UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

LAURA BRANCO TOSETI

Efeitos de diferentes aditivos e fontes de volumosos na dieta de bovinos confinados

Pirassununga

2020

LAURA BRANCO TOSETI

Efeitos de diferentes aditivos e fontes de volumosos na dieta de bovinos confinados

Tese apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Zootecnia do programa de Qualidade e Produtividade Animal.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Orientador: Prof. Dr. Saulo da Luz e Silva
Coorientador: Rodrigo Silva Goulart

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

T714e Toseti, Laura Branco
 Efeitos de diferentes aditivos e fontes de
volumosos na dieta de bovinos confinados / Laura
Branco Toseti ; orientador Saulo Luz Silva ;
coorientador Rodrigo Silva Goulart. --
Pirassununga, 2020.
91 f.

 Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia
de Alimentos, Universidade de São Paulo.

 1. bagaço de cana-de-açúcar. 2. enzima. 3.
metabolismo ruminal. 4. óleo essencial. 5. silagem
de milho. I. Silva, Saulo Luz, orient. II. Goulart,
Rodrigo Silva, coorient. III. Título.

DEDICATÓRIA

A minha família e namorado pela dedicação, apoio, confiança, compreensão e amor depositados a mim.

Aos meus verdadeiros amigos que sempre estiveram presentes.

AGRADECIMENTOS

À Deus por me proporcionar tantas oportunidades e conquistas.

Ao meu pai Júlio, pelo esforço e apoio que sempre me permitiu ir em busca dos meus ideais. A minha, mãe Marcia, pela preocupação de sempre e palavras de carinho e motivação nas horas difíceis. Ao meu irmão Leonardo por toda compreensão e fraternidade. Ao meu namorado, Samuel pelo apoio, compreensão, motivação e carinho.

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, pela oportunidade de realização do curso de Doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal Nível Superior (CAPES), pelo financiamento do curso, sem a qual não seria possível a realização desta etapa.

Ao Professor Dr. Paulo Leme pela oportunidade de ingresso no Programa de Doutorado.

Ao meu orientador Professor Dr. Saulo da Luz e Silva pela paciência e confiança em meu trabalho, por todo apoio, ensinamentos e conselhos nas horas difíceis. Sempre muito educado, generoso e justo, contribuiu de forma ímpar para a minha formação pessoal e profissional. Sou muito grata a tudo que fez e tenho muito orgulho de ter sido sua orientada.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Rodrigo Goulart, por toda ajuda, compreensão e ensinamentos.

A todos os professores que tive oportunidade de aprender durante essa etapa.

A todos os funcionários que sempre estiveram dando o apoio necessário para a realização do experimento. Um agradecimento especial ao Dione e Ricardinho.

Aos meus amigos pessoais, Aska, Mariane, Bruna, Emanuel, Gabriela, Juan e Daniel que sempre estiveram presentes nas horas difíceis durante estes anos.

Aos meus estagiários que sempre se dedicaram para a realização de todas as tarefas necessárias.

À DSM Produtos Nutricionais, pela parceria profissional. Um agradecimento especial ao Thiago, Vinícius e Guilherme pela oportunidade de trabalho.

EPIÍGRAFE

“Que todos os nossos esforços estejam sempre focados no desafio à impossibilidade. Todas as grandes conquistas humanas vieram daquilo que parecia impossível”
(Charles Chaplin)

RESUMO

TOSETI, L. B. Efeitos de diferentes aditivos e fontes de volumosos na dieta de bovinos confinados. 2020. 91 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2020.

Dois experimentos foram conduzidos para avaliar os efeitos de aditivos alimentares e fontes de volumoso no desempenho, características de carcaça, qualidade da carne e digestibilidade aparente do trato total de terminação de touros. In Exp. 1, 88 touros Nelore foram utilizados em delineamento em blocos casualizados em arranjo fatorial 2×2 , para avaliar os efeitos da alimentação com monensina sódica (MON; 26 mg / kg MS) ou da combinação de uma mistura de óleos essenciais + α exógeno -amilase (BEO + AM; 90 e 560 mg / kg de MS, respectivamente de produto comercial) associada à silagem de milho (SM) ou cana-de-açúcar bagaço (BC) no desempenho, carcaça e qualidade da carne de bovinos em terminação. Touros alimentados com dieta baseada em SM tiveram maior ingestão de matéria seca (CMS; $P < 0,001$), ganho médio diário (GMD; $P = 0,015$), peso corporal final ($P = 0,049$), peso de carcaça ($P = 0,004$), rendimento de carcaça ($P = 0,008$), e área de olho de lombo ($P = 0,035$), entretanto, uma maior eficiência alimentar (E: A) foi observado para animais alimentados com BC ($P = 0,016$). Nenhum efeito da fonte de volumoso foi observado para espessura de gordura, amido fecal ou qualidade da carne. A alimentação de BEO + AM aumentou o GMD ($P = 0,043$), o peso corporal final ($P = 0,023$), o peso da carcaça ($P = 0,023$) e diminuiu o amido fecal ($P = 0,013$) em comparação com os animais alimentados com MON, sem diferenças no CMS e E:A. Os aditivos alimentares não afetaram a carcaça nem a maioria das características de qualidade da carne. In Exp. 2, oito bovinos Nelore canulados no rúmen foram utilizados em um delineamento em quadrado latino 4×4 replicado para avaliar a digestibilidade aparente dos nutrientes, as características de fermentação ruminal e a síntese de proteína microbiana ruminal das dietas utilizadas no Exp. 1. A fonte de volumoso não afetou o consumo nem a digestibilidade aparente do trato total da maioria dos nutrientes, exceto para a digestibilidade da proteína bruta ($P = 0,003$), que foi maior para SM do que para os animais alimentados com BC. Maior concentração de acetato ($P < 0,001$) e relação acetato: propionato ($P = 0,001$), e menor propionato ($P = 0,001$) foram observados em animais alimentados com SM. A fonte de forrageira não afetou a concentração de derivados de purina nem a síntese de nitrogênio microbiano. Os animais alimentados com BEO + AM apresentaram menores concentrações de acetato ($P = 0,036$) e nitrogênio amoniacal ($P = 0,017$), mas aumentaram o a excreção de ácido úrico ($P = 0,044$) e

síntese de nitrogênio microbiano ($P = 0,027$) em comparação com os animais alimentados com MON. A alimentação com silagem de milho melhorou o desempenho animal e as características da carcaça, independentemente dos aditivos alimentares. Uma combinação de uma mistura de óleos essenciais somado a α -amilase exógena melhorou o desempenho animal e as características da carcaça em comparação com a monensina sódica.

Palavras-chave: bagaço de cana-de-açúcar, desempenho animal, enzima, metabolismo ruminal, monensina, óleo essencial, e silagem de milho.

ABSTRACT

TOSETI, L. B. Effects of different feed additives and roughage sources for feedlot finishing cattle. 2020. 91 f. PhD Thesis – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2020.

Two experiments were carried out to evaluate the effects of feed additives and roughage sources on performance, carcass characteristics, meat quality, and total tract apparent digestibility of finishing bulls. In Exp. 1, 88 Nellore bulls were used in a randomized complete block design with a 2×2 factorial arrangement, to evaluate the effects of feeding sodium monensin (MON; 26 mg/ kg DM) or the combination of a blend of essential oils + exogenous α -amylase (BEO+AM; 90 and 560 mg /kg DM, respectively of commercial product) associated with corn silage (CS) or sugarcane bagasse (SCB) on performance, carcass, and meat quality of finishing cattle. Bulls fed CS based diet had a higher dry matter intake (DMI; $P < 0.001$), average daily gain (ADG; $P = 0.015$), final body weight ($P = 0.049$), carcass weight ($P = 0.004$), dressing percentage ($P = 0.008$), and ribeye area ($P = 0.035$), however, a higher gain:feed (G:F) was observed for SCB-fed animals ($P = 0.016$). No effect of roughage source was observed for fat thickness, fecal starch, or meat quality. Feeding BEO+AM increased ADG ($P = 0.043$), final body weight ($P = 0.023$), carcass weight ($P = 0.023$), and decreased fecal starch ($P = 0.013$) as compared to animals fed MON, with no differences in DMI and G:F. Feed additives did not affect carcass nor the majority of meat quality traits. In Exp. 2, eight rumen-cannulated Nellore bulls were used in a replicated 4×4 Latin square design to evaluate the total tract apparent digestibility of nutrients, ruminal fermentation characteristics, and rumen microbial protein synthesis of diets used in Exp. 1. Roughage source did not affect intake nor the total tract apparent digestibility of most nutrients, except for the digestibility of crude protein ($P = 0.003$), which was greater for CS than for SCB-fed animals. Higher acetate ($P < 0.001$) and acetate:propionate ratio ($P = 0.001$), and less propionate ($P = 0.001$) were observed in CS-fed animals. Roughage source did not affect purine derivatives concentration nor the synthesis of microbial nitrogen. Bulls fed BEO+AM had lower acetate ($P = 0.036$) and ammonia nitrogen ($P = 0.017$) concentrations but increased uric acid ($P = 0.044$) and synthesis of microbial nitrogen ($P = 0.027$) as compared to the MON-fed animals. Feeding corn silage improved animal performance and carcass characteristics regardless of feed additives. A combination of a blend of essential oils plus exogenous α -amylase improved animal performance and carcass characteristics compared to sodium monensin.

Keywords: animal performance, corn silage, essential oil, enzyme, monensin, rumen metabolism, and sugarcane bagasse

Lista de Ilustrações

Figura 1 – Ingestão de matéria seca (kg/dia) ao longo dos dias de alimentação de acordo com o tipo de forragem.....	49
Figura 2 – Ingestão de matéria seca (kg/dia) ao longo dos dias de alimentação de acordo com o tipo de aditivo.....	49
Figura 3 – Peso vivo ao longo dos dias de alimentação de acordo com o tipo de forragem.....	49
Figura 4 – Peso vivo ao longo dos dias de alimentação de acordo com o tipo de aditivo.....	49
Figura 5 – Avaliação da área de olho de lombo (AOL), em cm ² , de acordo com a fonte de volumoso ao longo dos dias de alimentação.....	50
Figura 6 – Avaliação da área de olho de lombo (AOL), em cm ² , de acordo com o aditivo ao longo dos dias de alimentação.....	50
Figura 7 – Avaliação da espessura de gordura subcutânea (EGS), em mm, de acordo com a fonte de volumoso ao longo dos dias de alimentação.....	51
Figura 8 – Avaliação da espessura de gordura subcutânea (EGS), em mm, de acordo com o aditivo ao longo dos dias de alimentação.....	51
Figura 9 - Concentração de amido fecal durante o período total de confinamento de acordo com a fonte de volumoso e o aditivo.....	51
Figura 10 - Concentração de amido fecal ao longo dos dias de alimentação de acordo com a fonte de volumoso.....	52
Figura 11 - Concentração de amido fecal ao longo dos dias de alimentação de acordo com o aditivo.....	52
Figura 12 – pH ruminal médio ao longo do tempo, em função da fonte de volumoso.....	70
Figura 13 – pH ruminal ao longo do tempo, em função do tipo de aditivo.....	70

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Ingredientes e composição química (com base na matéria seca) das dietas.....	42
Tabela 2 - Caracterização da distribuição granulométrica (g/kg) da silagem de milho e bagaço de cana-de-açúcar <i>in natura</i> utilizadas no Exp. 1 e 2.....	43
Tabela 3 – Média, erro padrão da média (EPM) e probabilidade (P-valor) das características de desempenho no período de adaptação (20D), de acordo com o tipo de volumoso (Vol) e aditivo (Adit).....	47
Tabela 4 – Efeitos de aditivos alimentares (mistura de óleos essenciais e α -amilase exógena ou monensina sódica) e fontes de volumoso (silagem de milho ou bagaço de cana-de-açúcar), erro padrão da média (EPM) e probabilidade (P-valor) no desempenho, crescimento, características de carcaça e amido fecal de touros Nelore em terminação.....	48
Tabela 5 - Efeitos de aditivos alimentares (mistura de óleos essenciais e α -amilase exógena ou monensina sódica) e fontes de volumoso (silagem de milho ou bagaço de cana-de-açúcar), média, erro padrão da média (EPM) e probabilidade (P-valor) das características de qualidade e composição química da carne de touros Nelore em terminação.....	52
Tabela 6 – Efeitos de aditivos alimentares (mistura de óleos essenciais e α -amilase exógena ou monensina sódica) e fontes de volumoso (silagem de milho ou bagaço de cana-de-açúcar), média, erro padrão da média (EPM) e probabilidade (P) das características da digestibilidade aparente dos nutrientes de bovinos Nelore em terminação.....	67
Tabela 7 - Efeitos de aditivos alimentares (mistura de óleos essenciais e α -amilase exógena ou monensina sódica) e fontes de volumoso (silagem de milho ou bagaço de cana-de-açúcar), média, erro padrão da média (EPM) e probabilidade (P) do volume urinário, concentração de ácido úrico e derivados de purinas de bovinos Nelore em terminação.....	68
Tabela 8 – Efeitos de aditivos alimentares (mistura de óleos essenciais e α -amilase exógena ou monensina sódica) e fontes de volumoso (silagem de milho ou bagaço de cana-de-açúcar), média, erro padrão da média (EPM) e probabilidade (P) nas características de fermentação ruminal de bovinos Nelore em terminação.....	69
Tabela 9 – Ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) de acordo com o tempo de coleta das amostras.....	70

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	13
1.1. Objetivo geral	15
1.2. Revisão de literatura	15
1.2.1. Utilização de fontes de fibra na dieta de bovinos	16
1.2.2. Aditivos que alteram a fermentação ruminal	18
1.2.2.1. Monensina sódica.....	19
1.2.2.2. Óleos essenciais.....	21
1.2.2.3. Enzimas	23
1.2.2.4. Uso combinado de óleos essenciais e enzimas amilolíticas.....	25
1.3. Referências bibliográficas.....	26
2. DESEMPENHO, CARACTERÍSTICAS DE CARCAÇA E QUALIDADE DE CARNE DE BOVINOS CONFINADOS ALIMENTADOS COM DIFERENTES ADITIVOS E FONTES DE VOLUMOSO	38
2.1. Introdução.....	38
2.2. Material e métodos	39
2.2.1. Animais e tratamento	40
2.2.3. Medidas de ultrassonografia	44
2.2.4. Abate e coleta de dados da carcaça.....	45
2.2.5. Análise instrumental e química da carne	45
2.2.6. Análise estatística	46
2.3. Resultados.....	47
2.3.1. Desempenho animal.....	47
2.3.2. Avaliação de ultrassonografia na carcaça.....	50
2.3.3. Concentração de amido fecal	51
2.3.4. Qualidade e composição química da carne	52
2.4. Discussão	53
2.5. Conclusão	56
2.6. Referências bibliográficas	56
3. DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES E CARACTERÍSTICAS RUMINAIS DE BOVINOS CONFINADOS ALIMENTADOS COM DIFERENTES ADITIVOS E FONTES DE VOLUMOSO	62
3.1. Introdução.....	62

3.2.	Material e métodos	63
3.2.1.	Animais e tratamento	63
3.2.2.	Digestibilidade aparente dos nutrientes	64
3.2.3.	Proteína microbiana	65
3.2.4.	Análise do líquido ruminal	65
3.2.5.	Análise estatística	66
3.3.	Resultados.....	66
3.3.1.	Digestibilidade aparente dos nutrientes	67
3.3.2.	Derivados de purinas	68
3.3.3.	Ácidos graxos de cadeia curta	69
3.3.4.	Discussão	71
3.4.	Conclusão	74
3.5.	Referências bibliográficas	75

1. INTRODUÇÃO GERAL

A indústria pecuária tem investido intensamente no desenvolvimento de tecnologias que proporcionam um aumento na eficiência de produção, com o objetivo de suprir a demanda de carne com um menor uso de recursos.

Alguns nutrientes, como as fibras, dependendo do nível de inclusão, influenciam o desempenho animal, devido à dificuldade da sua degradação da parede celular pelos microrganismos do rúmen. No entanto, outro componente da dieta, como o amido, que apesar de ser quase totalmente digerido no trato gastrointestinal de ruminantes, pode melhorar o desempenho dos animais quando sua digestão é aumentada. Os grãos de cereais fornecem maior energia líquida de ganho (ELg), além de terem um menor custo de produção por megacaloria de energia por kg de MS, em comparação aos alimentos volumosos (ZINN; CORONA; WARE, 2004).

Dietas com alto teor de grãos proporcionam ganho de peso mais rápido, melhor conversão alimentar e melhores características de carcaça, o que pode tornar a atividade mais rentável (PRESTON, 1998; SANTOS et al., 2004; NUNEZ, 2008). Por outro lado, embora o aumento na ingestão de carboidratos de elevada degradação seja benéfico, em razão da maior disponibilidade de energia para o ganho de peso, taxas elevadas de ingestão de carboidratos solúveis de rápida degradação estão diretamente relacionadas com distúrbios metabólicos, acidose ruminal e decréscimo na taxa de crescimento microbiano, comprometendo seu desempenho (BROWN et al., 2000).

Como alternativa para mitigar distúrbios nutricionais em bovinos confinados e obter bons resultados durante o período de engorda, o uso de aditivos alimentares podem ser adicionados às dietas para animais de terminação visando potencializar o desempenho dos bovinos, modificando a fermentação ruminal, minimizando os efeitos negativos das dietas ricas em concentrado. Nesse cenário, como alternativas para a melhoria na eficiência, destacam-se os ionóforos, óleos essenciais e as enzimas. A monensina está amplamente documentada na literatura e é o aditivo alimentar mais comumente utilizado nas dietas de terminação dos bovinos (SAMUELSON et al. 2016), alterando a fermentação ruminal (BUTAYE et al., 2003) e melhorando a eficiência alimentar (ELLIS et al., 2012). De acordo com Oliveira e Millen, (2014), os antibióticos ionóforos são os principais aditivos alimentares utilizados em cerca de 90% dos confinamentos brasileiros.

Os aditivos alimentares modificam a população microbiana ruminal pela seleção de bactérias gram-negativas e inibição das gram-positivas, criando como vantagens a melhoria da

eficiência do metabolismo energético e proteico, bem como a redução da incidência de distúrbios digestivos (BERGEN; BATES, 1984).

A preocupação dos consumidores com o uso rotineiro de antibióticos como melhoradores da fermentação ruminal na nutrição animal resultou na proibição, por parte de alguns países, do uso desses produtos na alimentação animal, principalmente a União Europeia, que através do Regulamento nº 1831/2003 determinou a não utilização de antibióticos e coccidiostáticos na alimentação de animais de produção.

Neste contexto, esforços têm sido dedicados ao desenvolvimento de alternativas aos antibióticos e, nesse sentido, extratos vegetais e enzimas exógenas têm exercido um papel importante como um aditivo alimentar seguro para a alimentação animal. Aditivos naturais, como extratos de plantas e enzimas, demonstram grande potencial de ação positiva no ambiente ruminal (WALLACE; COLOMBATO; ROBINSON, 2008).

Compostos alimentares alternativos, como óleos essenciais e suas misturas, foram avaliados como novos aditivos alimentares que podem alterar os padrões de fermentação ruminal para melhorar o desempenho dos animais e ajudar a aliviar parte da crescente preocupação dos consumidores sobre resíduos de antibióticos e resistência antimicrobiana (TASSOUL; SHAVER, 2009; KHIAOSA-ARD; ZEBELI, 2013).

A amilase exógena foi proposta como uma alternativa para melhorar o desempenho animal, aumentando a utilização de nutrientes. Alguns estudos com suplementação da enzima amilase para vacas em lactação relataram aumento da produção de leite, melhor balanço energético, maior conversão de alimentação do leite e aumento da digestão ruminal do amido (TRICARICO et al. 2005; DEFRAIN et al. 2005; GENCOGLU et al., 2010; KLINGERMAN et al. 2009; NOZIÈRE et al. 2014; ANDREAZZI et al., 2018).

Tricarico et al. (2008) propuseram um modo de ação hipotético para enzimas exógenas definidas como alimentação cruzada de oligossacarídeos. De acordo com esses autores, a α -amilase pode hidrolisar amido em oligossacarídeos (por exemplo, malto, violoncelo e xilo-oligossacarídeos) que seriam usados por bactérias amilolíticas e não amilolíticas em mecanismos de alimentação cruzada. Assim, a alimentação cruzada por microrganismos seria um mecanismo pelo qual o ecossistema ruminal utiliza produtos de hidrólise de outras espécies, por exemplo, o produto resultante da ação da α -amilase, produzida por espécies amilolíticas, que poderia ser usada por espécies não-amilolíticas. Como o valor da suplementação de amilase às dietas para o acabamento de bovinos de corte não foi estudado extensivamente, esse tema ainda precisa de mais investigação (TRICARICO et al. 2007; DILORENZO et al. 2010).

Além dos aditivos alimentares, a fonte de volumoso tem influência sobre o consumo de matéria seca (CMS), e consequentemente a ingestão de energia, de forma a afetar o desempenho dos animais no confinamento e as características de carcaça. Sabe-se que fontes de fibras diferem consideravelmente quanto a sua efetividade física (CLARK; ARMENTANO, 1997).

Este efeito pode ser explicado pelas diferenças entre os tamanhos de partículas, gravidade específica, tempo de retenção ruminal, tempo de mastigação total (ingestão e ruminação), e pela cinética ruminal (GRANT, 1997). Diferentes fontes e níveis de forragem afetam o comportamento ingestivo, o conteúdo ruminal, a concentração total de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e a cinética ruminal em bovinos zebuínos (GOULART et. al., 2020). Baixos níveis de volumoso são incluídos em grande parte das dietas de confinamento para estimular o consumo dos animais e minimizar os riscos de acidose (GALYEAN; HUBBERT, 2012; CAETANO et al., 2015).

Atualmente, a silagem de milho e o bagaço de cana-de- açúcar (co-produto) são usualmente utilizados como fonte de volumoso nas dietas de terminação, variando de acordo com a região, disponibilidade de custo. Portanto, o uso de diferentes fontes de fibra na dieta ainda é um desafio para os nutricionistas para fornecer quantidades adequadas de forragem que permitirá com segurança uma resposta máxima do desempenho animal.

Dessa forma, apesar de existirem diferentes relatos na literatura sobre a utilização de aditivos naturais alternativos aos antibióticos, bem como a utilização de diferentes fontes de volumoso para bovinos de corte confinados, mais pesquisas são necessárias para avaliar possíveis interações entre diferentes fontes de volumoso (com base na mesma inclusão do FDNfe) e diferentes aditivos alimentares em bovinos em confinamento, e com isso fornecer informações consistentes sobre a viabilidade da utilização desses produtos em dietas com alta proporção de concentrados.

1.1. Objetivo geral

Este trabalho foi desenvolvido para avaliar o efeito de dois diferentes aditivos zootécnicos e duas fontes de volumosos quanto ao desempenho, as características de carcaça e o metabolismo ruminal de bovinos Nelore confinados alimentados com dietas ricas em concentrado.

1.2. Revisão de literatura

1.2.1. Utilização de fontes de fibra na dieta de bovinos

A fonte e o nível de volumosos afetam o consumo de matéria seca e o desempenho dos bovinos de corte (DEFOOR et al., 2002; CAETANO et al., 2015). A inclusão de níveis mínimos adequados de forragem nas dietas para bovinos em terminação é indispensável para a preservação de um ambiente ruminal saudável, além do estímulo à ingestão de matéria seca e energia (ZINN; CORONA; WARE, 2004; GALYEAN E VASCONCELOS, 2008; GALYEAN; HUBBERT, 2012). A relação entre o consumo de matéria seca (CMS) e a concentração de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) é positiva quando a energia é o fator limitante da ingestão, mas é negativamente correlacionada com a concentração de FDN quando a limitação ocorre por um fator físico, como o enchimento ruminal (MERTENS, 1992). Dessa forma, a adição de alimentos fibrosos em dietas ricas em grãos (baixo nível de FDN) deve aumentar o CMS desde que o nível de FDN não seja um fator de limitação (VASCONCELOS; GALYEAN, 2007).

Em um estudo para avaliar o uso de práticas nutricionais nos confinamentos brasileiros, foi constatada que a dose média de inclusão de forragens nas dietas de terminação era de 21,0% na MS da ração total, sendo encontrados valores mínimos de 10% e máximos de 45% (OLIVEIRA; MILLEN, 2014). De acordo Pinto e Millen (2018), a silagem de milho e o bagaço de cana são as principais fontes de forragem incluídas nas dietas de terminação no Brasil.

Diante da grande diversidade de fontes de volumoso encontradas no Brasil, é frequente a observação de rações contendo diferentes fontes de volumosos e níveis idênticos da fração FDN, dessa forma, é possível a observação de respostas distintas quanto ao CMS, a cinética ruminal e consequente desempenho animal (ZINN; WARE, 2007; BULLE et al., 2002). De acordo com Owens (2008b), tal comportamento ocorre principalmente por haver diferenças quanto ao tamanho de partículas e a composição química (celulose, hemicelulose e lignina) entre as fontes de forragem. De acordo com Goulart et al. (2020) dietas contendo bagaço de cana-de-açúcar apresentam maiores frações de FDN indigestível e menor degradabilidade efetiva de FDN e, consequentemente, maior tempo médio de retenção de partículas no retículo-rúmen em comparação à dieta de silagem de milho formulada com o mesmo nível de FDN. Diferentes efeitos de fonte e nível de forragem afetam o comportamento ingestivo, o conteúdo ruminal, a concentração total de AGCC e a cinética ruminal em bovinos zebuínos (GOULART et al., 2020).

O termo fibra fisicamente efetiva (FDNfe) foi sugerido por Mertens (1997) para determinar de forma mais apropriada a capacidade de estimulação de mastigação e ruminação

por parte da fibra em bovinos, de forma que apenas partículas maiores que 1,18 mm da fração FDN seriam consideradas fisicamente efetivas e teriam a capacidade de estimular a mastigação e a ruminação. De acordo com o National Research Council – NRC (1996), recomenda-se um valor mínimo de FDNfe para dietas ricas em grãos de 8% (valor requerido para a manutenção do pH ruminal acima de 5,7), sendo este valor reduzido à 5% quando há inclusão de ionóforos na dieta.

Ao utilizar rações contendo menos de 40% de forragem (inferior a 20% FDN), observa-se uma redução na síntese de proteína microbiana de 2,2% para cada unidade percentual reduzida no valor de FDNfe oriundo da forragem (NRC, 1996). De acordo com Pinto e Millen (2018), a concentração recomendada de fibra em detergente neutro fisicamente eficaz (FDNfe) é de 14,4% da matéria seca da dieta (MS). Dessa forma, o tamanho, a densidade e o grau de hidratação das partículas da fibra, são descritos como os principais fatores para a determinação da efetividade da FDN na manutenção do pH acima do nível acidótico.

O FDNfe fornecido pelo volumoso está associado ao tempo de mastigação, fluxo salivar e, finalmente, ao pH ruminal (TEDESCHI e FOX, 2018), e de acordo com o NRC (1996), o FDNfe é um preditor preciso do pH ruminal. Além disso, Kononoff et al. (2003) relataram que o pH ruminal médio estava altamente correlacionado com o FDNfe. Portanto, em nosso estudo, diferentes fontes de forragem (SM ou BC) formuladas no mesmo nível de FDNfe apresentaram valores médios de pH ruminal semelhantes.

A inclusão de baixos níveis de FDNfe em dietas com alto teor de concentrado para bovinos da raça Nelore ainda é um tema de muito estudo. Caetano et al. (2015), sugerem que 12,8% de inclusão de FDNfe em dietas à base de milho grão duro e 8% de caroço de algodão, foi suficiente para otimizar o desempenho dos animais. No entanto, Goulart e Nussio (2011) apontam 10 a 18% de FDNf como um nível seguro de inclusão, garantindo as exigências mínimas de saúde ruminal e maximizando a eficiência alimentar dos animais. Por outro lado, alguns autores sugerem que a inclusão de 3% de bagaço de cana em dietas de terminação aumenta o CMS e o ganho médio diário (MARQUES et al., 2016). Entretanto, Zinn; Corona e Ware (2004), recomendam a inclusão de 6 a 11% de FDNfe nas dietas de terminação.

Diante da grande variação dos componentes químicos e físicos das fontes de volumoso, bem como a extensa variedade de fontes de forragens existentes, deve-se incentivar a utilização do conceito de efetividade física em programas de formulação de ração para bovinos. Entretanto, ainda são necessários maiores estudos para o melhor entendimento do comportamento das diferentes fontes de forragem sobre o desempenho e o metabolismo ruminal em bovinos confinados.

1.2.2. Aditivos que alteram a fermentação ruminal

O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento define aditivo como substância intencionalmente adicionada ao alimento com a finalidade de conservar, intensificar ou modificar suas propriedades, desde que não prejudique seu valor nutritivo. A manipulação da fermentação ruminal por meio da utilização de produtos modificadores (aditivos) é dependente do sistema de produção (VAN NEVEL, 1992). O processo de otimização da fermentação ruminal pode ser considerado como a maximização ou minimização de reações no rúmen, dependendo do tipo e do teor de alimentação, da produção animal.

A fermentação ruminal é resultado da atividade física e microbiológica, sendo que a maior parte dos nutrientes do alimento, fontes energéticas e proteicas, são convertidas em ácidos graxos de cadeia curta e em massa microbiana. A energia presente nos AGCC representa em torno de 75 a 80% da energia originalmente presente nos carboidratos fermentados e, geralmente contribuem em 50 a 70% da energia digestível do alimento (KOZLOSKI, 2002).

A taxa de digestão e a taxa de passagem são afetadas pela quantidade e pela composição da dieta. A ingestão de alimentos é regulada pela exigência do animal, disponibilidade de alimento e composição da dieta. A distribuição e colonização da população de microrganismos no rúmen, geralmente é determinada pela composição da dieta. Dessa forma, dietas com elevados teores de proteína favorecem o desenvolvimento de microrganismos proteolíticos, enquanto que altas quantidades de amido, que geralmente são baixas em fibra, estão relacionadas com microrganismos utilizadores de amido (VAN SOEST, 1994). A ocorrência reduzida de microrganismos celulolíticos em animais alimentados com dietas ricas em grãos de cereais é dependente do tamanho de partícula da fibra disponível e da taxa de passagem da digesta (BRYANT; BURKET, 1953).

A fermentação ruminal é passível de modificação para melhor aproveitamento dos nutrientes fornecidos pela dieta, reduzindo as perdas energéticas e a degradação de proteínas além de evitar problemas de distúrbios metabólicos no rúmen. De acordo com Marsiglio (2012), a ingestão de dietas ricas em grãos, constituídas de carboidratos de alta fermentabilidade, favorece a rápida queda do pH ruminal, devido a altas taxas de digestão e produção de AGCC, podendo levar a ocorrência de distúrbios metabólicos. Dessa forma, a manipulação da fermentação ruminal pode ser realizada tanto pela variação do substrato oferecido (CHALUPA,

1975), como pela inclusão de aditivos que possuem ação sobre a microbiota ruminal e suas atividades.

