ha ⁻¹	36,19	38,61	37,20	41,15	38,29
Folha: Haste	1,17	0,91	0,85	0,88	0,95

Tabela 3. Composição bromatológica e fracionamento da *Brachiaria Brizantha* cv. *Xaraés* durante o período de junho a agosto de 2015.

Período	30/06	20/07	9/08	29/08	Média
MO, %MS	89,51	88,84	88,99	89,28	89,15
MM, %MS	10,49	11,16	11,01	10,72	10,85
PB, %MS	12,07	11,94	12,21	10,99	11,80
FDN, %MS	64,23	62,04	58,50	61,44	61,55
FDA, %MS	31,38	30,17	28,46	30,18	30,05
LIG, %MS	2,57	2,31	1,94	2,37	2,30
EE, %MS	2,31	1,84	2,50	2,28	2,23
Fração proteica					
A ²	6,25	7,36	7,19	7,91	7,18
B1 ²	41,56	20,62	30,22	20,73	28,28
B2 ²	33,28	42,60	46,39	44,37	41,66
B3 ²	12,69	23,54	11,11	18,61	16,49
C ²	6,22	5,89	5,10	8,38	6,39
Fração dos carboidratos					
CHOT, %MS	75,13	75,06	74,28	76,01	75,12
A+B1 ³	6,44	10,11	15,09	11,82	10,86
B2 ³	85,35	82,51	78,65	80,69	81,80
C ³	8,21	7,39	6,27	7,48	7,34

Tabela 4. Composição química dos concentrados.

	Monensina		MOE+AM ²		Média
	1%	1,5%	1%	1,5%	
MO, %MS	93,41	94,13	93,26	93,71	93,63
MM, %MS	6,59	5,87	6,74	6,29	6,37
PB, %MS	19,17	19,69	17,57	18,50	18,73
FDN, %MS	15,12	14,93	14,27	14,08	14,60
FDA, %MS	4,24	3,92	4,79	4,16	4,28
LIG, %MS	0,48	0,23	0,63	0,51	0,46
EE, %MS	4,00	3,92	3,92	4,12	3,99

¹= Ingredientes em % da Matéria seca; MM= matéria mineral; PB= proteína bruta; FDN= fibra em detergente neutro; FDA= fibra em detergente ácido; LIG= lignina; EE= extrato etéreo; ²MOE+AM= Mistura de óleos essenciais combinado com α -amilase.

Tabela 5. Efeito do Aditivo, nível de suplementação e interação sobre o consumo de MS total (CMSt), forragem (CMSf), Matéria orgânica (CMO), matéria seca digestível (CMSD), fibra em detergente neutro (CFDN), proteína (CPB), Matéria orgânica digestível (CMOD) e a digestibilidade aparente da matéria seca (DMS), matéria orgânica (DMO), fibra em detergente neutro (DFDN) e na proteína (DPB) da dieta.

Item	Monensina		MOE+AM ²		EPM ¹	Valor de P ³		
	1%	1,5%	1%	1,5%		A	N	N*A
kg/animal/dia								
CMSt	9,08b	11,24a	10,6a	10,66a	0,451	0,198	0,005	0,007
CMSf	4,61b	4,41b	5,76a	4,01b	0,391	0,239	0,005	0,023
CMO	8,20b	10,31a	9,64b	9,93b	0,408	0,105	0,001	0,008
CMSD	5,80c	7,37a	6,07bc	6,44b	0,441	0,190	0,001	0,021
CFDN	3,67b	3,78b	4,36a	3,35b	0,223	0,541	0,047	0,016
CPB	1,49c	1,85a	1,71b	1,85a	0,052	0,028	<,001	0,023
CMOD	5,39b	6,93a	5,74b	6,24ab	0362	0,443	0,001	0,027
% Peso Corporal								
CMStAs	1,82b	2,21a	2,09a	2,12a	0,081	0,220	0,008	0,019
CMSf	0,92b	0,87b	1,20a	0,77b	0,081	0,237	0,003	0,018
CMSD	1,14c	1,45a	1,18bc	1,26b	0,138	0,101	<,001	0,025
CFDN	0,73b	0,75b	0,86a	0,67b	0,065	0,554	0,064	0,032
CPB	0,30c	0,36a	0,33b	0,36a	0,367	0,051	<,001	0,056
Digestibilidade da dieta								
DMS, %	63,72	65,93	57,19	60,39	2,743	0,001	0,085	0,743
DMO, %	66,17	67,93	59,76	62,43	2,755	0,001	0,169	0,772
DFDN, %	44,55	42,11	38,88	33,47	3,727	0,015	0,161	0,589
DPB, %	74,11	75,45	68,29	70,78	2,817	<,001	0,077	0,583

