

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

JOSIANE HERNANDES ORTOLAN

**Efeito de aditivos no metabolismo  
ruminal e parâmetros sanguíneos em  
bovinos**

JOSIANE HERNANDES ORTOLAN

**Efeito de aditivos no metabolismo ruminal e parâmetros  
sanguíneos em bovinos**

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

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Orientador: Prof. Dr. Marcus Antonio Zanetti

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

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

078e           Ortolan, Josiane Hernandes  
              Efeito de aditivos no metabolismo ruminal e parâmetros  
              sanguíneos em bovinos / Josiane  
              Hernandes Ortolan. -- Pirassununga, 2010.  
              66 f.  
              Tese (Doutorado) -- Faculdade de Zootecnia e  
              Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo.  
              Departamento de Zootecnia.  
              Área de Concentração: Qualidade e Produtividade  
              Animal.  
              Orientador: Prof. Dr. Marcus Antonio Zanetti.

              1. Levedura 2. Virginiamicina 3. Bicarbonato ruminal  
              4. Degradação 5. Amônia ruminal 6. Protozoários.  
              I. Título.

## DEDICATÓRIA

**“Meu estímulo, fé e energia para assumir minhas  
empreitadas são nutridas no amor que sinto pela minha  
família”**

Aos meus pais **José** e **Marlene**, pelo incentivo e apoio nos momentos difíceis e por sempre estarem presentes na Minha Vida, acreditando em mim.

A minha filha **Maria Eduarda**, razão da minha batalha e motivo das minhas vitórias de hoje e sempre.

Ao meu esposo **Mauro**, pela Companhia, Amor, Dedicção, Respeito e Cumplicidade nesses anos, sem você não teria conseguido.

As minhas irmãs **Josilene** e **Josimara**, por me ensinarem o valor da fraternidade.

**Amo vocês!**

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente a Deus por tornar tudo possível.

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

Ao Prof. Dr. Marcus Antonio Zanetti, pela orientação e apoio na execução do projeto, parte fundamental para o sucesso dessa empreitada.

Ao Prof. Dr. Alexander Spers, que acreditou em mim e me ajudou a chegar até aqui.

Ao Prof. Dr. Ives Cláudio da Silva Bueno, pela importante ajuda no entendimento das degradabilidades.

Ao Prof. Dr. Saulo Luz e Silva, por esclarecer minhas dúvidas de estatística, e por termina lás.

Ao Prof. Dr. Raul Franzolin Neto, por permitir que algumas das análises fossem feitas em seu laboratório.

Ao Prof. Dr. José Carlos Nogueira Filho, por ter realizado a leitura dos protozoários.

A Prof. Dr. Catarina e seus funcionários do laboratório de bromatologia (Roseli e Rosilda) e do laboratório de proteína (Rafael).

A todos os funcionários da FZEA, em especial do departamento de Zootecnia, que direta ou indiretamente ajudaram na elaboração e execução desse trabalho, fica aqui o meu muito obrigada.

Aos professores do curso de Pós-Graduação em Zootecnia (Qualidade e Produtividade Animal) da FZEA, pela transmissão de conhecimentos e amizade.

Aos meus amigos, Obrigada.

*Um sonho feito de idéias foi lapidado pelas  
dificuldades, impulsionado pelo desejo de acertar e  
fortalecido pelo medo de errar.*

*A compreensão de alguns nos confortou.  
Os obstáculos colocados por outros nos desafiaram.*

*E aqui chegamos...*

*Com a certeza de que durante todo tempo o nosso  
objetivo foi fazer destes dias algo especial e  
inesquecível.*

*Se não houver frutos, valeu a beleza das flores.*

*Se não houver flores, valeu a sombra das folhas.*

*Se não houver folhas, valeu a intenção da semente.*

"Exige muito de ti e espera pouco dos outros. Assim, evitaras muitos aborrecimentos"

CONFÚCIO

O sucesso é uma coleção de  
detalhes bem cuidados.  
O fracasso???  
...O fracasso é exatamente esses  
mesmos detalhes, mas  
deixados de lado.

ROBERTO SHINYASHIKI

## RESUMO

ORTOLAN, J.H.B. **Efeito de aditivos no metabolismo ruminal e parâmetros sanguíneos em bovinos**. 2010. 66f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2010.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos de três diferentes aditivos (Levedura, Virginiamicina e Bicarbonato de sódio) na dieta de bovinos composta de 30% de silagem de milho e 70% de concentrado sobre alguns parâmetros do metabolismo ruminal (concentração de amônia, pH, protozoários ciliados), degradabilidade *in situ* da dieta e alguns parâmetros sanguíneos (pH, PCO<sub>2</sub>, PO<sub>2</sub>, TCO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub>, Beefc, sO<sub>2</sub> e lactato). Para tanto, quatro bovinos zebuínos, machos castrados, da raça Nelore, com cânulas ruminais e peso vivo médio de 295 Kg, foram utilizados em um experimento em quadrado latino 4 x 4 com 10 dias de adaptação e sete dias de colheita de amostras em cada período. Os animais foram alojados em galpão de alvenaria, com cochos e bebedouros individuais. No geral, houve uma diferença significativa no pH em todos os tratamentos nas primeiras 2 horas após a alimentação (P<0,05), entretanto, não houve diferença entre os tratamentos nesse período. Já em relação aos parâmetros sanguíneos, o tratamento virginiamicina apresentou menor valor de pH em relação ao tratamento levedura (P<0,10). No entanto, os tratamentos controle e bicarbonato de sódio não apresentaram diferença estatística (P<0,10). Houve um aumento na concentração de oxigênio saturado (sO<sub>2</sub>) no tratamento levedura, enquanto no tratamento virginiamicina, o valor encontra se diminuído. Não houve diferença estatística entre os demais tratamentos (P>0,05). Os demais parâmetros não apresentaram diferenças estatísticas (P>0,05). Houve diferença significativa entre os tratamentos em todos os tempos. O tratamento com bicarbonato de sódio obteve maior concentração de protozoários, deferindo dos demais (P<0,05). Os tratamentos levedura e virginiamicina, não diferiram entre si (P>0,05). O tratamento controle apresentou a menor concentração de protozoários em relação aos demais tratamentos (P<0,05). Não houve efeito significativo nos valores encontrados (P>0,05) para amônia ruminal. Na degradabilidade, apenas o coeficiente de degradabilidade da matéria seca (CDMS) diferiu estatisticamente dos outros tratamentos (P<0,05).