A utilização de antibióticos ionóforos na dieta de ruminantes é uma prática comum em sistemas de produção intensivos, a fim de modular a fermentação ruminal por meio de seleção microbiológica, proporcionando aumento da eficiência energética, principalmente, em função do aumento da produção do ácido propiônico, redução da relação acetato/propionato, diminuição das perdas pela produção de metano, além da diminuição das concentrações de ácido láctico (MCGUFFEY et al., 2001). Dessa forma, as proporções de metano no rúmen são reduzidas, caracterizando menores perdas de energia pela fermentação, que podem alcançar até 10% em um sistema sem o uso de aditivos melhoradores da eficiência nutricional (NAGARAJA et al., 1997). Além disso, a associação destas mudanças resulta no melhor aproveitamento da energia disponível para o ruminante com reflexos positivos no desempenho animal.

1.2.2.1. Monensina sódica

Os aditivos ionóforos são um grupo de antibióticos bacteriostáticos resultantes da fermentação de algumas estirpes de bactérias de gênero *Streptomyces sp* (GONÇALVES et al., 2012). São compostos capazes de formar complexos lipossolúveis com cátions (devido às suas estruturas moleculares) além de ser responsável pelo seu transporte através das membranas lipídicas (PRESSMAN, 1976).

A monensina sódica é o ionóforo frequentemente mais incluído na dieta de ruminantes como modulador da fermentação ruminal e melhorador da eficiência de aproveitamento dos nutrientes.

Existe pouca ação da monensina sobre bactérias ruminais gram-negativas devido ao seu envoltório celular ser constituído por uma parede celular composta por uma dupla membrana externa de proteção, constituída por proteínas, lipoproteínas e lipopolissacarídeos, além da presença de porinas (canais de proteínas) que atuam no transporte de moléculas com tamanho limite de aproximadamente 600 Daltons.

A maioria das moléculas dos ionóforos são maiores que 600 Daltons, o que torna as células das bactérias gram-negativas resistente quanto à sua ação. Dessa forma, quando os ionóforos se ligam à membrana celular das bactérias gram-positivas, o transporte de cátions através da membrana citoplasmática é facilitado. Neste momento, ocorre a troca de um cátion monovalente por um próton, diminuindo a concentração de K^+ , ocorrendo a queda do pH e aumento da concentração intracelular de Na^+ (MORAIS; BERCHIELLI; REIS, 2011). Nessas

condições, as bactérias gram-positivas, a fim de manter o equilíbrio celular, utilizam o sistema de transporte celular para dissipar o H^+ e o Na^+ intracelular. As bombas de Na^+/K^+ ATPase ou próton ATPase permitem que o organismo expulse o H^+ a custo de um ATP por prótons, o que desencadeia um desequilíbrio osmoelétrico, ativando os mecanismos de homeostase, consumindo de energia e levando à morte celular por esgotamento energético (PERES; SIMAS, 2006).

A monensina tem ação sobre as bactérias gram-positivas, impactando, dessa forma, o metabolismo dos ruminantes pelo aumento da eficiência energética, pela melhoria no aproveitamento de nitrogênio, além da redução de problemas como timpanismo e acidose ruminal (SCHELLING, 1984).

Alguns autores verificaram as alterações no perfil de ácidos graxos de cadeia curta, com aumento na concentração de ácido propiônico e redução significativa nas concentrações de ácido acético e butírico (RICHARDSON et al., 1976). Com o aumento da concentração de propionato no rúmen, a gliconeogênese hepática a partir desse AGCC também é aumentada, disponibilizando maior aporte energético a partir do alimento devido ao aumento da glicose (LOMAX et al., 1979).

Alguns estudos apontam que a produção total de AGCC não foi afetada com a utilização de ionóforos, no entanto, percebeu-se que a relação acetato:propionato foi diminuída (FÜLLER; JOHNSON, 1981; RUSSEL; STROBEL, 1989; LANA; RUSSEL, 1996; HRISTOV et al., 2001; GUAN et al., 2006). Autores também relataram a ocorrência do aumento na digestibilidade aparente do nitrogênio, energia e da fibra (HORTON; BASSENDOWSIKI; KELLER, 1980; WEDEGAERTNER; JOHNSON, 1983; SPEARS, 1990).

Os ionóforos, em particular a monensina, apresentam grande emprego como ferramenta de manejo para regular a ingestão de alimentos e agir no controle da acidose (NAGARAJA; TITGEMEYER, 2007), por afetar diretamente os microrganismos ruminais produtores de ácido láctico (*Streptococcus bovis* e *Lactobacillus spp.*), estabilizando a fermentação ruminal (COE et al., 1999) e prevenindo quedas bruscas do pH ruminal (BURRIN; BRITTON, 1986).

No Brasil, os ionóforos geralmente utilizados em dietas de confinamento apresentam níveis médios de recomendação de 21,9 mg/kg de MS ingerida (MILLEN et al., 2009).

Em análise sobre 228 ensaios que envolveram 11.274 bovinos alimentados com dietas de alto teor de concentrado e suplementados com ou sem monensina, Goodrich et al. (1984), constataram que a monensina aumentou 1,6% o ganho de peso, reduziu o consumo em 6,4% e melhorou a conversão alimentar em 7,5%. No entanto, os autores afirmam que a resposta pode ter sido variável de acordo com o tipo de animal suplementado.

Os efeitos de diferentes níveis de inclusão de monensina sódica foram testados por Burrin e Britton (1986), os autores utilizaram três tratamentos (0, 150 e 300 mg monensina/animal/dia) com dieta de 75% de concentrado, alimentados uma vez ao dia. Os maiores níveis de monensina apresentaram maior valor de pH 16h após o fornecimento da dieta, com baixas concentrações de lactato.

A suplementação crescente de níveis de monensina (0, 11 e 33 mg/kg MS ingerida) para novilhos cruzados durante o período de adaptação à dieta com elevada proporção de concentrado reduziu a IMS e a variação na ingestão, melhorando a eficiência do ganho (BURRIN; STOCK; BRITTON, 1998). A utilização de antibióticos ionóforos, como a monensina, foi extensivamente estudada, sendo os resultados consistentes em demonstrar benefícios para a fermentação ruminal e consequentemente, melhora no desempenho animal.

Em virtude da preocupação com o uso de antibióticos como promotores de crescimento nos países da Comunidade Européia, tem crescido o interesse pela utilização de aditivos microbianos oriundos de extratos de plantas na dieta de ruminantes.

1.2.2.2. Óleos essenciais

Os óleos essenciais tem sido descrito na literatura como compostos capazes de manipular a fermentação ruminal, principalmente pela sua ação antimicrobiana (BESS et al., 2012), surgindo como potencial substituto aos antibióticos, comumente empregados na alimentação animal.

Compostos produzidos a partir do metabolismo secundário das plantas são divididos, em sua maioria, em dois grupos químicos, os terpenóides (monoterpenóides e sesquiterpenóides) e fenilpropanóides. Alguns óleos essenciais possuem capacidade de ação semelhante aos ionóforos, atuando de forma seletiva sobre as populações microbianas do rúmen (CALSAMIGLIA et al., 2007).

O uso de aditivos alternativos versus o uso de antibióticos em bovinos confinados aumentou à medida que a demanda do mercado consumidor por produtos naturais aumentou (KHIAOSA-ARD E ZEBELI, 2013). O uso de óleos essenciais e seus compostos bioativos em dietas para bovinos confinados pode melhorar a fermentação ruminal (por exemplo, redução na produção de metano e na razão acetato: propionato), mas as melhorias no desempenho animal ainda são escassas e variáveis (KHIAOSA-ARD E ZEBELI, 2013).

Os possíveis mecanismos de ação dos compostos naturais estão, em sua grande maioria, associados à membrana celular, como o transporte de elétrons e gradiente de íons, ação

semelhante aos ionóforos (DORMAN; DEANS, 2000). Como componentes ativos em muitas plantas, os óleos essenciais têm sido historicamente utilizados na inibição do crescimento bacteriano. A interação óleo essencial/ membrana celular altera a estrutura das mesmas, tornando-as mais fluidas e permeáveis (KNOBLOCH et al., 1986), permitindo a passagem de íons e outros conteúdos citoplasmáticos (LAMBERT et al., 2001).

Estudos prévios utilizando óleos essenciais na nutrição de ruminantes demonstraram o efeito antimicrobiano destes compostos na modulação da fermentação ruminal, trazendo resultados promissores com o uso destes compostos, principalmente no que se refere a concentração de AGCC. Muitos apresentam a capacidade de reduzir a relação acetato:propionato, e, dessa forma, ocorre um aumento nas concentrações de propionato e butirato, além de uma menor produção de metano, tornando o rúmen energeticamente mais eficiente (CASTILLEJOS; CALSAMIGLIA; FERRET, 2006; CALSAMIGLIA et al., 2007; CARDOZO, 2004; BUSQUET, 2006).

O uso de óleos essenciais interage com as membranas das células microbianas inibindo o crescimento de algumas bactérias gram-positivas, tal fato, pode reduzir o processo de deaminação, melhorando o aproveitamento de proteínas providas da dieta, consequentemente menor concentração de amônia no rúmen e melhor aproveitamento energético da dieta (CALSAMIGLIA et al., 2007).

Benchaa et al (2007a) suplementaram vacas em lactação com uma mistura (“blend”) de óleos essenciais (incluindo o timol, eugenol, vanilina, guaiacol e limoneno) na dose de 750mg/vaca/dia e não encontraram diferença no consumo de matéria seca. Com relação a fermentação ruminal, houve uma menor concentração de ácidos graxos totais quando o composto de óleos essenciais foi adicionado à dieta a base de silagem de milho. Consequentemente os valores de pH tenderam a ser maiores, no entanto, não foi observado efeito na concentração de N-NH₃ do fluido ruminal.

De modo geral, os óleos essenciais não apresentam efeito no pH ruminal *in vivo* ao se fornecer dieta de alto concentrado (FANDIÑO et al., 2008; CHAVES et al., 2008a; YANG et al., 2010a; 2010b). Por outro lado, outros autores observaram queda no pH quando dietas de alto concentrado foram fornecidas aos ruminantes (DEVANT et al., 2007; CHAVES et al., 2008a).

Ruminantes possuem baixa eficiência de utilização de N, e dessa forma, alterar o metabolismo ruminal do N é interessante no aspecto de reduzir o custo de alimentação, melhorar o desempenho animal além de minimizar as perdas de ureia/NH₃ para o meio ambiente (CALSAMIGLIA et al., 2010).

Alguns estudos comprovam que os óleos essenciais atuam na redução populacional de bactérias hiperprodutoras de NH_3 , diminuindo a taxa de produção de NH_3 a partir de aminoácidos (McINTOSH et al., 2003; WALLACE, 2004). Todavia, existem variações na sensibilidade das hiperprodutoras de NH_3 à ação dos óleos funcionais. Bactérias do gênero *Clostridium sticklandii* e *Peptostreptococcus anaerobius* demonstraram sensibilidade à ação dos mesmos, enquanto que as do gênero *Clostridium aminophilum* não foram afetadas (McINTOSH et al., 2003). De maneira geral, o metabolismo proteico é mediado pela redução da deaminação, efeito atribuído à inibição das bactérias hiperprodutoras de NH_3 (McINTOSH et al., 2003; NEWBOLD et al., 2004; WALLACE, 2004).

Resultados relacionados a degradação *in situ* da proteína ainda são controversos, pois enquanto alguns estudos apontam redução da proteólise com a adição de óleos essenciais (CASTILLEJOS et al., 2007), outros não verificaram influência dos mesmos sobre o metabolismo proteico ruminal, seja em sistema *in vitro* de fluxo contínuo (CASTILLEJOS et al., 2006, 2007) ou *in vivo* usando vacas em lactação (BENCHAAAR et al., 2006, 2007a). Esses resultados controversos podem estar associados à dificuldade de se atingir *in vivo* as doses efetivas determinadas *in vitro*, além da questão relacionada à adaptação microbiana ao longo do tempo (BENCHAAAR et al., 2008).

Em relação ao desempenho animal, existem muitos resultados distintos. Meyer et al. (2009) trabalhando com um “blend” de óleos essenciais (timol, limoneno, e guaiacol), observaram uma eficiência alimentar semelhante para o grupo de animais que receberam o blend de óleos essenciais + tilosina (0,153g/kg) em relação ao grupo monensina + tilosina (0,156g/kg), sendo ambos superiores ao grupo controle (0,145g/kg). No entanto, o fornecimento do mesmo “blend” de óleos essenciais (timol, limoneno e guaiacol) não trouxe vantagens sobre o desempenho dos animais, enquanto o CMS e o GMD foi inferior (7,28 kg/dia e 0,68 kg/dia) para o grupo recebendo óleo essencial quando comprado ao grupo controle (7,46 kg/dia e 0,73 kg/dia), respectivamente (BEAUCHEMIN; MCGINN, 2006).

Neste contexto, mais estudos são necessários para avaliar e consolidar os reais efeitos do uso dos óleos essenciais sobre o desempenho animal.

1.2.2.3. Enzimas

A utilização de enzimas exógenas como forma de melhorar a utilização dos alimentos pelos animais já vem sendo estudada principalmente em dietas de suínos e aves. Contudo, em dietas para ruminantes, sua utilização ainda é recente. Alguns estudos demonstram aumento da

digestibilidade de nutrientes com a adição de preparados enzimáticos na alimentação dos ruminantes (JUDKINS; STOBART, 1998; BEAUCHEMIN et al., 2000).

As enzimas são classificadas como proteínas globulares, apresentam estrutura terciária e quaternária, agem como catalisadores biológicos, aumentam a velocidade das reações químicas no organismo, sem serem alteradas durante o processo (CHAMP; HARVERY, 1989). São classificadas de acordo com o substrato sobre o qual atuam (HARGER, 1982), por exemplo, o termo amilase indica a ação sobre o amido. As enzimas digestivas têm um sítio ativo que permite atuação na ruptura de uma determinada ligação química (PENZ JUNIOR, 1998), sob condições favoráveis de temperatura, umidade e pH.

A suplementação enzimática na nutrição animal pode melhorar a digestão de nutrientes, bem como remover ou destruir os fatores antinutricionais presentes em alguns grãos, potencializar a ação das enzimas endógenas e diminuir as perdas de nutrientes excretados pelas fezes (GUENTER, 2002).

Para a ação da enzima, o contato com o substrato é essencial. Estudos mostram que a adição de enzimas diretamente no alimento promove maior estabilidade enzimática graças à formação do complexo enzima-substrato, dificultando a ação de proteases microbianas (MORGAVI et al., 2000). A formação desse complexo também aumenta o seu tempo de permanência rúmen, uma vez que a enzima não se encontra dissolvida no fluido ruminal. Na falta do complexo enzima-substrato estável, as enzimas se solubilizam no líquido ruminal e fluem rapidamente para o intestino (BEAUCHEMIN et al., 2003).

Os principais desafios para a utilização de enzimas amilolíticas em ruminantes se deve ao fato de que a digestão do amido é extensa e geralmente não é um fator limitante da produção, da mesma forma que a digestão incompleta ou lenta da fibra, além de que a rápida digestão de grandes quantidades de amido pode ocasionar distúrbios de ordem metabólica, o que representa um risco em potencial para a inclusão de amilases exógenas na dieta de ruminantes (TRICARICO et al., 2008). Contudo, a perda de amido observada nas fezes de animais confinados demonstra um potencial de degradabilidade das frações que não foram aproveitadas ao longo do trato digestório, e acredita-se que o uso de enzimas amilolíticas poderia auxiliar nessa deficiência de aproveitamento do amido, além de auxiliar na melhora dos padrões fermentativos e prevenção de distúrbios metabólicos (TRICARICO et al., 2007).

Alguns estudos foram realizados para avaliar os efeitos de um extrato de *Aspergillus oryzae*, contendo atividade de alfa-amilase no desempenho de bovinos de corte em terminação (TRICARICO et al., 2007). Em um primeiro experimento foram avaliados diferentes fontes de volumoso (feno de alfafa, casca ou caroço de algodão), e foi observado um efeito positivo para

a enzima, que resultou em um aumento da área de olho de lombo, no entanto, não foram observados efeitos na ingestão de MS, conversão alimentar (CA) e ganho médio diário dos animais (GMD), independente da fonte de volumoso utilizada. Em um segundo experimento, utilizando novilhas alimentadas com diferentes tipos de processamento de milho (quebrado ou grão úmido) e duas doses de enzima amilolítica (0,580 ou 1,160 UD/ kg de MS da dieta), os mesmos autores, observaram aumento no ganho médio diário, na ingestão de MS e também no aumento na área de olho de lombo com a adição da enzima. Entretanto, no terceiro experimento, onde os autores avaliaram a suplementação de amilase no desempenho de novilhos em restrição da ingestão de MS, não encontraram diferenças para o ganho médio diário, ingestão de MS e conversão alimentar.

Avaliando o efeito de doses crescentes de uma preparação de amilase (Amylase – 7B®, Novozymes, Bagsvaerd, Dinamarca) sobre o desempenho e qualidade de carne de bovinos em terminação alimentados com dietas superiores a 36% de amido, Metwally e Schwarz (2015), concluíram que a adição da enzima não afetou a ingestão de MS, bem como o ganho de peso diário, no entanto, houve um aumento na digestibilidade aparente total da FDN, sem afetar a digestibilidade da MS ou do amido.

Dessa forma, mais estudos devem ser dedicados para melhor entendimento e recomendação quanto ao uso de enzimas na alimentação de ruminantes em dietas com elevados teores de concentrado.

1.2.2.4. Uso combinado de óleos essenciais e enzimas amilolíticas

A suplementação de amilases na terminação de bovinos de corte não tem sido alvo de muitos estudos. Tricarico et al. (2005) relataram aumento na produção de leite em vacas leiteiras em lactação, enquanto DeFrain et al. (2005) notaram melhorias no balanço de energia em vacas leiteiras no período de transição como resultado da alimentação de uma α -amilase definida. Dessa forma, acredita-se que a suplementação de α -amilase pode representar uma alternativa potencial para manipular a fermentação ruminal do amido e, assim, melhorar o desempenho em bovinos de corte em terminação.

Alguns estudos realizados com a utilização da combinação de óleos essenciais (Crina® Ruminants) e α -amylase (Ronozyme® RumiStar™), no desempenho de bovinos de corte, tem mostrado que a associação dessas moléculas aumenta o consumo de MS, o peso vivo dos animais, bem como o rendimento de carcaça, quando fornecidas em dietas contendo elevado

teor de amido com inclusão de bagaço de cana-de-açúcar e caroço de algodão (ASCEDO et al., 2016).

De acordo com Meschiatti et al. (2019) e Gouvêa et al. (2019), o uso da combinação de óleos essenciais (Crina[®] Ruminants) e α -amylase (Ronozyme[®] RumiStar[™]) na terminação de bovinos Nelore, resultou em maior desempenho quando comparada à dieta contendo monensina, principalmente devido ao maior consumo de energia como resultado de um maior consumo de nutrientes.

Em outro estudo, Meschiatti et al. (2016) avaliando fermentação ruminal de bovinos alimentados com dieta contendo óleos essenciais e enzimas amilolíticas (CRINA + α -amylase: Ronozyme[®] RumiStar[™], DSM[®] – 90 e 560 mg/ kg DM, respectivamente), observaram que a associação desses aditivos aumentou a ingestão de MS, nutrientes digestíveis totais e a quantidade de amido digerido no trato total, em relação à utilização da monensina.

Diante do exposto, é possível a observar o potencial de utilização do uso combinado de óleos essenciais e enzimas amilolíticas na nutrição de bovinos visando melhorias no metabolismo ruminal e no desempenho animal, entretanto, maiores estudos devem ser considerados, principalmente em dietas com elevados teores de concentrado.

1.3. Referências bibliográficas

ACEDO, T. S.; TAMASSIA, L. F. M.; CORTINHAS, C. S.; GOUVEA, V. N. D.; COUTO, V. R. M.; FERNANDES, J. J. D. R. Effects of essential oils and exogenous enzyme in low starch diets for finishing feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, Volume 94, Issue suppl. 5, Pages 659, 2016.

ANDREAZZI, A. S. R., M. N. PEREIRA, R. B. REIS, R. A. N. PEREIRA, N. N. MORAIS JÚNIOR, T. S. ACEDO, R. G. HERMES, AND C. S. CORTINHAS. Effect of exogenous amylase on lactation performance of dairy cows fed a high-starch diet. **Journal of Dairy Science**. 101:7199–7207. 2018.

BEAUCHEMIN, K. A.; RODE, L. M.; MAEKAWA, M.; MORGAVI, D. P.; KAMPEN, R. Evaluation of a nonstarch polysaccharidase feed enzyme in dairy cow diets. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 3, p. 543–553, 2000.

BEAUCHEMIN, K.A.; COLOMBATTO, D.; MORGAVI, D.P.; YANG, W.Z. Use exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 81, suppl.2, p. E37-E47, 2003.

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

BENCHAAAR, C.; PETIT, H. V.; BERTHIAUME, R.; WHYTE, T. D.; CHOUINARD, P.Y. 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**, Champaign, v. 89, n. 11, p. 4352-4364, 2006.

BENCHAAAR, C.; PETIT, H. V.; BERTHIAUME, R.; OUELLET, D. R.; CHIQUETTE, J.; CHOUINARD, P. Y. Effects of essential oils on digestion, ruminal fermentation, rumen microbial populations, milk production, and milk composition in dairy cows fed alfalfa silage or corn silage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 2, 2007a.

BENCHAAAR, C.; MCALLISTER, T. A.; CHOUINARD, P. Y. Digestion, ruminal fermentation, ciliate protozoal populations, and milk production from dairy cows fed cinnamaldehyde, quebracho condensed tannin, or yucca schidigera saponin extracts. **Journal Dairy Science**, Champaign, v. 91, n. 12, p. 4765-4777, 2008.

BERGEN, G.W.; BATES, D.B. Ionophores: their effect on production efficiency and more of action. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.58, n.6, p.1465-1483, 1984.

BESS, A.S.; CROCKER, T.L.; RYDE, I.T.; MEYER, J.N. Mitochondrial dynamics and autophagy aid in removal of persistent mitochondrial DNA damage in *Caenorhabditis elegans*, **Nucleic Acids Research**, V. 40 (16), p. 7916–7931, 2012.

BROWN, M. S., C. R. KREHBIEL, M. L. GALYEAN, M. D. REMMENG, J.P. PETERS, B. HIBBARD, J. ROBINSON, AND W. M. MOSELEY. Evaluation of models of acute and subacute acidosis on dry matter intake, ruminal fermentation, blood chemistry, and endocrine profiles of beef steers. **Journal of Animal Science**, v. 78, p. 3155–3168, 2000.

BRYANT, M. P.; BURKEY, L. A. Numbers and some predominant groups of bacteria in the rumen of cows fed different rations. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 36, p. 218, 1953.

BULLE, M.L.M.; RIBEIRO, F.G.; LEME, P.R.; TITTO, E.A.L.; LANNA, D. P.D. Desempenho de tourinhos cruzados em rações de alto teor de concentrado com bagaço de cana-de-açúcar como único volumoso. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n.1 p. 444-450, 2002.

BURRIN, D.G.; BRITTON, R. Response to monensin in cattle during subacute acidosis. **Journal of Animal Science**, v. 63, p. 888-893, 1986.

BURRIN, D. G.; STOCK, R. A.; BRITTON, R. A. Monensin level during grain adaptation and finishing performance in cattle. **Journal of Animal Science**, v. 66, p. 513, 1988.

BUSQUET, M.; CALSAMIGLIA, S.; FERRET, A.; KAMEL, C. Plant extracts affect in vitro rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89 n. 2, p.761-771, 2006.

BUTAYE, P.; DEVRIESE, L.A.; HAESBROUCK, F. Antimicrobial growth promoters used in animal feed: Effects of less well known antibiotics on gram-positive bacteria. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v.16, n.2, p.175-188, 2003.

CAETANO, M., GOULART, R.S., SILVA, S.L., DROUILLARD, J.S., LEME, P.R., LANNA, D.P.D. Effect of flint corn processing method and roughage level on finishing performance of Nellore-based cattle, *Journal of Animal Science*, v.93, p. 4023–4033, 2015.

CALSAMIGLIA, S. et al. Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 90, n. 6, p. 2580-2595, 2007.

CALSAMIGLIA, S.; FERRET, A.; REYNOLDS, C.K; KRISTENSEN, N.B.; VAN VUUREN, A.M. Strategies for optimizing nitrogen use by ruminants. **Animal**, Cambridge, v. 4, n.7, p. 1184-1196, 2010.

CARDOZO, P. W.; CALSAMIGLIA, S.; FERRET, A.; KAMEL, C. Effects of natural plant extracts on ruminal protein degradation and fermentation profiles in continuous culture. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 82, p. 3230-3236, 2004.

CASTILLEJOS, L.; CALSAMIGLIA, S.; FERRET, A. Effect of essential oil active compounds on rumen microbial fermentation and nutrient flow in in vitro systems. **Journal Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 7, p. 2649-2658, 2006.

CASTILLEJOS, L. CALSAMIGLIA, S. FERRET, A.; LOSA, R. Effects of dose and adaptation time a specific blend of essential oils on rúmen fermentation. **Animal Feed Science and Tecnology**, v. 132, p. 186-2001, 2007.

CHALUPA, W. Rúmen bypass and protection of proteins and amino acids. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 58, n. 8, p. 1198-1218, 1975.

CHAMPE, P.C.; HARVEY, R.A. Enzimas. In: **Bioquímica ilustrada**. 2.ed. São Paulo: Artes Médicas, p.53-66. 1989.

CHAVES, A.V.; STANFORD, K.; GIBSON, L.L.; McALLISTER, T.A.; BENCHAAR, C. Effects of carvacrol and cinnamaldehyde on intake, rúmen fermentation, growth performance and carcass characteristics of growing lambs. **Animal Feed science and Tecnology**, Amsterdam, v. 145, n. 1-4, p. 396-408, 2008a.

CHAVES, A.V.; STANFORD, K.; DUNGAN, M.E.R.; GIBSON, L.L.; McALLISTER, T.A.; VAN HERK, F.; BENCHAAR, C. Effects of cinnamaldehyde, garlic and juniper berry essential oils on rúmen fermentation, blood metabolites, growth performance and carcass characteristics of growing lambs, **Livestock Science**, Amsterdam, v. 117, n.3/3, p. 215-224, 2008b.

CLARK, P. W.; ARMENTANO, L. E. Replacement of alfalfa neutral detergent fiber with a combination of nonforage fiber sources. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v80, p. 675-680, 1997.

COE, M. L. et al. Effect of virginiamycin on ruminal fermentation in cattle during adaptation to a high concentrate and during an induced acidosis. **Journal of Animal Science**, v. 77, p. 2259-2268, 1999.

DEFOOR, P.J.; GALYEAN, M.L.; SALYER, G.B. et al. Effects of roughage source and concentration on intake and performance by finishing heifers. **Journal of Animal Science**, v.80, p.1395-1404, 2002.

DEFRAIN, J.M.; HIPPEN, 4.R.; KASCHEUR, K.F. TRICARICO, J.M. Effects of dietary α -amylase on metabolism and performance of transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 4405-4413, 2005.

DEVANT, M. ANGLADA, A.; BACH, A. Effects of plant extract supplementation on rumen fermentation and metabolism in young Holstein bulls consuming high levels of concentrate. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 137, n. 1/2 p. 46-57, 2007.

DILorenzo, N.; SMITH D. R.; QUINN M. J. et al. Effects of grain processing and supplementation with exogenous amylase on nutrient digestibility in feedlot diets. **Livestock Science**. v.137, p.178–184, 2010.

DORMAN, H. J. D.; DEANS, S. G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of Applied Microbiology**, v. 88, p. 308-316, 2000.

ELLIS, J.L.; DIJKSTRA, J.; BANNINK A.; KEBREAB, E.; HOOK, S. E.; ARCHIBEQUE, S.; FRANCE, J. Quantifying the effect of monensin dose on the rumen volatile fatty acid profile in high-grain-fed beef cattle. **Journal Animal Science**, v. 90, p. 2717-2726, 2012.

FANDIÑO, I.; CALSAMIGLIA, S.; FERRET, A.; BLANCH, M. Anise and capsicum as alternatives to monensin to modify rumen fermentation in beef heifers fed a high concentrate diet. **Animal. Feed Science and Technology**, v.145, p.409-417, 2008.

FULLER, J. R. JOHNSON, D. E. Monensin and lasalocid effects on fermentation in vitro. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 53, p. 1574, 1981.

GALYEAN, M. L.; HUBBERT, M.E. Traditional and alternative sources of fiber: roughage values, effectiveness, and concentrations in starting and finishing diets. In: PLAINS NUTRITION COUNCIL – SPRING CONFERENCE, 2012, San Antonio. **Proceedings...** Amarillo: Texas Agrilife Research and Extension Center. P. 75-97, 2012.

GALYEAN, M. L.; VASCONCELOS, J. T. Optimizing the use of forages in feedlot finishing diets. In: WESTERN NUTRITION CONFERENCE, 29, 2008, Edmonton. **Proceedings...** Alberta: University of Alberta. p. 139-151, 2008.

GENCOGLU, H., SHAVER, R. D., STEINBERG, W., ENSINK, J., FERRARETTO, L. F., BERTICS, S. J., AKINS, M. S. Effect of feeding a reduced-starch diet with or without amylase addition on lactation performance in dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v.93, p.723-732, 2010.

GONÇALVES, M.F. et al. Ionóforos na alimentação de bovinos. **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v. 18, n.2, p. 131-146, 2012.

GOODRICH, R. D. et al. Influence the monensin on the performance of cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 58, p. 1484-1498, 1984.

GOULART, R.S.; NUSSIO, L.G. Exigências de fibra fisicamente efetiva para bovinos confinados. In: SIMPÓSIO DE PECUÁRIA DE CORTE; INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF BEEF CATTLE, 2011, Lavras. **Anais...** Lavras: Universidade Federal de Lavras. P. 111-153, 2011.

GOULART, R. S., VIEIRA, R. A. M., DANIEL, J. L. P., AMARAL, R. C., SANTOS, V. P., FILHO, S. G. T., CABEZAS-GARCIA, E. H., TEDESCHI, L. O., NUSSIO, L. G. 2020. Effects of source and concentration of neutral detergent fiber from roughage in beef cattle diets on feed intake, ingestive behavior, and ruminal kinetics. *J.Anim. Sci.* 98, 1-15. <https://doi.org/10.1093/jas/skaa107>.