¹EPM=Erro padrão da média; ²MOE+AM= Mistura de óleos essenciais combinado com α -amilase; ³Valores de P para efeito Níveis de suplemento (N), aditivos (A), interação (N*A).

Tabela 6. Efeito do Aditivo, nível de suplementação e interação sobre o pH, Amônia ruminal e perfil de ácido graxo de cadeia curta (AGCC).

Item	Monensina		MOE+AM ¹		EPM	Valor de P ²		
	1%	1,5%	1%	1,5%		A	N	A*N
pH ruminal	6,18	6,01	6,07	5,86	0,070	0,004	<,001	0,673
Amônia ruminal, mg dL	11,43	14,87	13,18	14,50	1,373	0,438	<,002	0,119
AGCC total, mM	72,51	79,98	87,10	106,00	10,182	<,001	<,001	0,123
Ác. Acético, mol/100 mol	65,36	62,27	67,06	63,40	0,929	0,001	<,001	0,496
Ác. Propionico, mol/100 mol	21,66b	23,64a	18,62c	22,65b	1,121	<,001	<,001	0,012
Ác. Isobutírico, mol/100 mol	0,87a	0,90a	0,87ab	0,82b	0,111	0,039	0,717	0,041
Ác. Butírico, mol/100 mol	9,75	10,28	10,33	10,36	0,818	0,162	0,253	0,299
Ác. Isovalérico, mol/100 mol	0,85b	0,88a	0,84ab	0,80b	0,086	0,007	0,970	0,044
Ác. Valérico, mol/100 mol	0,95	1,11	0,98	1,10	0,088	0,767	<,001	0,376
C2:C3	3,05b	2,75c	3,60a	2,91bc	0,172	<,001	<,001	0,006

¹MOE+AM= Mistura de óleos essenciais combinado com α -amilase; ²Valores de P para efeito Níveis de suplemento (N), aditivos (A) e interação (N*A).

Tabela 7. Efeito do Aditivo, nível de suplementação e interação sobre o consumo, excreção, crescimento microbiano e eficiência microbiana.

Item	Monensina		MOE+AM ²		EPM	Valor de P ³		
	1%	1,5%	1%	1,5%		A	N	A*N
N ingerido, g/dia	222,44c	295,63a	241,73b	276,70a	9,694	0,979	<,001	0,012
N fezes, g/dia	85,95	97,57	114,95	113,26	7,302	<,001	0,352	0,217
N absorvido, g/dia	136,49c	197,18a	126,77c	163,44b	9,588	0,003	<,001	0,077
Síntese microbiana,g/dia	978,90	844,00	1192,10	1173,50	125,36	0,045	0,552	0,651
Eficiência microbiana ¹	165,90	112,50	225,20	193,30	27,111	0,012	0,110	0,678

¹= g Proteína microbiana/kg MOD; EPM=Erro padrão da média. ²MOE+AM= Mistura de óleos essenciais combinado com α -amilase.; ³=Valores de P para efeito Níveis (N), aditivos (A), interação (N*A).