**Palavras-chave:** amônia ruminal, bicarbonato de sódio, degradação, levedura protozoários, virginiamicina.



## ABSTRACT

ORTOLAN, J.H. **Effect of additive in the metabolism ruminal and sanguine parameters in cattle.** 2010. 66f. Thesis (Doctorate) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, Brazil, 2010.

The present work had as objective evaluates the effects of three different additive (Yeast, Virginiamycin and Bicarbonate of sodium) in the diet of bovine composed of 30% of corn silage and 70% of concentrated on some parameters of the metabolism ruminal (concentration of ammonia, pH, protozoa ciliated), degradability *in situ* of the diet and some sanguine parameters (pH, PCO<sub>2</sub>, PO<sub>2</sub>, TCO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub>, Beefc, sO<sub>2</sub> and lactato). For so much, four bovine zebu, castrated males, of the race Nelore, with stems ruminant and medium alive weight of 295 Kg, they were used in an experiment in Latin square 4 x 4 with 10 days of adaptation and seven days of crop of samples in each period. The animals were housed at masonry hangar. In the general, there was a significant difference in the pH in all of the treatments in the first 2 hours after the feeding ( $P < 0.05$ ), however, there was not difference among the treatments in that period. Already in relation to the sanguine parameters, the treatment virginiamycin presented smaller pH value in relation to the treatment yeast ( $P < 0.10$ ). However, the treatments control and bicarbonate of sodium didn't present statistical difference ( $P < 0.10$ ). There was an increase in the concentration of oxygen saturated (sO<sub>2</sub>) in the treatment yeast, while in the treatment virginiamycin, the value finds if decreased. There was not statistical difference among the other treatments ( $P > 0.05$ ). The other parameters didn't present statistical differences ( $P > 0.05$ ). There was significant difference among the treatments in all of the times. The treatment with bicarbonate of sodium obtained larger concentration of protozoa, granting of the others ( $P < 0.05$ ). The treatments yeast and virginiamycin didn't differ amongst themselves ( $P > 0.05$ ). The treatment control presented to smallest concentration of protozoa in relation to the other treatments ( $P < 0.05$ ). There was not significant effect in the found values ( $P > 0.05$ ) for ammonia ruminal. In the degradability, just the coefficient of degradability of the matter dries (CDMS) differed of the other treatments ( $P < 0.05$ ).

**Key words:** ruminal ammonia, bicarbonate of sodium, degradation, yeast, virginiamycin, protozoa.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Patogenia da acidose ruminal e da acidose metabólica.....	15
Figura 2 - Valores de pH dos animais recebendo os tratamentos CRTL (controle) LEV (levedura), VIRG (virginiamicina) e BICAR (bicarbonato de sódio) em diferentes tempos de coleta.....	34
Figura 3 - Efeitos dos tratamentos CRTL (controle) LEV (levedura), VIRG (virginiamicina) e BICAR (bicarbonato de sódio) sobre a concentração total de protozoários ciliados no líquido ruminal em diferentes tempos de coleta.....	39
Figura 4 - Efeitos dos tratamentos CRTL (controle) LEV (levedura), VIRG (virginiamicina) e BICAR (bicarbonato de sódio) sobre a concentração de protozoários ciliados do gênero <i>Entodinium</i> no líquido ruminal em diferentes tempos de coleta .....	41
Figura 5 - Efeitos dos tratamentos CRTL (controle) LEV (levedura), VIRG (virginiamicina) e BICAR (bicarbonato de sódio) sobre a concentração de protozoários ciliados do gênero <i>Diplodinium</i> no líquido ruminal em diferentes tempos de coleta.....	42
Figura 6 - Efeitos dos tratamentos CRTL (controle) LEV (levedura), VIRG (virginiamicina) e BICAR (bicarbonato de sódio) sobre a concentração de protozoários ciliados do gênero <i>Eudiplodinium</i> no líquido ruminal em diferentes tempos de coleta .....	43
Figura 7 - Efeitos dos tratamentos CRTL (controle) LEV (levedura), VIRG (virginiamicina) e BICAR (bicarbonato de sódio) sobre a concentração de protozoários ciliados do gênero <i>Epidinium</i> no líquido ruminal em diferentes tempos de coleta.....	44
Figura 8 - Efeitos dos tratamentos CRTL (controle) LEV (levedura), VIRG (virginiamicina) e BICAR (bicarbonato de sódio) sobre a concentração de protozoários ciliados do gênero <i>Dasytrichia</i> no líquido ruminal em diferentes tempos de coleta.....	45
Figura 9 - Efeitos dos tratamentos CRTL (controle) LEV (levedura), VIRG (virginiamicina) e BICAR (bicarbonato de sódio) sobre a concentração de protozoários ciliados do gênero <i>Ostracodinium</i> no líquido ruminal em diferentes tempos de coleta.....	46
Figura 10 - Efeitos dos tratamentos CRTL (controle) LEV (levedura), VIRG (virginiamicina) e BICAR (bicarbonato de sódio) sobre a concentração de	

protozoários ciliados do gênero *Isotricha* no líquido ruminal em diferentes tempos de coleta.....47

Figura 11 - Valores da concentração de amônia no líquido ruminal dos animais submetidos aos tratamentos controle (CTRL), levedura (LEV), virginiamicina (VIRG) e bicarbonato de sódio (BICAR).....50