GOUVÊA, V. N., MESCHIATTI, M. A. P., MORAES, J. M. M., BATALHA, C. D. A., DÓREA, J. R. R., ACEDO, T. S., TAMASSIA, L. F. M., OWENS, F. N., SANTOS, F.A.P. Effects of alternative feed additives and flint maize grain particle size on growth performance, carcass traits and nutrient digestibility of finishing beef cattle. **Journal of Agricultural Science**. 1–13, 2019.

GRANT, R. J. Interactions among forages and nonforage fiber sources. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.80, p. 1438-1446, 1997.

GUAN, H. et al. Efficacy of ionophores in cattle diets for mitigation of enteric methane. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, p. 1896-1906, 2006.

GUENTER, W. Practical experience with the use of enzymes. 2002. (<http://www.idrc.ca/books/focus/821/chp6.html>). Acesso: 24/08/2018.

HARGER, C.; SPRADA, D.; HIRATSUKA, E. Amilase Fúngica. In: Bioquímica das Fermentações, p.56, 1982.

HORTON, G. M. J. BASSENDOWSKI, K. A.; KELLER, E.H. Digestion and metabolism in lambs and steers fed monensin with different levels of barley. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 50, p. 997-1008, 1980.

HRISTOV, A. N. et al. Fermentation characteristics and ruminal ciliate protozoal population in cattle fed medium – or high-concentrate barley diets. **Journal of animal Science**, Champaign, v. 79, p. 515-524, 2001.

JUDKINS, M. B.; STOBART, R. H. Influence of two levels of enzyme preparation on ruminal fermentation, particulate and fluid passage and cell wall digestion in wether lambs consuming either a 10% or 25% grain diet. **Journal of animal science**. v66, p. 1010-1015, 1988.

KHIAOSA-ARD, R., ZEBELI. Q. Meta-analysis of the effects of essential oils and their bioactive compounds on rumen fermentation characteristics and feed efficiency in ruminants. **Journal of Animal Science**. 91, 2012-5691, 2013.

KLINGERMAN, C. M., W. HU, E. E. MCDONELL, M. C. DER BEDROSIAN, L. KUNG JR. An evaluation of exogenous enzymes with amylase activity for dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v.92, p.1050-1059, 2009.

KNOBLOCH, K.; WEIGAND, H.; WEIS, N.; SCHWARM, H.M.; VIGENSCHOW, H. Action of terpenoids on energy metabolism. In: INTERNATIONAL SYPOSIUM ON ESSENTIAL OILS. **Progress in essential oil research**. Berlin: De Gruyter. 1986. p. 429-445, 1986.

KONONOFF, P. J.; HEINRICHS, A. J.; LEHMAN, H. A. The effect of corn silage particle size on eating behavior, chewing activities, and rumen fermentation in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.3343–3353, 2003.

KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminates**. Santa Maria: Editora santa maria. 140 p., 2002.

LAMBERT, R. J. W.; SKANDAMIS, P. N.; COOTE, P.; NYCHAS, G. J. E. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacol. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 91, n. 3, p. 453-462, 2001.

LANA, R. P.; RUSSEL, J. B. Use of potassium depletion to assess adaptation of ruminal bacteria to ionophores. **Applied an Environmental Microbiology**, Baltimore, v. 62, p. 4499-4503, 1996.

LOMAX, M. A. et al. Differences between lactating and non-lactating dairy cows in concentration and secretion rate of insulin. **Biochemical Journal**, London, v. 180, p. 281-289, 1979.

MARQUES, R.S.; CHAGAS L.J.; OWENS F.N.; SANTOS FA. Effects of various roughage levels with whole flint corn grain on performance of finishing cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 94, p. 339-348, 2016.

MARSIGLIO, N. B. **Óleos funcionais em dieta alto grão para ovinos e efeitos sobre a digestibilidade dos nutrientes, desempenho, características de carcaça e do músculo *Longissimus dorsi***. 2012. 90 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2012.

McGUFFEY, R. K.; ROCHARDSON, L. F.; WILKINSON, J. I. D. Ionophores for dairy cattle: current status and future outlook. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, suppl. E. p. E194-E203, 2001.

McINTOSH, F.M.; WILLIAMS, P.; LOSA, R., WALLACE, R.J.; BEEVER, D.A.; NEWBOLD, C.J. Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 69, n. 8, p. 5011-5014, 2003.

MERTENS, D. R. Análise da fibra e sua utilização na avaliação de alimentos e formulação de rações. In: SIMPOSIO INTERNACIONAL DE RUMINANTES, 1992, Lavras. **Anais...** Lavras: SBZ-ESALQ, p.188, 1992.

MERTENS, D.R. Cresting a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.80, p. 1463-1997.

MESCHIATTI, M. A. P.; MORAES, J. M. M. D.; ACEDO, T. S.; TAMASSIA, L. F. M.; CORTINHAS, C. S.; GOUVEA, V. N. D.; DÓREA, J. R.; SANTOS, F. A. P. Effects of essential oils and exogenous enzyme in feedlot finishing cattle diets high in flint corn ground at different particle sizes, **Journal of Animal Science**, Volume 94, Issue suppl. 5, Pages 659, 2016.

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

METWALLY, A.E.; SCHWARZ, F.J. Effect of feed enzyme amylase on growth performance, nutrient digestibility and meat quality of beef cattle. **Global Veterinarian**, v. 15, p. 522-531. 2015.

MEYER, N. F. et al. Effect of essential oils, tylosin, and monensin on finishing steer performance, carcass characteristics, liver abscesses, ruminal fermentation, and digestibility. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.87, p. 2346-2354, 2009.

MILLEN, D. D. et al. A snapshot of management practices and nutritional recommendations used by feedlot nutritionists in Brazil. **Journal of Animal Science**, v. 87, n. 10, p. 3427-3439, 2009.

MORAIS, J. A. S.; BERCHIELLI, T. T.; REIS, R. A. Aditivos. In T.T. Berchielli; A. V. Pires; S. G. Oliveira (Eds), **Nutrição de ruminantes** (2nd ed., pp. 565-599). Jaboticabal, Brazil, Funep, (2011).

MORGAVI, D.P. et al. Synergy between ruminal fibrolytic enzymes and enzymes from *Trichoderma Longibrachiatum*. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, n. 6, p. 1310-1321, 2000.

NAGARAJA, T.G.; NEWBOLD, C. J.; VAN NEVEL, C. J.; DEMEYER, D. I. Manipulation of ruminal fermentation. In: **The rumen microbial ecosystem**, p. 523-632. P. N. Hobson and C.S. Stewart, 1997.

NAGARAJA, T. G.; TITGEMEYER, E. C. Ruminal acidosis in beef cattle: the current microbiological and nutritional outlook. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 90, suppl., p. E17-E38, 2007.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. Washington: National Academic Press, p. 242. 1996.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. Washington: National Academic Press, p. 381. 2001.

NEWBOLD, C.J.; McINTOSH, F.M.; WILLIAMS, P.; LOSA, R.; WALLACE, R.J. Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 114, n. 1/4, p. 105-112, 2004.

NOZIÈRE, P., STEINBERG, W., SILBERBERG, M., MORGAVI, D. P. Amylase addition increases starch ruminal digestion in first-lactation cows fed high and low starch diets. **Journal of Dairy Science**. v.97, p.2319-2328, 2014.

NUNEZ, A.J.C.; CAETANO, M.; BERNDT, A.; DEMARCHI, J.J.A.; LEME, P.R.; LANA, D.P.D. Uso combinado de ionóforo e virginiamicina em Novilhos Nelore confinados com dietas de alto concentrado. In: **REUNIÃO ANNUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA**, 45., 2008. Lavras: Apor Softwerw, 2008. 1 CD-ROM.

OLIVEIRA, C. A.; MILLEN, D. D.. Survey of the nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists in Brazil. **Animal Feed Science and Technology**, v.197, p.64-75, 2014.

OWENS, F.N. Adaptação de gado de corte confinado a rações ricas em grãos: distúrbios metabólicos e desempenho. In: **SIMPÓSIO SOBRE BOVINOCULTURA DE CORTE: REQUISITOS DE QUALIDADE NA BOVINOCULTURA DE CORTE**, 6., 2008. Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, p. 221-236, 2008a.

PENZ JÚNIOR, A.M. Enzimas em rações para aves e suínos. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Botucatu, v. 35, p. 165-178, 1998.

PERES, J. R.; SIMAS, J. Perspectivas da utilização de ionóforos na produção de bovinos. In: BITTAR, C. M. et al. **Minerais e aditivos para bovinos**. Piracicaba: FEALQ. Cap. 9, p. 225-247, 2006.

PINTO, A.C.J.; MILLEN, D.D. Nutritional recommendations and management practices adapted by feedlot cattle nutritionists: the 2016 Brazilian survey. **Canadian Journal of Animal Science**, v1, p. 46. 2018.

PRESSMAN, B. C. Biological applications of ionophores. **Annual Review of Biochemistry**, Palo Alto, v. 45, p. 501-503, 1976.

PRESTON, R.L. 'Management of high concentrate in feedlot.' In: **SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO INTENSIVA DE GADO DE CORTE** p. 89-91 (CBNA – Campinas), 1998.

RICHARDSON, L. F. et al. Effect of monensin on rumen fermentation in vitro and in vivo. **Journal of Animal Science**, Abingdon, v. 43, p. 657-644, 1976.

RUSSEL, J. B.; STROBEL, H. J. Effects of ionophores on ruminal fermentation. **Applied and Environmental Microbiology**, Baltimore, v. 55, p. 1-6, 1989.

SAMUELSON, K. L.; HUBBERT, M.E.; GALYEAN, M.L., LÖEST, C.A. Nutritional recommendations of feedlot consulting nutritionists: The 2015 New Mexico State and Texas Tech University survey. **Journal of Animal Science**, v. 94(6), p. 2648- 63, 2016.

SANTOS, F.A.P.; PEREIRA, E.M.; PEDROSO, A.M. Suplementação energética de bovinos de corte em confinamento. In: **SIMPÓSIO DE RUMINATES – SAÚDE DO RÚMEN**, 3., 2007. Botucatu. Anais... Botucatu: Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2007. P.31-47.

SCHELLING, G. T. Monensin mode of action in the rúmen. **Journal of Animal Science**, Abingdon, v. 61, p. 1518-1527, 1984.

SPEARS, J. W. Ionophores and nutrient digestion and absorption in ruminants. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 117, p. 632-638, 1990.

TASSOUL M.D., SHAVER R.D. Effect of a mixture of supplemental dietary plant essential oils on performance of periparturient and early lactation dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 92(4), p.1734-40, 2009.

TEDESCHI, L.O., FOX, D.G. The Ruminant Nutrition System: **An Applied Model for Predicting Nutrient Requirements and Feed Utilization in Ruminants**, 2nd ed. XanEdu, Acton, MA. 2018.

TRICARICO, J.M.; JOHNSTON, J.D.; DAWSON, K.A.; HANSON, K.C.; MCLEOD, K.R.; HARMOND, D.L. The effects of an *Aspergillus oryzae* extract containing alpha-amylase activity on ruminal fermentation and milk production in lactating Holstein cows. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 365-374, 2005.

TRICARICO, J, M., ET AL. Effects of a dietary aspergillus oryzae extract containing alfa-amylase activity on performance and carcass characteristics of finishing beef cattle, **Journal of Animal Science**, v. 85, p. 802-811, 2007.

TRICARICO, J.M.; JOHNSTON, J.D; DAWSON, K.A. Dietary supplementation of ruminat diets with an *Aspergillus oryzae* alpha-amylase. **Animal Feed Science and Tecnology**, v. 145, p. 136-150, 2008.

VAN NEVEL, C.J.; DEMEYER, D.I. Influence of antibiotics and a deaminase inhibitor on volatile fatty acids and methane production from detergent washed hay and soluble starch by rumen microbes in vitro. *Animal Feeding Science Technology*, 37, 21-31, 1992.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. Ed. Ithaca: Cornell University Press. P. 476, 1994.

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

WALLACE, R.J. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. **The Proceedings of the Nutrition Society**, London, v. 63, n. 4, p. 621-629, 2004.

WALLACE, R., J.; COLOMBATTO, D.; ROBINSON, P. H. Enzymes, direct-fed microbials and plant extracts in ruminant nutrition, **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 145, p. 1-4, 2008.

WEDEGAERTNER, T. C.; JOHNSON, D. E. Monensin effects on digestibility, methanogenesis and heat increment of a cracked corn-silage diet fed steers. **Journal of Animal Science**, Abingdon, v. 57, p. 168-177, 1983.

YANG, W.Z.; BENCHAAR, C.; AMETAJ, B.N.; BEUCHEMIN, K.A. Dose response to cinnamaldehyde supplementation in growing beef heifers: ruminal and intestinal digestion. **Journal of Animal Science**. Champaign, v. 88, n.2 p. 680-688, 2010a.

YANG, W.Z.; BENCHAAR, C.; AMETAJ, B.N.; BEUCHEMIN, K.A. Dose response to eugenol supplementation in growing beef heifers: ruminal and intestinal digestion. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 158, n.1/2, p. 57-64, 2010b.

ZINN, R. A.; CORONA, L.; WARE, R.A. Forage quality: impacts on cattle performance and economics. In: NATIONAL ALFAFA SYMPOSIUM, 2004, San Diego, **Proceedings...** San Diego, p. 209-216, 2004.

ZINN, R. A.; WARE, R. A. Forage quality: digestive limitations on their relationships to performance of beef and dairy cattle. In: ANNUAL SOUTHWEST NUTRITION & MANAGEMENT CONFERENCE, 2., 2007. Temple. **Proceedings...** Temple, p. 49-54, 2007.

2. DESEMPENHO, CARACTERÍSTICAS DE CARCAÇA E QUALIDADE DE CARNE DE BOVINOS CONFINADOS ALIMENTADOS COM DIFERENTES ADITIVOS E FONTES DE VOLUMOSO

Parte dos apresentados neste capítulo foram publicados na revista *Animal Feed Science and Technology*, (Apêndice A), edição 269, Novembro de 2020, 114643 (<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114643>).

2.1. Introdução

Os grãos de cereais são usualmente utilizados em dietas de confinamento, pois fornecem maior energia líquida de ganho (ELg) (ZINN; CORONA; WARE, 2004) e dessa forma, rações de terminação ricas em grãos, promovem maiores taxas de ganho de peso, favorecem a deposição de gordura de forma mais rápida, o que é desejável pela indústria da carne (OWENS, 2008a).

Embora o aumento na ingestão de carboidratos de elevada degradação seja benéfico, em razão da maior disponibilidade de energia para o ganho de peso, taxas elevadas de ingestão de carboidratos solúveis de rápida degradação estão diretamente relacionados com distúrbios metabólicos, acidose ruminal e decréscimo na taxa de crescimento microbiano (BROWN et al., 2006).

Neste contexto, a utilização de aditivos zootécnicos na nutrição animal potencializa a resposta dos bovinos aos ingredientes ingeridos, modificando a fermentação ruminal, minimizando os efeitos negativos das dietas ricas em concentrados, melhorando o desempenho dos mesmos, efetivamente melhorando os níveis de produção. De acordo com Oliveira e Millen,

(2014), os antibióticos ionóforos são os principais aditivos alimentares utilizados em cerca de 90% dos confinamentos brasileiros.

Por outro lado, a preocupação pública com o uso rotineiro de antibióticos como melhoradores da fermentação ruminal na nutrição de bovinos tem resultado em um grande questionamento com relação ao uso dessas moléculas químicas, neste contexto, esforços consideráveis têm sido dedicados ao desenvolvimento de alternativas aos antibióticos e, nesse sentido, extratos vegetais e enzimas exógenas têm um papel interessante como um aditivo alimentar seguro para a alimentação animal. O uso de aditivos naturais, como extratos de plantas e enzimas, demonstra grande potencial de ação positiva no ambiente ruminal (WALLACE; COLOMBATO; ROBINSON, 2008).

De forma complementar, a fonte de volumoso tem grande importância e influência sobre o consumo de matéria seca (CMS), e consequente a ingestão de energia, influenciando o desempenho dos animais no confinamento e as características de carcaça. Sabe-se que fontes de fibras (oriundas de forragens ou não forragens) diferem consideravelmente quanto a sua efetividade física (CLARK; ARMENTANO, 1997).

Efeitos que podem ser explicados pelas diferenças físicas encontradas entre os tipos de forragem, influenciam a gravidade específica, o tempo de retenção ruminal, o tempo de mastigação total (ingestão e ruminação) e a cinética ruminal (GRANT, 1997). Baixos níveis de volumoso são incluídos em grande parte das dietas de confinamento por duas razões, estimular o consumo dos animais e minimizar os riscos de acidose (GALYEAN; HUBBERT, 2012; CAETANO et al., 2015).

Dessa forma, o uso de diferentes fontes de fibra na dieta ainda é um desafio para os nutricionistas fornecerem quantidades mínimas adequadas de forragem que possibilite, com segurança uma resposta máxima do desempenho animal.

Apesar de existirem diversos relatos na literatura sobre a utilização de aditivos naturais alternativos aos antibióticos, bem como a utilização de diferentes fontes de volumoso para bovinos de corte confinados, mais pesquisas são necessárias para avaliar as interações entre diferentes fontes de volumoso (com base na mesma inclusão do FDNfe) e diferentes aditivos alimentares em bovinos em confinamento, e com isso fornecer maiores informações sobre a viabilidade da utilização desses produtos em dietas com alta proporção de concentrados.

2.2. Material e métodos

Todos os procedimentos usados para esse experimento envolvendo animais foram conduzidos de acordo com o Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA número 4486060817). Ambos os protocolos foram aprovados pelo comitê de ética da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo campus Fernando Costa.

2.2.1. Animais e tratamento

O experimento foi conduzido no Departamento de Zootecnia da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, em Pirassununga/ SP.

Foram utilizados oitenta e oito Nelores machos não castrados de origem comercial, com peso inicial médio de 359 ± 39 kg e idade de 24 a 36 meses. Os animais foram designados a um delineamento de blocos casualizados (peso vivo inicial) em um arranjo fatorial 2×2 (tipo de aditivo e volumoso), utilizando 22 repetições por tratamento.

Na chegada ao confinamento, os animais foram identificados com brincos na orelha, pesados, desparasitados com 35 g/kg de Ivermectina (7 mL/ animal; Puritec Gold®, Ceva Brasil, Paulínia, SP, Brazil) e vacina contra clostridiose (5 mL/animal; Ourovac Poli BT OuroFino Saúde Animal, Cravinhos, SP, Brazil). Durante o experimento, os animais foram vacinados contra febre aftosa (5 mL/ animal; Bovicel Vallée, São Paulo, SP, Brazil) de acordo com o programa nacional brasileiro de vacinação.

Posteriormente, os animais foram blocados pelos pesos iniciais e atribuídos aleatoriamente, dentro do bloco, aos tratamentos, foram divididos em dois grupos, sendo que o primeiro grupo, com 44 animais foram alojados em quatro baias coletivas (10×16 m; 11 animais/ curral; $14,5 \text{ m}^2$ / animal), equipadas com portões individuais eletrônicos (American Calan Inc, Northwood, NH, USA), que permitem o consumo individual dos animais. O segundo grupo, com 44 animais foi alojado em baias individuais (6×3 m; 18 m^2 / animal), ambas instalações apresentavam piso de concreto, bebedouro automático e cocho de cimento.

Os tratamentos foram constituídos por dois ativos alimentares (Monensina sódica (MON; 26 mg/KgMS) ou a combinação de um *blend* de óleos essenciais + enzima amilase exógena (BEO + AM; 90 e 560 mg do produto comercial/ Kg MS, respectivamente) associado com uma das duas fontes de volumoso (silagem de milho – SM vs bagaço de cana-de-açúcar in natura – BC). As fontes de forragem foram incluídas na dieta de acabamento para fornecerem o mesmo nível de FDNfe (Tabela 1).

O produto comercial utilizado foi o Fosbovi® Confinamento Crina® RumiStar™ (DSM Produtos Nutricionais Brasil S.A, São Paulo, SP, Brazil) composto por um *blend* de óleos

essenciais (BEO; CRINA Ruminats), uma mistura patenteada que inclui timol, eugenol, vanilina e limoneno e um transportador orgânico (McIntoch et al., 2003) e a adição da enzima α -amilase exógena (AM; *Bacillus licheniformis*, RANOZYME RumiStar).

A enzima exógena com uma atividade de amilase de 600 unidades de quilo Novo (KNU) por grama, foi adicionada à dieta para atingir 336 KNU de atividade de amilase por quilograma de MS (Gouvêa et al., 2019). Um KNU é definido como a quantidade de enzima liberada em uma reação em duas etapas 6 μ mol de p-nitrofenol por min de 4,6-etilideno-G7-nitrofenil-maltoheptaosídeo de 1,86 mM a pH 7,0 e 37 °C (Meschiatti et al., 2019; Gouvêa et al., 2019).

A monensin sódica (MON; Rúmensin; Elanco Animal Health, Indianápolis, IN) foi utilizada como controle positivo neste experimento e foi adicionada ao mesmo produto comercial sem adição dos óleos essenciais e da enzima exógena.

Para SM, o milho (BM-709 Pro 2, Biomatrix, Rio Claro, SP, Brasil) foi colhido (110 dias após o plantio) e triturado em picador JF C240 Double Evolution S2 (JF Máquinas Agrícolas Ltda, Itapira, SP, Brasil). O silo foi coberto com uma lona de camada dupla para silagem (espessura de 200). O BC utilizado neste experimento foi obtido em uma usina comercial de processamento de cana-de-açúcar (Cia Müller de Bebidas, Destilaria Lajeado, Pirassununga, SP, Brasil).

Após a chegada, os animais passaram por um período de 14 dias de adaptação às instalações no qual receberam apenas SM *ad libitum*, e acesso livre ao cloreto de sódio, que foi disponibilizado em um cocho separado (NutriSAI - P Batista de Moraes M.E., Areia Branca, RN, Brazil). Após este período, os animais foram então pesados após 16h de jejum alimentar e hídrico (dia 0), foram então distribuídos em oito blocos de acordo com pelo peso vivo inicial em jejum e atribuídos aleatoriamente com base no bloco peso e tipo de instalação, aos tratamentos (22 repetições / tratamento).

O estudo teve duração de 108 dias, e os tratamentos foram oferecidos aos animais durante todo o experimento. As dietas (Tabela 1) foram formuladas para conter o mesmo nível de proteína e energia utilizando o software RLM 3.2 (Integra Software, Piracicaba, São Paulo, Brasil) para atender às necessidades de nutrientes de touros Nelore em terminação para 1,5 kg de ganho médio diário (GMD), conforme especificado pelo Cornell Net Carbohydrate and Protein System (CNPCS; Fox et al., 1992). Aditivos alimentares (MON e BEO + AM) foram adicionados ao suplemento mineral-vitamínico, os quais foram incluídos na uma ração total a 30 g / kg de MS da dieta. Os suplementos contendo os aditivos alimentares foram produzidos em uma fábrica comercial de rações (DSM Nutritional Products Brazil S.A., Mairinque, SP, Brasil) seguindo os padrões de fabricação de qualidade de mistura e níveis garantidos. Milho

moído foi processado para ter um tamanho médio de partícula de 2 mm (Hammermill modelo Lucato S10, Limeira, SP, Brasil).

Os touros foram adaptados à dieta rica em concentrado durante os primeiros 20 dias do experimento utilizando 4 dietas intensivas que gradualmente (a cada 5 dias) diminuíram a NDF_{fe} do volumoso (SM ou BC) de 200 g / kg para 180 g / kg, 150 g / kg e 130 g / kg de MS. A partir do 21º dia, os animais receberam a dieta final de acabamento contendo 100 g / kg de FDN_{fe} de SM ou BC com base na MS até o abate dos animais.

Tabela 1 – Ingredientes e composição química (com base na matéria seca) das dietas.

Item	Fonte de volumoso	
	Silagem de milho	Bagaço de cana-de-açúcar
Ingredientes, kg/g		
Silagem de milho	195	-
Bagaço de cana-de-açúcar	-	120
Milho grão	707	782
Farelo de Soja (45%)	55	55
Mistura mineral ^{1,2}	30	30
Ureia	13	13
Composição química, kg/g ³		
Matéria seca	658	810
Proteína bruta	142	139
FDN	197	212
FDA	149	165
NDT ⁴	789	772
Extrato etéreo	51	51
Amido	403	417
EM, MJ/kg ⁴	11,94	11,68
EL _m , MJ/kg ⁴	7,98	7,77
EL _g , MJ/kg ⁴	5,31	5,12
Tamanho médio de partícula, mm ⁵	25,9	19,8
FDN _{fe} da forragem	100	107

¹ Suplemento mineral e vitamínico contendo (por kg de matéria seca): 140 g / kg Ca, 16 g / kg P, 36 g / kg S, 20 g / kg Mg, 34 g / kg K, 56 g / kg Na, 8 mg / kg Co, 540 mg / kg Cu, 6,7 mg / kg Cr, 27,5 mg / kg I, 1070 mg / kg Mn, 6,7 mg / kg Se, 2.000 mg / kg de Zn, 168.000 IU / kg de vitamina A, 17.000 IU / kg de vitamina D3, 1.740 IU / kg de vitamina E, 90 mg / kg de biotina, $2,7 \times 10^9$ UFC / kg *Saccharomyces cerevisiae*. Fabricado por DSM Nutritional Products, São Paulo, Brasil., ² Fornecimento de tratamentos dietéticos (aditivos alimentares): MON = monensina de sódio a 26 mg / kg de matéria seca, (Rúmensin, Elanco Animal Health, Indianapolis, IN) e BEO + AM = mistura de óleos essenciais a 90 mg de produto comercial (CRINA Ruminats) / kg de matéria seca + α -amilase exógena a 560 mg de produto comercial (RONOZYME RumiStar) / kg de matéria seca. A mistura de

óleos essenciais e a α -amilase exógena foram fornecidos por DSM Nutritional Products, Basel, Suíça. ³ Com base na análise química dos ingredientes coletados durante o experimento (n = 12 amostras). ⁴ Os nutrientes digestíveis totais (NDT) foram estimados usando concentrações de proteína bruta, extrato etéreo, cinzas, fibra em detergente neutro, lignina, fibra em detergente ácido e proteína bruta insolúvel neutra como descrito por Weiss et al. (1992) e então energia metabolizável (EM), energia líquida disponível para crescimento (ELg) e energia líquida disponível para manutenção (ELm) foram calculados usando as seguintes equações: $ED = NDT \times 0,04409$; $EM = 0,82 \times ED$; $NEg = 1,42 \times [EM] - 0,174 \times [EM]^2 + 0,0122 \times [EM]^3 - 1,65$; e $NEm = 1,37 \times [EM] - 0,138 \times [EM]^2 + 0,0105 \times [EM]^3 - 1,12$ (NASEM, 2016). ⁵ O tamanho médio das partículas foi determinado de acordo com método adaptado de Lammers et al. (1996). ⁶ FDNfe: fibra em detergente neutro fisicamente eficaz com base em MS de volumoso retido na peneira de 1,17 mm como proposto por Lammers et al. (1996).

Fonte: própria autoria.

As dietas foram misturadas em um vagão misturador de ração (Casale Unimix 1200, Casale Equipamentos, São Carlos, SP, Brasil), pesadas em sacos de náilon em balança fixa (Toledo do Brasil, Indústria de Balanças Ltda, 2124/1, São Bernardo do Campo, SP, Brasil) e oferecido uma vez ao dia às 08h00. Para evitar contaminação cruzada, o vagão de alimentação era limpo após cada mistura. As sobras que não deveriam ultrapassar 50 g / kg foram retiradas diariamente, pesadas, secas a 55°C e utilizadas para determinar a quantidade de ração a ser oferecida no dia seguinte com base no CMS do dia anterior. Amostras de fontes frescas de volumoso (SM e BC) foram coletadas semanalmente para medir o tamanho das partículas (Tabela 2) usando o Penn State Particle Size Separator (Nasco, Fort Atkinson, WI, EUA; Lammers et al., 1996) adaptado com uma peneira superior (> 19 mm, ≤ 19 e > 8 mm, ≤ 8 e > 1,18 mm e $\leq 1,18$ mm).

Tabela 2 - Caracterização da distribuição granulométrica (g/kg) da silagem de milho e bagaço de cana-de-açúcar *in natura* utilizadas no Exp. 1 e 2.

Tamanho da peneira ¹	Silagem de milho	Bagaço de cana-de-açúcar
>19 mm	12,0	5,0
≤ 19 e > 8 mm	119	30,0
≤ 8 e > 1.18 mm	509	508
≤ 1.18 mm	360	457
Tamanho médio de partículas ² , mm	259	198

¹ A distribuição do tamanho de partícula foi avaliada em 8 amostras de cada fonte de volumoso de acordo com Lammers et al. (1996) usando o Separador de Tamanho de Partículas Penn State (Nasco, Fort Atkinson, WI, EUA) com Peneira de poro de 1,17 mm.² O tamanho médio das partículas foi determinado de acordo com o método adaptado de Lammers et al. (1996).

Fonte: própria autoria.

2.2.2. Coleta de amostras e análises

Os animais foram pesados individualmente após 16 h de jejum alimentar e hídrico no início (dia 0) e no final (dia 108) do experimento, a partir desses dados foi calculado o GMD. A eficiência alimentar (EA) foi calculada dividindo o GMD pela IMS. Amostras de SM e BC foram coletadas semanalmente durante o experimento e secas a 105°C durante 24 h para ajustes da dieta alimentar com base na MS.

As dietas foram amostradas semanalmente e armazenadas a -20°C até o final do experimento quando foram compostas, secas em estufa de ar forçado a 55 °C por 72 h e moídas em moinho com tela de 1 mm (moinho Wiley, MA-680 arconi Ltda, Piracicaba, SP, Brasil). As sub-amostras foram analisadas em triplicata para MS a 105 °C (AOAC, 1990; método 930.15), proteína bruta (PB) pelo método de Dumas (Wiles et al., 1998), extrato etéreo (EE; AOAC, 1990; método 920,29), cinzas (AOAC, 1990; método 942,05), amido (Hall, 2009), FDN (não sequencial e sem cinzas; Van Soest et al., 1991) e FDA como método 973,18 (Van Soest, 1973).

