

Universidade de São Paulo  
Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos

**UTILIZAÇÃO DE GORDURA E MONENSINA  
SOBRE A FERMENTAÇÃO E CINÉTICA  
RUMINAL E PROTOZOÁRIOS CILIADOS DE  
NOVILHOS DA RAÇA NELORE**

*Amaury Camilo Valinote*

Dissertação de Mestrado depositada na Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da USP em 12 de dezembro de 2003, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Zootecnia, na área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal.

Orientador: Prof<sup>o</sup> Dr<sup>o</sup>: *José Carlos Machado Nogueira Filho*

---

Pirassununga - Estado de São Paulo - Brasil  
2003

FICHA CATALOGRÁFICA

preparada pela

Biblioteca da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo

V173f	<p>Valinote, Amaury Camilo</p> <p>Fontes de gordura e utilização de monensina nos parâmetros ruminais e protozoários ciliados de bovinos da raça Nelore / Amaury Camilo Valinote – Pirassununga, 2003.</p> <p>92 p.</p> <p>Dissertação (Mestrado) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – Universidade de São Paulo.</p> <p>Departamento de Zootecnia.</p> <p>Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. José Carlos Machado Nogueira Filho.</p> <p>Unitermos: 1. Gado Nelore 2. Rúmen animal 3. Monensina 4. Protozoários ciliados, rúmen 5. Gordura I. Título.</p>
-------	--

Às minhas avós, meus pais e meus  
irmãos, pelo amor e incentivo.

Dedico

## AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, por proporcionar a realização do Mestrado.

Ao Prof. Dr. Paulo Roberto Leme, por toda a ajuda do projeto ao término do mestrado, conselhos, exemplo profissional e amizade.

Ao Prof. Dr. Stephano Juliano de Andrade pela amizade, incentivo, conselhos e por toda ajuda prestada desde o começo.

À minha família que sempre auxiliou e incentivou em todos os momentos.

À Tatiane pelo carinho, incentivo e paciência por todo este período.

Aos meus amigos antigos, e principalmente aos novos que fiz em Pirassununga, uma das maiores conquistas feitas durante o mestrado.

Agradeço aos amigos Weber, Saulo e Keli que muito me ajudaram no desenvolvimento desse trabalho.

Aos amigos Ricardo e Manuel pela ajuda no desenvolvimento do experimento, principalmente no cuidado com os animais.

Aos amigos Raphael, Cunha, Rosi, Rosilda e Marquinhos pela ajuda nas análises laboratoriais e pelos momentos de descontração.

Aos professores e funcionários da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da USP, por proporcionarem um ambiente ótimo de se trabalhar e conviver.

À Fapesp pelo incentivo financeiro com a concessão da bolsa de estudos.

**Agradecimento especial ao Prof. Dr. José Carlos Machado Nogueira Filho, pela confiança, orientação, ensino, exemplo profissional, amizade e respeito.**

“A prudência é a filha mais velha da sabedoria.”

**Victor Hugo**

“Só sabemos com exatidão quando sabemos pouco, com os conhecimentos vem a dúvida.”

**Goethe**

“A paz, se possível, mas a verdade a qualquer preço.”

**Lutero**

“Os grandes navegadores devem sua reputação aos temporais e às tempestades”

**Epicuro**

“Não existe um grande gênio sem uma pitada de loucura.”

**Aristóteles**

“Qualquer teoria só é boa se nos servimos dela para ultrapassá-la”

**André Gide**

"Não precisamos apenas de arte e ciência; precisamos também de paciência."

**Goethe**

“Uma coisa aprendi durante a vida: que a nossa Ciência, comparada com a realidade, é primitiva e embrionária e, contudo, é a coisa mais preciosa que possuímos.”

**Albert Einstein**

## RESUMO

VALINOTE, A.C. **Fontes de gordura e utilização de monensina nos parâmetros ruminais e protozoários ciliados de bovinos da raça Nelore.** 2003. 72 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassunga, 2003.

Foram utilizados quatro novilhos Nelore, com fistulas ruminais e peso de  $502 \pm 32$  kg em um experimento em delineamento Quadrado Latino 4x4, com o propósito de avaliar o caroço de algodão e o sal de cálcio de ácidos graxos como fontes de gordura, sobre os parâmetros ruminais e protozoários ciliados, assim como o efeito da monensina dietas com caroço de algodão. O experimento foi conduzido no Campus Administrativo de Pirassununga, Estado de São Paulo, na Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo. Os tratamentos experimentais foram: dieta controle (CRTL), dieta com sal de cálcio de ácidos graxos (SC), dieta com caroço de algodão (CA), dieta com caroço de algodão sem monensina (CASM). Os parâmetros avaliados foram degradabilidade ruminal *in situ* do volumoso e da dieta total, concentração de ácidos graxos voláteis, concentração de nitrogênio amoniacal, pH ruminal, taxa de passagem líquida, turnover e volume ruminal, e identificação e contagem de protozoários ciliados. Cada período experimental foi subdividido em dezesseis dias de adaptação e seis dias de colheita, perfazendo um total de 22 dias por período experimental. Foram mensurados os coeficientes de degradabilidade nos períodos de incubação 0, 6, 12, 24, 48, 72 e 96 horas, o líquido e conteúdo ruminal foram colhidos nos horários 0, 2, 4, 6 e 8 horas; as colheitas de marcador de fase líquida foram realizadas às 0; 1,5; 3;

6; 12 e 24 horas após a alimentação. A degradabilidade da MS da cana-de-açúcar, MS e EE da dieta total não apresentaram diferenças estatísticas ( $p > 0,10$ ). A degradabilidade da FDN e FDA do volumoso, e da PB da dieta total apresentaram interação tempo x tratamento ( $p < 0,07$ ). O volume ruminal, taxa de passagem líquida, pH, concentração de ácidos graxos e de nitrogênio amoniacal não apresentaram diferenças estatísticas ( $p > 0,10$ ). O tratamento CA apresentou maior valor para turnover que os demais ( $p < 0,07$ ). A taxa de acético:propiónico apresentou interação tempo x tratamento ( $p < 0,05$ ). Os tratamentos com caroço de algodão reduziram a quantidade total de protozoários ciliados ( $p < 0,01$ ), em especial de *Entodinium* ( $p < 0,01$ ). Nas condições desse experimento, a gordura não afetou os parâmetros ruminais avaliados. Mesmo pequenas quantidades de gordura insaturada, como a liberada pelo caroço de algodão, são suficientemente tóxicas para os protozoários ciliados. A monensina não apresentou efeito quando adicionada a dieta com gordura. As fontes de gordura avaliadas são alternativas para alimentação de ruminantes, sem prejudicar a função ruminal. A adição de monensina parece desnecessária quando há suplementação de gordura. Mais trabalhos devem ser realizados para avaliar o efeito de outros aditivos sobre a gordura, na alimentação de ruminantes, assim como as modificações das gorduras no ambiente ruminal.

Palavras-chave: Fonte de gordura; Monensina; Parâmetros Ruminais; Protozoários Ciliados; Nelore.

## ABSTRACT

VALINOTE, A.C. **Fatty sources and utilization of monensin on rumen parameters and ciliate protozoa of Nellore cattle**. 2003. 72 p. Dissertação (Master Degree) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassunga, 2003.

Four Nellore steers, with rumen cannulas and  $502 \pm 32$  kg were utilized in a 4 x 4 Latin Square design experiment to evaluate the effects of diets with whole cottonseed or calcium salt of fatty acid as lipid source, on ruminal parameters and ciliate protozoa, as well as the monensin effect with diets with whole cottonseed. The study was carried out at Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA) of the Universidade de São Paulo (USP). The experimental treatments were: control diet (CTRL), salt calcium diet (SC), cottonseed diet (CA), and cottonseed diet without monensin (CASM). The parameters evaluated were roughage and total diet *in situ* degradability, volatile fatty acids concentration, amoniacal nitrogen concentration, ruminal pH, liquid passage, turnover and ruminal volume, and number and specie of ciliate protozoa. Each experimental period was consisted of 16 days of adaptation and 6 days of collection, composing 22 days per experimental period. The degradability coefficients at the follow incubation periods: 0; 6; 12; 24; 48; 72 and 96 hours; were measure the rumen liquid and content was sampled at 0; 2; 4; 6 and 8 hours; the liquid marker collected at 0; 1.5; 3; 6; 12 and 24 after feeding. The sugar cane dry matter, and DM and EE total diet degradability did not show statistical difference ( $p>0.10$ ). The ADF and NDF roughage degradability, and total diet CP degradability showed interaction time x treatment ( $p<0.07$ ). The ruminal



volume, liquid passage, pH, fatty acid concentration and N-NH<sub>3</sub> , did not show statistical differences ( $p>0.10$ ). The CA treatment showed higher turnover value ( $p=0.0691$ ). The acetic:propionic proportion had time x treatment interaction ( $p=0.0228$ ). The treatments with cottonseed decreased the total number of ciliate protozoa ( $p<0,01$ ), especially for Entodinium ( $p<0,01$ ). In this study conditions, monensin showed no effect when lipid was present on the diet. Even little unsaturated fat quantities in the rumen rumen, as cottonseed fatty acids were prejudicial to ciliate protozoa. The fat sources evaluated are alternatives to ruminant feeding, without deleterious effect to rumen function. The monensin addition seems to be unnecessary with diets with not protect fat. More works are necessary to study others additives on fat fed to ruminants, as well as the fat transformation on rumen environment.

Keywords: Lipid source; Monensin; Rumen Parameters; Ciliate Protozoa; Nellore

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 – Composição percentual e química das dietas. ....	24
Tabela 2 – Distribuição dos tratamentos nos períodos experimentais .....	37
Tabela 3 – Médias e coeficientes de variação (C.V.) dos parâmetros avaliados .....	40
Tabela 4 – Volume Ruminal, Taxa de Passagem Líquida e Turnover de novilhos Nelore alimentados com dietas com diferentes fontes de gordura, com ou sem monensina.....	51
Tabela 5 – Parâmetros fermentativos ruminais de novilhos Nelore alimentados com dietas com diferentes fontes de gordura, com ou sem monensina .....	63

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Animais bovinos fistulados no rúmen.....	22
Figura 2 – Sacos de náilon, vazio e fechado com amostra antes da incubação .....	26
Figura 3 – Sacos de náilon em estufa a 65 <sup>o</sup> .C .....	27
Figura 4 – Colheita de líquido ruminal.....	30
Figura 5 – Frascos de vidro contendo líquido ruminal.....	31
Figura 6 – Mensuração de pH.....	32
Figura 7 – Curva média de degradação da MS da cana-de-açúcar em bovinos Nelore recebendo diferentes fontes de gordura, com ou sem monensina.....	41
Figura 8 – Curvas de degradação da FDN da cana-de-açúcar em bovinos Nelore recebendo diferentes fontes de gordura, com ou sem monensina.....	42
Figura 9 – Curvas de degradação da FDA da cana-de-açúcar em bovinos Nelore recebendo diferentes fontes de gordura, com ou sem monensina.....	43
Figura 10 – Curvas médias de degradação da MS e EE da dieta total em bovinos Nelore recebendo diferentes fontes de gordura, com ou sem monensina .....	46
Figura 11 – Curvas de degradação da PB da dieta total em bovinos Nelore recebendo diferentes fontes de gordura, com ou sem monensina.....	48
Figura 12 – Curva média de pH ruminal em função do tempo após alimentação, de bovinos Nelore recebendo diferentes fontes de gordura, com ou sem monensina .....	53
Figura 13 – Curvas médias das concentrações de AGV total e N-NH <sub>3</sub> ruminal em função do tempo após alimentação, de bovinos Nelore recebendo diferentes fontes de gordura, com ou sem monensina .....	56
Figura 14 – Curvas médias das concentrações de ácidos acético, propiônico e butírico no rúmen em função do tempo após alimentação, de bovinos Nelore recebendo diferentes fontes de gordura, com ou sem monensina.....	58
Figura 15 – Curvas das proporções acético:propiônico no rúmen em função do tempo após alimentação, de bovinos Nelore recebendo diferentes fontes de gordura, com ou sem monensina .....	62
Figura 16 – Médias de protozoários ciliados rúmen de bovinos Nelore recebendo diferentes fontes de gordura, com ou sem monensina .....	65

Figura 17 – Curvas médias de protozoários ciliados rúmen por tempo, em bovinos  
Nelore recebendo diferentes fontes de gordura, com ou sem monensina .....66

**LISTA DE ABREVIATURAS**

MS	Matéria seca
FDN	Fibra em detergente neutro
FDA	Fibra em detergente ácido
EE	Extrato etéreo
PB	Proteína bruta
MO	Matéria orgânica
EB	Energia bruta
AGV	Ácidos graxos voláteis
N-NH <sub>3</sub>	Nitrogênio amoniacal ruminal
A:P	Acético:Propiônico
CRTL	Dieta controle
CA	Dieta com caroço de algodão
CASM	Dieta com caroço de algodão sem monensina
SC	Dieta com sal de cálcio

# SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>3</b>
2.1 Utilização de Lipídeos na Dieta de Ruminantes .....	3
2.2 Lipólise e Biohidrogenação .....	5
2.3 Fontes de Lipídeos .....	7
2.4 Caroço de Algodão .....	8
2.5 Sal de Cálcio de Ácidos Graxos .....	11
2.6 Monensina em Dietas com Gordura .....	14
2.7 Efeito da Gordura em Relação aos Protozoários Ciliados .....	16
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>21</b>
3.1 Local .....	21
3.2 Animais e Instalações .....	21
3.3 Alimentos e Alimentação .....	22
3.4 Degradabilidade Ruminal.....	25
3.5 Análises bromatológicas .....	29
3.6 Amostragem .....	30
3.7 Fermentação Ruminal.....	31
3.7.1 pH Ruminal .....	31
3.7.2 Ácidos Graxos Voláteis .....	32
3.7.3 Amônia Ruminal.....	33
3.8 Cinética Ruminal.....	34
3.9 Protozoários Ciliados.....	36

3.10 Análises Estatísticas .....	36
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>38</b>
4.1 Degradabilidade.....	38
4.1.1 Cana-de-açúcar.....	38
4.1.2 Dieta Total.....	45
4.2 Cinética Ruminal.....	50
4.3 Fermentação Ruminal.....	52
4.3.1 pH.....	52
4.3.2 Amônia Ruminal.....	54
4.3.3 Ácidos Graxos Voláteis .....	57
4.4 Protozoários Ciliados.....	63
4.4.1 Entodinium .....	63
4.4.2 Diplodinium .....	64
4.4.3 Epidinium .....	64
4.4.4 Isotricha.....	64
4.4.5 Daytricha.....	64
4.4.6 Eudiplodinium.....	64
4.4.7 Ostracodinium .....	67
4.4.8 Protozoários Ciliados Totais.....	67
<b>5 CONCLUSÕES.....</b>	<b>70</b>
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>71</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>78</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A demanda de carne bovina brasileira tem crescido significativamente, não só para o consumo interno, mas também para exportação. Por isso há necessidade de que os animais atinjam o peso de abate mais rapidamente. A seleção de animais com maior velocidade de crescimento, entretanto, faz com que as exigências nutricionais aumentem juntamente com índices produtivos e qualitativos. Animais com maiores ganhos de peso e mais precoces têm maiores exigências de energia. Uma forma de aumentar a densidade energética da dieta, não afetando a ingestão de nutrientes e suprimindo as exigências de energia digestível é a utilização de gordura.

A gordura é um nutriente mais energético do que os carboidratos e proteínas, possuindo digestão pós-ruminal, o que aumenta sua eficiência de utilização. Quantidades de gordura que ultrapassem 7% da dieta podem prejudicar a degradação ruminal da fibra dietética. Esse fato ocorre pela gordura aderir a



superfície do alimento impedindo fisicamente a adesão microbiana à partícula dietética, e por ser a gordura insaturada tóxica aos microrganismos ruminais.

Têm sido estudadas formas de se adicionar gordura a dietas de ruminantes, de maneira que esta não afete negativamente a degradação e fermentação ruminal.

O caroço de algodão é um alimento que possui liberação lenta de gordura no ambiente ruminal. Esta forma de liberação não influenciaria a fermentação ruminal, ou por ser muito pouca para revestir as partículas alimentares ou por sofrerem rápida hidrogenação pelos microrganismos do rúmen.

Outra forma é a utilização de gorduras na forma de sais de cálcio de ácidos graxos, que não sofrem degradação no ambiente ruminal, sendo dissociada no abomaso e conseqüentemente sua digestão e absorção ocorre no intestino.

Uma prática muito utilizada para melhorar a eficiência energética da dieta, é a manipulação da fermentação ruminal através da oferta de aditivos na ração, como os antibióticos ionóforos. Estas substâncias atuam selecionando determinados microrganismos de maneira que haja maior produção de ácido propiônico e inibindo a produção de metano. A monensina é um ionóforo amplamente utilizado em dietas de bovinos confinados, entretanto, sua presença parece afetar a utilização de lipídeos.

O objetivo desse trabalho foi avaliar o caroço de algodão e o sal de cálcio de ácidos graxos como fontes de gordura e o efeito associativo da monensina sobre a gordura do caroço de algodão, na degradabilidade, cinética e fermentação ruminal, assim como o efeito dessas fontes em relação aos protozoários ciliados.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Utilização de Lipídeos na Dieta de Ruminantes**

De acordo com o Conselho Nacional de Pecuária de Corte (2003), em 2003 o Brasil deverá exportar 1.100,0 mil toneladas em equivalente carcaça, 200 mil toneladas mais que o ano anterior. O consumo per capita interno está previsto para ser de 36,3 kg de equivalente carcaça, 0,5 kg a mais que o ano 2002. Hoje, o Brasil é o maior exportador de carne bovina no mundo. Esses dados justificam o emprego em tecnologias e pesquisas na produção de pecuária de corte, buscando produtos de qualidade e com preços competitivos.

O aumento do potencial produtivo dos animais decorrente do melhoramento genético, aumenta as exigências nutricionais, sobretudo de energia digestível. Para suprir essas exigências é comum adicionar altas quantidades de carboidratos não estruturais à dieta. Esta prática pode prejudicar o balanço nutricional do animal, comprometendo a ingestão mínima de fibra necessária para o perfeito funcionamento do rúmen. A inclusão de gordura em dietas de ruminantes promove aumento da densidade energética e modificação da forma química da energia

metabolizável, proporcionando maior garantia de consumo dos níveis de fibra necessários (CHALUPA et al., 1984, PALMQUIST, WEISBJERG e HVELPLUND, 1993). As gorduras são compostos mais energéticos que proteínas e carboidratos, e a maior parte de sua absorção ocorre pós-rúmen (JENKINS, 1993; VALADARES FILHO et al, 2002).

A dieta de ruminantes possui normalmente pequenas quantidades de lipídeos, com teores de até 4% na matéria seca, sendo a maior parte dos ácidos graxos, insaturados (VAN SOEST, 1994).

O fornecimento de grandes quantidades de lipídeos, especialmente ácidos graxos insaturados, pode prejudicar o funcionamento ruminal, comprometendo a degradação da fibra dietética. Há dois mecanismos que geram esse distúrbio, um químico e outro físico. O primeiro é que os ácidos graxos insaturados possuem grande reatividade com as membranas celulares das bactérias, o que pode afetar a integridade da barreira seletiva, principalmente bactérias gram-positivas, maiores responsáveis pela degradação fibrolítica. Este parece ser o de maior importância no que diz respeito ao efeito deletério da gordura na degradação da fibra. O outro fator, é que os lipídeos possuem capacidade de se adsorverem as partículas dos alimentos, fato que acarreta em impedimento físico a adesão dos microrganismos e atuação das enzimas microbianas na degradação dos alimentos (JENKINS, 1993). Em revisão sobre gordura em rações para lactação, Palmquist e Jenkins (1980) observaram que a gordura promove redução na disponibilidade de cátion oriunda da formação de complexos insolúveis com ácidos graxos de cadeia longa, o que pode afetar diretamente a disponibilidade de cátions para a função ruminal, ou indiretamente o pH ruminal. Imming et al. (1991) citado por Jenkins (1993)

verificaram redução da atividade de celulases microbianas em presença de ácidos graxos livres.