Figura 12 - Valores estimados dos coeficientes de degradabilidade da matéria seca (CDMS), fibra detergente neutro (CDFDN) e fibra detergente ácido (CDFDA) em diferentes tempos de incubação.....52

Figura 13 - Efeitos dos tratamentos CTRL (controle) LEV (levedura), VIRG (virginiamicina) e BICAR (bicarbonato de sódio) sobre o coeficiente de degradabilidade da proteína bruta (CDPB) em diferentes tempos de coleta .....53

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição percentual da dieta basal, em base seca.....	26
Tabela 2 - Médias dos valores do pH para os tratamentos controle (CTRL), levedura (LEV), virginiamicina (VIRG) e bicarbonato (BICAR), nos diferentes tempos.....	32
Tabela 3 - Médias dos valores dos parâmetros sanguíneos nos tratamentos controle (CTRL), levedura (LEV), virginiamicina (VIRG) e bicarbonato (BICAR).....	36
Tabela 4 - Médias dos valores da concentração de protozoários ciliados (numero de protozoários x 10 <sup>4</sup> /mL) presentes no líquido ruminal dos animais submetidos aos tratamentos controle (CTRL), levedura (LEV), virginiamicina (VIRG) e bicarbonato (BICAR).....	38
Tabela 5 - Concentração de amônia (mg/100mL) presente no líquido ruminal dos animais submetidos aos tratamentos controle (CTRL), levedura (LEV), virginiamicina (VIRG) e bicarbonato (BICAR).....	49
Tabela 6 - Efeito dos tratamentos sobre os coeficientes de degradabilidade (CD) da fibra detergente neutro (FDN) e fibra detergente ácido (FDA), da degradabilidade potencial (Dp) e da degradabilidade efetiva (De) da fibra detergente neutro (FDN) e fibra detergente ácido (FDA).....	55
Tabela 7 – Cinética da degradabilidade ruminal da matéria seca (MS) e proteína bruta (PB) sobre os tratamentos propostos.....	56

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	12
2 REVISÃO DE LITERATURA .....	14
2.1 Acidose Ruminal .....	14
2.2 Aspectos que afetam o pH.....	16
2.3 Leveduras .....	17
2.4 Virginiamicina.....	20
2.5 Tamponantes .....	22
3 OBJETIVO.....	24
4 MATERIAL E MÉTODOS .....	25
4.1 Local .....	25
4.2 Animais .....	25
4.3 Alimentação e tratamentos .....	25
4.4 Período experimental .....	26
4.5 Parâmetros avaliados .....	27
4.5.1 pH ruminal .....	27
4.5.2 Parâmetros sanguíneos .....	27
4.5.3 Protozoários Ciliados – Quantificação e Identificação.....	28
4.5.4 Amônia .....	28
4.5.5 Degradabilidade in situ .....	29
4.5.6 Análise estatística.....	31
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
5.1 pH do Líquido ruminal .....	32
5.2 Parâmetros sanguíneos .....	35
5.3 Protozoários Ciliados .....	37
5.4 Amônia.....	47
5.5 Degradabilidade Ruminal.....	50
6 CONCLUSÕES .....	57
7 REFERÊNCIAS .....	58

## 1 INTRODUÇÃO

A incessante busca em aumentar a eficiência alimentar e a diminuição de custos na pecuária demonstra o crescente interesse pelo uso de aditivos na bovinocultura de corte.

O Ministério da Agricultura define aditivo como substância intencionalmente adicionada ao alimento com finalidade de conservar, intensificar ou modificar suas propriedades, desde que não prejudique seu valor nutritivo.

Alguns pesquisadores sugerem o uso de outros termos, como “pró-nutrientes” ou mesmo “promotores de produção” ao invés de “aditivos”, uma vez que esse tem conotação pouco saudável para o consumidor de hoje. No entanto, continua se usando o termo “aditivo” quando se trata de nutrição animal. Nesse mesmo contexto, serão abordados antibióticos, probióticos e tamponantes.

Antibióticos são substâncias produzidas por microrganismos que impedem o crescimento microbiano. Na década de 50 eram usadas apenas no combate a infecções, porém logo descobriu-se que doses sub-terapêuticas fornecidas diretamente na alimentação animal resultaria em melhores desempenhos.

A inclusão de antibióticos em rações para bovinos além de melhorar a saúde e o desempenho do animal pode trazer diferentes benefícios ao meio ambiente. A inclusão da virginamicina reduz a produção de metano e a quantidade de nitrogênio excretado pelas fezes e urina, melhorando a qualidade do ar e da água respectivamente (TEDESCHI; FOX; TYLUTKI, 2003).

Probióticos alteram a população presente no trato gastrointestinal, resultando em maior digestão e proteção quanto a disfunções fisiológicas e doenças. São produtos produzidos a partir de culturas de organismos vivos não patogênicos.

Já tamponantes são substâncias usadas com intuito de diminuir as variações no pH do trato digestivo, em especial o rúmen. Dietas ricas em concentrado resultam em maior fermentação de carboidratos não estruturais (CNE), e conseqüentemente, uma menor capacidade tamponante do rúmen, em função de um menor estímulo a salivação, tudo isso levando a uma redução no pH ruminal, podendo chegar a um quadro de acidose.

Um outro aspecto a ser evidenciado é que o uso de aditivos apresenta potencial para reduzir a quantidade de matéria prima necessária para produzir a mesma quantidade de carne (LANNA; MEDEIROS, 2007).