Valores tabulares de lignina e proteína bruta insolúvel em detergente neutro (software RLM 3.2) foram usados para determinar a porcentagem de NDT da dieta, conforme descrito por Weiss et al. (1992). Para o ensaio de FDN utilizou-se fonte de amilase estável ao calor, conforme recomendado pela National Forage Testing Association (Undersander et al., 1993). Cada amostra recebeu α -amilase (Sigma A3306; Sigma – Aldrich Brasil Ltda, São Paulo, SP, Brasil) e sulfito de sódio separadamente para a determinação de FDN. Ambos FDN e FDA foram expressos, excluindo as cinzas residuais. Todas as amostras foram analisadas em triplicata.

Nos dias 20, 78 e 108 do estudo, amostras fecais (aproximadamente 300 g) foram coletadas manualmente diretamente do reto dos touros em jejum e armazenados a -20 °C para posterior análise do amido fecal (Hall, 2009).

2.2.3. Medidas de ultrassonografia

Nos mesmos dias das pesagens, foram feitas avaliações de ultrassonografia nos animais utilizando um equipamento de ultrassom, marca Aloka, modelo SSD500 Micrus (Aloka Co. Ltd.), com transdutor linear de 3,5 MHz e 172 mm de comprimento. Foram colhidas imagens para determinação da área de olho de lombo (AOL), espessura de gordura subcutânea (EGS) entre a 12ª e a 13ª costelas e sobre o músculo *Biceps femoris* entre o íleo e o ísquio, para determinação da espessura de gordura da picanha (EGP).

2.2.4. Abate e coleta de dados da carcaça

No final do período experimental, os animais foram transportados 120km (aproximadamente 1,3 horas) em caminhões comerciais de transporte de animais (18 animais/caminhão) para um frigorífico fiscalizado pela Federação (Frigorífico Angeleli, Piracicaba, Brasil) e foram abatidos seguindo os procedimentos de abate humanitário, conforme exigido pela legislação brasileira. O peso de carcaça quente (PCQ) foi determinado após a evisceração, sem rins gordura pélvica e cardíaca. O RCQ foi calculado por meio da divisão do PCQ pelo peso final de abate dos animais.

Após 24h de resfriamento ($0 - 2^{\circ}\text{C}$), foi mensurado o pH do músculo *Longissimus* (LM) utilizando um medidor de pH digital portátil (Hanna Instruments - modelo HI99163, São Paulo, Brasil). Para determinar a AOL e a EGS, uma meia carcaça foi dividida entre a 12^o e 13^o costela e então uma imagem do musculo *Longissimus* foi obtida por meio de uma câmera digital acoplada a um retângulo de aço de 15 x 20 cm com uma haste de 10 cm de altura. As imagens foram gravadas e interpretadas, por um técnico experiente, utilizando o software Lince® (M&S Consultoria Agropecuária, Pirassununga, São Paulo, Brasil).

Duas amostras de 2,5 cm foram coletas *Longissimus* entre a 12^a e 13^a costela, embaladas à vácuo individualmente e maturadas durante sete dias para posterior análises instrumental e química da carne.

2.2.5. Análise instrumental e química da carne

Após o tempo de maturação, as amostras foram removidas da embalagem, pesadas e expostas ao ambiente por 30 minutos sob refrigeração a uma temperatura $4^{\circ}\text{C} - 6^{\circ}\text{C}$ para avaliação objetiva da cor, utilizando um espectrofotômetro portátil Konica Minolta (CMD2500d; Konica Minolta Sensing, Inc., Tóquio, Japão), com illuminate padrão D65, 10° de de ângulo e abertura do obturador de 30 mm, de acordo com o Escala de cores CIELAB (L^* = luminosidade, a^* = intensidade da cor vermelha, b^* = intensidade do amarelo). A avaliação da cor foi realizada em três áreas diferentes da amostra e a média foi utilizada como valor final.

Após o tempo de maturação, as amostras foram removidas da embalagem, pesadas e expostas ao ambiente por 30 minutos sob refrigeração a uma temperatura $4^{\circ}\text{C} - 6^{\circ}\text{C}$ para avaliação objetiva da cor, utilizando um espectrofotômetro portátil Konica Minolta (CMD2500d; Konica Minolta Sensing, Inc., Tóquio, Japão), com iluminação padrão D65, 10° de de ângulo e abertura do obturador de 30 mm, de acordo com o Escala de cores CIELAB (L

* = luminosidade, a^* = intensidade da cor vermelha, b^* = intensidade do amarelo). A avaliação da cor foi realizada em três áreas diferentes da amostra e a média foi utilizada como valor final.

A maciez foi determinada conforme recomendado pela *American Meat Science Association* (AMSA, 2015). Após esse procedimento, as amostras (LM) com 2,5 cm, foram assadas em um forno elétrico industrial (Modelo F130 / L - Fornos Flecha de Ouro Ind. e Com. Ltda., São Paulo, Brasil). A temperatura interna dos bifes foi monitorada por meio de termômetros individuais (Gulton Instrumentos de Medição e Automação Indústria e Comércio LTDA – Modelo Gulterm 700-10s, São Paulo, Brasil). Ao alcançar 40 °C, as amostras foram viradas e permaneceram no forno até alcançar a temperatura de 71 °C.

Posteriormente, as amostras permaneceram em temperatura ambiente até resfriarem a 25 °C, quando foram novamente pesadas para determinar as perdas por cocção (PC). Após isso, as amostras foram envolvidas em papel filme e foram resfriadas a 4 °C por 12 horas. Após esse período, foram retirados seis cilindros (1,27 cm de diâmetro) de cada amostra, no sentido paralelo ao das fibras, para determinação da FC por meio do texturômetro TMS-PRO (Food Technology Corporation, Sterling, Virginia, EUA) acoplado a um dispositivo de cisalhamento Warner-Bratzler com velocidade fixada em 200 mm/min (AMSA, 2015). A FC de cada amostra foi considerada como o valor médio dos seis cilindros.

Para a determinação da composição química da carne, as amostras foram analisadas em triplicata para MS a 105 °C (AOAC, 1990; método 930.15), proteína bruta (PB) pelo método de Dumas (Wiles et al., 1998), extrato etéreo (EE; AOAC, 1990; método 920,29), cinzas (AOAC, 1990; método 942,05).

2.2.6. Análise estatística

Todos os dados foram analisados usando o procedimento MIXED do SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA). Antes da análise real, os dados foram analisados quanto à presença de informações díspares ('outliers') e normalidade dos resíduos (Shapiro-Wilk) usando o procedimento Univariate do SAS. As observações individuais foram consideradas outlier quando os desvios-padrão em relação à média foram maiores que +3 ou menores que -3.

Os dados de desempenho, crescimento e as características de carcaça foram analisados com um desenho de bloco completo ao acaso. O modelo estatístico incluiu os efeitos fixos da fonte de volumoso, aditivo alimentar e fonte de volumoso $\times$ aditivo alimentar. O animal foi considerado como unidade experimental. O peso do bloco e o animal (fonte de volumoso $\times$ aditivo alimentar) foram considerados efeitos aleatórios. O amido fecal foi avaliado com

medidas repetidas no tempo utilizando o mesmo modelo descrito anteriormente, com a adição de dia e fonte de volumoso $\times$ aditivo alimentar $\times$ dia como efeitos fixos. As estruturas de covariância foram modeladas, e aquela que apresentou menor valor Akaike Information Criterion (AIC) foi utilizada. Quando nenhuma interação entre fonte de volumoso $\times$ aditivo alimentar $\times$ dia foi observada, eles foram removidos do modelo e as médias foram calculadas ao longo do período de 24 horas.

Resultados relatados como médias dos quadrados mínimos. Quando nenhuma interação significativa foi observada, os principais efeitos da fonte de volumoso e dos aditivos alimentares foram examinados. Quando interações significativas foram observadas para uma característica, as médias foram separadas usando a opção PDIFF. As diferenças foram declaradas significativas quando $P \leq 0,05$, enquanto as tendências foram declaradas quando $0,05 < P < 0,10$.

2.3. Resultados

2.3.1. Desempenho animal

Período de Adaptação

Foram observadas interações entre as fontes de volumosos e os aditivos para as características de desempenho animal no período de adaptação (Tabela 3).

No presente estudo, foi observado efeito de interação entre as fontes de forragem e os diferentes aditivos (Tabela 4) para a IMS ($P=0,032$) e EA ($P=0,034$). Animais alimentados com BC e BEO+AM apresentaram maior IMS ($P=0,032$) e EA ($P=0,034$), entretanto, para SM, não foi observada essa diferença entre os aditivos testados.

Ao final do período de adaptação, os animais alimentados com BEO+AM apresentaram maior GPD ($P=0,001$) e consequente maior peso PVF ($P=0,006$) quando comparados com os animais do tratamento MON, em ambas as fontes de forragem.

Tabela 3 – Média, erro padrão da média (EPM) e probabilidade (P-valor) das características de desempenho no período de adaptação (20D), de acordo com o tipo de volumoso (Vol) e aditivo (Adit).

Item ³	Silagem de milho		Bagaço de cana-de-açúcar		EPM	Pr-valor		
	BEO + AM ¹	MON ²	BEO + AM	MON		Vol	Adit	Vol x Adit

PVI, kg	359,9	358,5	363,1	355,4	13,51	0,983	0,275	0,447
PVF, kg	384,4	377,4	383,3	361,4	13,26	0,089	0,006	0,189
GMD, kg/dia	1,4	0,9	1,1	0,3	0,17	0,003	0,001	0,201
IMS, kg/dia	10,1 ^{aA}	10,3 ^{aA}	7,6 ^{aB}	5,6 ^{bB}	0,39	<0,001	0,042	0,015
EA, g GMD/g IMS	139,0	102,8	145,8	43,0	29,8	0,259	0,009	0,216

¹BEO+ AM – 90mg de produto comercial (CRINA Ruminats)/kg MS + 560mg de produto comercial RONOZYME RumiStar / kg MS; ²MON – 26mg/ Kg MS de Monensina (Rúmensin, Elanco Animal Health, Indianapolis, IN); ³PVI - peso vivo inicial; PVF – peso vivo final; GMD – ganho médio diário; IMS – ingestão de matéria seca; EA – eficiência alimentar. ^{a,b} Different letters within roughage source differ for feed additive (P<0.05). ^{A,B} Different letters within feed additive differ for roughage source (P<0.05).

Fonte: própria autoria.

Período total de confinamento

Não foram observadas interações duplas ou triplas para qualquer característica neste estudo e, portanto, os efeitos da fonte de volumoso e dos aditivos alimentares foram apresentados separadamente (Tabela 4).

Tabela 4 – Efeitos de aditivos alimentares (mistura de óleos essenciais e α -amilase exógena ou monensina sódica) e fontes de volumoso (silagem de milho ou bagaço de cana-de-açúcar), erro padrão da média (EPM) e probabilidade (P-valor) no desempenho, crescimento, características de carcaça e amido fecal de touros Nelore em terminação.

Item	Volumoso ¹		Aditivo ²		EPM	P > F		
	BC	SM	BEO + AM	MON		Vol	Adit	Vol x adit
Crescimento e performance ³								
PVI, kg	359	359	362	357	13,9	0,998	0,275	0,447
PVF, kg	511	526	527	510	13,9	0,049	0,023	0,249
GMD, kg/day	1,40	1,55	1,53	1,41	0,04	0,015	0,043	0,417
IMS, kg/day	9,10	11,4	10,5	10,0	0,30	<0,001	0,171	0,412
EA, g GMD/g IMS	161	138	155	144	7,36	0,016	0,220	0,410
Características de carcaça ⁴								
PCQ, kg	286,2	299,8	298,1	287,9	8,13	0,004	0,029	0,360
RC, %	56,0	57,0	56,5	56,5	0,29	0,008	0,969	0,764
AOL, cm ²	66,8	70,5	68,9	68,4	1,17	0,035	0,835	0,195
EGS, mm	3,3	3,2	3,3	3,3	0,19	0,704	0,819	0,750
Amido fecal, g/kg	191	168	158	201	17,3	0,171	0,013	0,133

¹ BC – Bagaço de cana-de-açúcar; SM – Silagem de milho. ² MON – 26mg/ Kg MS de Monensina (Rúmensin, Elanco Animal Health, Indianapolis, IN); BEO+ AM – 90mg de produto comercial (CRINA Ruminats)/ kg MS + 560mg de produto comercial RONOZYME RumiStar / kg MS. ³ PVI - peso vivo inicial; PVF – peso vivo final; GMD – ganho médio diário; IMS – ingestão de matéria seca; EA – eficiência alimentar. ⁴PCQ – peso de carcaça quente; RC – rendimento de carcaça; AOL – área de olho de lombo; EGS – espessura de gordura subcutânea. Fonte: própria autoria.

Animais alimentados com dietas à base de SM apresentaram um CMS 25,3% maior ($P < 0,001$), 10,7% maior GMD ($P = 0,015$) e 2,94% do peso corporal final ($P = 0,049$) em comparação com touros alimentados com dietas a base de BC (Tabela 4). No entanto, a E:A foi 16,7% maior para touros alimentados com SM. Quando avaliamos os diferentes aditivos, touros alimentados com dietas contendo a combinação de BEO + AM tiveram 8,5% maior GMD ($P = 0,043$) e 3,3% maior PV final ($P = 0,023$) do que touros alimentados com MON, mas nenhuma diferença foi observada no CMS e E:A entre estes dois aditivos alimentares (Tabela 4).

A IMS durante do período total de alimentação de acordo com as fontes de volumosos e os aditivos estão representados pelas Figuras 1 e 2, respectivamente. A evolução do ganho de peso a partir do dia 1 (final da adaptação) até o D108 (final do experimento), está representada na Figura 3 e 4 respectivamente.

Figura 1 – Ingestão de matéria seca (kg/dia) ao longo dos dias de alimentação de acordo com o tipo de forragem.

Fonte: própria autoria.

Figura 3 – Peso vivo ao longo dos dias de alimentação de acordo com o tipo de forragem.

Figura 2 – Ingestão de matéria seca (kg/dia) ao longo dos dias de alimentação de acordo com o tipo de aditivo.

Fonte: própria autoria.

Figura 4 – Peso vivo ao longo dos dias de alimentação de acordo com o tipo de aditivo.

Os pesos do D 1 e D 108 são referentes ao peso jejum dos animais, e os pesos intermediários (D 48 à D 105) foram ajustados a 4% com base no peso corporal total.
Fonte: própria autoria

Os pesos do D 1 e D 108 são referentes ao peso jejum dos animais, e os pesos intermediários (D 48 à D 105) foram ajustados a 4% com base no peso corporal total.
Fonte: própria autoria

Pode-se observar que em ambas as Figuras 3 e 4, os pesos do D108 estão menores do que os pesos do D105, que provavelmente foi devido a diferenças no peso total ajustado no D105 comparado ao peso reduzido avaliado no final do teste (D108).

2.3.2. Avaliação de ultrassonografia na carcaça

Os touros alimentados com SM tiveram 14 kg a mais de PCQ ($P = 0,004$), 1,79% (ou 1 ponto por cento) a mais no RC ($P = 0,008$) e 5,54% mais na AOL ($P = 0,035$) em comparação com touros alimentados com dietas a base de BC (Tabela 4).

No entanto, a fonte de volumoso não afetou a EGS (Tabela 4). A combinação de BEO + AM resultou em um aumento de 10 kg de PCQ ($P = 0,004$) e reduziu a quantidade de o amido fecal em 21,4% ($P = 0,013$) quando comparada à MON (Tabela 4).

A avaliação das características de carcaça de acordo com a fonte de volumoso e os aditivos ao longo dos dias de alimentação dos touros estão representadas pelas figuras abaixo (Figura 5, 6, 7 e 8).

Figura 5 – Avaliação da área de olho de lombo (AOL), em cm^2 , de acordo com a fonte de volumoso ao longo dos dias de alimentação.

Figura 6 – Avaliação da área de olho de lombo (AOL), em cm^2 , de acordo com o aditivo ao longo dos dias de alimentação.

Fonte: propria autoria.

Fonte: propria autoria.

Figura 7 – Avaliação da espessura de gordura subcutânea (EGS), em mm, de acordo com a fonte de volumoso ao longo dos dias de alimentação.

Figura 8 – Avaliação da espessura de gordura subcutânea (EGS), em mm, de acordo com o aditivo ao longo dos dias de alimentação.

Fonte: propria autoria.

Fonte: propria autoria.

2.3.3. Concentração de amido fecal

Não houve interação entre as fontes de volumoso, aditivos alimentares e os dias de alimentação para a concentração de amido nas fezes. Também não foram encontradas diferenças entre as fontes de volumosos avaliadas para as concentrações de amido fecal (Figura 9), entretanto, o tratamento BEO + AM apresentou menor concentração de amido excretado (Tabela 4) nas fezes dos animais em comparação à MON ($P=0,013$). A concentração de amido fecal aumentou em função do tempo de confinamento ($P = 0,009$), independentemente da fonte de volumoso (Figura 10) ou do aditivo (Figura 11).

Figura 9 - Concentração de amido fecal durante o período total de confinamento de acordo com a fonte de volumoso e o aditivo.

Fonte: propria autoria

Figura 10- Concentração de amido fecal ao longo dos dias de alimentação de acordo com a fonte de volumoso.

Fonte: propria autoria

Figura 11- Concentração de amido fecal ao longo dos dias de alimentação de acordo com o aditivo.

Fonte: propria autoria

2.3.4. Qualidade e composição química da carne

A fonte de volumoso dietético não afetou a qualidade ou a composição da carne, exceto para uma tendência ($P = 0,061$) de maior FC para dietas a base de BC (Tabela 5).

Tabela 5 - Efeitos de aditivos alimentares (mistura de óleos essenciais e α -amilase exógena ou monensina sódica) e fontes de volumoso (silagem de milho ou bagaço de cana-de-açúcar), média, erro padrão da média (EPM) e probabilidade (P-valor) das características de qualidade e composição química da carne de touros Nelore em terminação.

Item	Volumoso ¹		Aditivo ²		EPM	P-valor		
	BC	SM	BEO + AM	MON		Vol	Adit	Vol x adit

Qualidade da carne ³								
pH 24 horas	5,84	5,88	5,90	5,82	0,06	0,599	0,348	0,715
L*	36,7	36,8	35,9	37,6	0,54	0,890	0,028	0,815
a*	14,2	14,4	13,9	14,6	0,46	0,772	0,300	0,652
b*	12,4	12,5	12,0	12,8	0,43	0,870	0,208	0,935
PC, %	26,5	25,3	25,8	26,1	0,76	0,249	0,734	0,505
FC, kg	8,8	7,6	8,2	8,3	0,49	0,061	0,915	0,526
Composição química								
Umidade, %	73,9	73,8	73,8	73,9	0,20	0,895	0,923	0,145
Cinzas, %	1,2	1,1	1,0	1,4	0,02	0,781	0,132	0,568
Proteína bruta, %	22,9	23,1	23,2	22,8	0,24	0,829	0,441	0,917
Extrato etéreo, %	1,7	1,9	1,7	1,8	0,46	0,370	0,611	0,422

¹ BC – Bagaço de cana-de-açúcar; SM – Silagem de milho. ² MON – 26mg/ Kg MS de Monensina (Rúmensin, Elanco Animal Health, Indianapolis, IN); BEO+ AM – 90mg de produto comercial (CRINA Ruminats)/ kg MS + 560mg de produto comercial RONOZYME RumiStar / kg MS. ³ L*- luminosidade (0 = preto e 100 = branco), a* intensidade da cor vermelha -60 = verde e 60 = vermelho) e b* intensidade da cor azul (- 60 = azul e 60 = amarelo); PC- perdas por cocção; FC- força de cisalhamento.

Fonte: autoria própria.

Não foram observadas outras diferenças nas características de carcaça ou qualidade da carne (Tabela 5) entre os touros alimentados com BEO + AM e MON, exceto para L *, que foi maior para touros alimentados com MON do que com BEO + AM (P = 0,028).

2.4. Discussão

A utilização do conceito de efetividade física da fibra tem como grande vantagem permitir a comparação entre diferentes fontes de FDN, colocando-as em uma mesma escala relativa. O conceito de FDNfe foi definido a partir da capacidade da fração FDN em estimular a atividade de mastigação, manter o pH ruminal e contribuir para a formação da camada bifásica do rúmen composta por partículas longas (MERTENS, 1997).

O FDNfe é descrito como a porcentagem de FDN remanescente em uma peneira de 1,18 mm após a atividade peneiração a seco, sendo dessa forma, também considerada um preditor do pH ruminal (NRC, 1996). Além disso, para rações com elevado teor de concentrado com o objetivo de maximizar o ganho / alimentação, o NRC (1996) recomendando-a utilização de no mínimo 50–80 g / kg do FDNfe para dietas de confinamento onde existe um bom manejo de cocho de alimentação e também a inclusão de ionóforos.

Dentro do exposto e a fim de prevenir distúrbios digestivos e não comprometer o período de alimentação do estudo, optamos por ser mais conservadores e formular uma dieta com 100 g / kg de FDNfe de volumoso.

De acordo com Galyean e Defoor (2003), trabalhar com uma baixa porcentagem de volumoso nas dietas de terminação ajuda a maximizar o consumo de energia pelos bovinos durante o período de confinamento, no entanto, o nível de inclusão e a fonte de volumoso podem afetar o CMS e por consequência a ingestão de ELg (DEFOOR et al., 2002), impactando o desempenho do confinamento e as características de carcaça. Defoor et al. (2002), relatam que a FDN do volumoso foi responsável pela maior parte da variação da ELg / kg de PV^{0,75}.

Mertens (1997) relatou que o FDNfe pode estar relacionado às variações do CMS e consequentemente, o FDNfe do volumoso seria utilizado praticamente como um meio de troca de fontes de volumoso em dietas de confinamento. Em concordância com nossos resultados, Goulart et al. (2020a) relataram menor CMS para novilhos alimentados com 100 g / kg de FDN de SM e 100 g / kg de NDF de BC em comparação com uma dieta com 200 g / kg de NDF de SM.

Semelhante ao observado neste estudo, Henrique et al. (1999) relataram maior GMD e peso vivo final em bovinos em terminação alimentados com SM do que bovinos alimentados com BC. Pires et al. (2010) também observaram uma diminuição no CMS quando a SM foi substituída por BC em vacas em lactação. A diminuição do CMS causada pelo BC pode estar relacionada à redução da taxa de digestão e baixa digestibilidade ruminal de sua fração fibrosa (PRESTON, 1982). Da mesma forma, Magalhães et al. (2006) relataram uma diminuição da taxa de passagem do rúmen quando a SM foi completamente substituída por BC, isso poderia levar a um maior acúmulo de material indigestível no rúmen, um menor CMS (ALLEN, 2000) e, consequentemente, um menor desempenho dos animais alimentados com BC.

Neste estudo, os animais alimentados com SM apresentaram maior PCQ, RC e AOL do que o grupo alimentado com BC, mas não diferiram em EGS ou nas características de qualidade da carne. Esses maiores valores de PQC e AOL podem ser explicados pelo melhor desempenho observado no grupo SM, uma vez que essas características estão correlacionadas (SILVA et al., 2003). No entanto, essas diferenças não foram suficientes para causar diferenças na EGS e na qualidade da carne.

Entretanto, esses resultados diferem dos de Ribeiro et al. (2016a), que não observaram diferenças no PCQ, AOL e EGS de touros Nelore alimentados com diferentes fontes de volumoso (SM ou BC) em dietas com alto teor de concentrado. Além disso, não foram encontradas diferenças na cor, maciez e perda de cozimento (RIBEIRO et al., 2016b).

O uso de aditivos naturais alternativos versus o uso de antibióticos convencionais em animais de confinamento tem aumentado à medida que a demanda do mercado consumidor por produtos naturais aumenta (KHIAOSA-ARD e ZEBELI., 2013). O uso de óleos essenciais e seus compostos bioativos na dieta de bovinos em confinamento pode melhorar a fermentação ruminal, como por exemplo a modulação da fermentação ruminal, com redução na produção de metano e na relação acetato: propionato, mas as melhorias no desempenho animal ainda são escassas e variáveis (KHIAOSA-ARD e ZEBELI., 2013). De acordo com Benchaar et al. (2008), os óleos essenciais são componentes voláteis de ocorrência natural que podem ser extraídos de plantas e possuem uma ampla gama de atividades antimicrobianas, entretanto, o mecanismo exato pelo qual esses compostos afetam a fermentação ruminal não foi claramente estabelecido (MEYER et al., 2009).

Meschiatti et al. (2019) e Gouvêa et al. (2019), utilizando a mesma combinação de BEO + AM para touros em terminação verificaram maior desempenho dos animais em relação a utilização da MON, principalmente devido ao maior consumo de energia em função do maior consumo de nutrientes. Ao contrário dos resultados observados por Meschiatti et al. (2019) e Gouvêa et al. (2019), a combinação de BEO + AM não aumentou o CMS neste estudo, embora uma diferença numérica de 500 g tenha sido observada, no entanto o GMD e o PCQ foram aumentados, sem diferença no E:A em comparação com de animais alimentados com a MON. O maior GMD e PQC observados no presente estudo para touros alimentados com BEO + AM podem ser explicados provavelmente pela diminuição da excreção do amido fecal.

Tricarico et al. (2007) relataram que a inclusão de α -amilase nas dietas de terminação para bovinos de corte aumentou o CMS, GMD e PCQ. Segundo os autores, os aumentos no CMS em decorrência da suplementação com α -amilase possivelmente podem estar relacionados à capacidade dessa enzima em alterar o padrão de fermentação ruminal e diminuir a proporção molar de propionato no rúmen. Além disso, em outro estudo, Tricarico et al. (2008) concluíram que a suplementação alimentar de α -amilase pode melhorar a produtividade dos ruminantes, modificando a digestão do amido ruminal, sem necessariamente aumentar a digestão do amido no rúmen. Embora não tenham sido observadas diferenças nas características de fermentação ruminal no presente estudo para nenhum aditivo alimentar avaliado, a menor concentração fecal de amido para bovinos alimentados com a dieta BEO + AM poderia explicar o maior GMD e PCQ para este tratamento, independentemente do padrão de CMS.

No presente estudo, os aditivos não influenciaram a maioria das características de qualidade da carne, exceto para os valores de L *, que foram maiores para touros alimentados com MON do que para os alimentados com BEO + AM. No entanto, apesar dessa diferença

significativa, ambos os valores ficaram dentro da faixa considerada normal para essa característica. Até o momento, nenhum estudo relatou efeitos do BEO + AM nas propriedades de qualidade da carne. Alguns estudos sobre a alimentação de óleos essenciais (individualmente ou na forma de *blends*) ou enzimas exógenas, separadamente, podem ser encontrados na literatura, porém com resultados inconsistentes. Tricarico et al. (2006) observaram um aumento no AOL de novilhos alimentados com α -amilase, sem diferenças no EGS ou para escore de marmoreio, mas quando níveis semelhantes de α -amilase foram fornecidos às novilhas, houve um aumento no EGS, sem diferenças no AOL ou para escore de marmoreio.

Em estudo, Rivaroli et al. (2016) avaliaram os efeitos da alimentação com uma mistura de óleos essenciais (orégano, alho, limão, alecrim, tomilho, eucalipto e laranja doce) para novilhos mestiços em confinamento, eles relataram uma diminuição na vermelhidão (a^*) da carne do grupo contendo óleo essencial, mas sem diferenças para força de cisalhamento, valores de cor L^* ou b^* . Da mesma forma, Monteschio et al. (2017) relatou que, alimentar as novilhas com óleos essenciais não surtiu efeitos significativos no pH da carcaça, espessura de gordura, escore de marmoreio, AOL ou perdas por gotejamento, entretanto, observaram uma redução na degradação da cor ao longo do tempo.

Semelhante aos resultados apresentados neste trabalho, não foi observado alteração na composição química da carne quando um *blend* de óleos essenciais foi oferecido aos animais (CRUZ et al., 2014 e VALERO et al., 2014).

2.5. Conclusão

Dietas de confinamento formuladas com 100 g / kg de FDN fisicamente efetivo (com base na MS) contendo bagaço de cana-de-açúcar deve ser utilizado com cautela devido ao menor consumo de matéria seca, desempenho animal e peso de carcaça quando comparado à dieta a base de silagem de milho. Embora não tenham sido observadas interações entre fontes de volumoso e aditivos alimentares, a combinação de uma mistura de óleos essenciais + α -amilase exógena oferece uma alternativa potencial para substituir os ionóforos, como a monensina sódica, a fim de melhorar o desempenho animal e o peso de carcaça.

2.6. Referências bibliográficas

ALLEN, M.S., 2000. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. J. Dairy Sci. v. 83, p. 1598–1624, 2000.

AMSA. **Research guidelines for cookery, sensory evaluation, and instrumental tenderness measurements of meat**. 2. ed. Champaign, Illinois: American Meat Science Association, 2015.

AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 15th ed. **Association of Official Analytical Chemists Inc.**, Arlington, Virginia, USA. 1990.

BENCHAAAR, C., CALSAMIGLIA, S., CHAVES, A.V., FRASER, G.R., COLOMBATTO, D., MCALLISTER, T.A., BEAUCHEMI, K.A. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. **Animal Feed Science and Technology**, v.145, p.209–228, 2008.

BROWN, M. S.; PONCE, C.H.; e PULIKANTI, R. Adaptation of beef cattle to high concentrate diets: Performances and ruminal metabolism. **Journal of Animal Science**, v.84, p. 25-33, 2006.

CAETANO, M., GOULART, R.S., SILVA, S.L., DROUILLARD, J.S., LEME, P.R., LANNA, D.P.D. Effect of flint corn processing method and roughage level on finishing performance of Nellore-based cattle. **Journal of Animal Science**, v.93, p. 4023–4033, 2015.

CLARK, P. W.; ARMENTANO, L. E. Replacement of alfalfa neutral detergent fiber with a combination of nonforage fiber sources. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v80, p. 675-680, 1997.

CRUZ, O.T.B., VALERO, M.V., ZAWADZKI, F., RIVAROLI, D.C., DO PRADO, R.M., LIMA, B.S., DO PRADO, I.N. Effect of glycerine and essential oils (*Anacardium occidentale* and *Ricinus communis*) on animal performance, feed efficiency and carcass characteristics of crossbred bulls finished in a feedlot system. **Italian Journal Animal Science**, v.13, p. 790–797, 2014.

DEFOOR, P., GALYEAN, M., SALYER, G., NUNNERY, G.A., PARSONS, C. Effects of roughage source and concentration on intake and performance by finishing heifers. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 1395–1404, 2002.

FOX, D.G.; SNIFFEN, C.J.; O'CONNOR, J.D. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. III. Cattle requirements and diets adequacy. **Journal of Animal Science**, v.70, n.11, p.3578-3596, 1992.

GALYEAN, M.L., DEFOOR, P.J. Effects of roughage source and level on intake by feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 8–16, 2003.