Consoante Jenkins (1993), as propriedades que determinam os efeitos antimicrobianos dos lipídeos inclui o tipo do grupo funcional, o grau de insaturação, a formação de sais de carboxilato e a associação física dos lipídeos às superfícies dos microrganismos e das partículas dos alimentos.

Havendo redução da digestão de carboidratos estruturais, pode ocorrer diminuição na taxa de passagem, diminuindo a ingestão de alimentos, comprometendo o balanço nutricional do animal (GRUMMER, 1995).

Há um mecanismo natural dos microrganismos ruminais que reduz a toxicidade das gorduras insaturadas. No rúmen, os lipídeos sofrem lipólise e posterior biohidrogenação pela microbiota ruminal. A porção glicerol é fermentada em ácido propiônico enquanto os ácidos graxos insaturados livres são hidrogenados a ácidos graxos saturados. A hipótese mais aceita com relação ao papel da biohidrogenação é a de proteger os microrganismos ruminais do efeito deletério das gorduras (VALADARES FILHO et al, 2002).

## **2.2 Lipólise e Biohidrogenação**

No rúmen, os ácidos graxos esterificados sofrem ação de enzimas lipolíticas microbianas, que causam a liberação de ácidos graxos e glicerol. A principal bactéria responsável por esta ação é a *Anaerovibrio lipolytica*. O glicerol é rapidamente fermentado principalmente a ácido graxo propiônico. Os ácidos graxos livres sofrem biohidrogenação pelos microrganismos ruminais (HARFOOT; HAZLEWOOD, 1988; JENKINS, 1993). Segundo Bauman et al. (1999) e Pariza et al. (2001), as bactérias *Butyrivibrio fibrisolvens* e *Anaerovibrio lipolytica* e *Propionibacter*, são as principais responsáveis pela biohidrogenação.

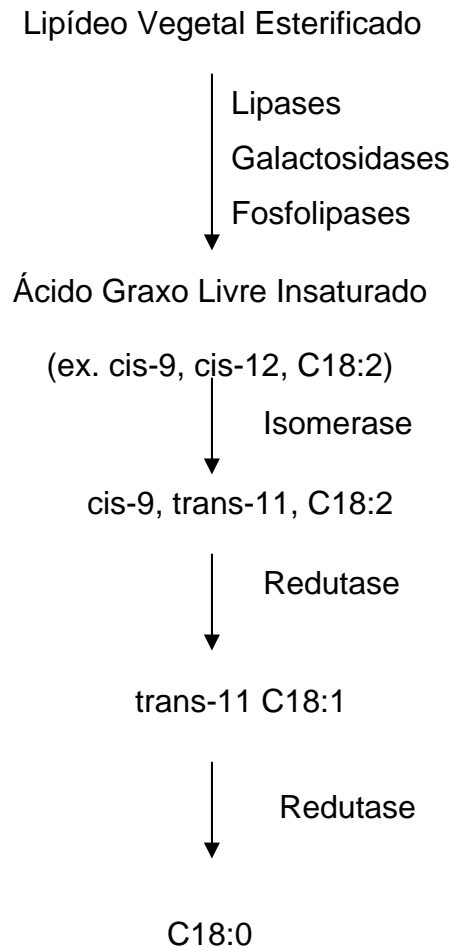
O principal papel da biohidrogenação parece ser anular o efeito tóxico da gordura sobre os microrganismos ruminais, já que a contribuição para dissipar hidrogênio é pequena, pois apenas 1 a 2% do hidrogênio metabólico é usado para este fim (HARFOOT; HAZLEWOOD, 1988; JENKINS, 1993).

A biohidrogenização dos ácidos graxos insaturados ocorre inicialmente com uma reação de isomerização, onde a dupla ligação *cis*-12 é convertida ao isômero *trans*-11. É necessária a presença de um grupamento carboxílico livre para a ação da enzima isomerase, tornando imprescindível a lipólise (HARFOOT; HAZLEWOOD, 1988). Quando as características ruminais são favoráveis, o ácido graxo que sofreu a isomerização sofre ação de uma enzima redutase e então é hidrogenado a ácido graxo saturado. Quando se tem ácido graxo com mais de uma insaturação, há isomerização da ligação *trans*-11, e a outra ligação sofre ação da redutase microbiana, ocorrendo então a transformação em ácido graxo saturado (JENKINS, 1993).

Pequenas quantidades de lipídeos são incorporadas por microrganismos. Alguns protozoários, principalmente holotrichas, ingerem ácidos graxos de cadeia longa para incorporar aos lipídeos intracelulares, e em pequena parte são catabolizados. A maior parte dos lipídeos ingeridos pelos ruminantes, passa para o duodeno (PALMQUIST; JENKINS, 1980 ; HARFOOT; HAZLEWOOD, 1988).

O papel dos protozoários no processo ruminal dos lipídeos não é muito claro ainda. De acordo com Harfoot e Hazlewood (1988) o envolvimento dos protozoários na hidrólise dos lipídeos dietéticos não é convincente, uma vez que a contribuição na biohidrogenação parece ser somente o de engolfar bactérias capazes de realizá-la, não sendo necessária à presença de protozoários para ocorrer a biohidrogenação.

Os ácidos graxos saturados possuem pequeno ou nenhum efeito no ambiente ruminal, embora tenham também, menores níveis de absorção intestinal.



Fonte: Adaptado de JENKINS (1993)

Esquema 1 – Lipólise e biohidrogenação de lipídeo vegetal esterificado, no rúmen.

### 2.3 Fontes de Lipídeos

A quantidade e composição de ácidos graxos da dieta variam conforme os alimentos utilizados (VAN SOEST, 1994). De forma geral, os lipídeos presentes na alimentação animal estão na quantidade de 1 a 4% da matéria seca. Nas forragens

estão presentes principalmente na forma de fosfolipídeos e glicolipídeos, enquanto nos grãos encontram-se na maior parte como triglicerídeos (VAN SOEST, 1994).

Para que haja menor efeito negativo da gordura no ambiente ruminal e conseqüentemente na degradabilidade da fibra, têm-se estudado várias fontes de lipídeos e seus efeitos na cinética ruminal. Algumas fontes amplamente utilizadas no Brasil são sementes oleaginosas, como sementes de algodão. Estas possuem liberação lenta de gordura o que ocasiona pequeno efeito na função ruminal (PALMQUIST; JENKINS, 1980; COPPOCK; WILKS, 1991). Outras fontes são gorduras protegidas, sendo os sais de cálcio de ácidos graxos fontes lipídicas comerciais, praticamente inertes a ação microbiana no ambiente ruminal (PALMQUIST; JENKINS, 1980; GRUMMER, 1995; VALADARES FILHO et al, 2002).

#### **2.4 Caroço de Algodão**

De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB) (2003) a safra 2002/2003 de caroço de algodão teve produção 8,6% maior que a safra 2001/2002, sendo o crescimento contínuo aos demais anos.

O caroço de algodão é um subproduto da indústria e tem sido utilizado em dietas de ruminantes principalmente na tentativa de diminuir o custo com alimentação. Pode ser definido como alimento concentrado pois possui alto teor de gordura e de proteína, mesmo possuindo fibra efetiva semelhante à de forragens (EZEQUIEL, 2001).

Por possuir liberação lenta de gordura, ocasionada devido à ruminação (PALMQUIST, 1984; COPPOCK; WILKS, 1991), e pelo línter ajudar a distribuir as sementes pelo rúmen, o caroço de algodão provavelmente possui pouco efeito na função ruminal sendo altamente validado por nutricionistas (COPPOCK et al., 1987).

A lenta liberação da gordura proveniente do caroço de algodão permite a atuação dos microrganismos ruminais na hidrogenação das duplas ligações dos ácidos graxos insaturados, impedindo o efeito inibidor da gordura sobre a digestibilidade da fibra. (COPPOCK; WILKS, 1991).

Zinn (1995) verificou que quando substituiu tapioca, da ração controle por caroço de algodão, a digestão ruminal e pós-ruminal diminuíram, assim como a síntese de nitrogênio microbiano, não havendo explicações consistentes para estes resultados, que divergem dos encontrados em estudos anteriores desse autor. Segundo o próprio, quando na utilização de caroço de algodão sem línter e triturado pode-se obter aumento de até 20% na degradabilidade de nitrogênio, entretanto, dependendo do nível de inclusão na dieta pode haver diminuição do crescimento microbiano e da eficiência da proteína líquida ruminal, possivelmente pela liberação de gordura ser mais rápida e assim disponibilizar mais a gordura.

Em experimento utilizando níveis de caroço de algodão (0; 6,6 e 15%) Ruy et al. (1996) verificaram que o aumento dos níveis de caroço de algodão provocou aumento linear da: degradação da MS do caroço de algodão no horário 48 horas de incubação; da degradação da PB no horário 12 horas de incubação, explicada pelo fato do caroço de algodão possuir elevada quantidade de proteína solúvel (38,3%); da degradação de FDA no horário 48 horas de incubação, semelhante ao observado na MS, explicados pelo fato que maiores proporções de caroço de algodão proporcionarem um ambiente ruminal mais adequado a degradação das porções fibrosas mais resistentes. A degradabilidade efetiva, pH, volume ruminal, taxa de renovação e taxa de passagem de líquidos não apresentaram diferenças significativas com a adição de caroço de algodão.



Zinn e Plascencia (1993) avaliaram a adição de caroço de algodão (20%), gordura amarela (5%) separadamente, e de ambos aditivos em uma mesma dieta. Ambas fontes de lipídeos reduziram a digestão ruminal de matéria orgânica, sem efeito aditivo, mas com interação entre as fontes. A adição de nitrogênio microbiano para o intestino delgado aumentou com a adição de caroço de algodão, e diminuiu com adição de gordura amarela. A adição da oleaginosa ainda aumentou a eficiência de síntese microbiana em 27,3% a mais que quando incluída gordura amarela. Em relação a fermentação ruminal o caroço de algodão aumentou o pH assim como o teor de gordura; aumentou as proporções de acetato e diminuiu o propionato em contraste a resposta com adição de gordura amarela que ainda promoveu decréscimo na produção de metano. Estes autores concluíram que o valor nutricional do caroço de algodão diminui em dietas com moderados níveis de gordura (5%), não pela reduzida digestão ruminal da gordura, mas pelo efeito negativo associativo geral devido aos altos níveis totais de gordura ingeridos.

Comparando dietas com 14% de caroço de algodão e outras com três níveis de caroço de algodão expandido-expelido, Nofstger et al. (2000) constataram menor taxa de acetato, maior taxa de propionato, menor taxa da razão acetato:propionato, para o caroço de algodão integral, quando comparados com os demais tratamentos. O valor total de ácidos graxos voláteis e de amônia no conteúdo ruminal não sofreu influência em relação às dietas.

Wu et al. (1994) avaliaram a digestibilidade dos nutrientes com diferentes fontes de gordura, tais como: caroço de algodão, óleo de girassol e cera peletizada. A digestibilidade da matéria orgânica foi menor para a ração controle, provavelmente pela menor digestibilidade da proteína bruta. Além de aumentar a digestibilidade da proteína, a adição de gordura à dieta favoreceu maiores perdas de amônia ruminal.

Digestibilidade de FDA e FDN não sofreram influência pela adição de gordura a dieta.

Harrison et al (1995) não obtiveram diferenças nas concentrações de AGV e de amônia ruminal quando suplementaram vacas de leite com caroço de algodão ou caroço de algodão e sal de cálcio de ácidos graxos na mesma dieta.

### **2.5 Sal de Cálcio de Ácidos Graxos**

Os sais de cálcio de ácidos graxos são fontes de gordura consideradas “protegidas”, encontradas no mercado como produtos comerciais. Estes, em condições de pH normal, são praticamente inertes no ambiente ruminal, mas no pH ácido do abomaso, se dissociam, transformando a gordura disponível (PALMQUIST, 1984; CHALUPA et al. 1986). Têm sido utilizados em alimentação de ruminantes com o objetivo de se evitar o efeito negativo da gordura no ambiente ruminal, de forma que também aumente o fluxo de certos ácidos graxos insaturados desejáveis, como os ácidos oléico, linoleico e linolenico, pela proteção contra a biohidrogenação.

Jenkins e Palmquist (1984) avaliaram a inclusão de gordura sob alguns processamentos, em dietas de vacas leiteiras. Foram utilizados os seguintes tratamentos, controle; mistura de sebo e carreador não nutritivo (vermiculita); ácidos graxos de sebo; ácidos graxos de soja; sais de cálcio de ácido graxo de sebo (sabão de sebo) e sais de cálcio de ácidos graxos de soja (sabão de soja). A digestibilidade da FDA não foi afetada pela adição de soja, mistura de gordura com vermiculita ou pelo sal de cálcio de ácidos graxos do sebo, e aumentou na suplementação de sal de cálcio de ácidos graxos de soja. O sebo reduziu a digestibilidade da FDA. As fontes de gordura citadas não influenciaram na digestão do nitrogênio. Em um segundo ensaio avaliando os tratamentos controle, sebo e sal de cálcio de ácidos graxos de sebo, a digestibilidade ruminal de MS diminuiu significativamente pelo

ácido graxo de sebo, comparado ao sal de cálcio. O sal de cálcio aumentou levemente a digestão ruminal de MS comparado a dieta controle. A eficiência de síntese microbiana diminuiu nos tratamentos com sal de cálcio de ácidos graxos, os autores explicam este efeito como sendo por causa do sal de cálcio não inibirem o crescimento e o metabolismo de protozoários.

Chalupa et al. (1984) avaliaram a fermentação *in vitro* influenciada por ácidos graxos de cadeia longa. Sal de cálcio de ácidos graxos não afetaram a produção ou a composição de AGV. A adição de 20% de sebo na forma de sal de cálcio de ácidos graxos promoveu produção de ácidos graxos voláteis individuais e da taxa acetato:propionato idêntico a produção na ausência de ácidos graxos de cadeia longa.

Chalupa et al. (1986) avaliaram fontes de gordura sobre a fermentação ruminal de novilhos Holandês com dietas com 10% a 11,9% de gordura. As fontes foram dois tipos de sais de cálcio, sal de cálcio de gordura vegetal e sal de cálcio de gordura animal, e uma fonte de triglicerídeo de origem animal. O sal de cálcio de ácido graxo animal aumentou o pH, enquanto o triglicerídeo causou queda no pH. As fontes de sais de cálcio apresentaram menores valores na taxa de acético:propiónico que a dieta controle. O triglicerídeo apresentou menores valores que os demais tratamentos já antes da alimentação. As concentrações de ácido butírico foram menores para o tratamento com triglicerídeo. Concluindo que os sais de cálcio de ácido graxo não são totalmente inertes no ambiente ruminal, havendo alguma dissociação desses sais no rúmen. Pela constante de dissociação dos sais de cálcio de ácidos graxos ser por volta de 4 a 5, a dissociação no rúmen pode ser significativa quando o pH diminui abaixo de 6.

Schauff e Clark (1992) avaliaram a inclusão de níveis de sais de cálcio em dietas de vacas lactantes. As concentrações de ácidos graxos voláteis totais, butirato, isovalerato e valerato, nitrogênio amoniacal no fluído ruminal e o valor de pH não sofreram influência com a adição de gordura à dieta. Houve resposta linear no aumento da proporção molar de acetato e redução numérica na de propionato, e, conseqüentemente, aumento da taxa acetato:propionato, com a inclusão dos níveis de sais de cálcio de ácidos graxos na dieta. Os autores acreditam que esta resposta pode ser atribuída ao fato de ter ocorrido diminuição da ingestão de MS pelos animais com a adição da gordura, e pela substituição de grãos de milho moído descascado pela gordura. Outro fator seria que a digestibilidade aparente da celulose aumentou com o acréscimo de níveis de sais de cálcio de ácidos graxos.

Kim et al. (1993) avaliaram a inclusão de sais de cálcio como fonte de gordura e soja em grão extrusada em dietas para vacas de leite lactantes. As proporções molares de propionato e acetato não foram influenciadas pela adição de gordura, embora houvesse diminuição na concentração total de AGV, provavelmente pela gordura atuar na redução da atividade microbiana ou na viabilidade dos carboidratos fermentecíveis. Houve também redução na concentração de amônia ruminal pela inclusão da gordura na dieta, o que pode ser explicado como melhoria na eficiência de utilização de carboidratos para síntese de proteína microbiana, ou inibição da atividade proteolítica microbiana.

Palmquist, Weisbjerg e Hvelplund, (1993) não encontraram diferenças para degradabilidade de proteína bruta e para proporções e concentrações de AGV quando utilizaram como fonte lipídica sal de cálcio de ácidos graxos e sebo (proporção 1:1) a 5%.

Aldrich et al. (1997) avaliaram o processo digestivo de dietas com sal de cálcio de ácidos graxos, e caroço de canola integral em duas formas de processamento, utilizando novilhos Angus x Simental. As dietas não influenciaram as características fermentativas ruminais e digestivas para, M.O., FDN, FDA, E.B. e nitrogênio.

## **2.6 Monensina em Dietas com Gordura**

A utilização de monensina em dietas de ruminantes visa manipular a fermentação ruminal, alterando a presença de microrganismos ruminais, e, conseqüentemente aumentando a eficiência alimentar (VAN NEVEL; DEMEYER, 1988; RUSSELL; STROBEL, 1989).

A molécula de monensina é um poliéter carboxílico que se liga a íons metálicos e os carrega através da membrana celular (PRESSMAN, 1976).

A monensina tem um grupamento carboxílico exposto, devendo ser não-protonado com o propósito de favorecer seu movimento livremente através da membrana celular. A ligação seqüencial de íons metálicos e prótons permite a monensina agir como metal/próton antiporte. O grupamento carboxílico tem um pKa ligeiramente alcalino, sendo a monensina mais hábil em inibir bactérias quando o pH é ácido (CHOW; RUSSELL, 1990).

Alguns autores (CHALUPA et al. 1986; ZINN, 1989) citam que ionóforos e gorduras podem apresentar interações pelo fato de possuírem efeitos análogos no rúmen.

Mesmo atuando nas bactérias gram-positivas, algumas bactérias gram-negativas podem mudar suas propriedades metabólicas na presença de ionóforos (VAN NEVEL; DEMEYER, 1995).

Zinn e Borques (1992), avaliando a influência de bicarbonato de sódio e monensina na utilização de dietas com gordura, concluíram que o desempenho no crescimento de novilhos suplementados com monensina e bicarbonato, pode ser menor em dietas com alta energia e suplementação de gordura.

Lana e Russell (1996) observaram que a adição de óleo de milho à ração aumentou a resistência das bactérias ruminais à perda do potássio intracelular, quando foram submetidas a níveis crescentes de monensina e lasalocida em laboratório. Estes resultados, junto com a redução na relação acetato:propionato pelo óleo de milho, podem explicar a falta de efeito da monensina + tilosina no desempenho alimentar quando a dieta continha gordura.

Clary et al. (1993) verificaram que monensina mais tilosina ou 4% de gordura animal aumentaram a eficiência alimentar em 8%, mas não houve nenhum efeito adicional dos ionóforos quando a gordura já estava presente na ração.

Objetivando avaliar os efeitos de óleo de soja (500 ml/animal x dia), monensina (3 g/animal x dia) e níveis de concentrado (0, 25, 50, 75%) na dieta de bovinos, sobre parâmetros ruminais e consumo de matéria seca, Vargas et al. (2001) utilizaram quatro bovinos 7/8 holandês-zebu fistulados no rúmen e concluíram que o nível de concentrado afetou mais o consumo de matéria seca e os parâmetros ruminais que monensina e o óleo de soja; a monensina reduziu o consumo de matéria seca, à medida que aumentou o nível de concentrado e reduziu a relação acetato:propionato, independentemente do nível de concentrado.

Fellner et al. (1997) avaliaram o efeito de ionóforos sobre a biohidrogenação. Foram utilizados monensina, nigericina, tetronasina e valinomicina em experimento *in vitro*. Os ionóforos diminuíram a taxa de biohidrogenação do ácido linoléico, resultando em menor quantidade de ácido esteárico e maior taxa de ácido oléico.