É importante ressaltar que existe atualmente uma grande restrição ao uso de antibióticos em dietas destinadas a bovinos, havendo até uma proibição do seu uso pelos países da comunidade Européia. Neste contexto, a incessante busca por substitutos a esses aditivos é de grande importância nesse momento.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Acidose Ruminal

A rápida fermentação dos carboidratos solúveis pela microbiota ruminal forma inicialmente uma grande quantidade de ácidos graxos voláteis. Normalmente, os AGV's são produzidos em pequenas quantidades, sendo o ácido acético em maior quantidade (70%), sobre o ácido propiônico (ao redor de 20%), e o butírico (próximo a 8%). No entanto, devido a presença de alimentos adequados nas primeiras horas de fermentação, ocorre uma grande produção de ácido propiônico, podendo chegar a 40% dos AGV's totais, como consequência ocorre uma diminuição do percentual de ácido acético (DUNLOP, 1972).

Com esse aumento na produção de ácidos ocorre uma queda do pH ruminal podendo chegar a 5,4. Essa acidificação provoca inicialmente a morte dos protozoários e parte das bactérias gram negativas encontradas no rúmen. Também, ocorre a diminuição das atividades das bactérias lácticas, que transformam o ácido láctico em ácido propiônico. Essa acidificação também pode estar associada a grande presença de alimento favorável que pode promover o crescimento de bactérias do gênero *Streptococcus bovis*, que tem a capacidade de converter o amido ou a glicose em ácido láctico. A diminuição do pH abaixo de 4,8 favorece a multiplicação de *Lactobacillus spp*, que assim como o *Streptococcus bovis*, também irão formar ácido láctico como produto final da fermentação. O ácido láctico normalmente não ultrapassa a concentração de 1mMol/L no líquido ruminal, enquanto que um animal com acidose láctica pode atingir teores superiores a 120 mMol/L.



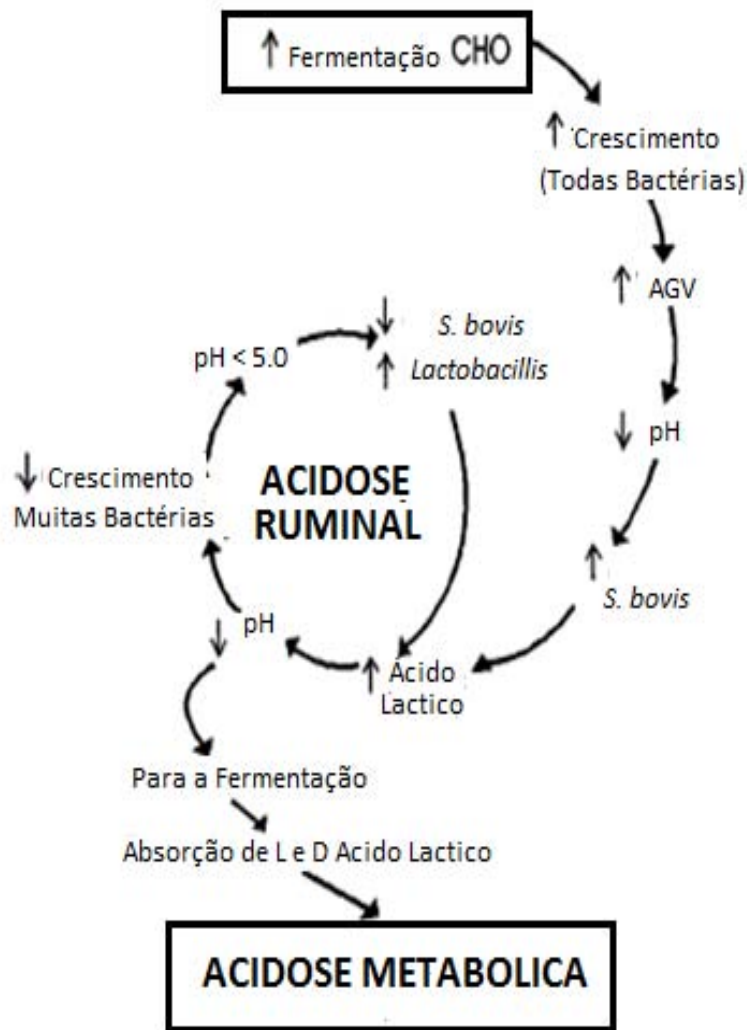


Figura 1 - Patogênese da acidose ruminal e da acidose metabólica.

Uma pequena parte do ácido láctico acumulado no rúmen é absorvida para a corrente circulatória. De acordo com Williams e Mackenzie (1965), quanto menor for o pH do líquido ruminal e maior for a movimentação do rúmen, maior será a absorção de ácido láctico. Uma vez absorvido, o ácido irá se dissociar em lactato e íons  $H^+$ , que por sua vez, combinar-se-á com o bicarbonato a fim de manter a homeostase sanguínea. Quanto maior for a absorção de íons  $H^+$  do rúmen, maior

será o dispêndio de bicarbonato e menor será o pH sanguíneo, podendo desencadear uma acidose metabólica (CARLSON,1997).

A desidratação pode agravar o problema por causa da redução da volemia, causada pela perda de fluidos orgânicos para o rúmen. Quanto maior for o grau de desidratação, maior será o hematócrito, o déficit de volume plasmático e a concentração de creatinina sérica (MENDES NETTO, 1997).

A concentração sanguínea de lactato extremamente aumentada na acidose láctica está relacionada com a queda do pH sanguíneo (RADOSTITS et al., 1995).

Varias são as medida dietéticas para prevenção da acidose láctica. Recomenda se a utilização da dieta total, onde o concentrado é oferecido juntamente com o alimento fibroso (volumoso), e também que o arraçoamento seja fracionado em pelo menos 2 vezes ao dia (PRESTON, 1995).

Outra medida intensamente utilizada e muito pesquisada é o uso de tampões (bicarbonato ou calcário) oferecidos junto com a dieta. Também, o uso de ionóforos, antibióticos e probióticos, são amplamente recomendados para melhorias no metabolismo ruminal, diminuindo drasticamente a incidência de acidose em bovinos.