GALYEAN, M. L.; HUBBERT, M.E. Traditional and alternative sources of fiber: roughage values, effectiveness, and concentrations in starting and finishing diets. In: **PLAINS NUTRITION COUNCIL – SPRING CONFERENCE**, 2012, San Antonio. **Proceedings...** Amarillo: Texas Agrilife Research na Extension Center. P. 75-97, 2012.

GOULART, R.S., VIEIRA, R.A.M., DANIEL, J.L.P., AMARAL, R.C., SANTOS, V.P., FILHO, S.G.T., CABEZAS-GARCIA, E.H., TEDESCHI, L.O., NUSSIO, L.G. Effects of source and concentration of neutral detergent fiber from roughage in beef cattle diets on feed intake, ingestive behavior, and ruminal kinetics. **Journal of Animal Science**, v. 98, p. 1–15, 2020a.

GOUVÊA, V. N., MESCHIATTI, M. A. P., MORAES, J. M. M., BATALHA, C. D. A., DÓREA, J. R. R., ACEDO, T. S., TAMASSIA, L. F. M., OWENS, F. N., SANTOS, F.A.P. Effects of alternative feed additives and flint maize grain particle size on growth performance, carcass traits and nutrient digestibility of finishing beef cattle. **Journal of Agricultural Science**. 1–13, 2019.

GRANT, R. J. Interactions among forages and nonforage fiber sources. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.80, p. 1438-1446, 1997.

HALL, M. B. Determination of starch including maltooligosaccharides, in animal feeds: Comparison of methods and a method recommended for AOAC collaborative study. **Journal AOAC Int.** 92, p. 42–49, 2009.

HENRIQUE, W., LEME, P.R., LANNA, D.P.D., ALLEONI, G.F., COUTINHO FILHO, J.L.V., BELTRAME FILHO, J.A. Avaliação do milho úmido com bagaço de cana ou silagem de milho na engorda de bovinos. **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia** v. 36, p. 307, 1999.

KHIAOSA-ARD, R., ZEBELI, Q. Meta-analysis of the effects of essential oils and their bioactive compounds on rumen fermentation characteristics and feed efficiency in ruminants. **Journal of Animal Science**, v.91, p.2012–5691, 2013.

LAMMERS, B. P., BUCKMASTER, D.R., HEINRICHS, A. J. A simple method for the analysis of particle sizes of forage and total mixed rations. **Journal of Dairy Science**. v. 79, p. 922–928, 1996.

MAGALHÃES, A.L.R., CAMPOS, J.M.S., CABRAL, L.S., MELLO, R., FREITAS, J.A., TORRES, R.A., VALADARES FILHO, S.C., ASSIS, A.J. Cana-de-açúcar em substituição à silagem de milho em dietas para vacas em lactação: parâmetros digestivos e ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, p. 591–599, 2006.

MERTENS, D.R. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 1463–1482, 1997.

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

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

MONTESCHIO, J.O., DE SOUZA, K.A., VITAL, A.C.P., GUERRERO, A., VALERO, M.V., KEMPINSKI, E.M.B.C., BARCELOS, V.C., NASCIMENTO, K.F., DO PRADO, I.N. Clove and rosemary essential oils and encapsulated active principles (eugenol, thymol and vanillin blend) on meat quality of feedlot-finished heifers. **Meat Science**, v. 130, p. 50–57, 2017.

NRC, **Nutrient Requirements of Beef Cattle**. 7th Natl. Acad. Press, Washington, D.C, 1996.

OLIVEIRA, C. A.; MILLEN, D. D.. Survey of the nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists in Brazil. **Animal Feed Science and Technology**, v.197, p.64-75, 2014.

OWENS, F.N. Adaptação de gado de corte confinado a rações ricas em grãos: distúrbios metabólicos e desempenho. In: **Simpósio sobre bovinocultura de corte: Requisitos de qualidade na bovinocultura de corte**, 2008. Piracicaba. Anais... Piracicaba: FEALQ, p. 221-236, 2008a.

PIRES, A.V., SUSIN, I., SIMAS, J.M.C., OLIVEIRA JÚNIOR, R.C., RESENDE FERNANDES, J.J., ARAUJO, R.C., MENDES, C.Q. Substituição de silagem de milho por cana-de-açúcar e caroço de algodão sobre o desempenho de vacas holandesas em lactação. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, p. 251–257, 2010.

PRESTON, T., 1982. Nutritional limitations associated with the feeding of tropical forages. **Journal of Animal Science**, v. 54, p. 877–884, 1992.

RIBEIRO, A.F., MESSANA, J.D., NETO, A.J., LAGE, J.F., FIORENTINI, G., VIEIRA, B.R., BERCHIELLI, T.T. Enteric methane emissions, intake, and performance of Young Nellore bulls fed different sources of forage in concentrate-rich diets containing crude glycerine. **Animal Production Science** v. 58, p. 517–522, 2016a.

RIBEIRO, A.F., MESSANA, J.D., NETO, JOSÉ, FIORENTINI, G., BERCHIELLI, T.T., Fatty acid profile, meat quality, and carcass traits of Nellore young bulls fed diferente sources of forage in high-concentrate diets with crude glycerin. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 45, p. 165–173, 2016b.

RIVAROLI, D.C., GUERRERO, A., VALERO, M.V., ZAWADZKI, F., EIRAS, C.E., CAMPO, M.M., SAÑUDO, C., JORGE, A.M., PRADO, I.N. Effect of essential oils on meat and fat qualities of crossbred young bulls finished in feedlots. **Meat Science**, v. 121, p. 278–284, 2016.

SILVA, S.L., LEME, P.R., PEREIRA, A.S.C., PUTRINO, S.M. Correlations among carcass characteristics taken by ultrasound and after slaughter in Nellore steers fed high concentrate diets. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.32, p. 1236–1242, 2003.

TRICARICO, J.M., ABNEY, M.D., GALYEAN, M.L., RIVERA, J.D., HANSON, K.C., MCLEOD, K.R., HARMON, D.L. Effects of a dietary *Aspergillus oryzae* extract containing alpha-amylase activity on performance and carcass characteristics of finishing beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 85, p. 802–811, 2006.

TRICARICO, J.M., ABNEY, M.D., GALYEAN, M.L., RIVERA, J.D., HANSON, K.C., MCLEOD, K.R., HARMON, D.L. Effects of a dietary *Aspergillus oryzae* extract containing α -amylase activity on performance and carcass characteristics of finishing beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 85, p. 802–811, 2007.

TRICARICO, J.M., JOHNSTON, J.D., DAWSON, K. Dietary supplementation of ruminant diets with an *Aspergillus oryzae* α -amylase. **Animal Feed Science and Technology**, v.145, p. 136–150, 2008.

VALERO, M.V., TORRECILHAS, J.A., ZAWADZKI, F., BONAFE, E.G., MADRONA, G.S., DO PRADO, R.M., PASSETI, R.A.C., RIVAROLI, D.C., VISENTAINER, J.V., DO

PRADO, I.N. Propolis or cashew and castor oils effects on composition of Longissimus muscle of crossbred bulls finished in feedlot. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 74, p. 445–451, 2014.

VAN SOEST, P. J. Collaborative study of acid-detergent fiber and lignin. **Journal AOAC Int.** v.56, p. 781–784, 1973.

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

WALLACE, R., J.; COLOMBATTO, D.; ROBINSON, P. H. Enzymes, direct-fed microbials and plant extracts in ruminant nutrition, **Animal Feed Science and Tecnology**, Amsterdam, v. 145, p. 1- 4, 2008.

WEISS, W.P.; CONRAD, H.R.; ST. PIERRE, N.R. A theoretically-based model for predicting total digestible nutrient values of forages and concentrates. **Animal Feed Science and Technology**, v.39, p.95-110, 1992.

WILES, P. G., GRAY, I. K., KISSLING, R. C. Routine analysis of proteins by Kjeldahl and Dumas methods: review and interlaboratory study using dairy products. **Journal AOAC Int**, v. 81, p. 620–632, 1998.

YU, P.; HUBER, J.T.; SANTOS, F.A.P. et al. Effects of ground, steam- flaked, and steamrolled corn grains on performance of lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.3, p.777-783, 1998.

ZINN, R.A., CORONA, L., WARE, R.A., 2004. Forage quality: impacts on cattle performance and economics. In: **Proceedings of the 2004 National Alfalfa Symposium and 34th California alfalfa Symposium**, San Diego, CA, p. 11–15, 2004.

3. DIGESTIBILIDADE DOS NUTRIENTES E CARACTERÍSTICAS RUMINAIS DE BOVINOS CONFINADOS ALIMENTADOS COM DIFERENTES ADITIVOS E FONTES DE VOLUMOSO

Parte dos dados apresentados neste capítulo foram publicados na revista *Animal Feed Science and Technology*, (Apêndice A), edição 269, Novembro de 2020, 114643 (<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114643>).

3.1. Introdução

De maneira geral, grãos de cereais, representam a principal fonte de energia em dietas de bovinos terminados em confinamento (OWENS et al., 1998).

A ingestão de alimentos rapidamente fermentescíveis, aumenta a atividade microbiana, causando substancial flutuação nos produtos finais da fermentação (ácidos graxos voláteis e amônia) e no pH ruminal, fato que pode refletir no aproveitamento dos demais nutrientes da dieta (COSTA et al., 2008). A quantidade em excesso de concentrado fornecido a animais de alta produção pode acarretar problemas metabólicos de ordem digestiva aos animais.

Dessa forma, preconiza-se que a inclusão de níveis mínimos adequados de forragem nas dietas para bovinos em terminação é indispensável para a preservação de um ambiente ruminal saudável, além do estímulo à ingestão de matéria seca e energia (GALYEAN; HUBBERT, 2012). Mertens (1997), cita que o ajuste da fibra na composição da ração para bovinos é de fundamental importância pela sua efetividade na manutenção da atividade da mastigação e do pH ruminal.

É sabido que diferentes fontes de fibra provenientes das forragens diferem quanto a sua efetividade física (CLARK e ARMENTANO, 1997). Este efeito é consequente da diferença entre tamanho de partículas, tempo de mastigação total (ingestão e ruminação), tempo de

retenção ruminal, cinética ruminal e consequentemente, desempenho animal (GRANT, 1997; VIEIRA et al., 2008ab).

Em adição à inclusão mínima de fibra na dieta, o uso de ionóforos é de extrema importância para a manutenção do equilíbrio ruminal, minimizando os efeitos negativos do fornecimento de dietas ricas em concentrados. Os ionóforos tem ação sobre as bactérias gram-positivas, impactando, dessa forma, o metabolismo dos ruminantes pelo aumento da eficiência energética, pela melhoria no aproveitamento de nitrogênio, além da redução de problemas como timpanismo e acidose ruminal (SCHELLING, 1984).

Por outro lado, atualmente vem ocorrendo um grande questionamento dos consumidores com relação ao uso dessas moléculas químicas, principalmente o uso rotineiro de antibióticos como melhoradores da fermentação ruminal na nutrição de bovinos, dessa forma, esforços consideráveis têm sido dedicados ao desenvolvimento de alternativas aos antibióticos e, nesse sentido, extratos vegetais e enzimas exógenas têm um papel interessante como um aditivo alimentar seguro para a alimentação animal. O uso de novas tecnologias, como extratos de plantas e enzimas, demonstra grande potencial de ação positiva no ambiente ruminal (WALLACE; COLOMBATO; ROBINSON, 2008). Esses compostos naturais, apresentam ação bactericida e produtos da fermentação semelhantes àqueles observados com o uso de ionóforos. Entretanto ainda carecem de maiores investigações científicas quanto ao uso combinado desses aditivos naturais com diferentes fontes de forragem na alimentação de bovinos alimentados com dietas com alta proporção de concentrados.

3.2. Material e métodos

Todos os procedimentos usados para esse experimento envolvendo animais foram conduzidos de acordo com o Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA número 4486060817). Ambos os protocolos foram aprovados pelo comitê de ética da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, Pirassununga / SP.

3.2.1. Animais e tratamento

O experimento foi conduzido no Departamento de Zootecnia da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo campus Fernando Costa, Pirassununga, São Paulo.

Foram utilizados oito novilhos da raça Nelore, com cânulas ruminais, com peso inicial médio de 359 ± 25 kg e idade aproximada de 12 meses, mantidos em um galpão coberto, com baias individuais com piso cimentado, bebedouros automáticos e cochos de alvenaria.

Os animais foram alimentados uma vez ao dia (08:00 hora) com uma das quatro dietas utilizadas no experimento 1, em um delineamento em quadrado latino duplicado. O protocolo sanitário e período de a pré-adaptação às instalações foram os mesmos descritos no Exp. 1.

Durante 32 dias, os animais foram adaptados à dieta rica em concentrado antes do experimento utilizando 4 dietas intensivas que gradualmente (a cada 8 dias) diminuíram o volumoso FNDfe de 200 g / kg, para 180 g / kg, 150 g / kg e 130 g / kg de MS. O experimento teve início após a fase de adaptação e consistiu em um período de 19 dias, sendo 14 dias para adaptação à dieta, 4 dias para ensaio digestibilidade aparente do trato total avaliação e 1 dia para coleta do conteúdo ruminal e coleta de urina. Durante cada período (19 dias), os animais foram alimentados com as mesmas dietas e procedimentos utilizados no Exp. 1. Amostras das dietas oferecidas aos animais foram coletadas a cada 2 dias para determinação da MS.

De modo a considerar os possíveis efeitos das diferenças entre a IMS de cada tratamento durante o ensaio de digestibilidade, foi realizado um segundo período com restrição alimentar. Após a coleta do líquido ruminal, os animais foram alimentados durante 5 dias, com base na menor ingestão dos 4 tratamentos no período anterior e em seguida foi realizado outro ensaio de digestibilidade (4 dias).

As sobras foram retiradas diariamente, pesadas e amostradas para determinação da matéria seca e composição química. O ajuste da oferta de alimento foi realizado todos os dias com base na avaliação das sobras dos dias anteriores, para assegurar que não houvesse falta ou excesso de alimento no cocho.

3.2.2. Digestibilidade aparente dos nutrientes

No dia 15 de cada período experimental, foi realizado a coleta total de fezes durante 4 dias (96 h) para determinação da digestibilidade da dieta. Os animais foram monitorados constantemente e as fezes foram coletadas diretamente do piso de concreto imediatamente após a defecação, pesadas, amostradas e armazenadas em sacos plásticos e congeladas a -20°C para posterior análise.

Ao final de cada período, as amostras fecais de cada animal foram homogeneizadas e uma subamostra de 500 g foi seca em estufa de ar forçado a 55°C por 72 h para posterior análise química de MS, PB, FDN, FDA, EE e amido conforme descrito em Exp. 1. A digestibilidade

aparente total dos nutrientes no trato foi calculada como a diferença entre a ingestão (kg / d) menos a excreção fecal de cada nutriente (kg / d) dividida pela ingestão.

3.2.3. Proteína microbiana

No dia 17 de cada período, amostras pontuais de urina foram coletadas espontaneamente em copos plásticos estéreis, 0, 4 e 12 horas após a alimentação. Quando necessário, a micção era estimulada por estimulação manual leve no prepúcio.

A urina foi acidificada [0,072 N H₂SO₄ a uma proporção de 10 mL de urina para 40 mL de ácido (BRODERICK et al., 2009) e congelada (-20 °C) para posterior análise. As concentrações de creatinina e ácido úrico foram determinadas usando kits comerciais (Bioclin - Belo Horizonte, MG, Brasil e CELM - Companhia Equipadora de Laboratórios Modernos, São Caetano do Sul, SP, Brasil, respectivamente) usando um método enzimático colorimétrico e cinético, respectivamente, com leituras em um analisador bioquímico automático (Sistema Automático de Bioquímica SBA-200 - CELM, Barueri, SP, Brasil). A concentração de alantoína foi determinada usando Fujihara et al. (1987) método descrito por Chen e Gomes (1992).

A excreção dos derivados de purina foi obtida pela soma da excreção de alantoína e ácido úrico na urina (mmol / d), enquanto as purinas absorvidas foram calculadas a partir da excreção de derivados de purina (mmol / d), conforme metodologia descrita por Verbic et al. (1990). O volume urinário foi estimado a partir da concentração de creatinina na urina e da excreção diária esperada de creatinina por unidade de peso corporal (CHIZZOTTI et al., 2008). A síntese ruminal de compostos nitrogenados foi calculada a partir da purina microbiana absorvida, conforme descrito por Barbosa et al. (2011).

3.2.4. Análise do líquido ruminal

No dia 19 de cada período experimental, amostras de líquido ruminal (50 mL) foram coletadas 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 e 24 horas após a alimentação. O pH ruminal foi imediatamente determinado a partir do fluido ruminal usando um medidor de pH de bancada (modelo HI8424 - Hanna Instruments, São Paulo, Brasil).

Após determinação do pH, 50 ml do líquido foi filtrado em pano de nylon e então duas amostras de 25mL foram colocadas em frascos e armazenados a -20°C.

Após o descongelamento, o líquido ruminal foi centrifugado a $2.000 \times g$ por 15 min a 4 °C para a obtenção do sobrenadante, que foi utilizado para a dosagem dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) por cromatografia gás-líquido segundo Ferreira et al. (2016) e o nitrogênio amoniacal ($\text{NH}_3\text{-N}$) segundo Chaney e Marbach (1962) utilizando um método colorimétrico adaptado para um leitor de microplacas com filtro de absorbância de 550 nm (BioRad, Hercules, CA, EUA).

3.2.5. Análise estatística

Todos os dados foram analisados usando o procedimento MIXED do SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA). Antes da análise real, os dados foram analisados quanto à presença de informações díspares (“*outliers*”) e normalidade dos resíduos (Shapiro-Wilk) usando o procedimento Univariate do SAS. As observações individuais foram consideradas outlier quando os desvios-padrão em relação à média foram maiores que +3 ou menores que -3.

Foi utilizado um delineamento de quadrado latino (4×4) duplicado balanceado. O modelo estatístico para ingestão, digestibilidade dos nutrientes, volume de urina e dados de nitrogênio incluíram fonte de forragem, e aditivo $\times$ aditivo, como, efeitos fixos. Animal (fonte de volumoso $\times$ aditivo para ração) foi considerado a unidade experimental. Animais aninhados dentro do quadrado latino e período foram efeitos aleatórios. As características de fermentação ruminal foram analisadas como medidas repetidas no tempo, utilizando o mesmo modelo descrito anteriormente, com a adição de tempo e fonte de volumoso $\times$ aditivo alimentar $\times$ tempo, como efeitos fixos.

Resultados relatados como médias dos quadrados mínimos. Quando nenhuma interação significativa foi observada, os principais efeitos da fonte de volumoso e dos aditivos alimentares foram examinados. Quando interações significativas foram observadas para uma característica, as médias foram separadas usando a opção PDIFF. As diferenças foram declaradas significativas quando $P \leq 0,05$, enquanto as tendências foram declaradas quando $0,05 < P < 0,10$.

3.3. Resultados

3.3.1. Digestibilidade aparente dos nutrientes

As fontes de volumoso das dietas não afetaram o consumo ou a digestibilidade aparente do trato total da maioria dos nutrientes (Tabela 5), exceto para o consumo ($P = 0,086$) e digestibilidade da PB ($P = 0,003$), que teve uma tendência a ser maior para os animais alimentados com SM vs. BC, respectivamente.

A concentração de acetato ruminal foi maior ($P < 0,001$), e para o butirato houve uma tendência a ser maior ($P = 0,073$) para os animais alimentados com SM em comparação aos do tratamento BC (Tabela 6). Os bovinos alimentados com dietas à base de BC apresentaram maior concentração de propionato ruminal e menor relação acetato: propionato ($P = 0,001$) em comparação com os alimentados com dietas à base de SM.

A combinação de BEO + AM não afetou a maioria das características de fermentação ruminal (Tabela 6).

Tabela 6 – Efeitos de aditivos alimentares (mistura de óleos essenciais e α -amilase exógena ou monensina sódica) e fontes de volumoso (silagem de milho ou bagaço de cana-de-açúcar), média, erro padrão da média (EPM) e probabilidade (P) das características da digestibilidade aparente dos nutrientes de bovinos Nelore em terminação.

Item ³	Volumoso ¹		Aditivo ²		EPM	P > F		
	BC	SM	BEO + AM	MON		Vol	Adit	Vol x adit
Ingestão, kg ⁻¹ .animal ⁻¹ .dia ⁻¹								
Matéria seca	6,71	7,00	7,11	6,53	0,353	0,315	0,035	0,294
Matéria orgânica	6,36	6,63	6,80	6,19	0,335	0,316	0,035	0,294
Proteína bruta	0,965	1,04	1,05	0,956	0,051	0,086	0,036	0,310
FDN	1,47	1,44	1,52	1,38	0,075	0,561	0,032	0,264
FDA	1,15	1,09	1,70	1,06	0,057	0,208	0,031	0,252
Extrato etéreo	0,353	0,369	0,378	0,344	0,018	0,301	0,035	0,295
Amido	2,89	2,94	3,05	2,77	0,148	0,664	0,034	0,283
Digestibilidade aparente dos nutrientes, g/kg								
MS	755	766	766	755	1,14	0,268	0,271	0,416
Matéria orgânica	765	779	777	767	1,16	0,189	0,284	0,362
Proteína bruta	752	776	775	753	0,73	0,003	0,008	0,353
FDN	592	596	597	591	2,03	0,812	0,686	0,916
FDA	633	633	637	620	2,12	0,716	0,347	0,684
Extrato etéreo	801	800	817	784	1,18	0,960	0,020	0,439

Amido 915 930 923 922 0,76 0,181 0,889 0,277

¹ BC – Bagaço de cana-de-açúcar; SM – Silagem de milho. ² MON – 26mg/ Kg MS de Monensina (Rúmensin, Elanco Animal Health, Indianapolis, IN); BEO+ AM – 90mg de produto comercial (CRINA Ruminats) / kg MS + 560mg de produto comercial RONOZYME RumiStar / kg MS. ³FDN – fibra insolúvel em detergente neutro; FDA- fibra insolúvel em detergente ácido.

Fonte: autoria própria.

3.3.2. Derivados de purinas

Não houve interação entre os aditivos alimentares e as fontes de forragem para os derivados de purinas (Tabela 7). Além disso, a fonte de volumoso não afetou a concentração de derivados de purina ou a síntese de nitrogênio microbiano.

Tabela 7 - Efeitos de aditivos alimentares (mistura de óleos essenciais e α -amilase exógena ou monensina sódica) e fontes de volumoso (silagem de milho ou bagaço de cana-de-açúcar), média, erro padrão da média (EPM) e probabilidade (P) do volume urinário, concentração de ácido úrico e derivados de purinas de bovinos Nelore em terminação.

Item ³	Volumoso ¹		Aditivo ²		EPM	P > F		
	BC	SM	BEO + AM	MON		Vol	Adit	Vol x adit
Urina								
L/dia	11,0	10,4	10,6	10,8	1,84	0,711	0,900	0,947
L/kg PV ^{0.75}	0,136	0,126	0,130	0,133	0,025	0,607	0,878	0,826
Alantoína								
mmol/L	9,26	10,4	11,1	8,52	1,83	0,421	0,073	0,974
mmol/ kg PV ^{0.75}	1,03	1,06	1,13	0,96	0,22	0,742	0,064	0,497
Ácido úrico								
mmol/L	0,925	0,951	1,12	0,758	0,22	0,857	0,020	0,695
mmol/ kg PV ^{0.75}	0,091	0,091	0,102	0,079	0,017	0,986	0,044	0,735
Cretatinina								
g/L	1,11	1,23	1,18	0,19	0,190	0,426	0,876	0,666
mg/kg PV ^{0.75}	31,4	31,4	31,4	31,4	0,034	0,766	0,793	0,178
DP, mmol/kg PV ^{0.75}	1,12	1,16	1,23	1,04	0,23	0,759	0,055	0,507
Alationa (g/kg DP)	923	920	918	918	918	0,651	0,407	0,809
N- mic, mgN/kg PV ^{0.75}	661	655	759	556	189	0,947	0,027	0,770

¹BC – Bagaço de cana-de-açúcar; SM – Silagem de milho. ²MON – 26mg/ Kg MS de Monensina (Rúmensin, Elanco Animal Health, Indianapolis, IN); BEO+ AM – 90mg de produto comercial (CRINA Ruminats) / kg MS

+ 560mg de produto comercial RONOZYME RumiStar / kg MS. ³DP: Derivados de purinas; N-mic: Nitrogênio microbiano.

Fonte: própria autoria.

Por outro lado, bovinos alimentados com BEO + AM tenderam a ter uma concentração maior de alantoína (mmol / L e mmol / kg PV^{0,75}; $0,064 \leq P \leq 0,073$), tiveram uma concentração maior de ácido úrico (mmol / L e mmol / kg PV^{0,75}; $P \leq 0,044$), e uma tendência a ter uma maior concentração para derivados de purina ($P = 0,055$), levando a uma maior síntese de nitrogênio microbiano ($P = 0,027$) vs os animais alimentados com MON (Tabela 7). Nenhum efeito dos aditivos alimentares foi observado para a urina, creatinina ou alantoína quando expressos como uma proporção de derivados de purina.

3.3.3. Ácidos graxos de cadeia curta

Foi observado um aumento na concentração de acetato ruminal ($P < 0,001$), e foi observado uma tendência de aumento da concentração de butirato ($P = 0,073$) para bovinos alimentados com SM em comparação com BC (Tabela 8). Os animais alimentados com dietas à base de BC apresentaram maior concentração de propionato ruminal e menor relação acetato: propionato ($P = 0,001$) em comparação com animais alimentados com dietas à base de SM.

Tabela 8 – Efeitos de aditivos alimentares (mistura de óleos essenciais e α -amilase exógena ou monensina sódica) e fontes de volumoso (silagem de milho ou bagaço de cana-de-açúcar), média, erro padrão da média (EPM) e probabilidade (P) nas características de fermentação ruminal de bovinos Nelore em terminação.

Item ³	Volumoso ¹		Aditivo ²		EPM	P > F		
	BC	SM	BEO + AM	MON		Vol	Adit	Vol x adit
Concentração Total de AGCC ⁴ , mM	77,0	75,2	79,3	72,9	6,07	0,714	0,180	0,778
AGCC, mol/100 mol								
Acetato	54,4	61,7	56,3	59,7	1,81	<0,001	0,036	0,324
Propionato	27,9	19,2	25,3	21,7	2,30	0,001	0,130	0,925
Butirato	12,8	14,9	13,6	14,2	0,84	0,073	0,637	0,094
Isobutirato	0,978	0,977	1,02	0,936	0,14	0,994	0,641	0,391
Valerato	1,62	1,15	1,60	1,18	0,21	0,077	0,112	0,364
Isovalerato	2,30	2,07	2,08	2,28	0,23	0,394	0,456	0,327
Acetato: Propionato	2,40	3,45	2,70	3,15	0,34	0,001	0,133	0,520

N amoniacal, mg/dL	13,3	13,4	12,2	14,5	1,14	0,890	0,017	0,700
pH ruminal	6,25	6,33	6,28	6,29	0,06	0,278	0,792	0,819

¹BC – Bagaço de cana-de-açúcar; SM – Silagem de milho. ²MON – 26mg/ Kg MS de Monensina (Rúmensin, Elanco Animal Health, Indianapolis, IN); BEO+ AM – 90mg de produto comercial (CRINA Ruminats)/ kg MS + 560mg de produto comercial RONOZYME RumiStar / kg MS. ³O efeito da fonte de volumoso × aditivo alimentar × interação de tempo não foi detectado e, portanto, as médias ao longo do período de 24 horas foram usadas para análise estatística para simplificar a interpretação de dados. ⁴AGCC – Ácidos graxos de cadeia curta; N amoniacal – Nitrogênio amoniacal. Fonte: própria autoria

A combinação de BEO + AM diminuiu a concentração de acetato ruminal ($P = 0,036$) e nitrogênio amoniacal ($P = 0,017$) em relação ao MON (Tabela 8).

A maior parte dos AGCC (mol / 100 mol) foi linearmente e quadraticamente associada com o tempo de coleta ($P \leq 0,05$), exceto para butirato e valerato que não foram afetados (Tabela 9). Efeitos lineares e quadráticos também foram observados entre o pH ruminal e o tempo de medição.

Os dados do comportamento do pH ruminal ao longo do tempo após o fornecimento das dietas para os animais está demonstrado pelas figuras 12 e 13.

Tabela 9 – Ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) de acordo com o tempo de coleta das amostras.

Item	Tempo (horas após alimentação)									EPM	P > F	
	0	3	6	9	12	15	18	21	24		L	Q
Total AGCC, mM	57,9	71,0	71,5	91,8	84,3	91,8	81,3	78,0	57,2	6,65	<0,001	<0,001
AGCC, mol/100 mol												
Acetato (C2)	60,03	58,55	58,27	57,97	56,98	56,68	56,94	57,77	59,03	1,682	0,007	0,014
Propionato (C3)	20,05	23,05	24	24,75	25,69	25,42	24,86	23,08	20,92	2,043	<0,001	<0,001
Butirato (C4)	14,22	13,53	13,74	13,63	13,88	14,08	13,99	14,16	13,73	0,977	0,901	0,854
Isobutirato,	1,39	1,09	0,81	0,68	0,59	0,67	0,83	1,11	1,62	0,151	<0,001	<0,001
Valerato	1,33	1,5	1,39	1,34	1,34	1,34	1,27	1,29	1,73	0,239	0,324	0,247
Isovalerato,	2,97	2,78	1,79	1,63	1,52	1,8	2,11	2,59	2,98	0,202	<0,001	<0,001
Relação C2:C3	3,55	2,94	2,82	2,71	2,57	2,64	2,76	3,01	3,3	0,315	<0,001	<0,001
pH ruminal	6,7	6,5	6,2	6,0	5,8	6,0	6,3	6,5	6,7	0,07	<0,001	<0,001

Fonte: própria autoria

Figura 12 – pH ruminal médio ao longo do tempo, em função da fonte de volumoso. **Figura 13** – pH ruminal ao longo do tempo, em função do tipo de aditivo.

Fonte: própria autoria.

Fonte: própria autoria.

3.3.4. Discussão

Inúmeras estratégias nutricionais como a baixa inclusão de fontes de fibras nas dietas, têm sido empregados na tentativa de aumentar a produtividade de bovinos de corte em crescimento e terminação em confinamentos. A FDNfe proveniente da forragem está relacionada às características físicas da fibra (tamanho da fibra) que influenciam a atividade de mastigação e a motilidade ruminal.

A eficácia e os benefícios das tecnologias de aumento de crescimento foram demonstrados em experimentos de alimentação com gado comercial (CAPPER e HAYES, 2012). Em contraste, a eficiência produtiva da produção de carne bovina livre de ionóforos como promotores de crescimento também aumentou, no entanto em um ritmo mais lento (WILEMAN et al., 2009).