Houve ainda aumento de ácido linoléico conjugado pelo aumento do isômero  $cis_9$ ,  $trans_{11}$   $C_{18:2}$ .

Jenkins, Fellner e McGuffey (2003) avaliaram a inclusão de monensina, de óleo de soja e dos dois juntos sobre a concentração de ácidos graxos *trans* em fermentadores, o que indicam o efeito destes dois aditivos sobre a biohidrogenação. A utilização de ambos aumentaram as concentrações de isômeros *trans*, mas a utilização destes em conjunto aumentou ainda mais a produção destes isômeros, sugerindo uma menor taxa de biohidrogenação.

Van Nevel e Demeyer (1995) avaliaram a influência de antibióticos e aditivos na atividade lipolítica e biohidrogenação "*in vitro*". As substâncias antimicrobianas reduziram a atividade lipolítica, entre eles, ionóforos e amoxicilina foram os mais potentes nesta inibição, mesmo sendo os ionóforos eficientes contra bactérias gram-positivas e as bactéria responsáveis pela lipólise serem gram-negativas. O decréscimo da lipólise influenciaria diretamente na hidrogenação dos ácidos graxos saturados, pois reduz a formação do grupo carboxila livre, necessário para o processo de hidrogenação.

Zinn (1989) avaliou as características ruminais e digestivas sob a suplementação de ionóforo, gordura e os dois em conjunto. Os tratamentos foram controle, com monensina, com gordura amarela, com monensina e gordura amarela. Não houve interação entre a monensina e a gordura para digestibilidade de MO, amido, FDA e nitrogênio. A gordura não afetou a digestão ruminal de amido, FDA e nitrogênio.

## **2.7 Efeito da Gordura em Relação aos Protozoários Ciliados**

Os protozoários ruminais estão presente na quantidade de  $10^5$  a  $10^6$  células/ml de conteúdo ruminal, perfazendo 40% do nitrogênio microbiano e até 60%

dos produtos de fermentação. A maior parte é ciliada e todos são anaeróbios estritos (YOKOYAMA; JONHSON, 1993). São divididos em dois grandes grupos: holotrichas e entodiniomorfos (WILLIAMS; COLEMAN, 1988; VAN SOEST, 1994).

A população *in vivo* de protozoários ciliados no rúmen é composta na maior parte por entodiniomorfos (OLIVEIRA et al. 1987; NOGUEIRA FILHO et al. 1993 a, b, 1998, 2000 a, b) sendo sua capacidade de digerir celulose maior em dietas contendo baixos teores de celulose digestível e menor em dietas a base de volumoso.

Embora apareça perfazendo parte significativa da população microbiana, e atue na fermentação de substratos, há controvérsias quanto a importância do protozoário para ruminantes. Trabalhos avaliando o desempenho de animais faunados e defaunados (com presença e ausência de protozoários) se contradizem (VAN SOEST, 1994). Uns afirmam que a presença de protozoários aumenta a digestibilidade e a velocidade de ganho de peso, mas outros demonstraram que a ausência de protozoários no rúmen não prejudica o desempenho animal, podendo até melhorá-lo em certas condições de alimentação, como dietas com altas quantidades de nitrogênio não protéico ou com alta energia. A presença de protozoários parece ser importante em proporcionar fermentação ruminal mais estável. De acordo com Van Soest (1994), a defaunação não afeta a digestão ruminal, mas influencia no balanço dos produtos de fermentação.

O aspecto mais importante com relação aos protozoários ruminais é o fato destes fagocitarem bactérias ruminais, utilizando-as como fonte protéica. Este fato pode causar diminuição da síntese de proteína bacteriana no rúmen e ainda o fluxo de nitrogênio bacteriano para o abomaso (VAN SOEST, 1994).



Por engolfarem partículas de alimentos e armazenarem polissacarídeos, os protozoários podem atuar como estabilizadores da fermentação, controlando os substratos disponíveis, permitindo uma fermentação mais uniforme entre as alimentações (YOKOYAMA; JONHSON, 1993). O engolfamento de amido e açúcares parece ter importância em moderar a acidose.

No rúmen encontram-se variadas espécies de protozoários, sendo que cada gênero tem uma especificidade por determinado substrato. Há evidências de contribuição dos protozoários na lise e hidrogenação de ácidos graxos no rúmen (YOKOYAMA; JONHSON, 1993).

De acordo com Bonhomme (1990) os ciliados participam na hidrólise de triglicerídeos, sendo que são responsáveis por 30 a 40 % da atividade lipolítica. Esse autor ainda mostra que os protozoários têm função ativa na hidrogenação dos ácidos graxos insaturados.

Segundo Williams e Coleman (1988) e Hartfoot e Hazlewood (1988) o papel dos protozoários na biohidrogenação ainda não é conclusivo, embora estes demonstrem capacidade de hidrogenação.

A utilização de óleo à dieta tem sido utilizada como técnica para promover defaunação de ruminantes (VAN DEVEL; DEMEYER, 1988; MACHAMÜLLER; KREUZER, 1999). A redução do número de protozoários pode ser um dos motivos para menor degradação da fibra quando adiciona lipídeo à dieta de ruminantes.

A inclusão de óleo à dieta de ruminantes eliminou totalmente os protozoários ciliados no estudo de Ikwuegbu e Sutton (1982) citados por Jenkins e Palmquist (1984).

Towne et al. (1990) estudaram os protozoários ruminais de animais confinados recebendo dieta com fontes de lipídeos. Esses autores citam que as

dietas concentradas utilizadas em confinamentos diminuem ou até reduzem completamente o número de protozoários, sendo os do gênero *Entodinium ssp* os que melhor sobrevivem a este meio. Foram realizados três experimentos onde as dietas continham de 8 a 10 % de volumoso. No primeiro utilizaram 84 novilhos e avaliaram duas dietas, uma controle e outra com adição de 4% de gordura amarela. O número de protozoários e o pH não foram influenciados pela adição de gordura. Dos animais utilizados, apenas dois foram defaunados e quatro (4,9%) não apresentavam *Entodinium*.

No segundo experimento foram utilizados 124 animais e avaliadas três dietas, sendo: controle, com adição de sebo e uma com adição de grão de soja. A adição de gordura diminuiu o número total de protozoários assim como o volume de células destes. Os treze animais que se apresentaram defaunados receberam uma das fontes de gordura. Vinte animais não apresentaram *Entodinium*.

No terceiro experimento foram utilizados 111 animais e avaliou-se quatro dietas, sendo: dieta com milho, dieta com milho e adição de gordura amarela, dieta com sorgo e dieta com sorgo e adição de gordura amarela. A adição de gordura não influenciou o número de protozoários ou distribuição de gêneros entre os novilhos em ambas dietas; 22% dos novilhos foram defaunados. Dezesete animais não possuíam *Entodinium*. Os autores não souberam explicar por que a gordura amarela não afetou o número de protozoários ciliados nos experimentos 1 e 3, se foi devido à composição da gordura ou se estava inter-relacionada à dieta basal. De acordo com revisão de literatura feita por esses autores, a suplementação de gordura pode ser prejudicial aos protozoários ciliados.

Ivan et al. (2001) avaliando o efeito de óleo de caroço de girassol sobre a população de protozoários no rúmen de carneiros, verificaram que o óleo reduziu

quase totalmente o número de protozoários, sendo os do gênero *Entodinium* os que permaneceram presentes no rúmen.

## **3 MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1 Local**

O estudo foi conduzido no Campus Administrativo de Pirassununga, estado de São Paulo, na Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, situado a 21°8" de latitude sul e 47°25'42" de longitude oeste, com altitude de 634 metros.

O clima da região é do tipo Cwa na classificação de Köeppen, sendo então subtropical com período seco bem definido, inverno seco e verão quente e chuvoso.

### **3.2 Animais e Instalações**

Foram utilizados quatro novilhos da raça Nelore, com cânulas ruminais, com peso médio de 502 ± 32 kg e idade aproximada de 36 meses, que permaneceram em baias com piso cimentado, sendo a contenção feita por cabresto e correntes, com bebedouros automáticos e cochos de alvenaria.

Os animais foram mantidos separados e a alimentação fornecida individualmente.



Figura 1 – Animais bovinos fistulados no rúmen

### 3.3 Alimentos e Alimentação

Os animais foram arraçoados com dieta total, com cana-de-açúcar picada como volumoso e quatro concentrados diferentes. A proporção volumoso:concentrado com base na matéria seca foi de 19:81, respectivamente.

No período de adaptação, a ração foi fornecida diariamente às 8:00 e às 16:00 em quantidade de matéria seca equivalente a 2% do peso vivo. As sobras foram retiradas e pesadas diariamente antes da primeira alimentação. No período de colheita, a dieta fornecida correspondeu a 90% da ingestão média dos animais, de forma que não houvesse sobras.

A cada 15 dias foi retirada uma amostra de aproximadamente 500 g de cana-de-açúcar para determinação da porcentagem da MS e correção da proporção volumoso:concentrado das dietas.

A água e uma mistura mineral foram oferecidas “*ad libitum*”.

Os concentrados utilizados foram:

- Três rações com monensina,
  - CRTL: Controle sem adição de gordura;
  - SC: Com sal de cálcio de ácidos graxos;
  - CA: com de caroço de algodão
- Uma ração sem monensina,
  - CASM: com caroço de algodão

As composições percentuais e químicas das dietas estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Composição percentual e química<sup>1</sup> das dietas.

INGREDIENTES	Tratamentos (%MS) <sup>2</sup>			
	CRTL	SC	CA	CASM
Milho grão	29.362	26.538	21.178	21.178
Polpa de citrus	37.188	33.612	26.822	26.822
Farelo de soja 49%	12.500	14.000	9.000	9.000
Uréia	0.950	0.850	0.500	0.500
Sal Mineral	1.000	1.000	1.000	1.000
Calcáreo	-	-	1.500	1.500
Caroço de algodão	-	-	21.000	21.000
LAC100	-	5.000	-	-
Monensina	0.0270	0.027	0.027	-
Cana-de-Açúcar	19.000	19.000	19.000	19.000
TOTAL	100.00	100.00	100.00	100.00
<b>NUTRIENTES</b>				
Matéria Seca	63.25	63.46	63.56	63.54
Proteína Bruta	16.42	17.02	15.65	14.81
Extrato Etéreo	4.93	9.58	9.12	7.79
Fibra em D. Neutro	22.69	22	30.81	28.52
Fibra em D. Ácido	22.18	19.65	25.42	20.85
Cálcio	0.89	1.32	1.22	1.22
Fósforo	0.30	0.30	0.32	0.32
Potássio	0.91	0.91	1.00	1.00

<sup>1</sup>Composição química avaliada.<sup>2</sup> CTRL – Tratamento Controle; SC – Tratamento com Sal de Cálcio de Ácido Graxo; CA – Tratamento com Caroço de Algodão; CASM – Tratamento com Caroço de Algodão sem Monensina.

O EE do tratamento controle apresentou níveis mais altos que os encontrados na literatura para dietas base para ruminantes, que seria em torno de 3 a 4 % da MS. Provavelmente este valor deve ser devido ao farelo de soja e milho, utilizados na formulação.

Para o cálculo das exigências nutricionais foi utilizado o Cornell Net Carbohydrate and Protein System – CNCPS (FOX, et al. 1992) de modo a atender às exigências de proteína degradável no rúmen e proteína metabolizável, bem como as exigências de peptídeos pelas bactérias ruminais.

Os animais foram alocados em um delineamento estatístico Quadrado Latino 4 x 4. Cada período experimental foi subdividido em dezesseis dias de adaptação e seis dias de degradabilidade, perfazendo um total de 22 dias por período experimental.

Os parâmetros analisados foram: degradabilidade ruminal “*in situ*”, fermentação ruminal (pH, produção de amônia ruminal, produção de ácidos graxos voláteis (AGV)), cinética ruminal (taxa de passagem líquida, “turnover” e volume ruminal) e contagem de protozoários ciliados.

### **3.4 Degradabilidade Ruminal**

A degradabilidade ruminal “*in situ*” foi realizada utilizando técnica de acordo com Orskov e McDonald (1979) utilizando sacos de náilon da marca Ankon (Ankon Technology) medindo 7x14 cm e poros de 50 micrômetros.





**Figura 2 – Sacos de náilon, vazio e fechado com amostra antes da incubação**

Os sacos de náilon foram pesados individualmente e foram adicionadas amostras de cana-de-açúcar ou dieta total com aproximadamente 5 e 6 gramas (0,05g e 0,06g de amostra por  $\text{cm}^2$  do saco de náilon) secas a  $65^\circ\text{C}$  por 48 horas e moídas em moinho com peneira de 2mm. Foram atados mosquetões de aço aos sacos de náilon e estes foram fechados com elásticos de látex.



**Figura 3 – Sacos de náilon em estufa a 65°C**

O período de incubação foi de 3, 6, 12, 24, 48, 72 e 96 horas após a alimentação dos animais no décimo sétimo dia do período experimental.

Após a retirada dos sacos de náilon do rúmen, estes foram lavados em água corrente com balde, até que a água se apresentasse clara. Então foram secos em estufa a 65°C por 48 horas.

No tempo zero, ou seja, antes da alimentação, os sacos de náilon foram mergulhados em água aquecida a 39°C por 15 minutos conforme técnica descrita por Cummins et al. (1983).

Após a secagem, os sacos foram pesados e as amostras armazenadas em potes plásticos identificados para posterior análise de MS, PB, FDA, FDN e EE.

O percentual de degradabilidade de matéria seca foi calculado pela fórmula:

$$DMS\% = \left(1 - \frac{SPI - SV}{SAI - SV}\right) \times 100$$

Onde:

DMS% = percentual de degradabilidade da MS;

SPI = peso do saco após a incubação ruminal;

SAI = peso do saco antes da incubação ruminal;

SV = peso do saco vazio.

O cálculo do percentual de degradabilidade de cada nutriente foi calculado através da fórmula acima, sendo as diferenças (SPI-SV) e (SAI-SV) multiplicadas pelas respectivas porcentagens de cada nutriente.

Os dados de degradabilidade foram ajustados pelo modelo de Orskov e McDonald (1979), conforme equação:

$$p = a + b(1 - e^{-ct})$$

Onde:

p = é a quantidade degradada no tempo "t";

a = é a interseção da curva no tempo zero, a fração rapidamente solúvel;

b = é a fração potencialmente degradável, a fração degradada no tempo;

c = é a taxa horária de degradação da fração potencialmente degradável;

e = o log natural de "-ct".

t = tempo

As constantes a, b e c foram utilizadas para cálculos da degradabilidade potencial e degradabilidade efetiva conforme equação de Orskov, Hoevell e Mould. (1980):

$$p = a + \frac{b \times c}{c + k}$$

Onde:

p = representa a taxa de degradabilidade efetiva;

a = é a interseção da curva no tempo zero, a fração rapidamente solúvel;

b = é a fração potencialmente degradável, a fração degradada no tempo;

c = é a taxa horária de degradação da fração potencialmente degradável;

k = é a taxa de saída do rúmem por hora.

Orskov, Hoevell e Mould. (1980) relatam que k pode variar de 0,01 a 0,1. A.F.R.C. (1992) recomenda taxa de 0,05/h para gado de corte recebendo alto nível de dietas mistas (menos que duas vezes a manutenção).

### **3.5 Análises bromatológicas**

As análises de MS, PB, FDA, FDN e EE foram realizadas segundo metodologia de ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTIS (A.O.A.C.) (1990).

### 3.6 Amostragem

As amostragens de líquido ruminal foram realizadas no vigésimo primeiro e vigésimo segundo dias de cada período experimental.

O líquido ruminal foi colhido através de bomba de vácuo e captado em kitassato. Foi colhida amostra de aproximadamente 100 ml.

As colheitas foram realizadas às 0; 2; 4; 6 e 8 horas após alimentação para análises de AGV, protozoários e N-NH<sub>3</sub> e às 0; 1,5; 3; 6; 12 e 24 horas para análise de volume, taxa de passagem líquida e turnover ruminal.



Figura 4 – Colheita de líquido ruminal



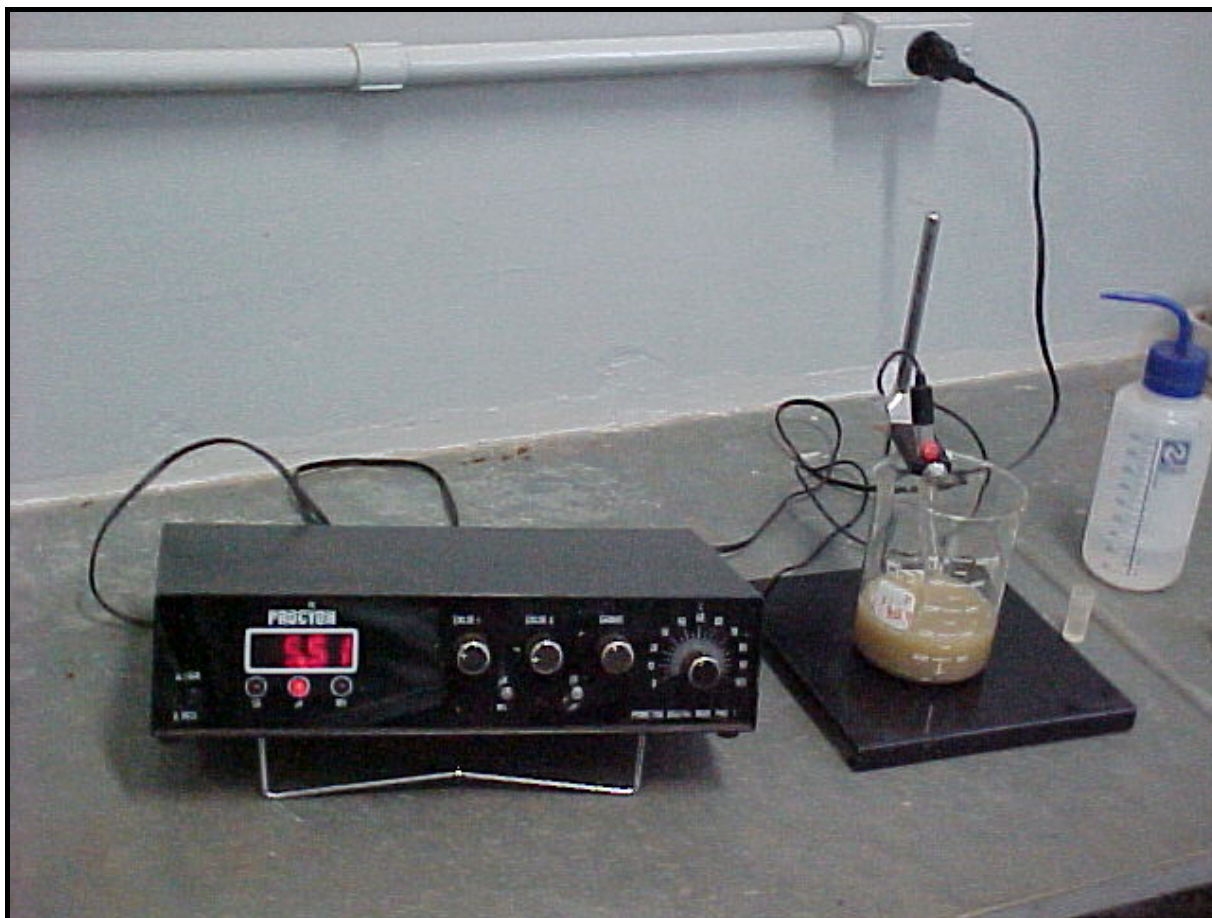
Figura 5 – Frascos de vidro contendo líquido ruminal

### 3.7 Fermentação Ruminal

A fermentação ruminal foi mensurada pela análise de pH, concentração de N-NH<sub>3</sub> e ácidos graxos voláteis.

#### 3.7.1 pH Ruminal

A determinação do pH do líquido ruminal foi feita logo após a colheita, através de peagômetro de mesa calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e pH 7,0.