## **2.2 Aspectos que afetam o pH**

O rúmen caracteriza-se por ser um meio anaeróbico, com temperatura variando de 38°- 40°C, ideal para o desenvolvimento dos microorganismos possuindo um pH que pode variar de acordo com a dieta fornecida. De acordo com Church, (1979), os organismos celulolíticos crescem com um pH em torno de 6,7, sendo que níveis acima ou abaixo deste valor podem ser prejudiciais.

Stewart (1977) demonstrou que a digestão da fibra foi inibida quando o pH caiu de 6,9 para 6,0, também havendo redução das bactérias celulolíticas de  $10^6$  para  $10^3$ /mL. Mould et al (1984) observaram que níveis inferiores a 6,0 resultaram em depressão severa na digestão da fibra dando a entender que de alguma forma a celulólise era praticamente interrompida nestes níveis de pH.

Hoover (1986) observou que reduções com duração moderada do pH, entre as faixas de 5,8 a 6,2, causaram uma diminuição transitória na digestão da FDN, sendo possível de ser controlada via tamponamento ruminal ou estratégias de alimentação. Porém, a permanência de pH abaixo de 6,0 por longo período de

tempo, poderia causar diminuição de microrganismos celulolíticos do ambiente ruminal, reduzindo a concentração destes no fluido, afetando a digestão da fibra.

Algumas bactérias celulolíticas, como a *Ruminococcus albus*, toleram a flutuação do pH interno quando o pH externo caiu, porém o crescimento cessa de qualquer forma em pH menor que 6,0, possivelmente pela inabilidade do processo enzimático em operar nestas condições (RUSSELL & CHOW, 1993).

De acordo com Marinho (1983) o desenvolvimento e a distribuição dos protozoários ciliados no rúmen são influenciados pelas relações que eles estabelecem entre si e com a comunidade bacteriana.

Tanto a composição química da dieta como o manejo alimentar está relacionado com o valor do pH ruminal. A frequência do fornecimento do alimento, notadamente alto teor de concentrado, quanto mais parcelado for seu fornecimento, menor será a flutuação de pH.

Owens et al.,(1996) afirmaram ser possível induzir o quadro de acidose ruminal mediante a retirada do alimento por 12 a 24 horas e o súbito fornecimento de uma vez e meia a quantidade diária ingerida.

Allen e Beede (1996) observaram que o fornecimento de grande quantidade de concentrado de uma só vez leva a produção excessiva de ácidos graxos voláteis, superando a capacidade de remoção destes, levando a seu acúmulo no rúmen e a redução do pH. Desta forma o parcelamento do fornecimento do concentrado ao longo do dia ou misturado ao volumoso irá minimizar os problemas relacionados a acidose ruminal.

Além da divisão do fornecimento da dieta, a composição química esta intimamente relacionada com o pH do líquido ruminal que ira fornecer ou inibir o aparecimento de espécies de protozoários ciliados. Os componentes energéticos das dietas são fatores essenciais que determinam a concentração de micro populações do rúmen (Church, 1976).

### **2.3 Leveduras**

As leveduras, principalmente *Saccharomyces cerevisiae*, têm sido usadas na alimentação animal há várias décadas como probiótico de maior interesse na nutrição animal, pelos benefícios que provoca na digestão.

Probióticos são culturas de microorganismos viáveis supostamente capazes de contribuir para melhorar o equilíbrio da flora microbiana no tubo digestivo e conseqüentemente a saúde e produtividade do animal hospedeiro.

De acordo com Martin & Nisbet (1992), as culturas de leveduras podem operar modificando a fermentação ruminal fundamentalmente de duas formas: fornecendo fatores estimulatórios para as bactérias do rúmen e absorvendo o oxigênio que entra no ambiente ruminal. Os principais fatores estimulatórios parecem ser os ácidos dicarboxílicos fornecidos pelas culturas de leveduras, particularmente o ácido málico, que podem favorecer o crescimento e a atividade das bactérias utilizadoras de ácido láctico e prevenir flutuações perigosas do pH ruminal. Assim, o pH do rúmen torna-se mais estável, a metanogênese e a proporção de ácidos graxos voláteis são alteradas, conseqüentemente, a concentração de ácido láctico diminui.

Segundo Dawson (1992), a utilização de leveduras promove um maior desenvolvimento dos microorganismos ruminais, em especial determinados grupos de bactérias benéficas ao processo fermentativo, como as bactérias celulolíticas, que são utilizadoras de ácido láctico; As proteolíticas, além das bactérias que convertem o hidrogênio molecular em acetato no rúmen e também de protozoários ruminais.

De acordo com Plata et al. (1994), pesquisas comprovaram o aumento do número de protozoários ciliados que pode estar ligado aos efeitos promovidos pelos fatores nutricionais das leveduras. No entanto, Callaway & Martin (1997) e Wu (1997) observaram redução do número de protozoários ciliados quando incluída levedura na dieta.

A grande afinidade das culturas de leveduras por oxigênio melhora as condições ruminais para os microorganismos anaeróbios. Embora o conteúdo ruminal seja essencialmente anaeróbio, pequenas concentrações de oxigênio dissolvido provenientes do alimento e da saliva podem ser encontradas. Assim, segundo Newbold et al. (1996), na presença de cultura de levedura, são estimulados a atividade e o crescimento das bactérias ruminais, principalmente as celulolíticas, sendo que as bactérias que utilizam ácido láctico são estimuladas pela presença de ácidos dicarboxílicos, principalmente o ácido málico (Nisbet & Martin, 1991).

Com o aumento no número de bactérias celulolíticas, a taxa de degradação ruminal e a digestibilidade aparente da matéria seca (MS), especialmente da fibra, tendem a se elevar. A utilização de amônia, a síntese e o fluxo de proteína

microbiana para o duodeno também podem aumentar como consequência da maior atividade das bactérias do rúmen. Tudo isso pode contribuir para melhorar o consumo de matéria seca, a eficiência do metabolismo energético e o desempenho animal (Newbold et al., 1996).