Substitutos para ionóforos com a finalidade de melhorar o desempenho, incluindo os óleos essenciais e enzimas exógenas, demonstram ter potencial para aumentar a produção de carne bovina (MEYER et al, 2009; NOZIÈRE et al. 2014), no entanto a quantidade de informações de pesquisa sobre os benefícios potenciais dessas novas tecnologias quando em comparação com os aditivos alimentares clássicos para gado confinado, tem sido limitado. Além disso, as combinações dessas tecnologias para avaliar os sinergismos e os efeitos gerais dessa combinação sobre o desempenho dos animais não está totalmente consolidado.

Os óleos essenciais são compostos aromáticos extraídos de vegetais que possuem uma ampla gama de atividades antimicrobianas (BURT, 2004; BENCHAAR et al., 2008; KUNG et al., 2008). Uma explicação de como os óleos essenciais afetam a fermentação ruminal por meio da modificação de microorganismos não foi claramente estabelecida (MEYER et al., 2009).

A FDNfe proveniente da forragem pode estar relacionada com as variações de CMS (MERTENS, 1997). O NRC (1996) preconiza que dietas com inclusões inferiores a 20% de

FDNfe (na matéria seca) resultam em valores de pH inferiores a 6,2 diminuindo o crescimento microbiano e a taxa de degradação da fibra. Em nosso estudo, a IMS foi afetada por fontes de volumoso formuladas com o mesmo nível de FDNfe (Exp. 1), no entanto, nenhuma diferença foi observada no rendimento de proteína microbiana (N microbiano, mg N / kg PC0,75) entre as fontes de volumoso (SM e BC).

Animais alimentados com BC apresentaram maior digestibilidade aparente do trato total de proteína bruta do que aqueles alimentados com SM. Segundo Preston et al. (1982), alguns autores sugerem que dietas contendo BC apresentam redução da taxa de digestão e / ou baixa digestibilidade ruminal de sua fração fibrosa e maior tempo médio de retenção de partículas no rumino retículo, favorecendo a colonização e digestibilidade de proteína bruta quando os animais são alimentados com BC.

Neste estudo, alimentar bovinos com BC, que é uma fonte volumosa de baixa qualidade, aumentou o a concentração de propionato e diminuiu as concentrações de acetato ruminal. De acordo com Goulart et al. (2020a), dietas contendo BC apresentam maiores frações de FDN indigestíveis e menor degradabilidade efetiva da FDN e, conseqüentemente, maior tempo médio de retenção de partículas no rumino retículo em comparação à dieta SM formulada com o mesmo nível de FDN. Sabendo que a concentração de AGCC depende do padrão de fermentação de cada fonte de volumoso e devido à baixa degradabilidade efetiva da fração FDN da dieta a base de BC como mencionado anteriormente, pode-se sugerir que, em nosso estudo, uma melhor qualidade da fibra de CS contribuiu para aumentar a concentração de acetato quando comparada à dieta BC. Além disso, o BC é mais eficaz do que a SM (GOULART et al., 2020b) e conforme projetado, no mesmo nível de FDNfe houve uma menor inclusão de do volumoso BC (com base na MS) em dietas contendo BC em comparação às dietas a base de SM, com aumento do de milho grão, proporcionalmente. Em soma, uma quantidade maior de milho finamente moído (750 g / kg da base de MS) foi adicionada em dietas contendo BC em comparação com SM (Tabela 1), o que também poderia promover uma fermentação mais amilolítica, resultando em maior produção de propionato.

A FDNfe fornecida pelo volumoso está associada ao tempo de mastigação, fluxo de saliva e, finalmente, ao pH ruminal (TEDESCHI e FOX, 2018) e, de acordo com o NRC (1996), NDFfe é um preditor preciso do pH ruminal. Além disso, Kononoff et al. (2003) relataram que o pH ruminal médio estava altamente correlacionado com a FDNfe. Portanto, em nosso estudo, diferentes fontes de volumoso (SM ou BC) formuladas para o mesmo nível de FDNfe apresentaram valores médios de pH ruminal semelhantes (6,33 vs 6,25, respectivamente),

valores esses que de acordo com o NRC (1996) não teriam influência sobre o crescimento microbiano.

Nenhuma diferença nos derivados de purina ou na síntese de proteína microbiana seria esperada com a mesma ingestão de nutrientes. Além disso, não houve diferença observada para o nitrogênio amoniacal ruminal entre SM e BC, que poderiam justificar a ausência de diferenças encontradas nos derivados de purina síntese de proteínas microbianas.

Meschiatti et al. (2019) e Gouvêa et al. (2019), demonstraram que a utilização da mesma combinação de BEO + AM para touros em terminação resultou em maior desempenho de crescimento em relação ao MON, principalmente devido ao maior consumo de energia em função do maior consumo de nutrientes. O maior GMD e PCQ observados no presente estudo (Experimento 1) para touros alimentados com BEO + AM são provavelmente devido à combinação de fatores, como a diminuição do amido fecal (Experimento 1), aumento do CMS, maior digestibilidade da PB e EE, diminuição do acetato ruminal e nitrogênio amoniacal e maior N microbiano.

Tricarico et al. (2007) relatam que, a inclusão de α -amilase nas dietas de terminação para bovinos aumenta o CMS possivelmente por estar relacionados à capacidade dessa enzima em alterar o padrão de fermentação ruminal e diminuir a proporção molar de propionato no rúmen. Além disso, em outro estudo, Tricarico et al. (2008) concluíram que a suplementação alimentar de α -amilase pode melhorar a produtividade dos ruminantes, modificando a digestão do amido ruminal, sem necessariamente aumentar a digestão do amido no rúmen, embora em nosso estudo não tenham sido observadas diferenças nas características de fermentação ruminal para qualquer aditivo alimentar avaliado.

Em nosso estudo, o pH ruminal médio diário não foi afetado pelas dietas contendo MON ou BEO + AM. No entanto, bovinos alimentados com dietas contendo BEO + AM apresentaram menor concentração de acetato ruminal. A explicação para a menor concentração de acetato no rúmen em bovinos alimentados com BEO + AM pode ser apoiada pelo fato de que α -amilase exógena suplementar não aumenta a digestão do amido ruminal, mas muda a fermentação ruminal para uma proporção molar mais elevada de propionato à custa do acetato, presumivelmente pela modificação do metabolismo microbiano ou das populações microbianas no rúmen. Assim, as bactérias fibrolíticas poderiam se beneficiar do aumento de oligossacarídeos que resultam do aumento da hidrólise do amido. Como a fermentação bacteriana fibrolítica resulta em maior acúmulo de acetato, o mecanismo de alimentação cruzada poderia ser a razão para esses resultados (TRICARICO et al., 2008).

Newbold et al. (2004) não observaram mudanças nos valores de pH ruminal quando o mesmo BEO usado neste estudo foi fornecido para bovinos em terminação. Kung et al. (2008) alimentaram vacas em lactação com o mesmo BEO usado em nosso estudo e também observaram concentrações molares de acetato mais baixas *in vitro*. De acordo com Patra e Yu (2012), os óleos essenciais podem aumentar a concentração de acetato e diminuir a concentração de propionato e, por este motivo, o tipo e a dosagem dos óleos essenciais influenciam na microbiota ruminal e consequentemente na fermentação ruminal. Patra e Yu (2013), estudando o efeito da vanilina na fermentação ruminal *in vitro* (óleo essencial presente no *blend* utilizado em nosso estudo), também observam uma redução na concentração de acetato e um aumento no propionato nas culturas ruminais.

Os ruminantes apresentam baixa eficiência de utilização de N, o que pode aumentar os custos de produção, e isso representa um custo energético para os animais que excretam o excesso de N através da urina, além de representar um problema ambiental. McIntosh et al. (2003) verificaram que a ação antimicrobiana dos óleos essenciais pode modular as atividades das populações microbianas do rúmen, levando a uma redução da degradação da proteína e, portanto, diminuindo a concentração de amônia ruminal e aumentando a síntese de proteína microbiana, resultando em maior absorção de nitrogênio. Em nosso estudo, observamos uma redução na produção de amônia e um aumento na proteína microbiana síntese com o uso de BEO + AM.

3.4. Conclusão

Dietas de terminação formuladas com 100 g / kg de FDNfe (com base na MS) de silagem de milho ou bagaço de cana-de-açúcar contendo milho duro finamente moído podem fornecer uma boa opção de fontes de volumoso para manter o pH ruminal médio acima de 6,2 e, consequentemente, prevenir distúrbios digestivos sem diferença no rendimento de proteína microbiana.

Mesmo que nenhuma interação tenha sido observada entre as fontes de volumoso e os aditivos alimentares para as dietas formuladas, a combinação de uma mistura de óleos essenciais + α -amilase exógena tem potencial para aumentar a síntese de proteína microbiana, com baixo impacto na fermentação ruminal e digestibilidade dos nutrientes em comparação com a monensina sódica.

3.5. Referências bibliográficas

- BARBOSA, A.M., VALADARES, R.F.D., VALADARES FILHO, S.C., PINA, D.S., DETMANN, E., LEÃO, M.I. Endogenous fraction and urinary recovery of purine derivatives obtained by different methods in Nellore cattle. **Journal of Animal Science** v.89, p. 510–519, 2011.
- BENCHAAAR, C., CALSAMIGLIA, S., CHAVES, A.V., FRASER, G.R., COLOMBATTO, D., MCALLISTER, T.A., BEAUCHEMI, K.A., 2008. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. **Animal Feed Science Technology**, v. 145, p. 209–228, 2008.
- BRODERICK, G. A. and REYNAL, S.M. Effect of source of rumen-degraded protein on production and ruminal metabolism in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 2822-28-34. 2009.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. **International Journal of Food Microbiology**, v.94, p.223–253, 2004.
- CAPPER, J.L., HAYES, D.J. The environmental and economic impact of removing growth-enhancing technologies from U.S. beef production. **Journal of Animal Science**, v. 90, p.3527–3537, 2012.
- CHANEY, A.L., MARBACH, E.P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, 8, 130–132, 1962.
- 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 (Occasional publication). **International Feed Resources Unit**. Bucksburnd, Aberdeen:Rowett Research Institute: 21p, 1992.
- CHIZZOTTI, M.L., VALADARES, S.C., VALADARES FILHO, R.F.D., VALADARES, R.F.D., CHIZZOTTI, F.H.M., TEDESCHI, L.O. Determination of creatinine excretion and evaluation of spot urine sampling in Holstein cattle. **Livestock Science**, v. 113, p. 218–225, 2008.

CLARK, P. W.; ARMENTANO, L. E. Replacement of alfalfa neutral detergent fiber with a combination of nonforage fiber sources. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v80, p. 675-680, 1997.

COSTA, C.; SILVA, A. M. A.; MEIRELLES, P. R. L. Produção de silagem de grãos úmidos de cereais e de palma forrageira. In: I SIMPÓSIO EM SISTEMAS AGROSILVIPASTORIS NO SEMIÁRIDO (I SIMPAS), 1., 2008, Campina Grande, **Palestra...** Campina Grande: PPGZ/CSTR/UFCG, 2008. Disponível em: Acesso em: 05/08/2018.

FERREIRA, E.M., PIRES, A.V., SUSIN, I., BIEHL, M.V., GENTIL, R.S., PARENTE, M.O., DE ALMEIDA, E. Nutrient digestibility and ruminal fatty acid metabolism in lambs supplemented with soybean oil partially replaced by fish oil blend. **Animal Feed Science and Technology**, v. 216, p. 30–39, 2016.

FUJIHARA, T., ORSKOV, E.R., REEDS, P.J. et al. 1987. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **Journal of Agricultural Science**, v. 109, p. 7-12.

GALYEAN, M. L.; HUBBERT, M.E. Traditional and alternative sources of fiber: roughage values, effectiveness, and concentrations in starting and finishing diets. In: **PLAINS NUTRITION COUNCIL – SPRING CONFERENCE**, 2012, San Antonio. **Proceedings...** Amarillo: Texas Agrilife Research na Extension Center. P. 75-97, 2012.

GOULART, R.S., VIEIRA, R.A.M., DANIEL, J.L.P., AMARAL, R.C., SANTOS, V.P., FILHO, S.G.T., CABEZAS-GARCIA, E.H., TEDESCHI, L.O., NUSSIO, L.G. Effects of source and concentration of neutral detergent fiber from roughage in beef cattle diets on feed intake, ingestive behavior, and ruminal kinetics. **Journal of Animal Science**, v. 98, p. 1–15, 2020a.

GOULART, R.S., VIEIRA, R.A.M., DANIEL, J.L.P., AMARAL, R.C., SANTOS, V.P., FILHO, S.G.T., CABEZAS-GARCIA, E.H., TEDESCHI, L.O., NUSSIO, L.G., Effects of source and concentration of neutral detergent fiber from roughage in beef cattle diets: comparison of methods to measure the effectiveness of fiber. **Journal of Animal Science**, v. 98, p. 1–9, 2020b.

GOUVÊA, V. N., MESCHIATTI, M. A. P., MORAES, J. M. M., BATALHA, C. D. A., DÓREA, J. R. R., ACEDO, T. S., TAMASSIA, L. F. M., OWENS, F. N., SANTOS, F.A.P.

Effects of alternative feed additives and flint maize grain particle size on growth performance, carcass traits and nutrient digestibility of finishing beef cattle. **Journal of Agricultural Science**. 1–13, 2019.

GRANT, R. J. Interactions among forages and nonforage fiber sources. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.80, p. 1438-1446, 1997.

KONONOFF, P.J., HEINRICHS, J., LEHMAN, H.A. The effect of corn silage particle size on eating behavior, chewing activities, and rumen fermentation in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 3343–3353, 2003.

KUNG, L., WILLIAMS, P., SCHMIDT, R.J., HU, W. 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 of Dairy Science**, v.91, p.4793–4800, 2008.

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

MERTENS, D. R. Análise da fibra e sua utilização na avaliação de alimentos e formulação de rações. In: SIMPOSIO INTERNACIONAL DE RUMINANTES, 1992, Lavras. **Anais...** Lavras: SBZ-ESALQ, p.188, 1992.

MERTENS, D.R. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 1463–1482, 1997.

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

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

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

NOZIÈRE, P., W. STEINBERG, M. SILBERBERG, AND D. P. MORGAVI. Amylase addition increases starch ruminal digestion in first-lactation cows fed high and low starch diets. **Journal of Dairy Science**, v. 97, p.2319–2328, 2014.

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

PATRA, A.K., YU, Z. Effects of essential oils on methane production and fermentation by, and abundance and diversity of, rumen microbial populations. **Applied and Environmental Microbiology**, v.78, p. 4271–4280, 2012.

PATRA, A.K., YU, Z. Effects of vanillin, quillaja saponin, and essential oils on in vitro fermentation and protein-degrading microorganisms of the rumen. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 98, p. 897–905, 2013.

PRESTON, T. Nutritional limitations associated with the feeding of tropical forages. **Journal of Animal Science**, v. 54, p. 877–884, 1982.

SCHELLING, G. T. Monensin mode of action in the rumen. **Journal of Animal Science**, Abingdon, v. 61, p. 1518-1527, 1984.

TEDESCHI, L.O., FOX, D.G., TYLUTKI, T.P. Potential environmental benefits of ionophores in ruminant diets. **Journal of Environmental Quality**, v. 32, p. 1591–1602, 2003.

TRICARICO, J.M., ABNEY, M.D., GALYEAN, M.L., RIVERA, J.D., HANSON, K.C., MCLEOD, K.R., HARMON, D.L. Effects of a dietary *Aspergillus oryzae* extract containing α -amylase activity on performance and carcass characteristics of finishing beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 85, p. 802–811, 2007.

TRICARICO, J.M., JOHNSTON, J.D., DAWSON, K. Dietary supplementation of ruminant diets with an *Aspergillus oryzae* α -amylase. **Animal Feed Science and Technology**, v.145, p. 136–150, 2008.

VERBIC, J., CHEN, X.B., MACLEOD, N.A. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **Journal of Agricultural Science**, v. 114, p. 243–248, 1990.

VIEIRA, R.A.M.; TEDESCHI, L.O.; CANNAS, A. A generalized compartmental model to estimate the fibre mass in the ruminoreticulum: 1. Estimating parameters of digestion. *Journal of Theoretical Biology*, v.255, p.345-356, 2008a.

VIEIRA, R.A.M.; TEDESCHI, L.O.; CANNAS, A. A generalized compartmental model to estimate the fibre mass in the ruminoreticulum: 2. Integrating digestion and passage. *Journal of Theoretical Biology*, v.255, p.357-368, 2008b.

WALLACE, R., J.; COLOMBATTO, D.; ROBINSON, P. H. Enzymes, direct-fed microbials and plant extracts in ruminant nutrition, **Animal Feed Science and Tecnology**, Amsterdam, v. 145, p. 1- 4, 2008.

APÊNDICE A

Animal Feed Science and Technology 269 (2020) 114643

Contents lists available at ScienceDirect

Animal Feed Science and Technology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/anifeedsci

Effects of a blend of essential oils and exogenous α -amylase in diets containing different roughage sources for finishing beef cattle

Laura B. Toseti^a, Rodrigo S. Goulart^a, Vinícius N. Gouvêa^{b,c}, Tiago S. Acedo^c,
Guilherme S.F.M. Vasconcellos^c, Alexandre V. Pires^d, Paulo R. Leme^a,
Arlindo Saran Netto^a, Saulo L. Silva^{a,*}

^a Department of Animal Science, University of São Paulo, College of Animal Science and Food Engineering, Pirassununga, SP, 13635-900, Brazil

^b Department of Animal and Range Sciences, Clayton Livestock Research Center, New Mexico State University, Clayton, NM 88415, United States

^c DSM Nutritional Products Brazil S.A., São Paulo, SP, 04551-065, Brazil

^d Department of Animal Science, University of São Paulo, "Luiz de Queiroz" College of Agriculture, Piracicaba, São Paulo, 13418-900, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Essential oils
Exogenous enzymes
Fiber
Monensin
Starch

ABSTRACT

Two experiments were carried out to evaluate the effects of feed additives and roughage sources on performance, carcass characteristics, meat quality, and total tract apparent digestibility of finishing bulls. In Exp. 1, 88 Nellore bulls were used in a randomized complete block design with a 2 × 2 factorial arrangement, to evaluate the effects of feeding sodium monensin (MON; 26 mg/kg DM) or the combination of a blend of essential oils + exogenous α -amylase (BEO+AM; 90 and 560 mg/kg DM, respectively of commercial product) associated with corn silage (CS) or sugar-cane bagasse (SCB) on performance, carcass, and meat quality of finishing cattle. Bulls fed CS-based diet had a higher dry matter intake (DMI; $P < 0.001$), average daily gain (ADG; $P = 0.015$), final body weight ($P = 0.049$), carcass weight ($P = 0.004$), dressing percentage ($P = 0.008$), and ribeye area ($P = 0.035$), however, a higher gain:feed (G:F) was observed for SCB-fed animals ($P = 0.016$). No effect of roughage source was observed for fat thickness, fecal starch, or meat quality. Feeding BEO+AM increased ADG ($P = 0.043$), final body weight ($P = 0.023$), carcass weight ($P = 0.023$), and decreased fecal starch ($P = 0.013$) as compared to animals fed MON, with no differences in DMI and G:F. Feed additives did not affect carcass nor the majority of meat quality traits. In Exp. 2, eight rumen-cannulated Nellore bulls were used in a replicated 4 × 4 Latin square design to evaluate the total tract apparent digestibility of nutrients, ruminal fermentation characteristics, and rumen microbial protein synthesis of diets used in Exp. 1. Roughage source did not affect intake nor the total tract apparent digestibility of most nutrients, except for the digestibility of crude protein ($P = 0.003$), which was greater for CS than for SCB-fed animals. Higher acetate ($P < 0.001$) and acetate:propionate ratio ($P = 0.001$), and less propionate ($P = 0.001$) were observed in CS-fed animals. Roughage source did not affect purine derivatives

Abbreviations: a*, red intensity; ADG, average daily gain; b*, yellow intensity; BEO+AM, combination of a blend of essential oils+exogenous α -amylase; BW, body weight; CP, crude protein; CS, corn silage; EE, ether extract; FT, subcutaneous fat thickness; G:F, gain feed; HCW, hot carcass weight; L*, luminosity; LM, Longissimus muscle; LMA, Longissimus muscle area; MON, sodium monensin; aNDFom-NDF, NDF assayed with a heat stable amylase and expressed exclusive of residual ash; peNDF, physically effective NDF; ADFom-ADF, acid detergent fiber expressed exclusive of residual ash; NH3-N, ammonia nitrogen; SCB, sugar cane bagasse; SCFA, short chain fatty acids.

* Corresponding author.

E-mail address: saulloluz@usp.br (S.L. Silva).

<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114643>

Received 13 December 2019; Received in revised form 12 August 2020; Accepted 14 August 2020

Available online 17 August 2020

0377-8401/© 2020 Elsevier B.V. All rights reserved.

concentration nor the synthesis of microbial nitrogen. Bulls fed BEO+AM had lower acetate ($P = 0.036$) and ammonia nitrogen ($P = 0.017$) concentrations but increased uric acid ($P = 0.044$) and synthesis of microbial nitrogen ($P = 0.027$) as compared to the MON-fed animals. Feeding corn silage improved animal performance and carcass characteristics regardless of feed additives. A combination of a blend of essential oils plus exogenous α -amylase improved animal performance and carcass characteristics compared to sodium monensin.

1. Introduction

Feed additives, such as ionophores, essential oils, exogenous enzymes, and their combinations, are used in feedlot diets to: 1) alter microbial fermentation to prevent or treat digestive disorders (McGuffey et al., 2001; Benchaar et al., 2006); 2) improve nutrient utilization (Potter et al., 1976; Russell and Strobel, 1989); 3) increase feed efficiency (Russell, 1987; Benchaar et al., 2006); 4) decrease methane production, and 5) increase environmental benefits (Tedeschi et al., 2003; Capper and Hayes, 2012).

Although the benefits of feeding ionophores (e.g. sodium monensin) to finishing cattle are largely documented in the literature, the interest in using essential oils in beef cattle production has increased due to their perceived antimicrobial properties (Patra and Saxena, 2010) and the increasing public concern about antimicrobial resistance and residues in animal products (Khiaosa-ard and Zebeli, 2013).

Supplementation with exogenous α -amylase in dairy cows has been reported to increase milk production, improve conversion of feed to milk, and increase ruminal starch digestion (Tricarico et al., 2005; Gencoglu et al., 2010; Klingerman et al., 2009), but the benefits of feeding exogenous α -amylase to finishing beef cattle are inconsistent (Tricarico et al., 2007; DiLorenzo et al., 2011).

Tricarico et al. (2008) proposed a hypothetical mode of action for exogenous enzymes defined as oligosaccharide cross-feeding. According to these authors, α -amylase can hydrolyze starch into oligosaccharides (e.g. malto-, cello- and xylo-oligosaccharides) that would be used by amylolytic and non-amylolytic bacteria in cross-feeding mechanisms. Klingerman et al. (2009) supplemented lactating dairy cows with α -amylase in diets containing 257 g/kg of starch (DM basis) and reported an increase in total tract digestibility of neutral detergent fiber (NDF), which accounted for most of the increase in total tract digestibility of organic matter. Similarly, Gencoglu et al. (2010) observed an increase in total tract apparent digestibility of NDF in dairy cows fed diets containing 213 g/kg of starch (DM basis) and supplemented with exogenous α -amylase.

Recently, supplementation with the combination of a blend of essential oils and exogenous α -amylase for finishing beef cattle fed diets containing 160–200 g/kg of NDF from sugarcane bagasse (SCB) and more than 500 g/kg of starch (DM basis) resulted in improved growth performance compared to monensin (Meschiatti et al., 2019; Gouvêa et al., 2019), mainly due to the increased energy intake and the amount of nutrients digested. If non-amylolytic bacteria (e.g. fibrolytic population) can use substrates from amylolytic bacterial activity, the addition of exogenous α -amylase to high starch diets differing in NDF composition could result in different nutrient digestibility and growth performance as more substrate from starch (or non-roughage) sources would be available for fibrolytic bacteria.

Roughage source and concentration influence dry matter intake (DMI) and ingestive behavior of cattle because they alter rumen retention time and overall rates of digestion and passage of the diet, consequently impacting animal performance in feedlot (Defoor et al., 2002; Caetano et al., 2015; Goulart et al., 2020a).

Corn silage (CS) and SCB are the primary roughage sources used in feedlot finishing diets in Brazil (Pinto and Millen, 2018). Even though CS and SCB have different physical and chemical characteristics, the concept of physically effective NDF can be used as a guideline for nutritionists aiming to replace roughage sources in beef cattle finishing diets (Goulart et al., 2020b). Thus, studies aiming to evaluate roughage sources formulated with the same level of peNDF containing different feed additives can be the object of interest for nutritionists and the scientific community.

Based on the aforementioned findings, we hypothesized that feed additives interact with roughage sources (e.g. CS and SCB) and increased nutrient digestibility and growth performance would be observed with a combination of essential oil blends and exogenous α -amylase in CS diets. Hence, this experiment evaluated the growth performance, carcass characteristics, meat quality, total tract apparent digestibility of nutrients, and ruminal fermentation characteristics of finishing Nellore cattle fed diets containing CS or SCB, associated with monensin or the combination of a blend of essential oils and exogenous α -amylase.

2. Materials and methods

The animal care and handling procedures in this experiment were approved by the Animal Care and Use Committee of the School of Animal Science and Food Engineering of the University of São Paulo, under the protocol number # 4486060817.

2.1. Experiment 1. Growth performance and carcass characteristics

2.1.1. Animals, housing and experimental design

Eighty-eight commercially sourced Nellore bulls [initial body weight (BW) = 359 ± 39 kg; age = 24–36 months] were used in a randomized complete block design experiment with a 2×2 factorial arrangement of treatments to evaluate the effects of feed additives [sodium monensin (MON; 26 mg/kg DM) or the combination of a blend of essential oils + exogenous α -amylase (BEO + AM; 90 and

560 mg commercial product/kg DM, respectively)] associated with one of two roughage sources (CS or SCB). Roughage sources were included in the finishing diets to provide the same level of peNDF (Table 1). The exogenous enzyme with an amylase activity of 600 kilo Novo units (KNU) per gram, was added to the diet to achieve 336 KNU of amylase activity per kilogram of DM (Gouvêa et al., 2019). One KNU is defined as the amount of enzyme released in a two-step reaction 6 μ mol of p-nitrophenol per min from 1.86 mM 4,6-ethylidene-G7-nitrophenyl-maltoheptaoside at pH 7.0 and 37 °C (Meschiatti et al., 2019; Gouvêa et al., 2019).

For CS, corn (BM-709 Pro 2, Biomatrix, Rio Claro, SP, Brazil) was harvested (110 days after planting) and chopped using a JF C240 Double Evolution S2 chopper (JF Máquinas Agrícolas Ltda, Itapira, SP, Brazil). The silo was covered with a double layer silage pit cover (200 thick). The SCB used in this experiment was obtained from a commercial sugarcane processing plant (Cia Müller de Bebidas, Destilaria Lajeado, Pirassununga, SP, Brazil).

The sodium monensin (MON; Rumensin; Elanco Animal Health, Indianapolis, IN) was used as the positive control in this study. The blend of essential oils (BEO; CRINA Ruminants), a patented mixture that includes thymol, eugenol, vanillin, and limonene on an organic carrier (McIntoch et al., 2003) and the exogenous α -amylase (AM; *Bacillus licheniformis*; RONOZYME RumiStar) were provided by DSM Nutritional Products, Basel, Switzerland. The BEO + AM dose used was based on previous studies (Meschiatti et al., 2019 and Gouvêa et al., 2019).

Upon arrival at the feedlot, bulls were identified with ear tags and vaccinated against clostridiosis (5 mL SC; Ourovac, Poli BT, Ourofino Saúde Animal Ltda., Cravinhos, SP, Brazil), foot-and-mouth disease (5 mL SC; Bovitel, Vallée S.A., São Paulo, SP, Brazil) and dewormed with 35 g/kg of ivermectin (7 mL SC; Puritec Gold, Ceva Brasil, Paulínia, SP, Brazil). Forty-four bulls were housed in four pens (10 $\times$ 16 m; 11 bulls/pen; 14.5 m²/bull) equipped with electronic gates (American Calan Inc., Nottwood, NH, USA) that allow individual control of feed intake. The other forty-four bulls were housed in individual pens (6 $\times$ 3 m; 18 m²/bull). Both types of pens

Table 1
Ingredients and chemical composition of diets (dry matter basis) used in Exp. 1 and 2.

Item	Roughage source	
	Corn Silage	Sugarcane bagasse
Ingredients, g/kg		
Corn silage	195	–
Sugarcane bagasse	–	120
Finely ground corn (flint type)	707	782
Soybean meal	55	55
Mineral and vitamin supplement ^{a,b}	30	30
Urea	13	13
Chemical composition ^c , g/kg		
Dry matter	658	810
Crude protein	142	139
aNDFom-NDF ^d	197	212
ADFom-ADF ^e	149	165
Ether extract	51	51
Starch	403	417
ME, MJ/kg ^f	11.94	11.68
NEm, MJ/kg ^f	7.98	7.77
NEg, MJ/kg ^f	5.31	5.12
Mean particle size ^g , mm	25.9	19.8
peNDF of roughage ^h	100	107

^a Mineral and vitamin supplement containing (per kg of dry matter): 140 g/kg Ca, 16 g/kg P, 36 g/kg S, 20 g/kg Mg, 34 g/kg K, 56 g/kg Na, 8 mg/kg Co, 540 mg/kg Cu, 6.7 mg/kg Cr, 27.5 mg/kg I, 1070 mg/kg Mn, 6.7 mg/kg Se, 2000 mg/kg Zn, 168,000 IU/kg vitamin A, 17,000 IU/kg vitamin D3, 1740 IU/kg vitamin E, 90 mg/kg biotin, 2.7×10^9 CFU/kg *Saccharomyces cerevisiae*. Manufactured by DSM Nutritional Products, São Paulo, Brazil.

^b Providing dietary treatments (feed additives): MON = sodium monensin at 26 mg/kg dry matter, (Rumensin, Elanco Animal Health, Indianapolis, IN) and BEO + AM = blend of essential oils at 90 mg of commercial product (CRINA Ruminants)/kg dry matter + exogenous α -amylase at 560 mg commercial product (RONOZYME RumiStar)/kg dry matter. The blend of essential oils and the exogenous α -amylase were provided by DSM Nutritional Products, Basel, Switzerland.