**Figura 6 – Mensuração de pH**

### *3.7.2 Ácidos Graxos Voláteis*

Uma parcela de 2,0 ml do fluido colhido foi adicionada a 0,4 ml de ácido fórmico e então congelada a  $-20^{\circ}\text{C}$  para posterior análise qualitativa e quantitativa de ácidos graxos voláteis segundo método adaptado de Erwin et al. (1961), utilizando cromatografia gasosa.

As amostras foram descongeladas a temperatura ambiente, e posteriormente sofreram três centrifugações. A primeira com 15 minutos a  $4^{\circ}\text{C}$  e 3.500 rpm; as outras duas duraram 15 minutos a  $4^{\circ}\text{C}$  e 15.000 rpm. Por apresentarem turvas, as amostras foram filtradas em filtro de acetato celulose regenerado com  $0,45\ \mu\text{m}$  e 3,0 cm de diâmetro.

O cromatógrafo utilizado foi a gás (Modelo 9001 Gas Chromatograph, Marca Finnigan) com coluna de vidro de 30 metros de comprimento x 0,53 mm OV 351, 1,0 micron. Os gases utilizados foram o nitrogênio, como gás de arraste com 6psi de pressão na cabeça, oxigênio como gás comburente na vazão de 175 mL/minuto, e hidrogênio, como gás combustível na vazão de 15 mL/minuto. As temperaturas utilizadas para operação foram: do injetor a 220°C, da coluna a 80°C inicial seguida de uma rampa aumentando 15°C /minuto até atingir 200°C, e do detetor de ionização de chama 260°C.

Soluções padrões a 0,1 N de ácido acético, propiônico e butírico, foram preparadas e padronizadas com hidróxido de potássio K OH 0,1 N, afim de produzir solução padrão de ácidos graxos voláteis de concentração conhecida.

As determinações foram realizadas injetando-se 01 microlitro de amostra centrifugada e filtrada em cromatógrafo, integrado a um computador, que processava os cálculos de quantificação, utilizando-se do software BORWIN versão 1.21 para cromatografia.

Foram mensurados os ácidos graxos propiônico, acético e butírico, assim como a taxa de acético:butírico e a quantidade total de ácidos graxos voláteis.

Soluções padrões a 0,1N de ácido acético, propiônico e butírico, foram preparadas e padronizadas com hidróxido de potássio KOH a 0,1N.

### *3.7.3 Amônia Ruminal*

Uma alíquota de 2,0 ml de fluído ruminal foi adicionada em recipiente contendo 1,0 ml de ácido sulfúrico 1N. As amostras foram então congeladas e armazenadas para posterior determinação da amônia ruminal. A determinação do nitrogênio amoniacal foi realizada por colorimetria, pelo método de Weatherburn (1967).



Para a desproteinização das amostras, foi adicionada 1 ml de tungstato de sódio 10% aos tubos contendo amostra fixada, centrifugando a 3.000 rpm por 15 minutos. Após, 25 microlitros dos sobrenadantes foram colocados em tubos de ensaio, e acrescentava-se de 5 ml de reagente fenol (50 mg de nitroprussiato de sódio e 10 g de cristais de fenol diluídos em 1 litro de água destilada) e 5 ml de reagente hipoclorito de sódio (10 g de hidróxido de sódio, 21,3 g de fosfato de sódio dibásico anidro e 25 ml de solução de hipoclorito de sódio 5% diluídos em 1 litro de água destilada). Os tubos foram arrolhados, agitados, e mantidos em banho-maria a 37°C por 15 minutos. Foram feitas as leituras de absorbância através do espectrofotômetro (marca Beijing Rayleigh AIC modelo VIS-7220) regulado em 630 nm, cujo valores foram utilizados para calcular as concentrações de nitrogênio amoniacal em mg/100 ml de líquido ruminal, através de equação de regressão linear obtida a partir de uma curva de calibração do aparelho com diferentes concentrações de solução padrão. Admitiu-se um  $R^2$  mínimo de 0,99 para esta curva. O aparelho foi zerado com um branco contendo soluções de tungstato de sódio 10%, solução de  $H_2SO_4$  1 N e água destilada, diluídos em reagente fenol e hipoclorito nas proporções para análise.

### **3.8 Cinética Ruminal**

A cinética ruminal foi avaliada através da taxa de passagem líquida, “turnover” e volume ruminal.

Para determinação do volume ruminal, fluxo líquido por kg de MS consumida por hora (“turnover”) e taxa de passagem líquida foi aplicada técnica de Hyden (1959) utilizando como marcador de fase líquida, o polietilenoglicol (Carbowax F-4.000, marca Synth) com peso molecular 4.000 (PEG-4.000F).

Quantidade de 300 mg de PEG foi diluída em 500 mL de água e foi adicionada diretamente no rúmen antes da alimentação. A primeira amostragem foi realizada antes da adição do marcador.

Alíquotas de aproximadamente 50 mL de fluido ruminal foram armazenadas em frascos de vidro e congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$  para posterior análise do marcador.

As amostras foram descongeladas a temperatura ambiente para se proceder as análises. As amostras foram centrifugadas a 3.500 rpm por 10 minutos e uma alíquota de 2 mL foram adicionados a 10 mL de água destilada com adição de 1 mL de cloreto de bário, 10%; 2 mL de hidróxido de bário 0,3 N; e 2 mL de sulfato de zinco, 5%, misturados. As amostras ficavam em repouso por 5 minutos e então foram centrifugadas a 3.500 rpm por 10 minutos. Posteriormente eram adicionados 10 mL de água destilada, 1 mL de cloreto de bário 10%, 2 mL de hidróxido de bário 0,3 N e 2 mL de sulfato de zinco 05 para desproteinização. Procedeu-se a turvação do PEG, através da adição de 5 mL de solução combinada de ácido tricloroacético 30%, mais cloreto de bário 5% ao sobrenadante diluído em diferentes proporções com água destilada, de acordo com a hora de colheita. Após 5 minutos procedeu-se as leituras de absorvância em espectrofotômetro, ajustado para um comprimento de onda igual a 500 nm zerando o aparelho com água destilada. Os valores de absorvância, corrigidos para as diluições, foram utilizados para calcular as concentrações de PEG em mg/ml, através de equação de regressão linear obtidos a partir da calibração do aparelho com diferentes concentrações de solução padrão. Admitiu-se um  $R^2$  mínimo de 0,99 para a curva padrão.

A taxa de passagem de líquidos ou taxa eferente de fluxo, em porcentagem por hora, foi calculada através da regressão linear do logaritmo natural da concentração do PEG 4.000 em função do tempo. O volume de líquido ruminal, em

litros, estimado através da extrapolação da concentração inicial (zero hora) e a dosagem do marcador (300g/animal). Estes dados foram ainda utilizados para calcular o fluxo líquido por hora (L/h) e o fluxo líquido por kg de MS consumida por hora (L/kg MS/h).

### **3.9 Protozoários Ciliados**

Uma alíquota de 10 mL de líquido ruminal foi transferida para frascos de vidro com 10mL de formaldeído a 37%. As amostras permaneceram em repouso até o momento das determinações que foram executadas consoante metodologia de Dehority (1977) para determinação das curvas de aparecimento dos gêneros de ciliados, utilizando câmara de contagem de Sedgwick-Rafter com capacidade de 1mL. Utilizou-se microscópio ótico comum provido de retículo com área de 0,4362 mm<sup>2</sup>.

### **3.10 Análises Estatísticas**

O delineamento experimental utilizado foi quadrado latino (4 x 4), com 4 tratamentos e 4 períodos, onde cada animal recebeu um tratamento em cada período. A distribuição dos tratamentos durante os períodos experimentais estão na Tabela 2.

**Tabela 2 – Distribuição dos tratamentos<sup>1</sup> nos períodos experimentais**

Animal	Períodos			
	1	2	3	4
2071	CRTL	SC	CA	CASM
2166	SC	CRTL	CASM	CA
2031	CA	CASM	SC	CRTL
2034	CASM	CA	CRTL	SC

<sup>1</sup> CTRL – Tratamento Controle; SC – Tratamento com Sal de Cálcio de Ácido Graxo; CA – Tratamento com Caroço de Algodão; CASM – Tratamento com Caroço de Algodão sem Monensina.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando programa MIXED do software “Statistical Analysis System” (SAS Int. Inc. 1985).

Foram analisados efeitos de tratamentos, de tempo e a interação de tempo x tratamento. As características avaliadas em diferentes tempos foram analisadas como medidas repetidas.

Foram avaliados somente efeitos de primeiro e segundo grau (linear e quadrático) nas características avaliadas no tempo.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias dos parâmetros avaliados com os respectivos coeficientes de variação estão na Tabela 3.

As equações e o coeficiente de determinação dos gráficos estão em ANEXO A.

### 4.1 Degradabilidade

Foi avaliada a degradabilidade da MS, FDN e FDA da cana de açúcar com a intenção de averiguar o efeito das fontes de gordura na degradabilidade da fibra do volumoso, e se houve efeito associativo entre gordura e monensina. Também foi avaliada a degradabilidade da MS, PB e EE da dieta total com intuito de se estudar o efeito da gordura na degradação protéica e a influência das fontes e da monensina na taxa de degradação lipídica da dieta.

#### 4.1.1 Cana-de-açúcar

As fontes de gordura utilizadas não apresentaram efeito sobre a degradação da MS da cana de açúcar, assim como a monensina não influenciou nessa degradação ( $p=0,2084$ ). A curva de degradação média da MS apresentou efeito

linear ( $p < 0,001$ ), diferente do esperado, que seria uma curva quadrática com estabilização na degradabilidade por volta do tempo 48 horas. A curva de degradabilidade encontra-se na Figura 7.

A degradação de FDN apresentou interação tempo x tratamento ( $p = 0,0528$ ). Os dados dessa interação estão expressos na Figura 8. As dietas CRTL e CASM, e as dietas SC e CA, não diferiram estatisticamente em nenhum horário ( $p > 0,10$ ), sendo as primeiras as que apresentaram as maiores taxas de degradação de FDN.

A degradação de FDA também apresentou interação tempo x tratamento ( $p = 0,0613$ ), sendo os dados apresentados na Figura 9.

Na degradação do FDA, o tratamento CA obteve maior valor que os demais no tempo 6 horas ( $p < 0,05$ ), já no tempo 12 horas o tratamento CA foi maior que o SC ( $p = 0,0305$ ) e que o CRTL ( $p = 0,0117$ ). No horário 24 horas houve diferença estatística apenas entre as dietas CA, maior, e CRTL ( $p = 0,0608$ ). No horário 96 horas, o tratamento SC obteve maior degradação que os tratamentos CA ( $p = 0,0728$ ) e CASM ( $p = 0,0163$ ).

Os dados sugerem que as fontes de gordura utilizadas não influenciaram a degradação da MS do volumoso em dietas contendo alto teor de concentrado, e que a monensina não interagiu com a gordura.

**Tabela 3 – Médias e coeficientes de variação (C.V.) dos parâmetros avaliados**

Degradabilidade da Cana de Açúcar (%)		
	Média	C.V.
MS	59,64	9,13
FDN	44,49	17,78
FDA	36,55	14,09
Degradabilidade da Dieta Total (%)		
MS	73,28	16,34
PB	73,68	18,76
EE	86,80	12,21
Cinética Ruminal		
Volume Ruminal (litros)	38,77	9,68
Turnover Ruminal (L/kgMS x h)	2,17	0,89
Taxa de Passagem Líquida (L/h)	8,26	2,60
Fermentação Ruminal		
pH	6,39	0,29
N-NH <sub>3</sub> (mg/ dec N)	15,68	10,53
AGV total (mM)	76,10	24,45
Ácido Acético	62,36	18,64
Ácido Propiônico	23,71	14,71
Ácido Butírico	13,92	5,85
Taxa acético:propiônico	3,32	1,34
Protozoários Ciliados (x10 <sup>4</sup> /ml)		
Entodinium	29,44	1,57
Diplodinium	0,79	0
Epidinium	0,46	0
Isotricha	1,31	0,90
Dasytricha	2,18	0
Eudiplodinium	2,89	0,18
Ostracodinium	0,47	0
Total	37,55	1,93

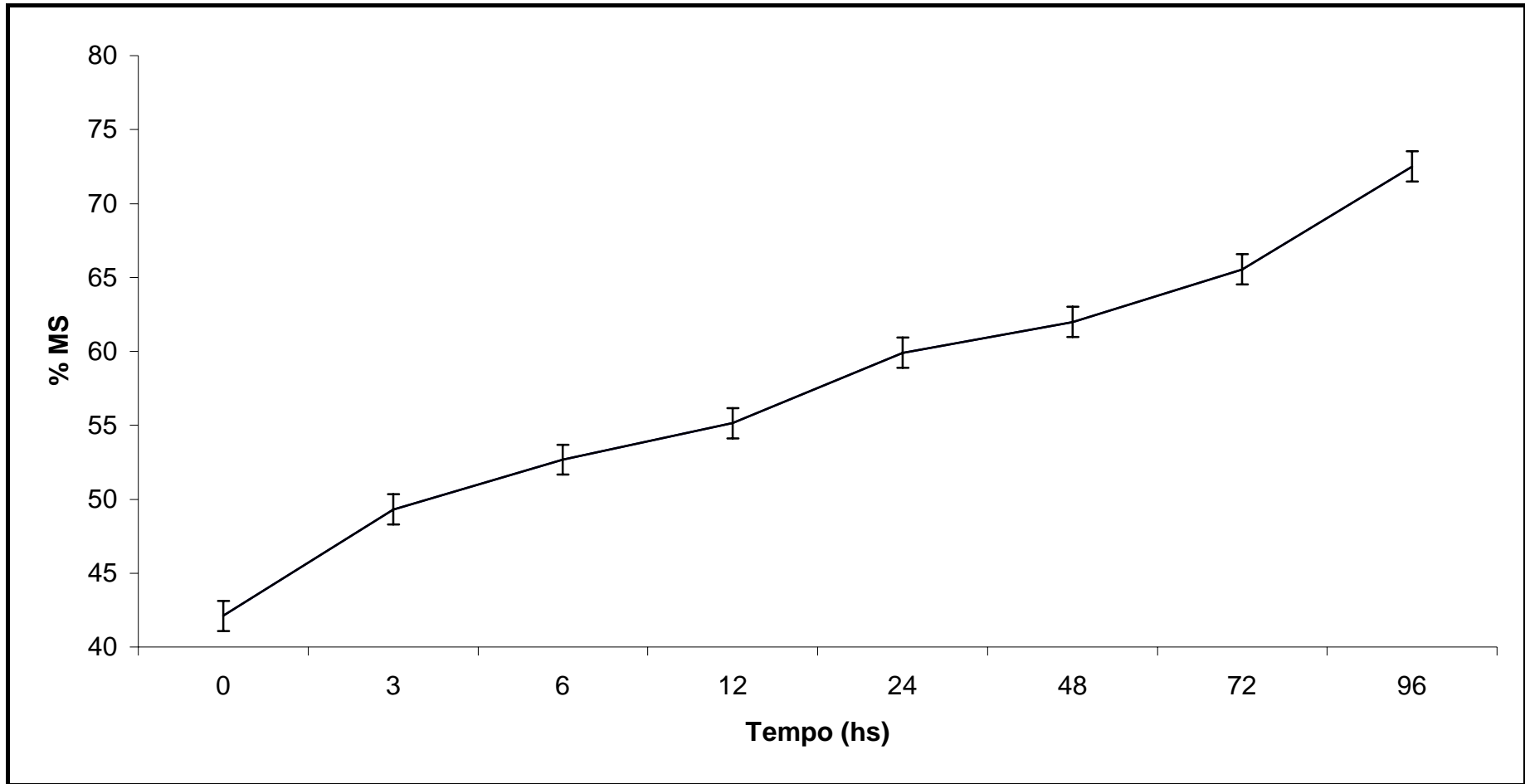


Figura 7 – Curva média de degradação da MS da cana-de-açúcar em bovinos Nelore recebendo diferentes fontes de gordura, com ou sem monensina



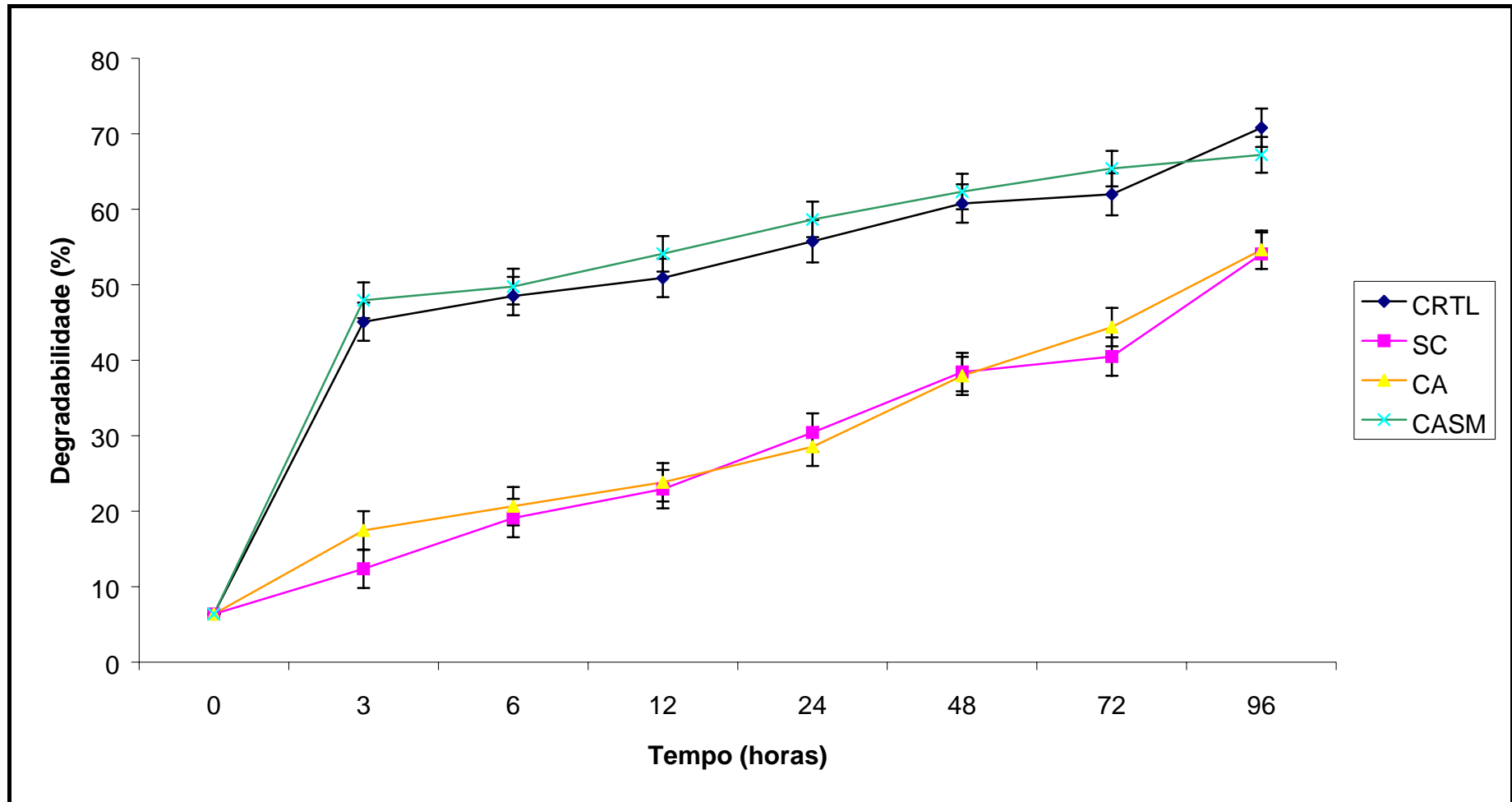


Figura 8 – Curvas de degradação da FDN da cana-de-açúcar em bovinos Nelore recebendo diferentes fontes de gordura, com ou sem monensina