O uso de *Saccharomyces cerevisiae* na alimentação ruminantes tem visado melhorar a digestibilidade da fibra em animais de produção (WALLI, 1994), com isso, tem sido considerado um potencial aditivo alimentar que melhora a digestão da FDN em forragem de baixa qualidade (AYALA et al., 1992; SOMMART et al., 1993).

Williams et al. (1991), observaram aumento na digestibilidade da matéria seca apenas no período inicial de digestão após exposição à levedura. Esse efeito poderia ser explicado pelo aumento da taxa inicial de digestão da celulose, sem aumento na extensão de digestão da celulose, relatado por Callaway & Martin (1997).

Entre os fatores que podem interferir na resposta dos animais suplementados com a levedura, enfatiza-se o tipo de forrageira, a proporção volumoso:concentrado, o período em que o suplemento é ofertado e o nível de suplementação, elucidando assim a inconsistência dos resultados obtidos na literatura relacionada ao uso de cultura de levedura para bovinos de corte.

A relação volumoso:concentrado da dieta é um fator determinante no efeito das leveduras. Carro et al. (1992) trabalhando com diferentes níveis de concentrado, observaram que os efeitos benéficos da adição de leveduras sobre os parâmetros da fermentação e degradação da fibra se manifestaram com o maior nível de concentrado (70%).

Iwanska et al. (1999) sugeriram ser necessário um período de cerca de duas semanas, como o período de adaptação utilizado por Piva et al. (1993), para que a microflora e microfauna se adaptem ao aporte de levedura e a fermentação ruminal seja estabilizada.

Nos estudos conduzidos por Piva et al. (1993), as concentrações de NH<sub>3</sub> e pH ruminal diminuíram, porém o total de AGV presentes no rúmen não foi alterado, exceto a proporção molar de acetato e a relação acetato:propionato, que foram significativamente aumentadas.

Há, entretanto, dúvidas que mudanças na digestão e fermentação ruminal possam ser responsáveis pelo aumento no desenvolvimento produtivo dos animais. A adição de leveduras nas dietas aumenta a concentração de ácidos graxos voláteis

(MUTSVANGWA et al., 1992) e a proporção molar de propionato (HARRISON et al., 1988), diminui o conteúdo de ácido láctico no fluido ruminal (ERASMUS et al., 1992) e também causa aumento na degradação ruminal da fibra (CHADEMANA e OFFER, 1990).

Segundo Wallace (1994), o uso de culturas dos fungos *Saccharomyces cerevisiae* e *Aspergillus oryzae*, ou seus extratos, pode melhorar o ganho de peso e a produção de leite com intensidade semelhante aos ionóforos (7,0% - 8,0%), decorrentes da resposta ao aumento na ingestão de matéria seca. E ainda, as respostas são variáveis e dependentes da quantidade oferecida e do tipo de dieta.

## 2.4 Virginiamicina

O uso de antibióticos para bovinos é pouco explorado no Brasil, porém a virginimicina tem apresentado efeitos significativamente positivos sobre eficiência alimentar e ganho de peso, tanto para monogástricos, como para ruminantes. No caso de ruminantes, promove uma maior inibição na produção de lactato em relação a outros aditivos (LANNA; MEDEIROS, 2007).

A virginiamicina é um antibiótico da classe das estreptograminas produzidas por uma linhagem mutante de *Streptomyces virginiae*, originalmente encontrada em solos belgas (DeSOMER; VAN DIJCK, 1955), formada por dois componentes químicos diferentes, fator M ( $C_{28}H_{35}N_3O_7$ ) e fator S ( $C_{43}H_{49}N_7O_{10}$ ) (CROOY; DE NEYS, 1972).

Diferente dos ionóforos em geral, que alteram o transporte de cátions através das membranas celulares (BERGEN e BATES, 1984), seu modo de ação se descreve atuando principalmente contra bactérias gram positivas, tanto anaeróbicas quanto as aeróbicas, porém não tem efeito sobre a maioria das bactérias gram negativas em função da impermeabilidade da parede celular (COCITO, 1979). No interior das células, ambos os fatores (M e S) se ligam especifica e irreversivelmente a subunidades dos ribossomos, inibindo a formação de ligações peptídicas durante a síntese de proteína, o que causa redução do crescimento (bacteriostase) ou morte da célula bacteriana (atividade bactericida).

Por atuar alterando a população de bactérias presente no rúmen, a virginiamicina apresenta capacidade de estabilizar a fermentação ruminal.

Estudos sugeriram um aumento na concentração de ácido propiônico e redução na produção de amônia e hidrogênio (precursor do metano). Também sugeriram que a virginiamicina apresenta maior controle sobre a produção de lactato que a monensina, por apresentar ação direta sobre as espécies produtoras de lactato (HEDDE et al., 1980; NAGARAJA et al., 1987).

Coe et al. (1999) avaliaram os efeitos da virginiamicina e também da monensina (ionóforo) sobre a fermentação e população microbiana ruminal em bovinos alimentados com dieta de alto concentrado durante uma brusca adaptação. Embora os animais não tenham apresentado sinais ou sintomas de acidose, a presença de *Lactobacillus* e *Streptococcus bovis* foram menores para os animais tratados com virginiamicina, quando comparado aos animais que recebiam o tratamento com monensina.

Em outro experimento, Coe et al. (1999) induziram um quadro de acidose em seis novilhos holandeses administrando uma mistura aquosa de amido e grãos moídos de milho diretamente no rúmen. Comparando com o controle, a virginiamicina e a monensina proporcionaram um pH maior, porém a virginiamicina mostrou maior pH a 3, 6, 9 e 12 horas após a administração dos carboidratos, em contrapartida, a monensina só apresentou aumento de pH as 6 horas após a indução. Esse mesmo trabalho mostrou a efetividade da virginiamicina em reduzir a produção de ácido láctico em relação aos demais tratamentos. Enquanto a concentração de lactato obteve valores de 19,4 mM no tratamento controle e 15,8 mM no tratamento com monensina, a concentração nos animais tratados com virginiamicina permaneceu abaixo de 2 mM.