^c Based on chemical analysis of ingredients collected during the experiment (n = 12 samples).

^d aNDFom-NDF, NDF assayed with a heat stable amylase and expressed exclusive of residual ash.

^e ADFom-ADF, acid detergent fiber expressed exclusive of residual ash.

^f Total digestible nutrients (TDN) was estimated using concentrations of crude protein, ether extract, ash, neutral detergent fiber, lignin, acid and neutral insoluble crude protein as described by Weiss et al. (1992) and then metabolizable energy (ME), net energy available for growth (NEg) and net energy available for maintenance (NEm) were calculated using the following equations: $DE = TDN \times 0.04409$; $ME = 0.82 \times DE$; $NEg = 1.42 \times [ME] - 0.174 \times [ME]^2 + 0.0122 \times [EM]^3 - 1.65$; and $NEm = 1.37 \times [ME] - 0.138 \times [ME]^2 + 0.0105 \times [EM]^3 - 1.12$ (NASEM, 2016).

^g Mean particle size was determined according to method adapted to Lammers et al. (1996).

^h peNDF: physically effective neutral detergent fiber based on DM of roughage retained on the 1.17 mm sieve as proposed by Lammers et al. (1996).

had concrete-floors and partial roof coverings. Bulls had free access to fresh water during the entire study period.

After initial processing, bulls went through a 14 days adaptation period to the facilities and were fed CS *ad libitum* with free access to sodium chloride (NutriSal, Batista de Moraes M.E., Areia Branca, RN, Brazil) during this period. Bulls were then individually weighed after 16 h of feed and water withdrawal (day 0), blocked by shrunk initial BW (eight weight blocks) and randomly assigned, based on weight block and pen type, to treatments (22 replicates/treatment).

The study lasted 108 days, and the treatments were offered to bulls during the entire experiment. Diets (Table 1) were formulated to contain the same level of protein and energy using RLM 3.2 software (Integra Software, Piracicaba, São Paulo, Brazil) to meet the nutrient requirements of finishing Nellore bulls for 1.5 kg of average daily gain (ADG), as specified by the Cornell Net Carbohydrate and Protein System (CNPCS; Fox et al., 1992). Feed additives (MON and BEO + AM) were added to the mineral-vitamin supplement, which were included in a total mixed ration at 30 g/kg of dietary DM. The supplements containing the feed additives were produced at a commercial feed mill (DSM Nutritional Products Brazil S.A., Mairinque, SP, Brazil) following manufacturing standards for mixture quality and guaranteed levels. Flint ground corn was processed to have a mean particle size of 2 mm (Hammermill model Lucato S10, Limeira, SP, Brazil).

Bulls were adapted to the high-concentrate diet during the first 20 days of the experiment using 4 step-up diets that gradually (every 5 days) decreased the roughage peNDF from 200 g/kg, to 180 g/kg, 150 g/kg, and 130 g/kg of the DM. From day 21 onward, cattle received the finishing diet containing 100 g/kg peNDF of CS or SCB (DM basis) until slaughter. Diets were mixed using a feed wagon (Casale Unimix 1200, Casale Equipamentos, São Carlos, SP, Brazil), weighed into nylon bags using a fixed scale (Toledo do Brasil, Indústria de Balanças Ltda, 2124/1, São Bernardo do Campo, SP, Brazil) and offered once daily at 0800 h. To avoid cross-contamination, the feed wagon was cleaned after each mixture. Orts that should not exceed 50 g/kg were removed daily, weighed, dried at 55 °C and used to determine the amount of feed to be offered on the next day based on the DMI of the previous day.

Samples of fresh roughage sources (CS and SCB) were collected weekly to measure particle size (Table 2) using the Penn State Particle Size Separator (Nasco, Fort Atkinson, WI, USA; Lammers et al., 1996) adapted with a top sieve (> 19 mm, ≤19 and > 8 mm, ≤ 8 and >1.18 mm, and ≤1.18 mm).

2.1.2. Sample collection and analysis

Animals were individually weighed after 16 h of fasting (feed and water) at the beginning (day 0) and at the end (day 108) of the experiment, and these data were used to calculate the ADG. The feed efficiency (G:F) was calculated by dividing the ADG by the DMI.

Samples of SCB and CS were collected every week during the experiment, and dried at 105 °C during 24 h for adjustments of dietary DM. Diets were sampled weekly and stored at −20 °C until the end of experiment when they were composed, dried in a forced-air oven at 55 °C for 72 h, and ground with a 1 mm screen (Wiley mill, MA-680 Marconi Ltda, Piracicaba, SP, Brazil). Subsamples were analyzed (triplicate) for DM at 105 °C (AOAC, 1990; method 930.15), crude protein (CP) by the Dumas method (Wiles et al., 1998), ether extract (EE; AOAC, 1990; method 920.29), ash (AOAC, 1990; method 942.05), starch (Hall, 2009), aNDFom-NDF (nonsequential and ash-free; Van Soest et al., 1991) and ADFom-ADF as method 973.18 (Van Soest, 1973). Tabular values of lignin and neutral detergent insoluble crude protein (RLM 3.2 software) were used to determine the percentage of dietary TDN, as described by Weiss et al. (1992). The aNDFom-NDF assay used heat-stable amylase source as recommended by the National Forage Testing Association (Undersander et al., 1993). Each sample received α-amylase (Sigma A3306; Sigma-Aldrich Brazil Ltda, São Paulo, SP, Brazil) and sodium sulfite separately for the aNDFom-NDF determination. Both aNDFom-NDF and ADFom-ADF were expressed, exclusive of residual ash. All samples were analyzed in triplicate.

Before the animals were fed, fecal samples (approximately 300 g) were manually collected directly from the rectum of bulls on day 20, 78 and 108 of the study and stored at −20 °C for fecal starch analysis (Hall, 2009).

At the end of the experiment, animals were shipped 120 km (approximately 1.3 h) using commercial beef trucks (18 bulls/truck) to a federal inspected slaughterhouse (Frigorífico Angeleli, Piracicaba, Brazil) and were slaughtered following standard commercial procedures. The hot carcass weight (HCW) was measured after evisceration without kidneys, pelvic, and heart fat.

After 24 h of chilling (0–2 °C) the pH of Longissimus muscle was measured using a portable digital pH meter (model HI99163, Hanna Instruments, São Paulo, Brazil) and then a half-carass of each animal was divided between the 12th and 13th ribs. An image of the Longissimus muscle (LM) was obtained utilizing a digital camera coupled to the device used to maintain a fixed distance (10 cm) from the images to determine the Longissimus muscle area (LMA) and subcutaneous fat thickness (FT). The images were recorded and interpreted by one experienced technician. In addition, a sample of LM (2.5 cm thick) was collected, identified, vacuum packed

Table 2
Particle size distribution (g/kg) of corn silage and sugarcane bagasse used in Exp. 1 and 2.

Screen mesh size ^a	Corn Silage	Sugarcane bagasse
>19 mm	12.0	5.0
≤ 19 and > 8 mm	119	30.0
≤ 8 and > 1.18 mm	509	508
≤ 1.18 mm	360	457
Mean particle size ^b , mm	259	198

^a Particle size distribution was evaluated in 8 samples of each roughage source according to Lammers et al. (1996) using the Penn State Particle Size Separator (Nasco, Fort Atkinson, WI, USA) with additional 1.17 mm pore sieve.

^b Mean particle size was determined according to method adapted from Lammers et al. (1996).

individually, and aged for seven days for subsequent meat quality analyses.

At the end of the ageing period, samples were taken from the vacuum packages and left exposed for 30 min under refrigeration at a temperature of 4 °C–6 °C, and an objective evaluation of meat color using the CIELab system (CIE, 1986) was carried out using a portable spectrophotometer, model CM2500d (Konica Minolta Brasil, São Paulo, Brazil) with a standard D65 illuminant, 10° observation angle and 30 mm shutter aperture. The L* (luminosity), a* (red intensity) and b* (yellow intensity) values of each sample were obtained through the average of three measurements.

Tenderness was determined as recommended by the American Meat Science Association (AMSA, 2015). A 2.5-cm-thick LM sample was weighed and roasted in an industrial electric oven (Model F130 / L – Fornos Flecha de Ouro Ind. e Com. Ltda., São Paulo, Brazil). When the samples reached an internal temperature of 40 °C, the samples were turned and remained in the oven until reaching the internal temperature of 71 °C. The samples remained at room temperature until cooled to ± 25 °C, when they were again weighed to determine the cooking loss. The samples were then wrapped in plastic and kept in a refrigerator (4 °C–6 °C) for 12 h. Six cylinders, 1.27 cm in diameter, parallel to the longitudinal direction of the muscle fibers were removed to determine the Warner-Bratzler shear force (WBSF) through the TMS-PRO texture analyzer (Food Technology Corporation, Sterling, Virginia, USA).

2.2. Experiment 2. Total tract apparent digestibility and ruminal fermentation characteristics

2.2.1. Animals, housing and experimental design

Eight rumen-cannulated Nellore bulls (average BW = 359 ± 25 kg; age = 12 months) were used in a replicated 4×4 Latin square design to evaluate the total tract apparent digestibility of nutrients, ruminal fermentation characteristics, and rumen microbial protein synthesis of diets used in Exp. 1. The animals were housed in individual tie-stall pens in an open-sided barn with a concrete floor, equipped with covered feed bunks and had free access to fresh water during the experiment. The sanitary protocol and period of preadaptation to the facilities were as described in Exp. 1.

Animals were adapted to the high concentrate diet for 32 days prior to the experiment using 4 step-up diets that gradually (every 8 days) decreased the roughage peNDF from 200 g/kg, to 180 g/kg, 150 g/kg and 130 g/kg of DM basis. The experiment started after this adaptation phase and consisted of a period of 19 days, with 14 days for diet adaptation, 4 days for total tract apparent digestibility evaluation and 1 day for ruminal content and urine collection. During each period (19 days), bulls were fed once a day (at 0800 h) with the same diets and procedures used in Exp. 1. Samples of diets offered to bulls were collected every 2 days for DM determination. Orts were removed every day, weighed, and used to determine the total feed amount to be offered to ensure *ad libitum* intake.

2.2.2. Total tract apparent digestibility

On day 15 of each period, total feces were collected over 4 days (96 h) for diet digestibility determination. Animals were constantly monitored and feces were collected from the concrete floor immediately after defecation, weighed, sampled, and stored in plastic bags and frozen at -20 °C for later analysis. At the end of each period, fecal samples of each bull were homogenized, and a 500 g subsample was dried in a forced-air oven at 55 °C for 72 h for further chemical analysis of DM, CP, aNDFom-NDF, ADFom-ADF, EE and starch as described in Exp. 1. The total tract apparent digestibility of nutrients was calculated as the difference between the intake (kg/d) minus the fecal excretion of each nutrient (kg/d) divided by the intake.

2.2.3. Microbial protein

On day 17 of each period, spot samples of urine were spontaneously collected into sterile plastic cups, at 0, 4, and 12 h after feeding. When necessary, urination was stimulated by mild manual stimulation in the prepuce. Urine was acidified [0.072 N H₂SO₄ at a ratio of 10 mL urine to 40 mL of acid (Broderick et al., 2009)] and frozen (-20 °C) for further analysis. Creatinine and uric acid concentrations were determined using commercial kits (Bioclin - Belo Horizonte, MG, Brazil and CELM - Companhia Equipadora de Laboratórios Modernos, São Caetano do Sul, SP, Brazil, respectively) using an enzymatic colorimetric method and kinetic endpoint method, respectively, with readings from an automatic biochemistry analyzer (Automatic System of Biochemistry SBA-200 - CELM, Barueri, SP, Brazil). Allantoin concentration was determined using Fujihara et al. (1987) method as described by Chen and Gomes (1992).

Excretion of purine derivatives was obtained by the sum of the allantoin and uric acid excretion in the urine (mmol/d), whereas absorbed purines were calculated from excretion of purine derivatives (mmol/d), according to the methodology described by Verbe et al. (1990). The urine volume was estimated from the concentration of creatinine in the urine and the expected daily excretion of creatinine per unit of body weight (Chizzotti et al., 2008). Ruminal synthesis of nitrogenous compounds was calculated using the absorbed microbial purine, as described by Barbosa et al. (2011).

2.2.4. Ruminal fluid

Samples of ruminal fluid (50 mL) were collected from the dorsal and ventral areas of the rumen at 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, and 24 h after feeding on day 19 of each experimental period. The rumen pH was immediately determined from the ruminal fluid using a portable digital handheld pH meter (model HI8424 - Hanna Instruments, São Paulo, Brazil). Approximately 50 mL of filtered liquid was placed into bottles and stored at -20 °C. After thawing, the ruminal fluid was centrifuged at $2000 \times g$ for 15 min at 4 °C to obtain the supernatant, which was used to measure the short chain fatty acids (SCFA) by gas-liquid chromatography according to Ferreira et al. (2016) and the ammonia nitrogen (NH₃-N) according to Chaney and Marbach (1962) using a colorimetric method adapted for a microplate reader with a 550 nm absorbance filter (BioRad, Hercules, CA, USA).

2.3. Statistical analysis

All data were analyzed using the MIXED procedure of SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Before the actual analysis, data were analyzed for the presence of disparate information ('outliers') and normality of residuals (Shapiro–Wilk) using the Univariate procedure of SAS. Individual observations were considered to be an outlier when standard deviations in relation to mean were more than +3 or less than −3.

In Exp. 1, growth performance data and carcass characteristics were analyzed with a randomized complete block design. The statistical model included the fixed effects of roughage source, feed additive and roughage source $\times$ feed additive. The animal was the experimental unit. Block weight and animal (roughage source $\times$ feed additive) were considered random effects. Fecal starch was evaluated with repeated measures using the same model previously described, with the addition of day and roughage source $\times$ feed additive $\times$ day as fixed effects. The covariance structures were modeled, and the one with the smallest Akaike Information Criterion (AIC) was used. When no interaction between roughage source $\times$ feed additive $\times$ day was observed, they were removed from the model, and means were averaged across the 24 h period.

Data in Exp. 2 were analyzed as a balanced replicated 4×4 Latin square design. The statistical model for intake, total tract apparent digestibility of nutrients, urine volume, and nitrogen data included roughage source, feed additive and roughage source $\times$ feed additive as fixed effects. Animal (roughage source $\times$ feed additive) was the experimental unit. Animal nested within Latin square and period were random effects. Ruminal fermentation characteristics were analyzed as repeated measures using the same model previously described, with the addition of time and roughage source $\times$ feed additive $\times$ time as fixed effects. The fixed effects and covariance structures were modeled as described for Exp. 1. Again, when no interaction between roughage source $\times$ feed additive $\times$ time was observed, this interaction and time were removed from the model, and averages across a 24 h period were used for statistical analysis to simplify data interpretation and reporting.

Results from Exps. 1 and 2 were all reported as least-squares means. When no significant interactions were detected, the main effects of roughage source and feed additives were examined. When significant interactions were observed for a trait, means were separated using the PDIF option. Differences were declared significant when $P \leq 0.05$, whereas trends were declared when $0.05 < P < 0.10$.

3. Results

No two or three-way interactions were observed for any trait in this study, and hence, the effects of roughage source and feed additives are presented separately.

3.1. Effects of roughage source

In Exp. 1 bulls fed CS-based diets showed a 25.3 % greater DMI ($P < 0.001$), 10.7 % greater ADG ($P = 0.015$) and 2.94 % greater final body weight ($P = 0.049$) compared to bulls fed SCB-based diets (Table 3). However, G:F was 16.7 % greater for bulls fed SCB compared to bulls fed CS ($P = 0.016$). Bulls fed CS had 14 kg greater HCW ($P = 0.004$), 1.79 % (or 1 percent point) greater dressing

Table 3
Effects of feed additives (blend of essential oils and exogenous α -amylase or sodium monensin) and roughage sources (corn silage or sugarcane bagasse) on growth performance, carcass characteristics, and fecal starch of finishing Nellore bulls in Exp. 1.

Item	Roughage source ^a		Feed additive ^b		SEM	P-value		
	CS	SCB	MON	BEO + AM		Roughage source	Feed additive	Roughage source × Feed additive
Growth performance								
Initial body weight, kg	359	359	357	362	13.9	0.998	0.275	0.447
Final body weight, kg	526	511	510	527	13.9	0.049	0.023	0.249
Average daily gain, kg	1.55	1.40	1.41	1.53	0.04	0.015	0.043	0.417
Dry matter intake, kg	11.4	9.10	10.0	10.5	0.30	< 0.001	0.171	0.412
Feed efficiency, g/g	138	161	144	155	7.36	0.016	0.220	0.410
Carcass characteristics								
Hot carcass weight, kg	300	286	288	298	8.13	0.004	0.029	0.360
Dressing percentage, kg/100 kg	57.0	56.0	56.5	56.5	0.29	0.008	0.969	0.764
Longissimus muscle area, cm ^b	70.5	66.8	68.4	68.9	1.17	0.035	0.835	0.195
12 th rib fat thickness, mm	3.24	3.35	3.27	3.33	0.19	0.704	0.819	0.750
Fecal starch, g/kg ^c	168	191	201	158	17.3	0.171	0.013	0.133

^a CS = corn silage; SCB = sugarcane bagasse.

^b MON = 26 mg/kg dry matter of Monensin (Rumensin, Elanco Animal Health, Indianapolis, IN); BEO + AM = 90 mg of commercial product (CRINA Ruminants)/kg dry matter + 560 mg commercial product (RONOZYME RumiStar)/kg dry matter. CRINA Ruminants and RONOZYME RumiStar were provided by DSM Nutritional Products, Basel, Switzerland.

^c Effect of roughage source $\times$ feed additive $\times$ day interaction was not detected for fecal starch, and so averages across days were used for statistical analysis to simplify data interpretation and reporting.

percentage ($P = 0.008$) and 5.54 % greater LMA ($P = 0.035$) compared to bulls fed SCB-based diets.

The dietary roughage source did not affect the 12th rib FT or fecal starch concentration (Table 3), meat quality or meat composition, except for a trend ($P = 0.061$) of greater WBSF for SCB-based diets (Table 4).

In Exp. 2, dietary roughage sources did not affect intake or the total tract apparent digestibility of most nutrients (Table 5), except for the intake ($P = 0.086$) and digestibility of CP ($P = 0.003$), which tended to be or was greater for bulls fed CS vs. SCB, respectively.

The ruminal concentration of acetate was greater ($P < 0.001$), and butyrate tended to be greater ($P = 0.073$) for bulls fed CS compared to SCB (Table 6). Bulls fed SCB-based diets had a greater ruminal concentration of propionate and a lower acetate:propionate ratio ($P = 0.001$) compared to bulls fed CS-based diets. No other differences in ruminal characteristics were observed between roughage sources. Additionally, the roughage source did not affect the concentration of purine derivatives or the synthesis of microbial nitrogen (Table 7).

3.2. Effects of feed additives

In Exp. 1 bulls fed diets containing the combination of BEO + AM had 8.5 % greater ADG ($P = 0.043$) and 3.3 % greater final BW ($P = 0.023$) than bulls fed MON, but no differences were observed in DMI and G:F between these two feed additives (Table 3). The combination of BEO + AM increased the HCW (10 kg; $P = 0.004$) and reduced the fecal starch (21.4 %; $P = 0.013$) compared to MON.

No other differences were observed in carcass or meat quality characteristics (Table 4) between bulls fed BEO + AM and MON, except for L*, which was greater for bulls fed MON than those fed BEO + AM ($P = 0.028$).

In Exp. 2, the combination of BEO + AM increased the intake of all nutrients evaluated ($P \leq 0.036$; Table 5) compared to MON. Additionally, bulls fed the combination of BEO + AM had greater total tract digestibility of CP and EE ($P \leq 0.020$) compared to animals fed MON. No other differences in total tract digestibility were observed between the MON and BEO+AM.

The combination of BEO + AM did not affect most of ruminal fermentation traits (Table 6), although the ruminal concentration of acetate ($P = 0.036$) and ammonia nitrogen ($P = 0.017$) decreased compared to MON (Table 6). Additionally, bulls fed BEO + AM tended to have a higher concentration of allantoin (mmol/L and mmol/kg BW^{0.75}; $0.064 \leq P \leq 0.073$), had a higher concentration of uric acid (mmol/L and mmol/kg BW^{0.75}; $P \leq 0.044$), and tended to have a higher concentration of purine derivatives ($P = 0.055$), leading to a greater synthesis of microbial nitrogen ($P = 0.027$) than bulls fed MON (Table 7). No effect of feed additives was observed for urine, creatinine or allantoin when expressed as a proportion of purine derivatives.

Most of SCFA (mol/100 mol) were linearly and quadratically associated with time of measurement ($P \leq 0.05$), except for butyrate and valerate which were not affected (Table 8). Linear and quadratic associations were also observed between ruminal pH and time of measurement.

4. Discussion

4.1. Effects of roughage source

The peNDF is described as the percentage of NDF remaining on a 1.18 mm screen after dry sieving and was found to be an accurate predictor of rumen pH (NRC, 1996). Furthermore, for high concentrate total mixed rations aiming to maximize gain/feed, the NRC

Table 4

Effects of feed additives (blend of essential oils and exogenous α -amylase or sodium monensin) and roughage sources (corn silage or sugarcane bagasse) on meat composition and quality of finishing Nellore bulls in Exp. 1.

Item	Roughage source ^a		Feed additive ^b		SEM	P-value		
	CS	SCB	MON	BEO + AM		Roughage source	Feed additive	Roughage source × Feed additive
Chemical composition, g/kg								
Moisture	738	739	739	738	0.20	0.895	0.923	0.145
Ash	11.1	11.2	11.4	11.0	0.02	0.781	0.132	0.568
Crude protein	231	229	228	232	0.24	0.829	0.441	0.917
Ether extract	18.6	17.0	18.2	17.0	0.46	0.370	0.611	0.422
Meat quality ^c								
pH	5.88	5.84	5.82	5.90	0.06	0.599	0.348	0.715
L*	36.8	36.7	37.6	35.9	0.54	0.890	0.028	0.815
a*	14.4	14.2	14.6	13.9	0.46	0.772	0.300	0.652
b*	12.5	12.4	12.8	12.0	0.43	0.870	0.208	0.935
Cooking loss, g/kg	253	265	261	258	7.60	0.249	0.734	0.505
Shear force, kg	7.6	8.8	8.3	8.2	0.49	0.061	0.915	0.526

^a CS = corn silage; SCB = sugarcane bagasse.

^b MON = 26 mg/kg dry matter of Monensin (Rumensin, Elanco Animal Health, Indianapolis, IN); BEO + AM = 90 mg of commercial product (CRINA Ruminants)/kg dry matter + 560 mg commercial product (RONOZYME RumiStar)/kg dry matter. CRINA Ruminants and RONOZYME RumiStar were provided by DSM Nutritional Products, Basel, Switzerland.

^c L* (lightness; 0 = black and 100 = white), a* (redness; -60 = green and 60 = red), and b* (blueness; -60 = blue and 60 = yellow).

Table 5

Effects of feed additives (blend of essential oils and exogenous α -amylase or sodium monensin) and roughage sources (corn silage or sugarcane bagasse) on intake and total tract apparent digestibility of nutrients of finishing Nellore bulls in Exp. 2.

Item	Roughage source ^a		Feed additive ^b		SEM	P-value		
	CS	SCB	MON	BEO + AM		Roughage source	Feed additive	Roughage source $\times$ Feed additive
Intake, kg ⁻¹ .cattle ⁻¹ .day ⁻¹								
Dry matter	7.00	6.71	6.53	7.11	0.353	0.315	0.035	0.294
Organic matter	6.63	6.36	6.19	6.80	0.335	0.316	0.035	0.294
Crude protein	1.04	0.965	0.956	1.05	0.051	0.086	0.036	0.310
aNDFom-NDF ^c	1.44	1.47	1.38	1.52	0.075	0.561	0.032	0.264
ADFom-ADF ^d	1.09	1.15	1.06	1.70	0.057	0.208	0.031	0.252
Ether extract	0.369	0.353	0.344	0.378	0.018	0.301	0.035	0.295
Starch	2.94	2.89	2.77	3.05	0.148	0.664	0.034	0.283
Total tract apparent digestibility, g/kg								
Dry matter	766	755	755	766	1.14	0.268	0.271	0.416
Organic matter	779	765	767	777	1.16	0.189	0.284	0.362
Crude protein	776	752	753	775	0.73	0.003	0.008	0.353
Neutral detergent fiber	596	592	591	597	2.03	0.812	0.686	0.916
Acid detergent fiber	633	633	620	637	2.12	0.716	0.347	0.684
Ether extract	800	801	784	817	1.18	0.960	0.020	0.439
Starch	930	915	922	923	0.76	0.181	0.889	0.277

^a CS = corn silage; SCB = sugarcane bagasse.

^b MON = 26 mg/kg dry matter of Monensin (Rumensin, Elanco Animal Health, Indianapolis, IN); BEO + AM = 90 mg of commercial product (CRINA Ruminants)/kg dry matter + 560 mg commercial product (RONOZYME RumiStar)/kg dry matter. CRINA Ruminants and RONOZYME RumiStar were provided by DSM Nutritional Products, Basel, Switzerland.

^c aNDFom-NDF, NDF assayed with a heat stable amylase and expressed exclusive of residual ash.

^d ADFom-ADF, acid detergent fiber expressed exclusive of residual ash.

Table 6

Effects of feed additives (blend of essential oils and exogenous α -amylase or sodium monensin) and roughage sources (corn silage or sugarcane bagasse) on ruminal fermentation characteristics of finishing Nellore bulls in Exp. 2.

Item ^c	Roughage source ^a		Feed additive ^b		SEM	P-value		
	CS	SCB	MON	BEO + AM		Roughage source	Feed additive	Roughage source $\times$ Feed additive
Total SCFA ^d concentration, mM	75.2	77.0	72.9	79.3	6.07	0.714	0.180	0.778
SCFA, mol/100 mol								
Acetate	61.7	54.4	59.7	56.3	1.81	< 0.001	0.036	0.324
Propionate	19.2	27.9	21.7	25.3	2.30	0.001	0.130	0.925
Butyrate	14.9	12.8	14.2	13.6	0.84	0.073	0.637	0.094
Isobutyrate	0.977	0.978	0.936	1.02	0.14	0.994	0.641	0.391
Valerate	1.15	1.62	1.18	1.60	0.21	0.077	0.112	0.364
Isovalerate	2.07	2.30	2.28	2.08	0.23	0.394	0.456	0.327
Acetate:Propionate ratio	3.45	2.40	3.15	2.70	0.34	0.001	0.133	0.520
Ammonia nitrogen, mg/dL	13.4	13.3	14.5	12.2	1.14	0.890	0.017	0.700
Ruminal pH	6.33	6.25	6.29	6.28	0.06	0.278	0.792	0.819

^a CS = corn silage; SCB = sugarcane bagasse.

^b MON = 26 mg/kg dry matter; Rumensin, Elanco Animal Health, Indianapolis, IN. BEO + AM = 90 mg of commercial product (CRINA Ruminants)/kg dry matter + 560 mg commercial product (RONOZYME RumiStar)/kg dry matter. CRINA Ruminants and RONOZYME RumiStar were provided by DSM Nutritional Products, Basel, Switzerland.

^c Effect of roughage source $\times$ feed additive $\times$ time interaction was not detected and so averages across 24 h period were used for statistical analysis to simplify data interpretation and reporting.

^d Short chain fatty acids.

(1996) recommended 50–80 g/kg of the minimum peNDF if good bunk management and ionophores are used in feedlot operations. In order to prevent digestive disorders and to avoid compromising the feeding period of the study, we decided to be more conservative formulating a diet with 100 g/kg of peNDF of roughage.

According to Galyean and Defoor (2003), adding a low percentage of roughage to finishing diets helps to maximize the energy intake by feedlot cattle, but roughage level and source can affect DMI and by consequence NEg intake (Defoor et al., 2002), impacting feedlot performance and carcass characteristics. According to Defoor et al. (2002), the NDF from roughage accounted for the majority of the variation in NEg /kg of BW^{0.75}.

Mertens (1997) reported that peNDF could be related to DMI variations. Hence, the roughage peNDF would be used practically as a means of exchanging roughage sources in feedlot diets. The NRC (1996) used the concept of peNDF to estimate rumen pH and

Table 7

Effects of feed additives (blend of essential oils and exogenous α -amylase or sodium monensin) and roughage sources (corn silage or sugarcane bagasse) on purine derivatives and microbial protein synthesis of finishing Nelore bulls in Exp. 2.

Item	Roughage source ^a		Feed additive ^b		SEM	P-value		
	CS	SCB	MON	BEO + AM		Roughage source	Feed additive	Roughage source $\times$ Feed additive
Urine								
L/day	10.4	11.0	10.8	10.6	1.84	0.711	0.900	0.947
L/kg BW ^{0.75}	0.126	0.136	0.133	0.130	0.025	0.607	0.878	0.826
Alantoin								
mmol/L	10.4	9.26	8.52	11.1	1.83	0.421	0.073	0.974
mmol/kg BW ^{0.75}	1.06	1.03	0.96	1.13	0.22	0.742	0.064	0.497
Uric acid								
mmol/L	0.951	0.925	0.758	1.12	0.22	0.857	0.020	0.695
mmol/kg BW ^{0.75}	0.091	0.091	0.079	0.102	0.017	0.986	0.044	0.735
Creatinine								
g/L	1.23	1.11	1.19	1.18	0.190	0.426	0.876	0.666
mg/kg BW ^{0.75}	31.4	31.4	31.4	31.4	0.034	0.766	0.793	0.178
Purine derivatives, mmol/kg BW ^{0.75}	1.16	1.12	1.04	1.23	0.23	0.759	0.055	0.507
Alantoin (g/kg purine derivatives)	920	923	918	918	918	0.651	0.407	0.809
Microbial N, mg N/kg BW ^{0.75}	655	661	556	759	189	0.947	0.027	0.770

^a CS = corn silage; SCB = sugarcane bagasse.

^b MON = 26 mg/kg dry matter of Monensin (Rumensin, Elanco Animal Health, Indianapolis, IN); BEO + AM = 90 mg of commercial product (CRINA Ruminants)/kg dry matter + 560 mg commercial product (RONOZYME RumiStar)/kg dry matter. CRINA Ruminants and RONOZYME RumiStar were provided by DSM Nutritional Products, Basel, Switzerland.

Table 8

Rumen short chain fatty acids (SCFA), according to time of sample collection.