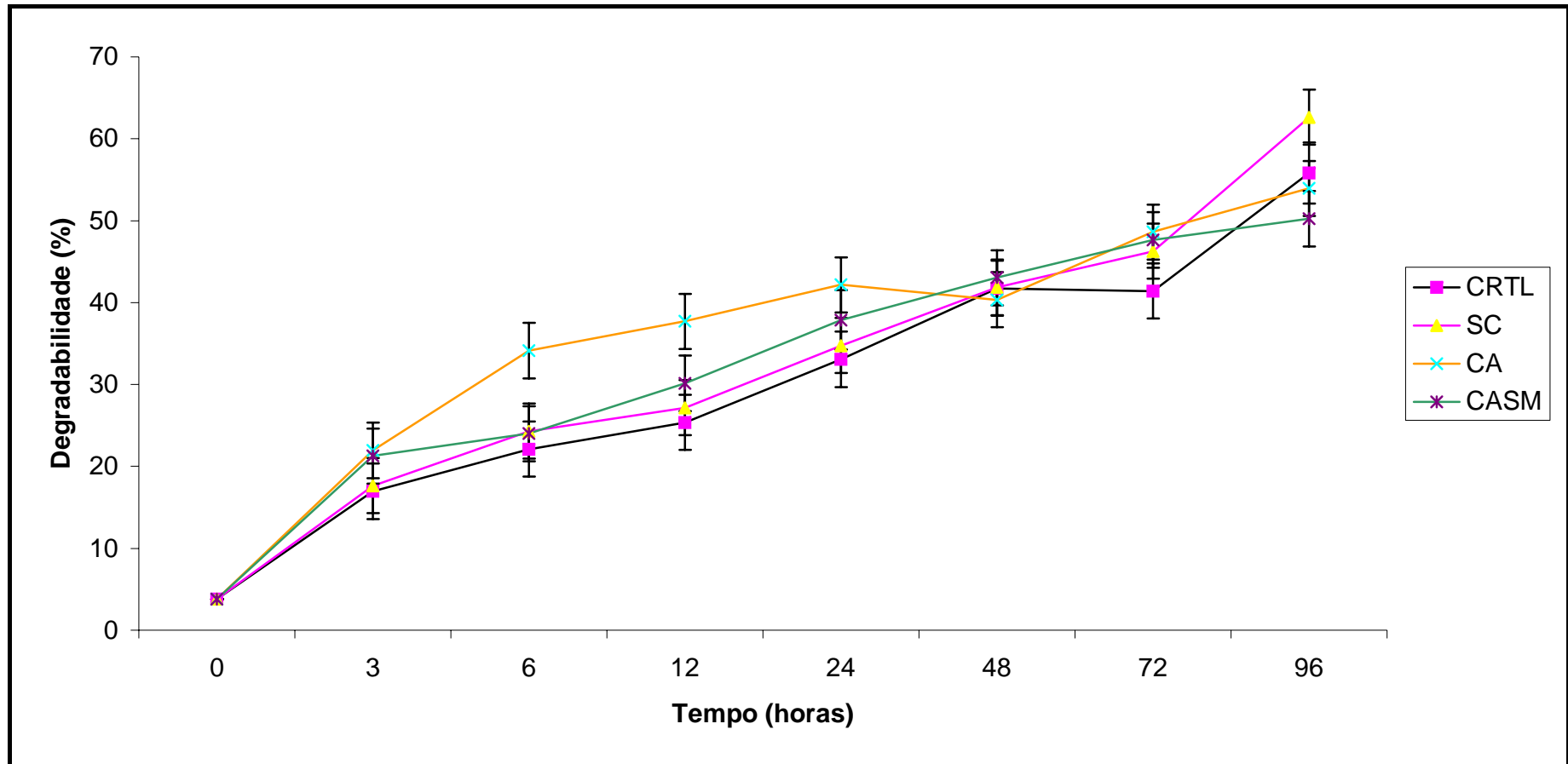


Figura 9 – Curvas de degradação da FDA da cana-de-açúcar em bovinos Nelore recebendo diferentes fontes de gordura, com ou sem monensina

As dietas controle e a sem monensina obtiveram maior degradação do FDN o que sugere que o sal de cálcio de ácidos graxos não foi completamente inerte no ambiente ruminal, proporcionando liberação de gordura o que pode afetar na degradação da fibra. Esperava-se que a monensina afetasse a biohidrogenação da gordura do tratamento CA permitindo que houvesse maior quantidade de ácidos graxos insaturados no ambiente ruminal, o que afetaria a degradação fibrolítica naquele tratamento, mas a taxa de degradação de FDN do tratamento CASM deveria ter sido igualmente afetada, o que não ocorreu. Por outro lado, a monensina, assim como a gordura, é deletéria a bactérias gram-positivas, principais responsáveis pela degradação da fibra, talvez tenha ocorrido efeito associativo entre os dois aditivos sobre esses microrganismos, afetando a degradação da FDN.

O tratamento CA apresentou taxa de degradação de FDA maior no início das medidas de degradabilidade e o tratamento contendo SC apresentou maior degradação no último período. As dietas com caroço de algodão apresentaram maiores taxas de degradabilidade até o tempo 48 horas. De forma geral as fontes de gordura não influenciaram na degradação da porção mais indigestível de fibra, sendo que a monensina não interferiu na ação da gordura. Ruy et al (1996) citaram que o caroço de algodão proporcionou ambiente mais propício para degradação de fibras mais insolúveis.

As curvas de degradação da cana-de-açúcar não apresentaram comportamento regular, havendo variações não esperadas no decorrer dos tempos. Em virtude dessas variações, não foi possível calcular as degradabilidades efetiva e potencial. Não foram encontradas justificativas para tais variações. Talvez uma possível liberação heterogênea da gordura do caroço de algodão favoreça alterações heterogêneas na degradação do alimento, principalmente da fibra. Neste

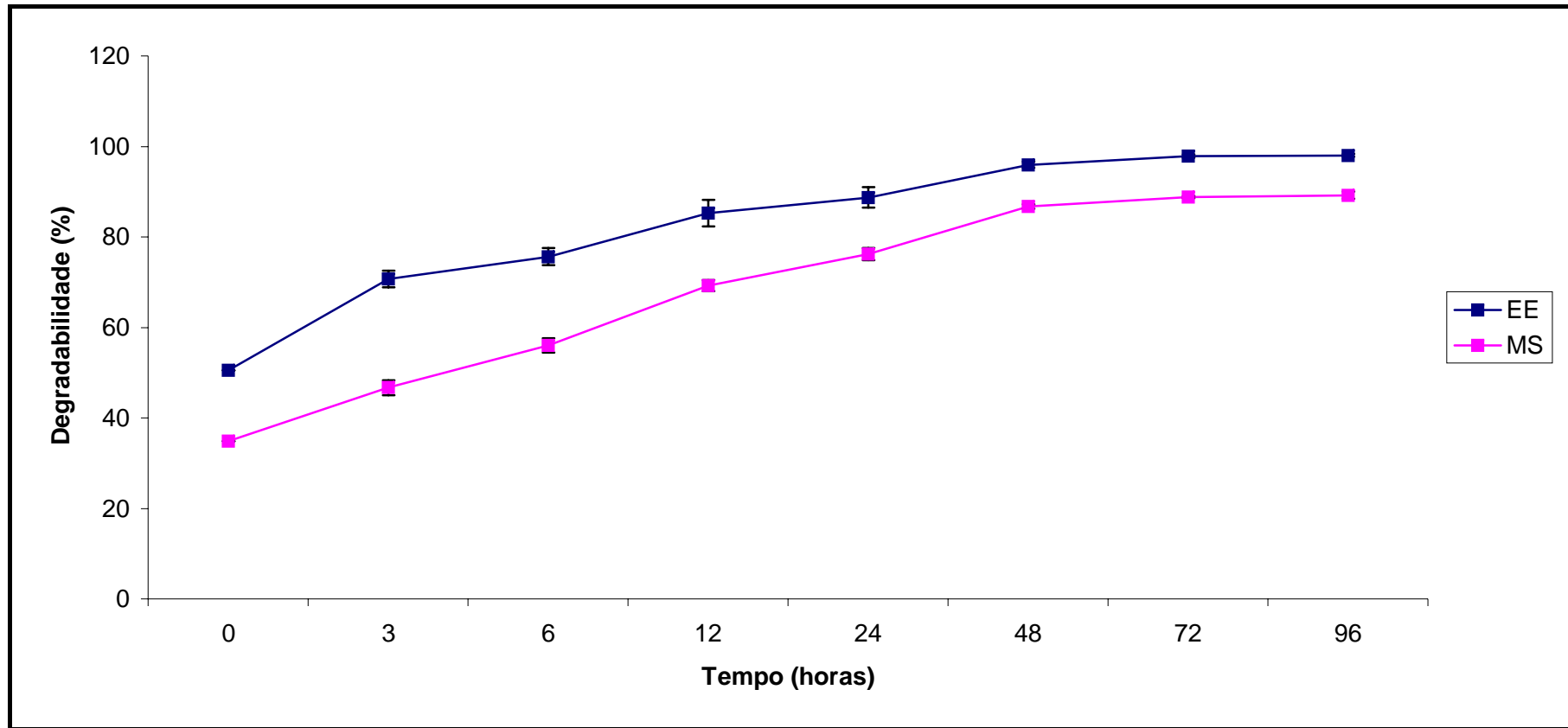
trabalho a proporção de concentrado em relação ao volumoso foi alta (81:21), o que favorece a proliferação de bactérias gram-negativas. As gram-positivas são as mais afetadas pela gordura e pela monensina. Então quando associado a alto teor de concentrado na dieta e picos de liberação de gordura pelo caroço de algodão, e talvez da dissociação do sal de cálcio em momentos de pH baixos, pode-se ter curvas de degradação da fibra com diferentes inclinações ao longo do período de incubação.

#### *4.1.2 Dieta Total*

Não houve diferença estatística significativa para degradabilidade da MS da dieta total ( $p=0,8266$ ). A curva da taxa de desaparecimento de MS apresentou efeito quadrático ( $p<0,01$ ), e está apresentada na Figura 10. A curva mostra um crescente aumento da degradação até 48 horas, onde inicia uma estabilização.

Quanto à degradação de EE, não houve diferença entre os tratamentos avaliados ( $p=0,1873$ ). A curva referente à degradação de EE apresentou efeito quadrático ( $p<0,01$ ) e está representada na Figura 10. Há um aumento da degradabilidade do EE até o horário 48 horas, onde se verifica estabilização da degradação.

Houve interação entre tempo e tratamento ( $p<0,01$ ) para a degradabilidade da PB da dieta total. As curvas de desaparecimento da PB para as diferentes dietas estão representadas na Figura 11.



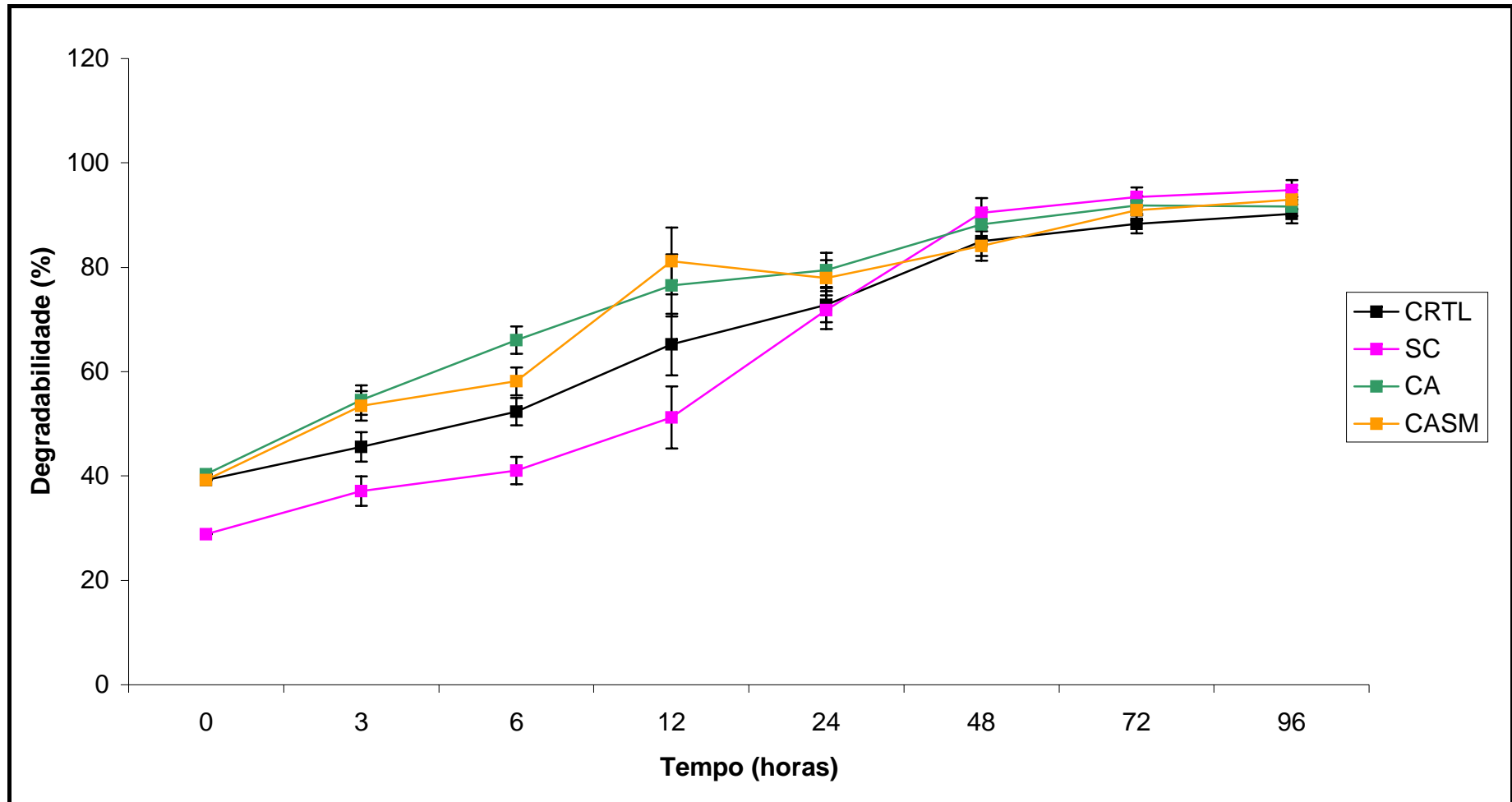
**Figura 10** – Curvas médias de degradação da MS e EE da dieta total em bovinos Nelore recebendo diferentes fontes de gordura, com ou sem monensina

No tempo 3 horas apenas não houve diferença significativa entre as dietas contendo caroço de algodão ( $p=0,7775$ ), que apresentaram maiores valores, para degradação da PB. No tempo 6 horas não houve diferença apenas entre as rações CTRL e CASM ( $p=0,1241$ ). No tempo 12 horas houve diferença estatística significativa entre as dietas: SC e CA ( $p=0,0036$ ); SC e CASM ( $p=0,0010$ ) e entre as dietas CTRL e CASM ( $p=0,0696$ ). O tratamento SC apresentou menor valor, seguido dos tratamentos CA, CTRL e CASM, respectivamente neste horário.

A partir de 24 horas de incubação, não houveram diferenças estatísticas entre os tratamentos.

As dietas contendo caroço de algodão obtiveram inicialmente maiores taxas de degradação, talvez pelo fato de que o caroço de algodão possui maior parte da sua proteína na forma solúvel (ESEQUIEL, 2001). A estabilização da degradação protéica a partir das 48 horas de incubação, sendo que nas últimas horas praticamente não houveram diferenças nas degradações são resultados que refletem a rápida fermentação protéica.

Os dados anteriores mostram que tanto a suplementação de gordura pelas fontes utilizadas, ou monensina junto a gordura, não afetou a degradabilidade da MS das dietas com alto concentrado. Por não apresentar diferenças nas taxas de degradação do EE, sugere-se que a monensina não afetou a biohidrogenação da gordura, não apresentando também nenhum efeito associativo a esta.



**Figura 11** – Curvas de degradação da PB da dieta total em bovinos Nelore recebendo diferentes fontes de gordura, com ou sem monensina

O sal de cálcio de ácidos graxos promoveram leve aumento na digestão ruminal da MS e da fibra quando comparada a ração controle, em estudo realizado por Jenkins e Palmquist (1984).

Zinn e Borques (1993) avaliaram a adição de monensina e de bicarbonato de sódio em dietas contendo 7,4% de extrato etéreo para novilhos em confinamento. A adição de monensina diminuiu a digestão ruminal da matéria orgânica, correlacionada com tendência para diminuição da digestão ruminal da FDA e nitrogênio.

Palmquist et al., (1993) utilizaram sal de cálcio de ácidos graxos e sebo na proporção 1:1, na quantidade 5% da MS. A suplementação de lipídeo não influenciou a degradação ruminal da proteína bruta.

A suplementação de lipídeos por caroço de algodão não afetou a degradação da dieta. Pelo fato de possuir um revestimento composto na maior percentagem por fibra, e pelo fato de possuir línter, o caroço de algodão parece proporcionar lenta liberação da gordura presente na sua composição. Esta liberação proporciona pequena quantidade de lipídeos no ambiente ruminal, o que pode ocasionar uma rápida biohidrogenação evitando assim que acumule ácidos graxos insaturados, evitando que haja prejuízo na degradação ruminal, principalmente da fibra dietética, além da quantidade não ser suficiente para aderir à partícula do alimento, ocasionando impedimento físico aos microrganismos e às enzimas microbianas.

A monensina parece atuar prejudicando a proliferação de microrganismos lipolíticos (Van Nevel e Demeyer, 1995), o que pode causar diminuição da biohidrogenação ruminal, por conseguinte aumento na quantidade de ácidos graxos



insaturados no rúmen, o que poderia prejudicar a degradação ruminal, como citado a cima. Talvez a quantidade de gordura liberada pelo caroço de algodão seja suficientemente pequena para que este efeito do ionóforo sobre as bactérias não afete a hidrogenação.

Os dados de degradabilidade sugerem que o caroço de algodão, assim como o sal de cálcio de ácidos graxos, foram fontes de gordura eficientes para os bovinos desse experimento, pois não afetaram as degradações de MS dos alimentos, PB e EE da dieta total. As diferenças encontradas entre os tratamentos para as degradações das porções fibrosas do volumoso são de difícil explicação, já que a MS não foi afetada.

As gorduras são tóxicas principalmente às bactérias gram-positivas, responsáveis pela degradação fibrolítica. As dietas utilizadas foram com alto teor de concentrado o que favorece aumento no número de gram-negativas, podendo ser um dos motivos para a possível falta de efeito da gordura nos microrganismos ruminais, e assim, na degradação da dieta.

#### **4.2 Cinética Ruminal**

A avaliação da cinética ruminal foi estabelecida pelo volume ruminal, taxa de passagem líquida e “turnover” ruminal.

O volume ruminal e a taxa de passagem líquida não sofreram influência das dietas utilizadas ( $p=0,1539$ ;  $p=74,82$ ). Em relação ao turnover ruminal, observou-se diferenças estatísticas entre o tratamento contendo caroço de algodão e monensina ( $p=0,0691$ ). quando cotejado aos demais tratamentos, revelando maior valor (3,27).

Os dados de volume ruminal, taxa de passagem líquida e turnover estão na Tabela 4.

**Tabela 4 – Volume Ruminal, Taxa de Passagem Líquida e Turnover de novilhos Nelore alimentados com dietas com diferentes fontes de gordura, com ou sem monensina**

Parâmetros	Tratamentos <sup>1</sup>				
	CTRL	SC	CA	CASM	P
Volume Ruminal (litros)	40,3275	37,8650	35,3250	41,5775	0,7482
Taxa de Passagem Líquida (L/h)	6,9525	6,6875	10,4950	8,9000	0,1539
Turnover (L/kg MS/h) <sup>2</sup>	1,6725a	1,6050a	3,2675b	2,1350a	0,0691

<sup>1</sup> CTRL – Tratamento Controle; SC – Tratamento com Sal de Cálcio de Ácido Graxo; CA – Tratamento com Carço de Algodão; CASM – Tratamento com Carço de Algodão sem Monensina.