Além de melhorar a saúde e o desempenho animal, a inclusão de ionóforos e antibióticos em rações para gado de corte ocasionam diversos benefícios ao meio ambiente. A melhoria da qualidade do ar através da redução na quantidade de metano emitida e na quantidade de nitrogênio excretado. Além disso, pode se observar uma melhora na qualidade da água proveniente da redução de nitrogênio nas fezes e urina, que pode alcançar o lençol freático por lixiviação (TEDESCHI; FOX; TYLUTKI, 2003).

Desde 1998, a União Européia (UE) vem tentando abolir o uso de antibióticos como promotores de crescimento, mesmo sem dados epidemiológicos, que sugerissem que o uso desses aditivos em animais de produção pudesse aumentar a prevalência de doenças infecciosas em humanos, em decorrência de se criar

resistência a certos antibióticos, diminuindo a sua eficiência. No entanto vale ressaltar que essas decisões sem aplicam somente ao uso doméstico destes produtos na UE (PERES; SIMAS, 2006).

Segundo Lanna e Medeiros (2007), hoje em dia, o Brasil exporta carne para mais de 170 países, sendo que cada um possui legislações diferentes quanto as restrições do uso de aditivos. Vale ressaltar também que essas proibições sem embasamento científico acarretam em aumento no custo de produção, diminuindo a competitividade da carne bovina brasileira.

## **2.5 Tamponantes**

São substancias usadas com intuito de diminuir as variações do pH do rúmen, mantendo os parâmetros nas condições normais em função da fermentação ruminal. A faixa ideal do pH para a degradabilidade da fibra fica entre 6.2 e 6.8, havendo grande alteração na degradabilidade ruminal quando os valores de pH se apresentem inferiores a normalidade.

Animais em pastejo não apresentam necessidade do uso de tamponantes, pois a pastagem é rica em fibra que estimula a produção de saliva que é rica em tamponantes. Além disso, a concentração de carboidratos não estruturais (CNE) na forragem não sobrecarrega o sistema de tamponamento do rúmen, diferente das dietas de confinamento, ricas em CNE, que necessitam do aditivo para manter a estabilidade da fermentação ruminal.

Os tamponantes mais utilizados na bovinocultura são: bicarbonato de sódio, bicarbonato de potássio, óxido de magnésio e carbonato de cálcio. Como já dito, os tamponantes são muito utilizados em confinamentos com alto teor de concentrado (CNE), em dietas ricas de silagem de milho e de grãos úmidos, e também, em sistemas onde o concentrado é oferecido separadamente do volumoso, pois o animal tende a ingerir o concentrado de uma vez só (STOCK & MADER, 1999).

Um agente tamponante verdadeiro é um sal de um ácido fraco ou de um óxido ou hidróxido, que neutraliza ácidos presentes nos alimentos ou ácidos produzidos durante a digestão e metabolismo dos nutrientes (STAPLES & LOUGH, 1989).

A caracterização de um agente tamponante é dada por seu pKa, ou seja, o pH no qual metade dos seus grupos ionizáveis está ionizável. O poder tamponante é



máximo quando o pH do meio é igual ao pKa do agente tamponante (STAPLES & LOUGH, 1989).

O bicarbonato de sódio ( $\text{NaCO}_3$ ), é a substancia tamponante mais utilizadas para bovinos. Nos ruminantes a secreção de tampões fosfatos, e principalmente o bicarbonato pela saliva é um processo importante para a manutenção do pH do liquido ruminal. Neste contexto, a suplementação de tamponantes pode ser benéfica para o desempenho animal, pela neutralização dos ácidos produzidos durante a fermentação ruminal e secretados durante a digestão, isso tudo em decorrência do consumo de concentrados (PEREIRA, 2005).

Erdman (1988), relatou que o uso de tampões em dietas com baixo teor de volumoso aumenta tanto o pH ruminal como a relação acetato:propionato, especialmente em dietas contendo menos que 30% de matéria seca (MS) na forma de volumoso.

Bergamaschine, Andrade e Malheiros (1997), relataram que ração para bovinos contendo 1,4% de bicarbonato de sódio melhorou a degradabilidade da matéria seca e matéria orgânica Do farelo de algodão e do milho e que a degradabilidade da proteína bruta de ambos os alimentos não foram influenciados pelo tratamento.

Alguns resultados (BOLSEN; AXE, 1984) mostram um aumento na eficiência alimentar e conseqüente melhora no desempenho de bezerros em crescimento alimentados com rações aditivadas com 1% de bicarbonato de sódio, sugerindo que seu uso é economicamente viável.

Segundo Erdman, Hemken e Bull (1982), a adição de bicarbonato de sódio causa mudanças na digestibilidade dos nutrientes, particularmente FDN e amido em vacas de leiteiras. Esse efeito esta relacionado a digestão da fibra provocada pela manutenção do pH ruminal em uma escala (6,7 a 7,1) adequada para o crescimento e atividade das bactérias celulolíticas (MERTENS, 1979).

### **3 OBJETIVO**

Este trabalho teve o objetivo de avaliar os efeitos do uso de diferentes aditivos alimentares em dietas com elevados teores de concentrado nos parâmetros sanguíneos, fermentação e degradabilidade ruminal.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Local**

O experimento foi conduzido no estábulo experimental pertencente ao Departamento de Zootecnia (ZAZ) da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA), da USP (Universidade de São Paulo) em Pirassununga.