Traits	Time (hours after feeding)									SEM	P-value ¹	
	0	3	6	9	12	15	18	21	24		L	Q
Total SCFA, mM	57.9	71.0	71.5	91.8	84.3	91.8	81.3	78.0	57.2	6.65	<0.001	<0.001
SCFA, mol/100 mol												
Acetate	60.0	58.6	58.3	58.0	57.0	56.7	56.9	57.8	59.0	1.68	0.007	0.014
Propionate	20.1	23.1	24.0	24.8	25.7	25.4	24.9	23.1	20.9	2.04	<0.001	<0.001
Butyrate	14.2	13.5	13.7	13.6	13.9	14.1	14.0	14.2	13.7	0.98	0.901	0.854
Isobutyrate	1.4	1.1	0.8	0.7	0.6	0.7	0.8	1.1	1.6	0.15	<0.001	<0.001
Valerate	1.3	1.5	1.4	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	1.7	0.24	0.324	0.247
Isovalerate	3.0	2.8	1.8	1.6	1.5	1.8	2.1	2.6	3.0	0.20	<0.001	<0.001
Acetate:Propionate ratio	3.6	2.9	2.8	2.7	2.6	2.6	2.8	3.0	3.3	0.32	<0.001	<0.001
Ruminal pH	6.7	6.5	6.2	6.0	5.8	6.0	6.3	6.5	6.7	0.07	<0.001	<0.001

¹ L = linear effect; Q = quadratic effect.

mentioned that it is directly related to microbial protein yield. In our study, DMI was affected by roughage sources formulated with the same level of peNDF; however, no difference was observed in microbial protein yield (microbial N, mg N/kg BW^{0.75}) between the roughage sources (CS and SCB). In agreement with our results, Goulart et al. (2020a) reported lower DMI for steers fed 100 g/kg of NDF from CS plus 100 g/kg NDF from SCB when compared to a diet with 200 g/kg of NDF from CS.

Similar to what was observed in this study, Henrique et al. (1999) reported greater ADG and final body weight in finishing cattle fed CS than in those fed SCB. Pires et al. (2010) also observed a decrease in DMI when CS was replaced by SCB in lactating dairy cows. The decrease in DMI caused by SCB may be related to the reduced digestion rate and low ruminal digestibility of its fibrous fraction (Preston, 1982). Similarly, Magalhães et al. (2006) reported a decreased rumen rate of passage when CS was completely substituted by SCB. This could lead to a higher accumulation of rumen indigestible material, a lower DMI (Allen, 2000) and, consequently, a lower performance of animals fed SCB.

Animals fed SCB showed greater total tract apparent digestibility of crude protein than those fed CS. According to Preston et al. (1982), some authors have suggested that diets containing SCB have a reduced digestion rate and/or low ruminal digestibility of their fibrous fraction and longer mean retention time of particles in the ruminoreticulum, thus favoring the colonization and digestibility of crude protein when animals are fed SCB.

In this study, feeding cattle with SCB, which is a low-quality roughage source increased the propionate and decreased the acetate ruminal concentrations. According to Goulart et al. (2020a), diets containing SCB have higher fractions of indigestible aNDF and lower effective degradability of aNDF and, consequently, a higher mean retention time of particles in the ruminoreticulum in comparison to the CS diet formulated with the same level of aNDF. Knowing that the concentration of SCFA depends on the fermentation pattern of each roughage source and due to the low effective degradability of aNDF from SCB diet as mentioned previously, it can be suggested

that, in our study, a better quality of fiber from CS contributed to increase the concentration of acetate when compared to the SCB diet. Moreover, SCB is more effective than CS (Goulart et al., 2020b) and as designed, at the same level of peNDF there was a lower inclusion of SCB (on DM basis) in diets containing SCB compared to CS, with corn grain increasing accordingly. Also, a higher amount of finely ground corn (750 g/kg of the DM basis) was added in diets containing SCB compared with CS (Table 1), which could also promote a more amylolytic fermentation, resulting in greater production of propionate.

The peNDF supplied by roughage is associated with chewing time, saliva flow, and ultimately to ruminal pH (Tedeschi and Fox, 2018) and, according to the NRC (1996), peNDF is an accurate predictor of rumen pH. Furthermore, Kononoff et al. (2003) reported that the mean ruminal pH was highly correlated with peNDF. Hence, in our study, different roughage sources (CS or SCB) formulated at the same peNDF level showed similar mean rumen pH values.

In this study, animals fed CS had greater HCW, dressing percentage and LMA than the SCB group, but they did not differ in FT or meat quality traits. These higher HCW and LMA values could be explained by the better performance observed in the CS group once these traits were correlated (Silva et al., 2003). However, these differences were not sufficient to cause differences in the FT and meat quality.

These results differ in part from those of Ribeiro et al. (2016a), who did not observe differences in the HCW, LMA and FT of Nellore bulls fed different roughage sources (CS or SCB) in high concentrate diets. In addition, no differences in color, tenderness and cooking loss were found (Ribeiro et al., 2016b).

No differences in purine derivatives or microbial protein synthesis would be expected at the same intake of nutrients. Moreover, no differences in ruminal ammonia nitrogen was observed between CB and SCB that can also support the lack of difference in purine derivatives and microbial protein synthesis.

4.2. Effects of feed additives

The use of alternative additives versus the use of antibiotics in feedlot cattle has increased as consumer market demand for natural products has increased (Khiaosa-ard and Zebeli., 2013). The use of essential oils and their bioactive compounds in feedlot cattle diets can improve rumen fermentation (e.g. reduction in methane production and the acetate:propionate ratio), but improvements in animal performance are still scarce and variable (Khiaosa-ard and Zebeli., 2013). According to Benchaar et al. (2008), essential oils are naturally occurring volatile components that can be extracted from plants and possess a wide range of antimicrobial activities; however, the exact mechanism by which these compounds affect ruminal fermentation has not been clearly established (Meyer et al., 2009).

Meschiatti et al. (2019) and Gouvêa et al. (2019), feeding the same combination of BEO + AM to finishing bulls resulted in greater growth performance compared to MON, mainly due to the higher energy intake as a result of a higher nutrient intake. Unlike the results observed by Meschiatti et al. (2019) and Gouvêa et al. (2019), the combination of BEO + AM did not increase DMI in Experiment 1, although a 500 g numerical difference was observed, but ADG and HCW were still increased, with no difference in the G:F compared to that of MON-fed animals. The greater ADG and HCW observed in the present study for bulls fed BEO + AM are probably due to the combination of decreased fecal starch (Experiment 1), increased DMI, higher CP and EE digestibility, decreased ruminal acetate and ammonia nitrogen and higher microbial N (Experiment 2). Meyer et al. (2009) evaluated the same BEO used in our study in finishing cattle and found no differences in DMI. According to Kung et al. (2008), this specific BEO reduced the *in vitro* molar proportion of acetate and increased the molar proportion of propionate. Additionally, Li et al. (2013) observed improved *in vitro* fermentation patterns with an increased propionate concentration, reduced methane (CH₄) production, and increased fiber digestibility using the same BEO used in the current study. Tricarico et al. (2007) reported that the inclusion of α -amylase in finishing beef cattle diets increased the DMI, ADG and HCW. According to the authors, the increases in DMI as a result of α -amylase supplementation could possibly be related to the ability of this enzyme to change the ruminal fermentation pattern and decrease the molar proportion of propionate in the rumen. Furthermore, in another study, Tricarico et al. (2008) concluded that dietary supplemental α -amylase might improve ruminant productivity by modifying ruminal starch digestion without necessarily increasing starch digestion in the rumen. Even though no differences in ruminal fermentation characteristics were observed in the present study for any feed additive evaluated, the lower fecal starch concentration for cattle fed BEO + AM diet could explain the higher ADG and HCW in this treatment, regardless of the DMI pattern.

In our study, mean daily ruminal pH was not affected by MON and BEO + AM diets. However, cattle fed BEO + AM diets had lower ruminal concentration of acetate. The explanation for the lower concentration of acetate in the rumen in cattle fed BEO + AM could be supported by the fact that supplemental exogenous α -amylase does not increase ruminal starch digestion, but shifts ruminal fermentation to a higher molar proportion of propionate at the expense of acetate, presumably by modifying microbial metabolism or microbial populations in the rumen. Thus, fibrolytic bacteria could benefit from the increased oligosaccharides that result from increased starch hydrolysis. As fibrolytic bacterial fermentation results in higher acetate accumulation, the cross-feeding mechanism could be the reason for those results (Tricarico et al., 2008). Newbold et al. (2004) did not observe changes in ruminal pH values when the same BEO used in this study was fed to finishing cattle. Kung et al. (2008) fed lactating cows with the same BEO used in our study and also observed lower molar acetate concentrations *in vitro*. According to Patra and Yu (2012), sometimes, essential oils increase acetate and decreased propionate and for this reason, the type and dose of essential oils influence ruminal microbiota and consequently on the ruminal fermentation. Patra and Yu (2013), studying the effect of vanillin on ruminal fermentation *in vitro* (essential oil present in the blend used in our study), also observed a reduction in acetate concentration and an increase in propionate in rumen cultures.

Meschiatti et al. (2019) also observed decreased fecal starch excretion for BEO + AM when compared to MON (160 vs 215 g/kg, respectively). Some authors suggest that enzymes may act directly on feed or indirectly stimulate digestion by potentiating microbial

enzyme activities (McAllister et al., 2001). Morgavi et al. (2000) describe synergism between exogenous and microbial enzymes obtained by increasing the hydrolytic potential in the rumen medium. Some enzymes are resistant enough to pass through the rumen and remain active in the abomasum and intestine, improving the digestion of nutrients that escape ruminal fermentation (Hristov et al., 1998).

Ruminants have low N utilization efficiency, which can increase production costs, and this poses an energy cost to animals that excrete excess N through the urine, in addition to presenting an environmental problem. McIntosh et al. (2003) found that the antimicrobial action of essential oils can modulate the activities of rumen microbial populations, leading to a reduction in protein degradation and, therefore, decreasing the ruminal ammonia concentration and increasing microbial protein synthesis, resulting in higher nitrogen absorption. In our study, we observed a reduction in ammonia production and an increase in microbial protein synthesis with the use of BEO + AM.

In the present study, the additives did not affect the majority of meat quality traits, except for the L* values, which were greater for bulls fed MON than for those fed BEO + AM. However, despite this significant difference, both values were within the range considered normal for this trait. To our knowledge, no studies have reported the effects of BEO + AM on meat quality properties. Some studies regarding feeding essential oils (individually or as a blend) or exogenous enzymes, separately, can be found in the literature, however, with inconsistent results. Tricarico et al. (2006) observed an increase in LMA of steers fed α -amylase, with no differences in the FT or marbling score, but when similar levels of α -amylase were fed to heifers, there was an increase in FT, with no differences in the LMA or marbling score. Regarding essential oils, Rivaroli et al. (2016) evaluated the effects of feeding a blend of essential oils (oregano, garlic, lemon, rosemary, thyme, eucalyptus and sweet orange) to feedlot crossbreed steers and reported a decrease in the redness (a*) of meat in the essential oil group, but with no differences in shear force, L* or b* color values. In the same way, Monteschio et al. (2017) found that feeding essential oils to heifers had no significant effects on carcass pH, fat thickness, marbling score, LMA or thawing and drip losses but observed a reduction in color degradation across time. Similar to the results observed in this work, feeding essential oils did not alter the chemical composition of the meat when essential oil extracts were fed to cattle (Cruz et al., 2014 and Valero et al., 2014).

5. Conclusions

Feedlot diets formulated with 100 g/kg of physically effective NDF (on DM basis) of corn silage or sugarcane bagasse containing finely ground flint corn can provide a good option of roughage sources to maintain mean rumen pH above 6.2 and, consequently, to prevent digestive disorders with no difference in microbial protein yield. However, at the same physically effective NDF level, the sugarcane bagasse must be used with caution due to decreased dry matter intake, animal performance, and carcass weight when compared with corn silage. Even though no interactions were observed between roughage sources and feed additives, the combination of a blend of essential oils + exogenous α -amylase provides a potential alternative to replace ionophores, such as sodium monensin, and improve animal performance and carcass weight. Furthermore, the use of a specific blend of essential oils + exogenous α -amylase in feedlot diets has the potential to increase microbial protein synthesis, but has low impact on ruminal fermentation and nutrient digestibility compared with sodium monensin.

CRedit authorship contribution statement

Laura B. Toseti: Conceptualization, Investigation, Data curation, Formal analysis, Writing - review & editing. **Rodrigo S. Goulart:** Conceptualization, Investigation, Project administration, Supervision, Writing - review & editing. **Vinícius N. Gouvêa:** Conceptualization, Supervision, Resources, Writing - review & editing. **Tiago S. Acedo:** Conceptualization, Writing - review & editing. **Guilherme S.F.M. Vasconcellos:** Conceptualization, Writing - review & editing. **Alexandre V. Pires:** Methodology, Resources, Writing - review & editing. **Paulo R. Leme:** Conceptualization, Supervision. **Arlindo Saran:** Conceptualization, Writing - review & editing, Project administration. **Saulo L. Silva:** Conceptualization, Supervision, Formal analysis, Writing - review & editing, Project administration.

Declaration of Competing Interest

The authors report no declarations of interest.

Acknowledgements

This study was supported by DSM Nutritional Products (DSM, São Paulo, Brazil). The scholarship of the first author was supported by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brazil) - Finance Code 001.

References

- Allen, M.S., 2000. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 83, 1598–1624. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)75030-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75030-2).
- AMSA, 2015. *Research Guidelines for Cookery, Sensory Evaluation, and Instrumental Tenderness Measurements of Meat*, second ed. American Meat Science Association, Champaign, Illinois.
- AOAC, 1990. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists Inc., Arlington, Virginia, USA.

- Barbosa, A.M., Valadares, R.F.D., Valadares Filho, S.C., Pina, D.S., Detmann, E., Leão, M.I., 2011. Endogenous fraction and urinary recovery of purine derivatives obtained by different methods in Nellore cattle. *J. Anim. Sci.* 89, 510–519. <https://doi.org/10.2527/jas.2009.2366>.
- Benchaar, C., Duynisveld, J.L., Charmley, E., 2006. Effects of monensin and increasing dose levels of a mixture of essential oil compounds on intake, digestion and growth performance of beef cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 86, 9196. <https://doi.org/10.4141/A05-027>.
- Benchaar, C., Calsamiglia, S., Chaves, A.V., Fraser, G.R., Colombatto, D., McAllister, T.A., Beauchemin, K.A., 2008. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145, 209–228. <https://doi.org/10.1016/j.anifeeds.2007.04.014>.
- Broderick, G.A., Stevenson, M.J., Patton, R.A., 2009. Effect of dietary protein concentration and degradability on response to rumen-protected methionine in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92, 2719–2728. <https://doi.org/10.3168/jds.2008.1277>.
- Caetano, M., Goulart, R.S., Silva, S.L., Drouillard, J.S., Leme, P.R., Lanna, D.P.D., 2015. Effect of flint corn processing method and roughage level on finishing performance of Nellore-based cattle. *J. Anim. Sci.* 93, 4023–4033. <https://doi.org/10.2527/jas.2015.9051>.
- Capper, J.L., Hayes, D.J., 2012. The environmental and economic impact of removing growth-enhancing technologies from U.S. beef production. *J. Anim. Sci.* 90, 3527–3537. <https://doi.org/10.2527/jas.2011.4870>.
- Chaney, A.L., Marbach, E.P., 1962. Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clin. Chem.* 8, 130–132.
- Chen, X.B., Gomes, M.J., 1992. 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, p. 21.
- Chizzotti, M.L., Valadares, S.C., Valadares Filho, R.F.D., Valadares, R.F.D., Chizzotti, F.H.M., Tedeschi, L.O., 2008. Determination of creatinine excretion and evaluation of spot urine sampling in Holstein cattle. *Livest. Sci.* 113, 218–225. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.03.013>.
- CIE Colorimetry, 1986. Recommendations on Uniform Colour Spaces, Colour Differences Equations. Psychometric Terms, Publication no. 15-2, 2nd edn. Central Bureau of the CIE, Vienna.
- Cruz, O.T.B., Valero, M.V., Zawadzki, F., Rivaroli, D.C., do Prado, R.M., Lima, B.S., do Prado, I.N., 2014. Effect of glycerine and essential oils (*Anacardium occidentale* and *Ricinus communis*) on animal performance, feed efficiency and carcass characteristics of crossbred bulls finished in a feedlot system. *Italian J. Anim. Sci.* 13, 790–797. <https://doi.org/10.4081/ijas.2014.3492>.
- Defoor, P., Galyean, M., Salyer, G., Nunnery, G.A., Parsons, C., 2002. Effects of roughage source and concentration on intake and performance by finishing heifers. *J. Anim. Sci.* 80, 1395–1404. <https://doi.org/10.2527/2002.8061395x>.
- DiLorenzo, N., Smith, D.R., Quinn, M.J., May, M.L., Ponce, C.H., Steinberg, W., Engstrom, M.A., Galyean, M.L., 2011. Effects of grain processing and supplementation with exogenous amylase on nutrient digestibility in feedlot diets. *Livest. Sci.* 137, 178–184. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.11.003>.
- Ferreira, E.M., Pires, A.V., Susin, I., Biehl, M.V., Gentil, R.S., Parente, M.O., de Almeida, E., 2016. Nutrient digestibility and ruminal fatty acid metabolism in lambs supplemented with soybean oil partially replaced by fish oil blend. *Anim. Feed Sci. Technol.* 216, 30–39. <https://doi.org/10.1016/j.anifeeds.2015.09.007>.
- Fox, D., Sniffen, C., O'Connor, J., Russell, J., Van Soest, P., 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: III. Cattle requirements and diet adequacy. *J. Anim. Sci.* 70, 3578–3596. <https://doi.org/10.2527/1992.70113578x>.
- Fujihara, T., Ørskov, E.R., Reeds, P.J., Kyle, D.J., 1987. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. *J. Agric. Sci.* 109, 7–12. <https://doi.org/10.1017/S0021859600080916>.
- Galyean, M.L., Defoor, P.J., 2003. Effects of roughage source and level on intake by feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 81, 8–16. <https://doi.org/10.2527/2003.8114>.
- Gencoglu, H., Shaver, R.D., Steinberg, W., Ensink, J., Ferraretto, L.F., Bertics, S.J., Lopes, J.C., Akins, M.S., 2010. Effect of feeding a reduced-starch diet with or without amylase addition on lactation performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93, 723–732. <https://doi.org/10.3168/jds.2009.2673>.
- Goulart, R.S., Vieira, R.A.M., Daniel, J.L.P., Amaral, R.C., Santos, V.P., Filho, S.G.T., Cabezas-Garcia, E.H., Tedeschi, L.O., Nussio, L.G., 2020a. Effects of source and concentration of neutral detergent fiber from roughage in beef cattle diets on feed intake, ingestive behavior, and ruminal kinetics. *J. Anim. Sci.* 98, 1–15. <https://doi.org/10.1093/jas/skaa107>.
- Goulart, R.S., Vieira, R.A.M., Daniel, J.L.P., Amaral, R.C., Santos, V.P., Filho, S.G.T., Cabezas-Garcia, E.H., Tedeschi, L.O., Nussio, L.G., 2020b. Effects of source and concentration of neutral detergent fiber from roughage in beef cattle diets: comparison of methods to measure the effectiveness of fiber. *J. Anim. Sci.* 98, 1–9. <https://doi.org/10.1093/jas/skaa108>.
- Gouvea, V.N., Meschiatti, M.A.P., Moraes, J.M.M., Batalha, C.D.A., Dórea, J.R.R., Acedo, T.S., Tamassia, L.F.M., Owens, F.N., Santos, F.A.P., 2019. Effects of alternative feed additives and flint maize grain particle size on growth performance, carcass traits and nutrient digestibility of finishing beef cattle. *J. Agr. Sci.* 1–13. <https://doi.org/10.1017/S0021859619000728>.
- Hall, M.B., 2009. Analysis of starch, including malt oligosaccharides, in animal feeds: a comparison of methods and a recommended method for AOAC collaborative study. *J. AOAC Int.* 92, 42–49.
- Henrique, W., Leme, P.R., Lanna, D.P.D., Alleoni, G.F., Coutinho Filho, J.L.V., Beltrame Filho, J.A., 1999. Avaliação do milho úmido com bagaço de cana ou silagem de milho na engorda de bovinos. *Reunião Anual Soc. Bras. Zoot.* 36, 307.
- Hristov, A.N., McAllister, T.A., Cheng, K.J., 1998. Effect of dietary or abomasal supplementation of exogenous polysaccharide-degrading enzymes on rumen fermentation and nutrient digestibility. *J. Anim. Sci.* 76, 3146–3156. <https://doi.org/10.2527/1998.76123146x>.
- Khiaosa-ard, R., Zebeli, Q., 2013. Meta-analysis of the effects of essential oils and their bioactive compounds on rumen fermentation characteristics and feed efficiency in ruminants. *J. Anim. Sci.* 91, 2012–5691. <https://doi.org/10.2527/jas.2012.5691>.
- Klingerman, C.M., Hu, W., McDonnell, E.E., DerBedrosian, M.C., Kung Jr, L., 2009. An evaluation of exogenous enzymes with amylolytic activity for dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92, 1050–1059. <https://doi.org/10.3168/jds.2008.1339>.
- Kononoff, P.J., Heinrichs, J., Lehman, H.A., 2003. The effect of corn silage particle size on eating behavior, chewing activities, and rumen fermentation in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86, 3343–3353. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73937-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73937-X).
- Kung, L., 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. *J. Dairy Sci.* 91, 4793–4800. <https://doi.org/10.3168/jds.2008.1402>.
- Lammers, B.P., Buckmaster, D.R., Heinrichs, A.J., 1996. A simple method for the analysis of particle sizes of forage and total mixed rations. *J. Dairy Sci.* 79, 922–928. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(96\)76442-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76442-1).
- Li, H.-P., Chen, X., Li, M.-Q., 2013. Butyrate alleviates metabolic impairments and protects pancreatic β cell function in pregnant mice with obesity. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 6, 1574–1584.
- Magalhães, A.L.R., Campos, J.M.S., Cabral, L.S., Mello, R., Freitas, J.A., Torres, R.A., Valadares Filho, S.C., Assis, A.J., 2006. Cana-de-açúcar em substituição à silagem de milho em dietas para vacas em lactação: parâmetros digestivos e ruminais. *Rev. Bras. Zoot.* 35, 591–599. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982006000200036>.
- McAllister, T.A., Hristov, A.N., Beauchemin, K.A., Rode, L.M., Cheng, K.J., 2001. Enzymes in ruminant diets. In: Bedford, M.R., Partridge Pages, G.G. (Eds.), *Enzymes in Farm Animal Nutrition*. Marlborough, Wiltshire, UK, pp. 273–298.
- McGuffey, R.K., Richardson, L.F., Wilkinson, J.I.D., 2001. Ionophores for dairy cattle: current status and future outlook. *J. Dairy Sci.* 84, 194–203. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)70218-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)70218-4).
- McIntosh, F., Williams, P., Losa, R., Wallace, J., Beever, D.A., Newbold, C., 2003. Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism. *Appl. Environ. Microb.* 69, 5011–5014. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.8.5011-5014.2003>.
- Mertens, D.R., 1997. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 80, 1463–1482. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)76075-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76075-2).
- Meschiatti, M.A.P., Gouvea, V.N., Pellarin, L.A., Batalha, C.D.A., 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. *J. Anim. Sci.* 97, 456–471. <https://doi.org/10.1093/jas/sky415>.
- 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. *J. Anim. Sci.* 87, 2346–2354. <https://doi.org/10.2527/jas.2008.1493>.

- Monteschio, J.O., de Souza, K.A., Vital, A.C.P., Guerrero, A., Valero, M.V., Kempinski, E.M.B.C., Barcelos, V.C., Nascimento, K.F., do Prado, I.N., 2017. Clove and rosemary essential oils and encapsulated active principles (eugenol, thymol and vanillin blend) on meat quality of feedlot-finished heifers. *Meat Sci.* 130, 50–57. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.04.002>.
- Morgavi, D.P., Newbold, C.J., Beever, D.E., Wallace, R.J., 2000. Stability and stabilization of potential feed additive enzymes in rumen fluid. *Enzyme Microb. Technol.* 26, 171–177. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(99\)00133-7](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(99)00133-7).
- 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. *Anim. Feed Sci. Technol.* 114, 105–112. <https://doi.org/10.1016/j.anifeeds.2003.12.006>.
- NRC, 1996. *Nutrient Requirements of Beef Cattle*. 7th Natl. Acad. Press, Washington, D.C.
- Patra, A., Saxena, J., 2010. A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry* 71, 1198–1222. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2010.05.010>.
- Patra, A.K., Yu, Z., 2012. Effects of essential oils on methane production and fermentation by, and abundance and diversity of, rumen microbial populations. *Appl. Environ. Microbiol.* 78, 4271–4280. <https://doi.org/10.1128/AEM.00309-12>.
- Patra, A.K., Yu, Z., 2013. Effects of vanillin, quillaja saponin, and essential oils on in vitro fermentation and protein-degrading microorganisms of the rumen. *Appl. Environ. Microbiol.* 98, 897–905. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-4930-x>.
- Pinto, A.C.J., Millen, D.D., 2018. Nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists: the 2016 Brazilian survey. *Can. J. Anim. Sci.* 99, 392–407. <https://doi.org/10.1139/cjas-2018-0031>.
- Pires, A.V., Susin, L., Simas, J.M.C., Oliveira Júnior, R.C., Resende Fernandes, J.J., Araujo, R.C., Mendes, C.Q., 2010. Substituição de silagem de milho por cana-de-açúcar e caroço de algodão sobre o desempenho de vacas holandesas em lactação. *Ciência Anim. Bras.* 11, 251–257. <https://doi.org/10.526/cab.v11i2.1094>.
- Potter, E.L., Cooley, C.O., Richardson, L.F., Raun, A.P., Rathmacher, R.P., 1976. Effect of monensin on performance of cattle feed forage. *J. Anim. Sci.* 43, 665–669. <https://doi.org/10.2527/jas1976.433665x>.
- Preston, T., 1982. Nutritional limitations associated with the feeding of tropical forages. *J. Anim. Sci.* 54, 877–884. <https://doi.org/10.2527/jas1982.544877x>.
- Ribeiro, A.F., Messana, J.D., Neto, A.J., Lage, J.F., Fiorentini, G., Vieira, B.R., Berchielli, T.T., 2016a. Enteric methane emissions, intake, and performance of young Nellore bulls fed different sources of forage in concentrate-rich diets containing crude glycerine. *Anim. Prod. Sci.* 58, 517–522. <https://doi.org/10.1071/AN15645>.
- Ribeiro, A.F., Messana, J.D., Neto, José, Fiorentini, G., Berchielli, T.T., 2016b. Fatty acid profile, meat quality, and carcass traits of Nellore young bulls fed different sources of forage in high-concentrate diets with crude glycerin. *Rev. Bras. Zoot.* 45, 165–173. <https://doi.org/10.1590/S1806-92902016000400004>.
- Rivaroli, D.C., Guerrero, A., Valero, M.V., Zawadzki, F., Eiras, C.E., Campo, M.M., Sañudo, C., Jorge, A.M., Prado, I.N., 2016. Effect of essential oils on meat and fat qualities of crossbred young bulls finished in feedlots. *Meat Sci.* 121, 278–284. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.06.017>.
- Russell, J.B., Strobel, H.J., 1989. Mini-review: the effect of ionophores on ruminal fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.* 55, 1–6.
- Silva, S.L., Leme, P.R., Pereira, A.S.C., Putrino, S.M., 2003. Correlations among carcass characteristics taken by ultrasound and after slaughter in Nellore steers fed high concentrate diets. *Rev. Bras. Zootec.* 32, 1236–1242. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982003000500026>.
- Tedeschi, L.O., Fox, D.G., 2018. *The Ruminant Nutrition System: An Applied Model for Predicting Nutrient Requirements and Feed Utilization in Ruminants*, 2nd ed. XanEdu, Acton, MA.
- Tedeschi, L.O., Fox, D.G., Tylutki, T.P., 2003. Potential environmental benefits of ionophores in ruminant diets. *J. Environ. Quality* 32, 1591–1602. <https://doi.org/10.2134/jeq2003.1591>.
- Tricarico, J.M., Johnston, J.D., Dawson, K.A., Hanson, K.C., McLeod, K.R., Harmon, D.L., 2005. The effects of an *Aspergillus oryzae* extract containing alpha-amylase activity on ruminal fermentation and milk production in lactating Holstein cows. *Brit. Soc. Anim. Sci.* 81, 365–374. <https://doi.org/10.1079/ASC50410365>.
- Tricarico, J.M., Abney, M.D., Galyean, M.L., Rivera, J.D., Hanson, K.C., McLeod, K.R., Harmon, D.L., 2006. Effects of a dietary *Aspergillus oryzae* extract containing alpha-amylase activity on performance and carcass characteristics of finishing beef cattle. *J. Anim. Sci.* 85, 802–811. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-427>.
- Tricarico, J.M., Abney, M.D., Galyean, M.L., Rivera, J.D., Hanson, K.C., McLeod, K.R., Harmon, D.L., 2007. Effects of a dietary *Aspergillus oryzae* extract containing alpha-amylase activity on performance and carcass characteristics of finishing beef cattle. *J. Anim. Sci.* 85, 802–811. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-427>.
- Tricarico, J.M., Johnston, J.D., Dawson, K., 2008. Dietary supplementation of ruminant diets with an *Aspergillus oryzae* alpha-amylase. *Anim. Feed Sci. Tech.* 145, 136–150. <https://doi.org/10.1016/j.anifeeds.2007.04.017>.
- Undersander, D., Mertens, D.R., Thiex, N., 1993. *Forage Analyses Procedures*. Natl. Forage Testing Association, Omaha, NE.
- Valero, M.V., Torrecilhas, J.A., Zawadzki, F., Bonafe, E.G., Madrona, G.S., do Prado, R.M., Pasetti, R.A.C., Rivaroli, D.C., Visentainer, J.V., do Prado, I.N., 2014. Propolis or cashew and castor oils effects on composition of Longissimus muscle of crossbred bulls finished in feedlot. *Chilean J. Agri. Res.* 74, 445–451. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392014000400011>.
- Van Soest, P.J., 1973. Collaborative study of acid-detergent fiber and lignin. *J. AOAC Int.* 56, 781–784. <https://doi.org/10.1093/jaoac/56.4.781>.
- 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. *J. Dairy Sci.* 74, 3583–3597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2).
- Verbic, J., Chen, X.B., Macleod, N.A., 1990. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. *J. Agric. Sci.* 114, 243–248. <https://doi.org/10.1017/S0021859600072610>.
- Wiles, P.G., Gray, I.K., Kissling, R.C., 1998. Routine analysis of proteins by Kjeldahl and Dumas methods: review and interlaboratory study using dairy products. *J. AOAC Int.* 81, 620–632.