<sup>2</sup> Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente.

Os dados de taxa de passagem líquida e de turnover ruminal das dietas contendo caroço de algodão apresentaram valores superiores aos encontrados por Ruy et al., (1996) que utilizou as proporções de 0, 6,6 e 15% de caroço de algodão na dieta. Os valores de volume ruminal foram maiores que os encontrados por esses autores.

Clary et al. (1993) não obtiveram diferenças para volume, taxa de passagem líquida e turnover ruminal quando adicionou gordura a dieta e quando adicionou lasalocida ou monensina à dieta com gordura.

Embora a taxa de passagem líquida não apresente diferença estatística, os valores absolutos desse índice para os tratamentos CA e CASM foram maiores que

dos demais tratamentos, refletindo maiores valores absolutos para turnover ruminal. O caroço de algodão possui fibra tão efetiva quanto de forragem, o que pode justificar o aumento desses parâmetros para os tratamentos CA e CASM.

A degradação da MS das dietas não apresentou diferença para os quatro tratamentos, o que pode justificar a ausência de diferença estatística na taxa de passagem e no volume ruminal. O valor de taxa de passagem mais elevado para o tratamento CA pode ser justificado devido este ter apresentado maior degradação de FDA do volumoso nas primeiras 24 horas de incubação.

### **4.3 Fermentação Ruminal**

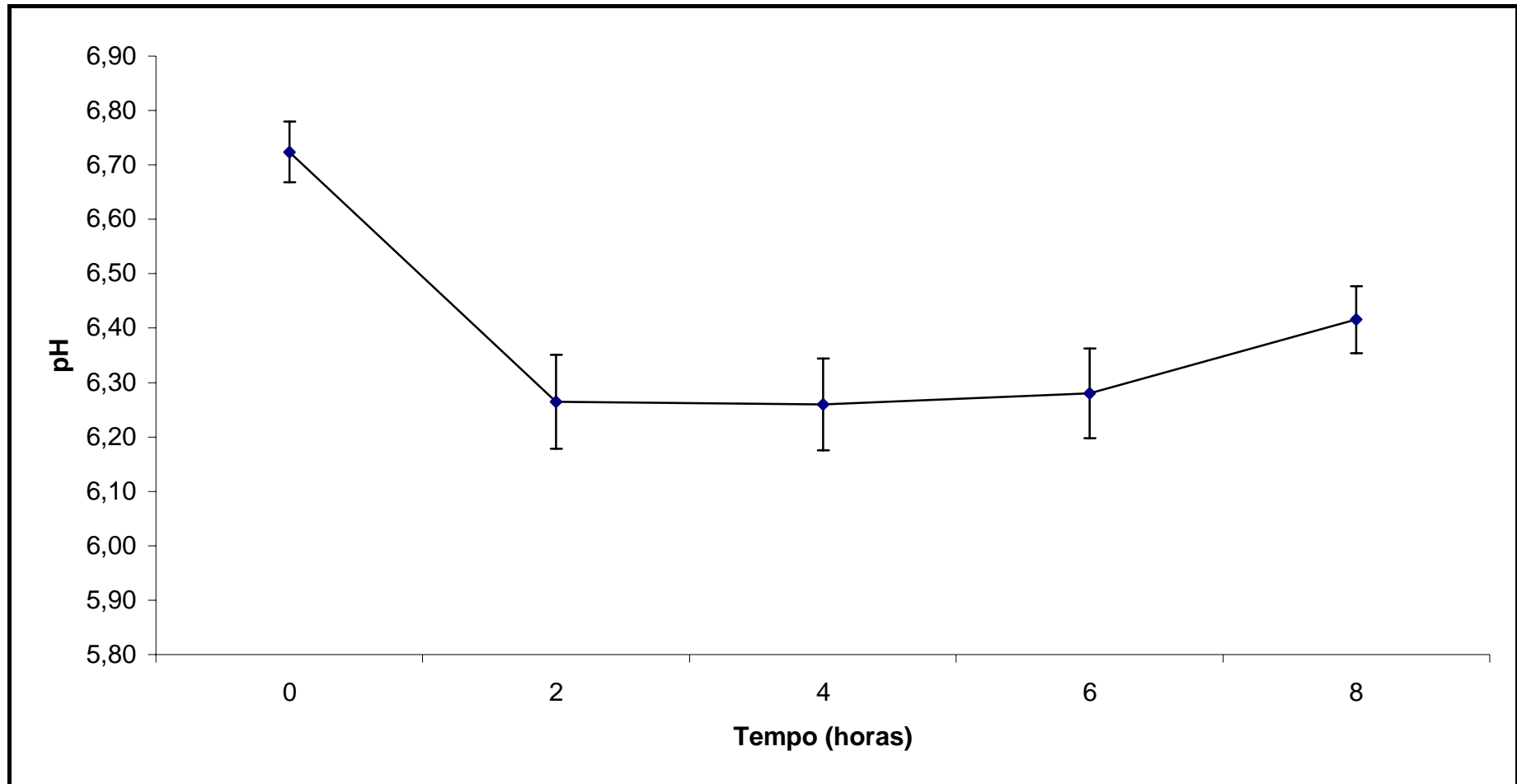
A fermentação ruminal foi medida através de análises de pH, concentração de amônia no líquido ruminal, concentração de ácidos graxos voláteis totais e determinações dos principais ácidos (acético, propiônico e butírico).

#### *4.3.1 pH*

O pH ruminal não foi alterado pela adição de gordura ou pela ausência de monensina na dieta CASM ( $p=0,7888$ ).

Logo nas primeiras duas horas após a alimentação o pH apresentou um decréscimo, mantendo estabilidade até por volta das 6 horas quando começou a aumentar. A curva com os valores médios de pH estão na Figura 12.

Zinn (1988), não encontrou diferença para pH entre os tratamentos utilizando gordura, monensina, e gordura+monensina em mesmo tratamento.



**Figura 12** – Curva média de pH ruminal em função do tempo após alimentação, de bovinos Nelore recebendo diferentes fontes de gordura, com ou sem monensina

Clary et al. (1993) também não obtiveram diferenças no pH quando utilizaram suplementação de lasalocida, monensina e gordura separadamente, ou gordura e ionóforos na mesma dieta.

Zinn e Borques (1993) não obtiveram diferença estatística nos valores de pH utilizando monensina em dietas contendo gordura.

Palmquist et al. (1993) verificaram que a suplementação de gordura como sal de cálcio de ácidos graxos e sebo (1:1) promoveu decréscimo do pH logo após o início da primeira alimentação e aumento duas horas e meia após a segunda alimentação, em relação a dieta controle.

Ruy et al. (1996) não encontraram diferenças estatísticas nos valores de pH quando adicionaram caroço de algodão à dieta.

Chalupa et al. (1996) utilizando fontes de ácido graxo de cadeia longa, entre eles sal de cálcio de ácidos graxos, não encontraram diferença significativa para pH quando adicionou lipídeo. Esses autores, em um segundo experimento no mesmo trabalho, avaliaram duas formas de sais de cálcio de ácidos graxos (de origem vegetal e de cera) e uma fonte de triglicerídeo de origem animal. Houve aumento no pH pela suplementação de sal de cálcio de ácidos graxos vegetal, o que não ocorreu com o sal de cálcio de cera comparado ao tratamento controle, e o tratamento com triglicerídeo diminuiu o pH ruminal.

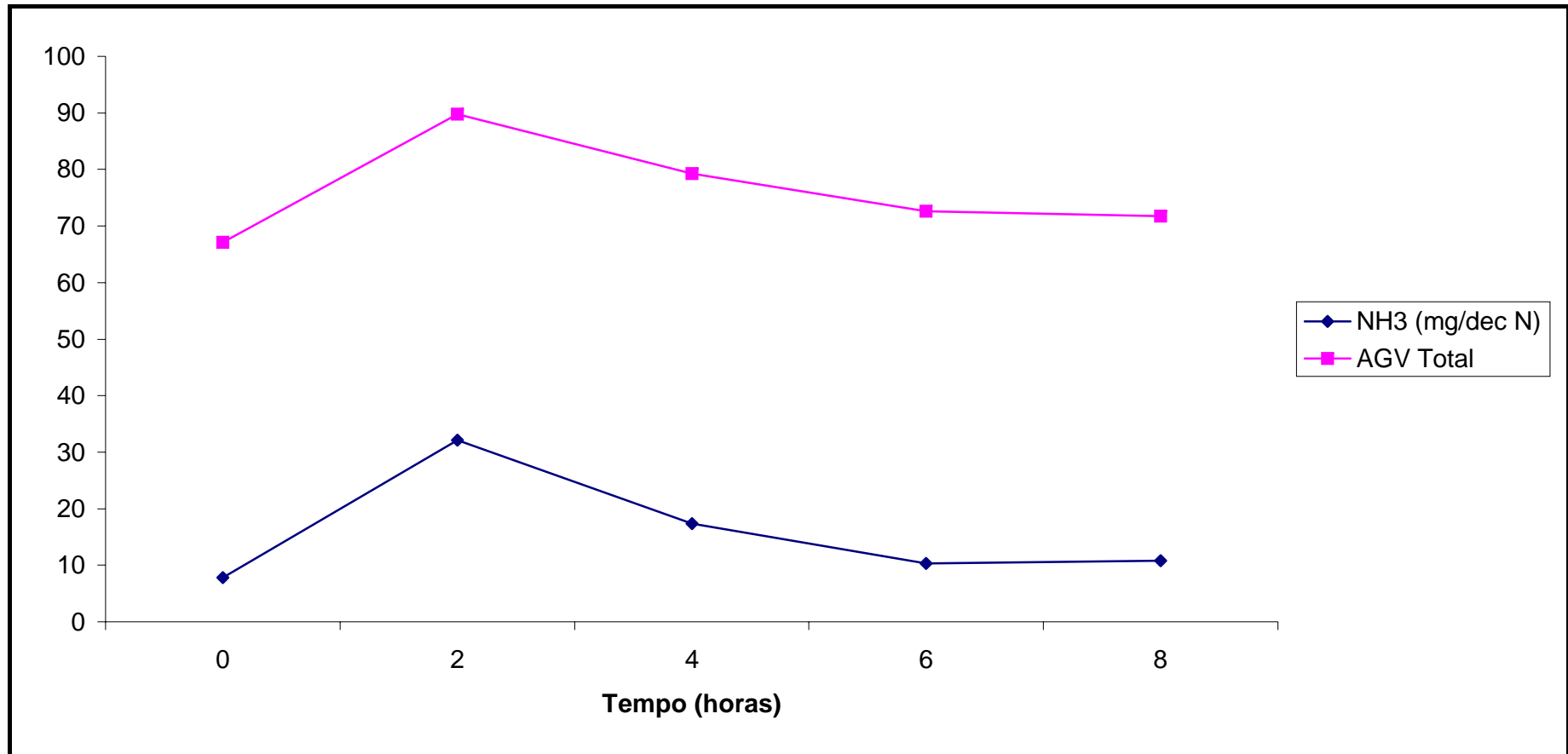
#### *4.3.2 Amônia Ruminal*

A amônia ruminal também não apresentou diferença estatística significativa entre os tratamentos estudados ( $p=0,7547$ ). A curva média da concentração de amônia no líquido ruminal nos tempos estudados teve efeito quadrático ( $p<0,01$ ) e está apresentada na Figura 13. Houve aumento na concentração de amônia logo

nas primeiras horas após a alimentação dos animais, com platô às 2 horas e estabilização no horário das 6 horas.

Clary et al. (1993) não encontraram diferenças para concentração de nitrogênio amoniacal com a inclusão de gordura ou gordura e monensina. Quando o ionóforo utilizado foi a lasalocida, houve aumento na concentração de amônia.

Esperava-se maior concentração de nitrogênio amoniacal para as dietas contendo caroço de algodão, decorrente da maior degradação da PB para essas dietas nos primeiros horários observados.



**Figura 13** – Curvas médias das concentrações de AGV total e N-NH<sub>3</sub> ruminal em função do tempo após alimentação, de bovinos Nelore recebendo diferentes fontes de gordura, com ou sem monensina

### 4.3.3 Ácidos Graxos Voláteis

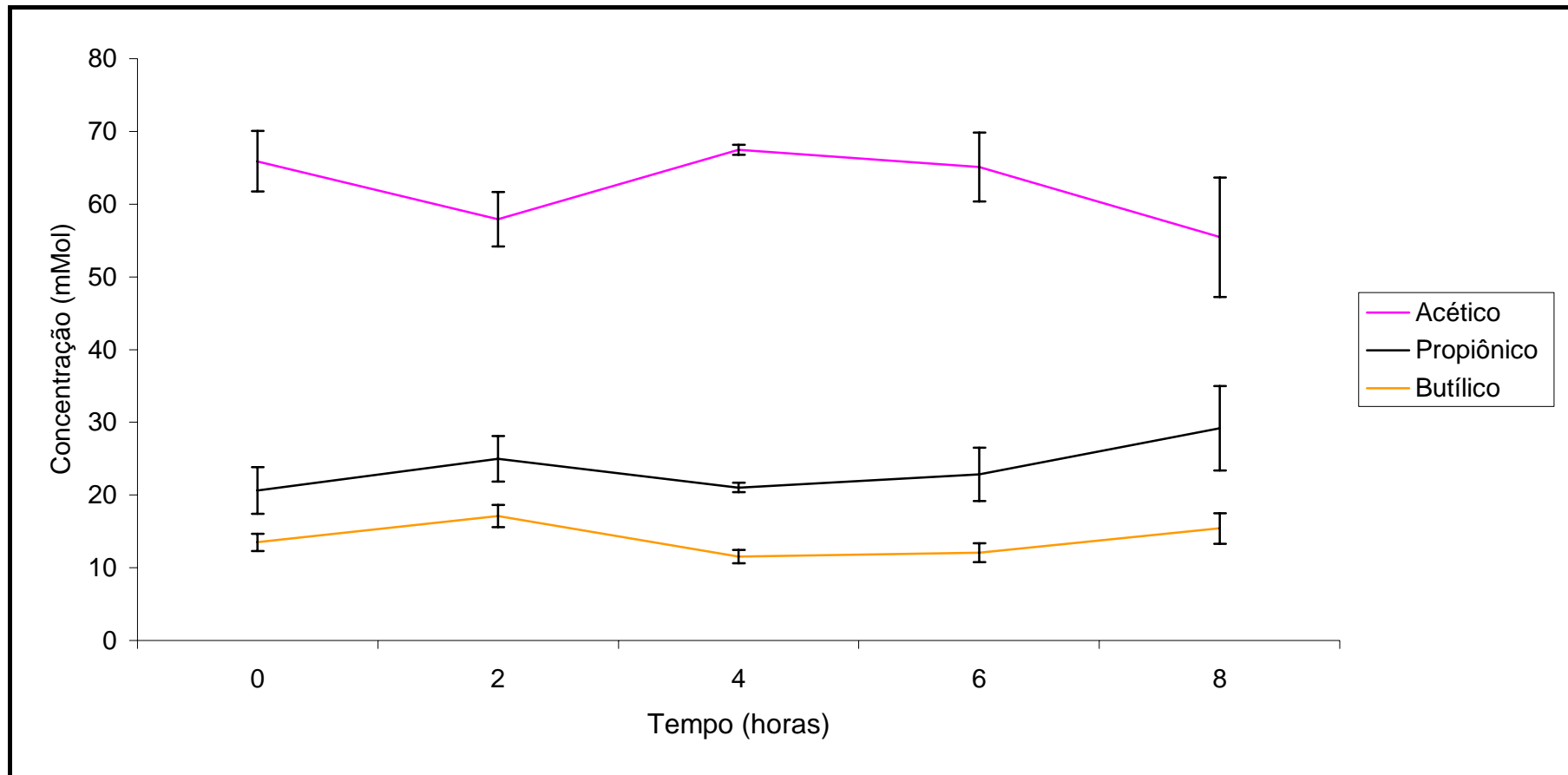
A concentração total de ácidos graxos voláteis não apresentou diferença estatística para os quatro tratamentos ( $p=0,9906$ ), coincidindo com os resultados encontrados por Clary et al (1993). A curva representando as concentrações de ácidos graxos voláteis totais é apresentada na Figura 13.

Esse parâmetro mostrou uma curva com efeito quadrático ( $p=0,0673$ ) semelhante ao da amônia ruminal, com platô no horário 2 horas, devido a fermentação de carboidratos solúveis e proteína, e estabilização às 6 horas. Logo após a alimentação há um pico de ácidos graxos voláteis totais devido ao início da fermentação, principalmente dos carboidratos solúveis.

O aumento nas concentrações de ácidos e de amônia resultam no decréscimo do pH nas primeiras horas após alimentação, mas a medida que estes produtos vão sendo utilizados pelos microrganismos ruminais e são absorvidos, vai ocorrendo um aumento progressivo do pH.

As concentrações de ácidos acético, propiônico e butírico não apresentaram diferenças estatísticas significativas para os tratamentos ( $p=0,9018$ ;  $p=0,6965$ ;  $p=0,4728$ ). As curvas em relação ao tempo para estes ácidos estão na Figura 14.





**Figura 14** – Curvas médias das concentrações de ácidos acético, propiônico e butírico no rúmen em função do tempo após alimentação, de bovinos Nelore recebendo diferentes fontes de gordura, com ou sem monensina

Pode-se observar que há aumento da concentração de ácidos propiônico e butírico logo nas primeiras duas horas após a alimentação, resultado da fermentação dos carboidratos solúveis e proteínas, logo após esse período há decréscimo da concentração desses ácidos e aumento de ácido acético, devido à degradação da fibra da dieta, que tem degradação mais lenta.

Chalupa et al. (1984) não encontraram efeito de sal de cálcio de ácidos graxos para a produção e concentração de AGV em relação ao tratamento sem ácidos graxos de cadeia longa.

Zinn (1988) obteve aumento de propionato e decréscimo de acetato quando utilizou monensina ou gordura na alimentação de novilhos cruzados, mas quando ambos aditivos foram utilizados, não houve incremento em relação a suplementação individual de cada aditivo. Não houve diferença para concentração de ácido butírico.

Segundo Chalupa et al. (1986) a taxa de acetato diminuiu e propionato aumentou, quando foi adicionado fontes de ácidos graxos de cadeia longa livres no rúmen. A fonte de ácido graxo insaturado (ácido oléico) causou mais efeito que a fonte de ácido graxo saturado (ácido esteárico).

Clary et al. (1993) utilizando suplementação de gordura, com ou sem monensina ou lasalocida, encontraram diminuição na concentração de ácido acético e aumento na de ácido propiônico quando adicionou gordura, diminuindo a taxa acético:propiônico. Contudo não houve efeito entre as dietas contendo gordura com ou sem ionóforo. Esses autores reportaram ainda que a concentração de ácido butírico não foi afetada pelos tratamentos.

Zinn e Borques (1993) avaliaram as concentrações de AGV na suplementação de monensina em dietas contendo 7,5% de extrato etéreo sendo gordura amarela a fonte de lipídeo. Houve tendência na diminuição nas

concentrações molares de acetato e butirato e aumento na proporção molar de propionato quando o ionóforo foi adicionado.

Utilizando sal de cálcio de ácidos graxos e sebo (1:1), Palmquist et al. (1993) não encontraram diferenças nas concentrações e proporções de AGV quando adicionaram gordura.

Fellner et al. (1997) utilizou fermentadores *in vitro* para avaliar a biohidrogenação de ácido linoléico com suplementação de ionóforos. A adição de monensina diminuiu a porcentagem molar de acetato, aumentou a de propionato, resultando em menores taxas de acetato:propionato. Também houve decréscimo da porcentagem molar de butirato. A concentração total de ácidos graxos voláteis não foi afetada pela adição de ionóforos. Quando o ácido linoléico foi adicionado às dietas com ionóforos, as concentrações de ácidos graxos totais não foram afetadas.

Jenkins et al. (2003) avaliaram a utilização de óleo de soja, monensina ou ambos aditivos em fermentadores *in vitro* sobre a produção de ácidos graxos *trans*. A adição de gordura e do ionóforo juntos diminuíram as concentrações de propionato. As concentrações de acetato, butirato, ácidos graxos totais, a taxa de acetato:propionato e os valores de pH não foram afetados pela suplementação em conjunto de monensina e óleo de soja.

Embora as taxas de ácidos acético e propiônico não apresentassem diferenças entre os tratamentos, a proporção de acético:propiônico (A:P) mostrou interação tempo x tratamento ( $p=0,0228$ ). A curva da taxa A:P para os tratamentos está na Figura 15. Logo antes da alimentação, no tempo 0 horas, o tratamento SC apresentou diferenças com os tratamentos CRTL ( $p=0,0171$ ) e com o tratamento CASM ( $p=0,997$ ). No tempo 2 o tratamento CRTL diferiu dos demais ( $p<0,10$ ). Para o tempo quatro horas os tratamentos SC e CA diferiram dos tratamentos CRTL

( $p=0,0241$ ;  $p=0,0061$ ) e CASM ( $p=0,0407$ ;  $p=0,0110$ ). No horário 6 horas, o tratamento CASM diferiu dos tratamentos CA ( $p=0,0472$ ) e CRTL ( $p=0,0787$ ).

Chalupa et al. (1986) obtiveram menores taxas de acético:propiónico para sais de cálcio de ácidos graxos em relação ao tratamento controle a partir de 3 horas após a alimentação, assim como encontrado neste experimento, enquanto o tratamento contendo triglicérido apresentou essa taxa baixa anterior à alimentação.

Pode-se observar no gráfico aumento na taxa de acético:propiónico no tratamento controle. Esperava-se esse aumento para a dieta CASM, devido a taxa de degradação de FDN dessas dietas, assim como da dieta CA por apresentar maior taxa de degradação de FDA nos primeiros horários.

Os resultados da fermentação ruminal estão resumidos na Tabela 5.

Analisando os resultados, sugere-se que nenhuma das fontes de gordura influenciou os parâmetros de fermentação ruminal estudados, mesmo tendo ocorrido diferenças entre a taxa acético:propiónico. O pH parece não ter sido suficientemente baixo para dissociar o sal de cálcio no rúmen, havendo então manutenção na fermentação ruminal. O caroço de algodão possui lipídeos esterificados, que são os liberados no ambiente ruminal. Sabe-se que o glicerol, oriundo da lise do triglicérido é fermentado a ácido propiónico, por não apresentar diferença na concentração dos ácidos orgânicos, suspeita-se que a gordura liberada pelo caroço de algodão é realmente em pequena quantidade.

A monensina na presença de gordura parece não apresentar efeito na fermentação ruminal. Segundo Clary et al. (1993) um dos mecanismos que explica a diminuição do efeito da gordura e ionóforo na fermentação ruminal, é a solubilidade de ionóforo em lipídeos.

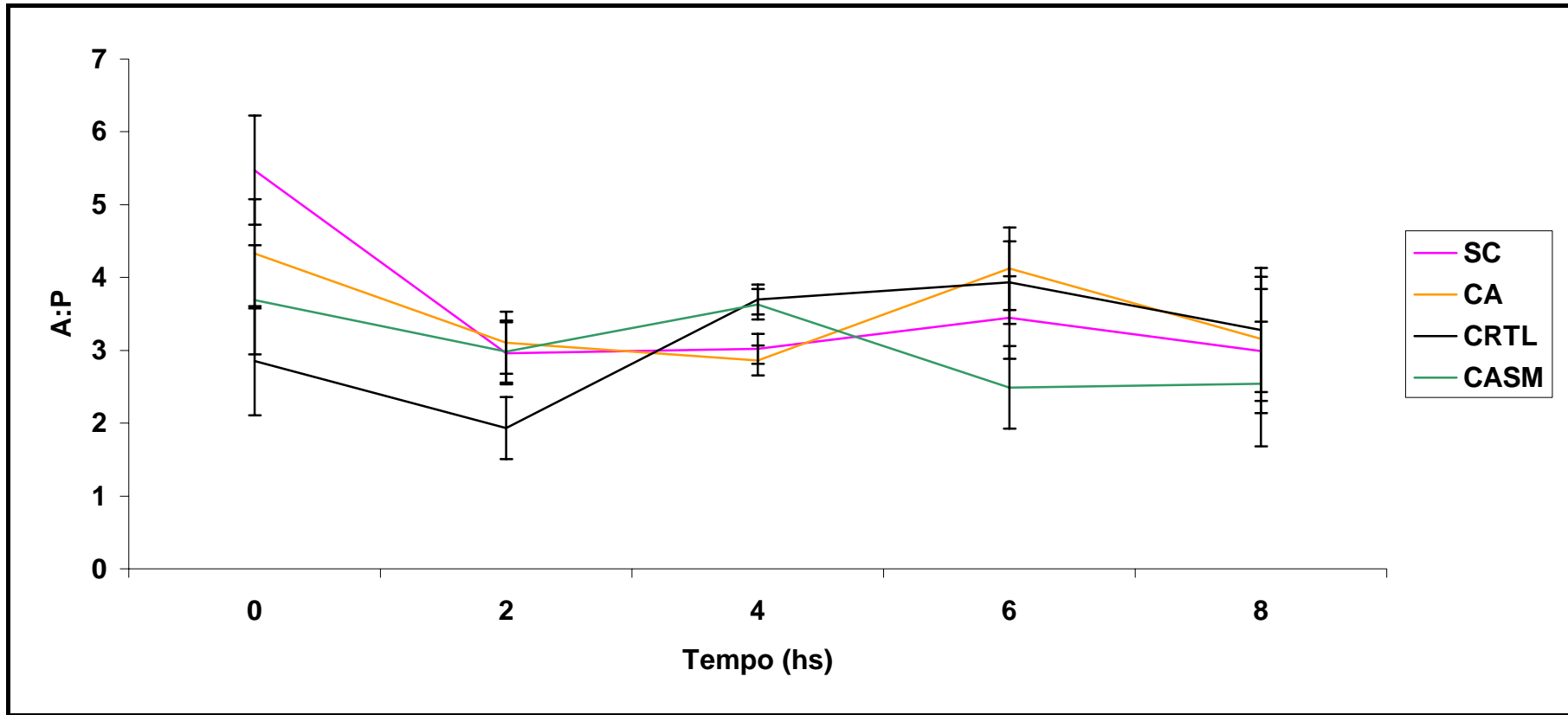


Figura 15 – Curvas das proporções acético:propiónico no rúmen em função do tempo após alimentação, de bovinos Nelore recebendo diferentes fontes de gordura, com ou sem monensina

**Tabela 5 – Parâmetros fermentativos ruminais de novilhos Nelore alimentados com dietas com diferentes fontes de gordura, com ou sem monensina**

Parâmetros	Tratamentos <sup>1</sup>			
	CTRL	CS	CA	CASM
pH Ruminal	6,33	6,32	6,41	6,50
AGV, mM				
Ácido Acético	60,53	62,63	65,39	60,89
Ácido Propiônico	25,76	21,27	21,82	26,02
Ácido Butírico	13,71	16,10	12,79	13,09
Total AGV, mM	76,18	77,81	75,64	74,78
N-NH3 Ruminal, mg/dec N	16,55	16,83	13,89	15,45

<sup>1</sup> CTRL – Tratamento Controle; SC – Tratamento com Sal de Cálcio de Ácido Graxo; CA – Tratamento com Caroço de Algodão; CASM – Tratamento com Caroço de Algodão sem Monensina.

#### 4.4 Protozoários Ciliados

Foi realizada a contagem e a taxa de aparecimento de protozoários ciliados nos períodos após a alimentação. Os protozoários identificados foram os dos gêneros Entodinium, Diplodinium, Epidinium, Isotricha, Dasytricha, Ostracodinium e Eudiplodinium. O número médio de protozoários está representado na Figura 16. O aparecimento de protozoários entre os tempos de colheita está representado Figura 17.

##### 4.4.1 Entodinium

Os tratamentos apresentaram efeito na contagem do gênero Entodinium ( $p < 0,01$ ). As dietas contendo caroço de algodão apresentaram menor quantidade de protozoários do gênero Entodinium que as demais dietas, como pode-se observar na Figura 16.

#### *4.4.2 Diplodinium*

Não houve efeito de tratamento para o gênero *Diplodinium* ( $p > 0,10$ ), havendo no entanto, efeito de tempo ( $p = 0,0179$ ).

#### *4.4.3 Epidinium*

Os tratamentos que possuíam caroço de algodão não apresentaram protozoários desse gênero. As dietas CTRL e SC não apresentaram diferença estatística ( $p > 0,10$ ). Também houve efeito de tempo de surgimento para esses protozoários.

#### *4.4.4 Isotricha*

O gênero *Isotricha* não apresentou diferença entre os tratamentos utilizados ( $p > 0,10$ ), embora os tratamentos com caroço de algodão apresentaram valores menores que os demais.

#### *4.4.5 Daytricha*

Assim como no gênero *Epidinium*, os tratamentos que possuíam caroço de algodão não apresentaram protozoários do gênero *Dasytricha*, e os demais tratamentos não diferiram estatisticamente.

#### *4.4.6 Eudiplodinium*

Os tratamentos contendo caroço de algodão foram diferentes estatisticamente dos demais tratamentos ( $p < 0,01$ ) apresentando menores taxas de aparecimento de *Eudiplodinium*. Houve também efeito de tempo ( $p = 0,0257$ ).

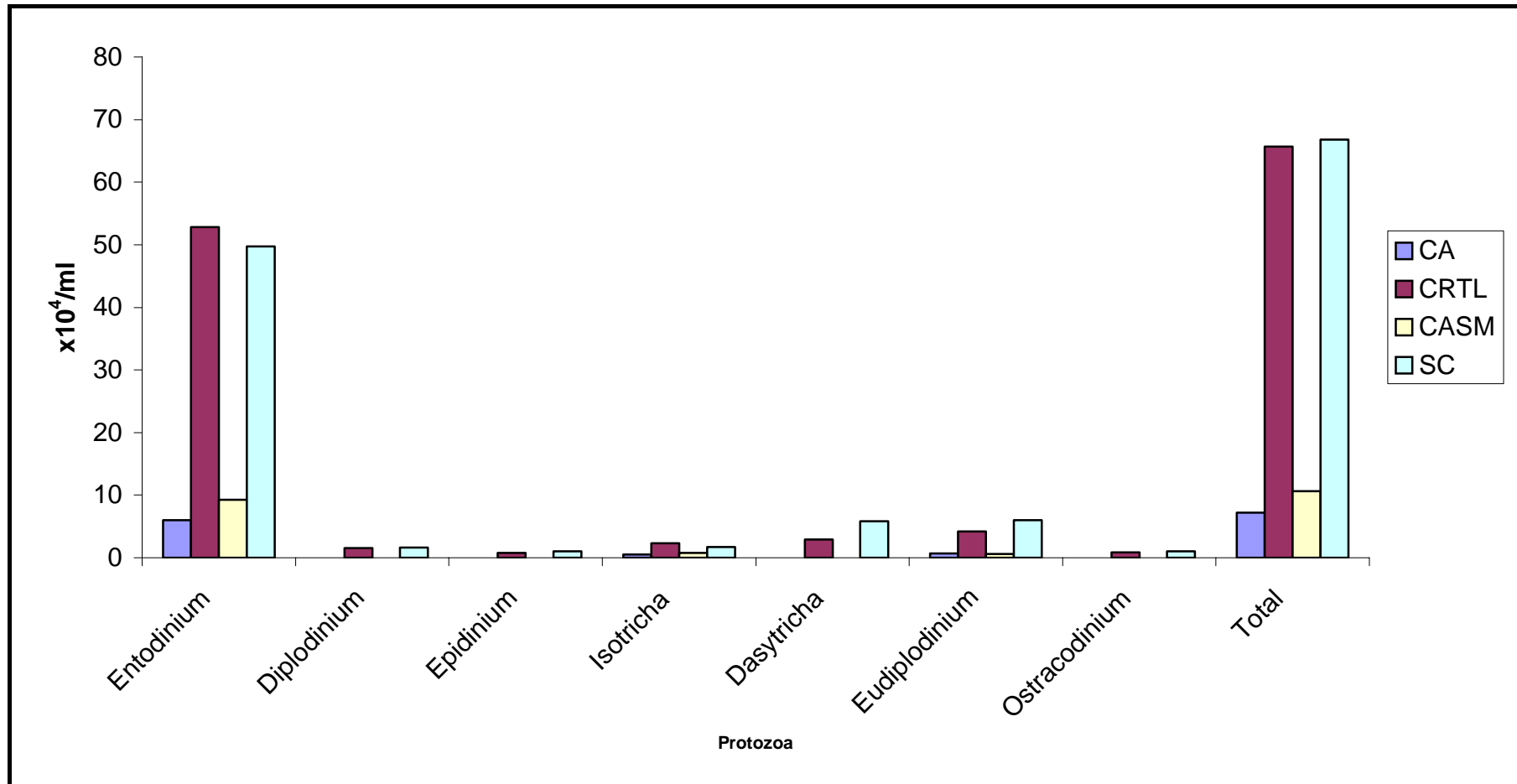


Figura 16 – Médias de protozoários ciliados no rúmen de bovinos Nelore recebendo diferentes fontes de gordura, com ou sem monensina



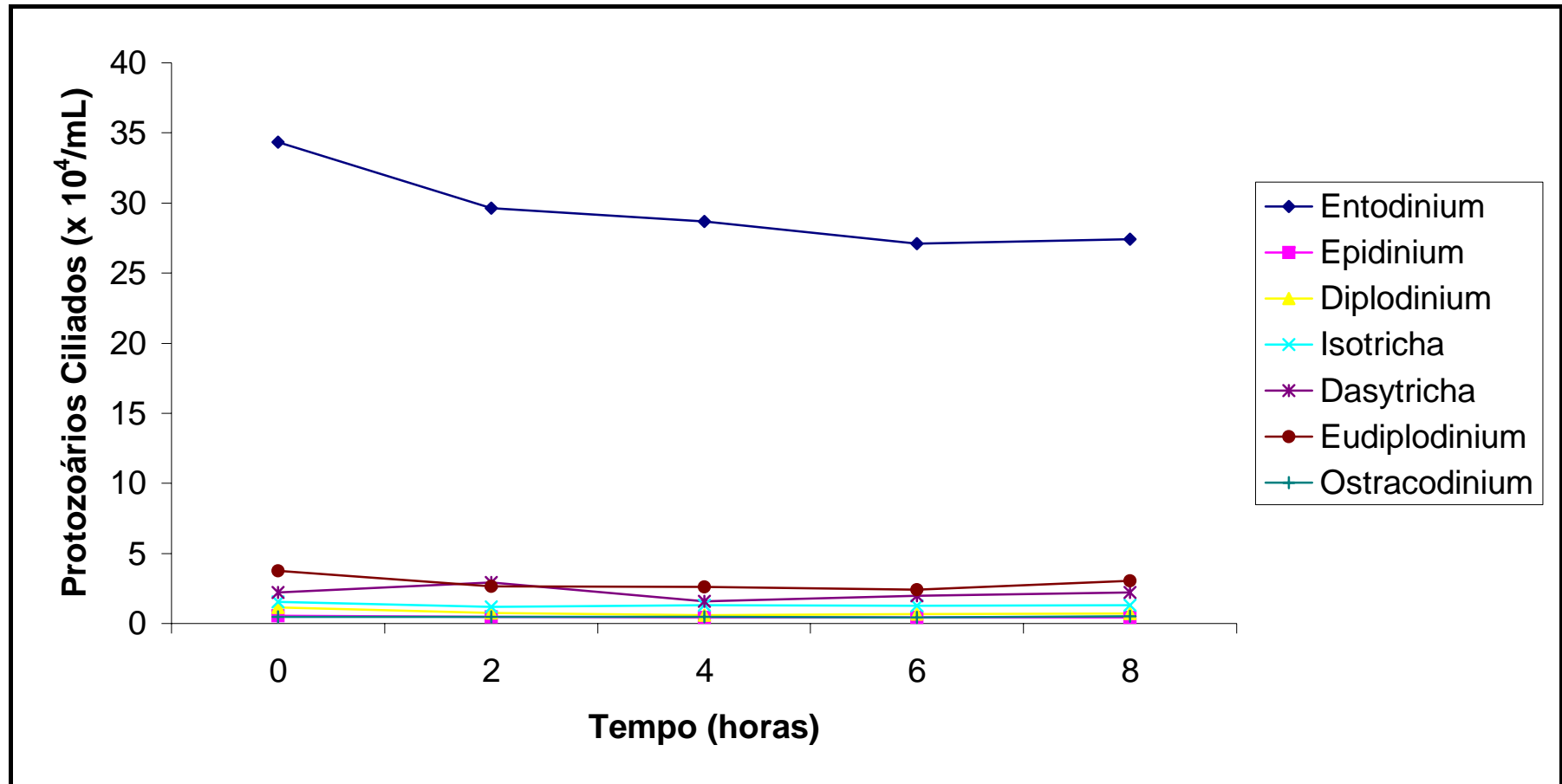


Figura 17 – Curvas médias de protozoários ciliados rúmen por tempo, em bovinos Nelore recebendo diferentes fontes de gordura, com ou sem monensina

#### 4.4.7 *Ostracodinium*

Este gênero foi o único que apresentou interação tempo x tratamento ( $p=0,0124$ ).

#### 4.4.8 *Protozoários Ciliados Totais*

Em relação a quantidade total de protozoários ciliados, houve efeito de tempo ( $p=0,0371$ ) e de tratamento ( $p<0,01$ ).

Os tratamentos contendo caroço de algodão apresentaram menores números de protozoários ciliados que os demais tratamentos. Não houve diferença estatística entre as dietas contendo caroço de algodão assim como não houve diferença estatística para as dietas controle e com sal de cálcio de ácidos graxos. Este fato sugere que a gordura liberada pelo caroço de algodão foi suficiente para apresentar toxicidade aos protozoários, concordando com a literatura (TOWNE et al. 1990; VAN DEVEL; DEMEYER, 1989; MACHAMÜLLER; KREUZER, 1999; IVAN et al. 2001)

Ikwuegbu e Sutton (1982) citados por Jenkin e Palmquist (1984) obtiveram eliminação total de protozoários ciliados quando incluíram 3,9% de óleo de semente de linhaça na dieta.

Towne et al., (1990) avaliaram três diferentes confinamentos onde as dietas possuíam ou não fonte de lipídeo. Em dois dos confinamentos, a fonte de gordura era gordura amarela, que não influenciou no número de protozoários. No outro a fonte de gordura foi sebo ou grão de soja, e diminuíram significativamente o número de protozoários ciliados. Os autores não souberam explicar o motivo da gordura amarela não ter influenciado no número de ciliados, se foi devido a composição da gordura ou à dieta base. Um fato que os autores não atentaram foi que as dietas

possuíam monensina e tilosina. Talvez esses ionóforos pudessem afetar a atividade antimicrobiana da gordura amarela.

Ivan et al., (2001) avaliando a utilização de óleo de semente de girassol em dietas para ovinos na inclusão de 6% da MS, verificaram defaunação dos animais recebendo óleo, sendo os protozoários do gênero *Entodinium* os únicos remanescentes.

A capacidade de digerir celulose por entodiniomorfos é maior em dietas contendo baixos teores de celulose digestível e menor em dietas a base de volumoso. Neste estudo admitir-se-ia menor degradação da fibra nas dietas contendo caroço de algodão, pois a dieta fornecida continha alto teor de concentrado o que favoreceria a degradação por entodiomorfos. Nas dietas CA e CASM o número desses protozoários foi bem inferior às demais.

A defaunação está associada a diminuição na concentração de amônia ruminal e a menor e mais variável pH (IVAN et al. 2001). Nesse estudo os tratamentos que promoveram redução do número de protozoários não apresentaram diferenças na concentrações de nitrogênio amoniacal e no pH, mas por outro lado a degradação inicial de PB pelas dietas contendo caroço de algodão foi maior, então talvez tenha ocorrido menor concentração de amônia nestes tratamentos pela defaunação, mas a maior degração protéica manteve os níveis de  $\text{NH}_3$  semelhante ao das dietas controle e com sal de cálcio.

Maior produção de ácidos orgânicos era esperada pelas dietas com caroço de algodão, pois estas possuíam maior degradação protéica e da FDA, o tratamento CASM apresentou maior degradação de FDN, e pelo glicerol oriundo da lipólise de triglicerídeos ser rapidamente fermentado a ácido propiônico. Estas mesmas dietas apresentaram quantidades de protozoários ciliados menores significativamente às

outras. Pelo fato dos protozoários ruminais engolfarem bactérias, independente da espécie, a defaunação pode promover maior e melhor síntese de proteína microbiana, a melhora nessa eficiência pode ocasionar maior fermentação e, talvez, melhor eficiência na lipólise e biohidrogenação ruminal. Assim sendo, a lenta liberação de gordura pelo caroço de algodão junto com a melhor eficiência da microbiota ruminal na biohidrogenação justificam a ausência do efeito do lipídeo do caroço de algodão nos parâmetros ruminais estudados.

A monensina pode não ter sido eficiente em diminuir a lipólise, possivelmente por causa da possível melhor eficiência bacteriana, promovida pela defaunação.

As dietas utilizadas foram com alta proporção de concentrado, o que favorece a proliferação de microrganismos gram-negativos, o que acrescenta a explicação que a gordura oriunda do caroço de algodão pode ter sofrido hidrogenação, não permitindo que afetasse os parâmetros ruminais.

Recentes estudos têm sido realizados objetivando aumentar a produção de alguns isômeros do ácido linoleico denominados de forma geral de ácido linoléico conjugado, assim como aumentar o fluxo destes e dos ácidos graxos oléico, linoleico e linolenico para o intestino dos animais, sendo digeridos e absorvidos neste local. A forma mais estudada para se conseguir este fenômeno é a procura em interromper a biohidrogenação.

Sugere-se que se estude as transformações ocorridas pelos ácidos graxos destas dietas no rúmen, assim como a quantidade deste que vão para o duodeno. Ainda que se avalie a utilização de outros aditivos sobre a suplementação dessas fontes de gordura, assim como outros ionóforos e probióticos.

## 5 CONCLUSÕES

1. O caroço de algodão e o sal de cálcio de ácidos graxos foram fontes lipídicas que não prejudicaram a atividade ruminal em dietas contendo alta proporção concentrado, para novilhos da raça Nelore.

2. A utilização de monensina parece ser desnecessária quando se utiliza suplementação com gordura, pois o ionóforo não mostrou efeito associativo com a gordura do caroço de algodão em dietas contendo alta proporção concentrado:volumoso, para novilhos da raça Nelore.

3. Estudos devem ser conduzidos para avaliar o efeito de outros aditivos sobre a gordura, assim como as transformações ocorridas pelos ácidos graxos no ambiente ruminal.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A.F.R.C. Technical committee on responses to nutrients. Report n.9. Nutritive requirements of ruminants animals: protein. **Nutrition Abstrat Reviews (Séries B)**, v.62, n.12, p.787-835, 1992.

ALDRICH, C. G.; MERCHEN, N.R.; DRACKLEY, J.K.; GONZALEZ, S.S.; FAHEY JR.; G.C.; BERGER, L.L. The effects of chemical treatment of whole canola seed on lipid and protein digestion by steers. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 502-511, 1997.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTIS. **Official Methods of Analysis**. 11. ed. Washington D.C. 1990. 1051 p.

BAUMAN, D.E.; BAUMGARD, L.H.; CORL, B.A.; GRIINARI, J.M. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. **Proceedings of the American Society of Animal Science**, 1999.

BONHOME, A. Rumen ciliates: their metabolism and relationships with bacteria and their hosts. **Animal Feed Science and Technology**, v. 30, p. 203-266, 1990.

CHALUPA, W.; RICKABAUGH, B.; KRONFELD, D.S.; SKLAN, D. Rumen fermentation in vitro as influenced by long chain fatty acids. **Journal of Dairy Science**, v. 67, p. 1439-1444, 1984.

CHALUPA, W.; VECCHIARELLI, B.; ELSER, A.E.; KRONFELD, D.S. Ruminant fermentation in vivo as influenced by long chain fatty acids. **Journal of Dairy Science**, v. 69, p. 1293-1301, 1986.

CHOW, J.M.; RUSSELL, J.B. Effect of ionophores and pH on growth of *Streptococcus bovis* in bath and continuous culture. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 56, p. 1588-1593, 1990.

CLARY, E.M.; BRANDT JR., R.T.; HARMON, D.L.; *et al.* Supplemental fat and ionophores in finishing diets: feedlot performance and ruminal digesta kinetics in steers. **Journal of Animal Science**, v. 71, p. 3115-3123, 1993.

CONSELHO NACIONAL DE PECUÁRIA DE CORTE. Balanço da Pecuária Bovídea de Corte. Informativo CNCP, ano 3 (05), São Paulo, 2003.

Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em:

<http://www.conab.gov.br/safras.asp>. Acesso em: 13 novembro de 2003.

COPPOCK, C. E.; LANHAM, J.K.; HORNER, J.I. A review of the nutritive value and utilization of whole cottonseed, cottonseed meal and associated by-products by dairy cattle. **Animal Feed Science and Technology**, v. 18, p. 89-129, 1987.

COPPOCK, C.E.; WILKS, D.L. Supplemental fat in high-energy rations for lactating cows: effect on intake, digestion, milk yield and composition. **Journal of Animal Science**, v. 69, n. 9, p. 3826-3837, 1991.

CUMMINS, K.A.; NOCEK, J.E.; POLAN, C.E.; HERBEIN, J.H. Nitrogen degradability and microbial protein synthesis in calves fed diets of varying degradability by the bag technique. **Journal of Dairy Science**, v. 66, n. 11, p. 2356-64, 1983.

DEHORITY, B.A. **Classification and morphology of rumen protozoa**. Wooster, Ohio Agricultural Research and Development Center, 1977. 82 p.

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

EZEQUIEL, J.M.B. Uso de caroço de algodão na alimentação animal. In.: SIMPÓSIO GOIANO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO ANIMAL, 3., 2001. Goiânia, **Anais...** Goiânia, Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2001. p. 307-328.

FELLNER, V.; SAUER, F.D.; KRAMER, J.K.G. Effect of nigericin, monensin, and tetrosin on biohydrogenation in continuous flow-through ruminal fermenters. **Journal Dairy Science**, v. 80, p. 921-928, 1997.

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

GRUMMER, R. R. Ruminal inertness vs digestibility of fat supplements: can there be harmony? In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, 57.,1995. **Proceedings...** Ithaca: Cornell University, p. 13-24, 1995.

HARFOOT, C.G.; HAZELWOOD, G.P. Lipid metabolism in the rumen. In: HOBSON, H.D. **The rumen microbial ecosystem**. New York, NY: Elsevier Science, 1988. p. 285-322.

HARRISON, J.H.; KINCAID, I R. L.; McNAMARA, J. P.; WALTNER, S. LONEY, K. A.; RILEY, R. E.; CRONRATH, J. D. Effect of whole cottonseeds and calcium salts of long-chain fatty acids on performance of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 78, p. 181-193, 1995.

HYDEN, S.A. A turbidometric method for the determination of higher polyethyleneglycols in biological materials. **K. Lantb. Arbb.**, v. 22, p. 139, 1959.

IVAN, M.; MIR, P.S.; KOENNG, K.M.; RODE, L.M.; NEILL, L.; ENTZ, T.; MIR, Z. Effects of dietary sunflower seed oil on rumen protozoa population and tissue concentration of conjugated linoleic acid in sheep. **Small Ruminant Research**, v. 41, p. 215-227, 2001.

JENKINS, T. C.; PALMQUIST, D.L. Effect of fatty acids or calcium soaps on rumen and total nutrient digestibility of dairy rations. **Journal of Dairy Science**, v. 67, p. 978-986, 1984.



JENKINS, T.C. Lipid metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science** , v. 76, p. 3851-3863. 1993.

JENKINS, T.C.; FELLNER, V.; MCGUFFEY, R.K. Monensin by fat interactions on *trans* fatty acid in cultures of mixed ruminal microorganisms grown in continuous fermentors fed corn or barley. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 324-330. 2003.

KIM, Y.K.; SCHINGOETHE, J.; CASPERA, D.P.; LUDENS, F.C. Supplemental dietary fat from extruded soybeans and calcium soaps of fatty acids for lactating dairy cows. **Journal Dairy Science**, v. 76, p. 197-204, 1993.

LANA, R.P.; RUSSELL; J.B. Use of potassium depletion to asses adaptation of ruminal bacteria of ionophores. **Applied Environmental Microbiology**, v. 62, n. 12, p. 4499-4503, 1996.

MACHAMÜLLER, A.; KREUZER, M. Methane suppression by coconut oil and associated effects on nutrient and energy balance in sheep. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 79, p. 65-72, 1999.

NOFTSGER, S.M.; HOPKINS, B.A.; DIAZ, D.E.; BROWNIE,C.; WHITLOW, L.W. Effect of whole and expanded-expelled cottonseed on milk yield and blood gossypol. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 2539-2547, 2000.

NOGUEIRA FILHO, J.C.M.; OLIVEIRA, M.E.M. ; ZANETI, M.A; VELLOSO, L.; SHALCH, F. Avaliação dos protozoários ciliados no rúmen de zebuínos da raça Nelore, cruzados Caracu vs. Nelore e cruzados Gir vs. Nelore em regime de confinamento. **ARS Veterinária**, v. 9, p. 40-45, 1993b.

NOGUEIRA FILHO, J.C.M.; OLIVEIRA, M.E.M.; ABLAS, D. S.; TITTO, E.A.L.; TOLEDO, L.R.A.; OLIVEIRA, T.S.B.M. Fauna ciliada no rúmen de zebuínos e bubalinos em Pirassununga, São Paulo, Sudeste do Brasil. **Acta Scientiarum.**, v. 22, n. 3, p. 663-668, 2000b.

NOGUEIRA FILHO, J.C.M.; OLIVEIRA, M.E.M.; VELLOSO, L. Protozoários ciliados no rúmen de zebuínos e bubalinos submetidos a dietas com volumosos e concentrados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 33, p. 993-999, 1998.

NOGUEIRA FILHO, J.C.M.; OLIVEIRA, M.E.M.; VELLOSO, L.; SHALCH, F.; ZANETI, M.A. Avaliação dos protozoários ciliados no rúmen de búfalos, zebuínos da raça Nelore e bovinos mestiços leiteiro em regime de confinamento. CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISA DE ZEBU, 3., Uberaba, MG, **Anais...** p. 260-269, 1993a.

NOGUEIRA FILHO, J.C.M.; TITTO, E.A.L.; OLIVEIRA, M.E.M.; ABLAS, D. S.; OLIVEIRA, T.S.B.M. Efeitos da administração de uréia protegida sobre a população de protozoários ciliados no rúmen de cordeiros. **Acta Scientiarum.**, v. 22, n.3, p. 741-744, 2000a.

OLIVEIRA, M.E.M.; NOGUEIRA FILHO, J.C.M.; LUCCI, C.S.; DUPAS, W; LIMA, C.G. Desenvolvimentos de populações de protozoários ciliados no rúmen de ovinos (*Ovis aires* L.) criados em Itapetininga, São Paulo. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v. 26, p. 225-32, 1987.

ORSKOV, E.R.; HOVELL, F. D. DEB.; MOULD, F. Uso de la tecnica de la bolsa de nylon para la evaluación de los alimentos. **Prod. Animal Trop.**, n. 5, p. 213, 1980.

ORSKOV, E.R.; McDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurement weighted according to rate of passage. **Journal of Agricultural Science**, v. 92, n. 1, p. 499-503, 1979.

PALMQUIST, D. L. Effects of supplemental fat in various forms on rumen digestibility in sacco. **Journal of Dairy Science**, v. 67, p. 127, suppl. 1, 1984.

PALMQUIST, D.L.; JENKINS, T.C. Fat in lactation rations: review. **Journal of Dairy Science**, v. 63, p. 1-14, 1980.

PALMQUIST, D.L.; WEISBJERG, M.R.; HVELPLUND, T. Ruminant, intestinal, and total digestibilities of nutrients in cow fed diets high in fat and undegradable protein. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 1353-1364, 1993.

PARIZA, M.W.; PARK, Y.; COOK, M.E. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. **Progr, in Lipid Research**, v.40, p.283-298, 2001.

PRESSMAN, B.C. Biological application of ionophores. **Annu. Rev. Biochem.**, v. 45, p. 501-530, 1976.

RUSSELL, J.B.; STROBEL, H.J. Effect of ionophores on ruminal fermentation. **Applied Environmental Microbiology**, v. 55, p. 1-12, 1989.

RUY, D.C.; LUCCI, C.S.; MELOTTI, L.; LIMA, M.L.M. Degradação da proteína e fibra do caroço de algodão integral (*Gossypium hirsutum* L.) no rúmen. **Brasilian Journal of Veterinary Research of Animal Science**, v. 33, p. 276-280, 1996.

SAS Institute. **SAS user's guide: statistics**. 5. ed., Cary, NC, SAS Inst., 1985.

SCHAUFF, D.J. ; CLARK, J.H. Effects of feeding diets containing calcium salts of long-chain fatty acids to lactating dairy cows. **Journal Dairy Science**, v. 75, p. 2990-3002, 1992.

TOWNE, G.; NAGARAJA, T.G.; BRANDT, R.T Jr.; KEMP, K.E. Ruminant ciliated protozoa in cattle fed finishing diets with or without supplemental fat. **Journal of Animal Science**, v. 68, p. 2150-2155, 1990.

VAN DEVEL, C.; DEMEYER, D.I. Lipolysis and biohydrogenation of soybean in the rumen in vitro: inhibition by antimicrobials. **Journal of Dairy Science**, v. 78, p. 2797-2806, 1995.

VAN DEVEL, C.; DEMEYER, D.I. Manipulation of rumen fermentation. In: HOBSON, H.D. **The rumen microbial ecosystem**. New York, NY: Elsevier Science. 387-443, 1988.

VALADARES FILHO, S.C.; CABRAL, S.C. Aplicação dos princípios de nutrição de ruminantes em regiões tropicais REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., Recife, Pe, **Anais...** CD-ROM, 2002.

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

VARGAS, L.H. ; LANA, R.P. ; MÂNCIO, A.B.; *et al.* Influência de Rumensin®, óleo de soja e níveis de concentrado sobre o consumo e os parâmetros fermentativos ruminais em bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, n. 5, p. 295-305, set./out., 2001.

WEATHERBURN, M.V. Phenol-hipochlorite reaction for determination of ammonia. **Anal. Chemistry**, v. 39, p. 971-974, 1967.

WILLIAMS, A.G.; COLEMAN, G.S. The Rumen protozoa. In: HOBSON, H.D. **The rumen microbial ecosystem**. New York, NY: Elsevier Science. p. 77-128, 1988.

WU, Z; HUBER, J.T.; CHAN, S.C.; SIMAS, J.M.; CHEN, K.H.; VARELA; J.O.; SANTOS, F.; FONTES JR., C.; YU, P. Effect of source and amount of supplemental fat on lactation and digestion in cows. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 1644-1651, 1994.

YOKOYAMA, M. T.; JOHSON, K.A. Microbiology of the rumen and intestine. In: CHURCH, D.C. **The ruminant animal. Digestive physiology and nutrition**. New York, NY: John Wiley & Sons, p. 125-144, 1993.

ZINN, R.A. Characteristics of digestion of linted and lint-free cottonseed in diets for feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 1246-1250, 1995.

ZINN, R.A. Influence of level of source of dietary fat on its comparative feeding value in finishing diets for feedlot steers: metabolism. **Journal of Animal Science**, v. 67, p. 1038-1049, 1989.

ZINN, R.A.; BORQUES, J.L. Influence of sodium bicarbonate and monensin on utilization of a fat-supplemented high-energy growing-finishing diet by feedlot steers. **Journal of Animal Science**, v. 71, p. 18-25, 1992.

ZINN, R.A.; PLASCENCIA, A. Interaction of whole cottonseed and supplemental fat on digestive function in cattle. **Journal of Animal Science**, v. 71, p. 11-17, 1993.

## ANEXOS

### ANEXO A – Equações dos gráficos.

Gráficos	Equação
<b>Degradabilidade da Cana-de-açúcar</b>	
Matéria Seca	$Y = 47.69375 + 0.42741x + -0.00192x^2$
Fibra em Detergente Neutro	
Tratamento CRTL	$Y = 31.84382 + 1.02196x + -0.00694x^2$
Tratamento SC	$Y = 11.53980 + 0.74328x + -0.00341 x^2$
Tratamento CA	$Y = 13.55569 + 0.64215x$
Tratamento CASM	$Y = 32.83099 + 1.16340x + -0.00887x^2$
Fibra em Detergente Ácido	
Tratamento CRTL	$Y = 13.22589 + 0.77248x + -0.00384 x^2$
Tratamento SC	$Y = 14.42847 + 0.73753x$
Tratamento CA	$Y = 19.66670 + 0.84486x + -0.00545x^2$

Tratamento CASM	$Y = 43.76703 + 1.50435x + -0.01116x^2$
<b>Degradabilidade da Dieta Total</b>	
Materia Seca	$Y = 47.69375 + 0.42741x + -0.00192x^2$
<b>Proteína Bruta</b>	
Tratamento CRTL	$Y = 43.10138 + 1.36083x + -0.00934x^2$
Tratamento SC	$Y = 31.16540 + 1.81153x + -0.01221 x^2$
Tratamento CA	$Y = 52.16641 + 1.28127x + -0.00938x^2$
Tratamento CASM	$Y = 50.03972 + 1.23507x + -0.00854x^2$
<b>Extrato Etéreo</b>	
Tratamento CRTL	$Y = 13.22589 + 0.77248x + -0.00384 x^2$
Tratamento SC	$Y = 14.42847 + 0.73753x$
Tratamento CA	$Y = 19.66670 + 0.84486x + -0.00545x^2$
Tratamento CASM	$Y = 14.85076 + 0.96260x + -0.00636x^2$
<b>pH Ruminal</b>	$Y = 6.68107 + -0.20398x + 0.02177x^2$
<b>Amônia Ruminal</b>	$Y = 13.06053 + 4.87206x + -0.70526x^2$
<b>AGV Total</b>	$Y = 71.41992 + -5.77505x + -0.76944x^2$
<b>Concentração ácido acético</b>	$Y = 63.4111 + 2.5203 x + -0.3827 x^2$

Continua

<b>Gráficos</b>	<b>Equação</b>
<b>Concentração ácido propiônico</b>	$Y = 21.7881 + -1.0340 x + 0.2140 x^2$
<b>Concentração ácido butírico</b>	$Y = 13.7747 + -1.1616x + 0.1544 x^2$
<b>Concentração Proporção acético:propiônico</b>	
Tratamento CRTL	$Y = 2.42812 + 0.28433x + -0.01774x^2$
Tratamento SC	$Y = 5.11310 + -0.86344x + 0.07993x^2$
Tratamento CA	$Y = 3.4350 + -0.1203x + 0.01441 x^2$
Tratamento CASM	$Y = 3.58123 + -0.10383x + -0.00433x^2$
<b>Entodinium</b>	$Y = 31.4348 + -1.9246x + 0.1495 x^2$
<b>Diplodinium</b>	$Y = 1.1060 + -0.2118x$
<b>Epidinium</b>	$Y = 0.5079 + -0.04667x + 0.003735x^2$
<b>Isotricha</b>	$Y = 0.5079 + -0.04667x$
<b>Dasytricha</b>	$Y = 0.5079 + -0.04667 x$
<b>Eudiplodinium</b>	$Y = 0.5079 + -0.04667x$
<b>Ostracodinium</b>	$Y = 0.5079 + -0.04667x$
<b>Conclusão</b>	