Os animais foram mantidos em baias individuais, providas de cochos e bebedouros automáticos, sempre mantendo uma baia vazia entre os mesmos para melhor conforto além da facilidade de manejo nos dias das colheitas.

As análises laboratoriais foram realizadas nos Laboratórios de Bromatologia e Metabolismo Ruminal do Departamento de Zootecnia da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, em Pirassununga, SP.

### **4.2 Animais**

Foram utilizados 4 novilhos da raça Nelore, com idade aproximada de 15 meses, canulados no rúmen com peso médio de 295 kg. Os animais foram pesados no início e no final de cada período experimental, sendo alojados no estábulo experimental, conforme descrito anteriormente.

### **4.3 Alimentação e tratamentos**

Os animais foram arraçoados diariamente, com dieta total dividida em dois horários de fornecimento (8:00 horas e 16:00 horas), nas proporções de 50% cada, para maior facilidade de manejo.

A dieta foi composta por silagem de milho e concentrado, formulada e oferecida com o fim de atender as exigências para ganho de peso segundo o NRC (2000).

Também, antes do fornecimento da nova alimentação, as sobras do dia anterior foram retiradas e pesadas, e semanalmente amostradas para posterior análise bromatológica, e também, realizados eventuais ajustes da quantidade da dieta oferecida no cocho para os animais.

As doses diárias de Levedura e Virginiamicina foram colocadas diretamente nas fístulas ruminais de cada animal, após serem pesadas em balança analítica e embaladas em lenços de papel. Apenas o bicarbonato de sódio foi adicionado a ração.

Tabela 1 - Composição percentual da dieta basal, em base seca.

Ingredientes do concentrado	Tratamentos (%MS)			
	CRTL	LEV	VIRG	BICAR
Fubá de milho	66,0	66,0	66,0	65,2
Farelo de soja 49%	31,0	31,0	31,0	31,0
Núcleo mineral	3,0	3,0	3,0	3,0
Bicarbonato de sódio	-	-	-	0,8
Total	100,0	100,0	100,0	100,0
<b>Dieta Total</b>				
Concentrado	70,0	70,0	70,0	70,0
Silagem de milho	30,0	30,0	30,0	30,0
Total	100,0	100,0	100,0	100,0
Nutrientes (Estimados)				
Proteína Bruta, %	13,3	13,3	13,3	13,3
Proteína degradável no rúmen, %	8,5	8,5	8,5	8,5
NDT, % <sup>1</sup>	65,5	65,5	65,5	65,5

<sup>1</sup>Estimado por intermédio de fórmula de Weiss et al. (1992).

Os animais foram submetidos à suplementação de 1,3g de virginiamicina animal/dia (VIRG), 6,0g de levedura, animal/dia (LEV), e adição 0,8% de bicarbonato de sódio (BICAR) na ração, enquanto o tratamento controle era administrado sem aditivos (CRTL). A levedura possuía um mínimo de células viáveis estimada pela empresa (ABVista – Feed ingredients) de  $1,0 \times 10^{10}$  UFC/g.

#### 4.4 Período experimental

O experimento foi executado de janeiro a março de 2009, sendo composto por 4 períodos experimentais onde cada período foi constituído por três semanas

divididas em 10 dias de adaptação e 7 dias para as colheitas das amostras de sangue, conteúdo ruminal e o ensaio de degradabilidade.

#### **4.5 Parâmetros avaliados**

##### **4.5.1 pH ruminal**

Foram colhidas amostras do líquido ruminal para determinação do pH. O fluido ruminal foi retirado do animal através de um compressor-aspirador (DIA-PUMP/FANEM Ltda.) acoplado em um kitassato e, este em um sonda de cobre perfurada em toda sua extensão, a qual percorria toda a porção transversal do rúmen de cada animal, retirando-se assim material das diferentes zonas presentes no órgão.

A medida de pH ruminal foi tomada nos tempos de 0, 2, 4, 6 e 8 horas após a primeira alimentação diária. No caso específico do tempo 8 horas, a retirada da amostra foi realizada antes da colocação do alimento oferecido no período vespertino. A amostra de líquido ruminal coletada para avaliação do pH foi aferida pelo peagâmetro digital portátil marca HANNA Instruments previamente calibrado com soluções padrões (7,0 e 4,0).

##### **4.5.2 Parâmetros sanguíneos**

O sangue foi colhido, por vasopunção da veia jugular externa, com garroteamento manual do vaso, utilizando sistema de colheita a vácuo, com tubos de vidro providos de rolha de borracha, marca Vacuntainer®.

As amostras de sangue foram colhidas 2h após a alimentação dos animais, em todos os períodos experimentais, para análise de pH,  $PCO_2$  (Pressão parcial de dióxido de carbono sanguíneo),  $PO_2$  (Pressão parcial de oxigênio sanguíneo),  $TCO_2$  (Total de dióxido de carbono sanguíneo),  $HCO_3$  (Bicarbonato), Beefc (excesso básico),  $sO_2$  (Oxigênio saturado) e lactato.

A partir das amostras foram realizadas imediatamente todas as análises citadas através de um analisador clínico portátil (i-STAT Portable Clinical Analyser). Foi colocada uma pequena alíquota de sangue direto no cartucho (CG<sup>4+</sup>), este era inserido no analisador e após alguns instantes os resultados eram fornecidos e

armazenados na memória do analisador para posterior leitura e processamento dos dados.

#### **4.5.3 Protozoários Ciliados – Quantificação e Identificação**

Os protozoários ciliados do rúmen foram avaliados através de colheitas executadas nos horários de 0 hora (antes da alimentação) e 2, 4, 6 e 8 horas após a alimentação, para estabelecer as curvas de pico de aparecimento dos gêneros de ciliados.

Foram colhidos 100 mL de líquido ruminal, por meio de bomba de sucção, sendo amostrada uma alíquota de 10 mL transferida para frascos com 20ml de formaldeído a 37% (2:1), sendo agitados imediatamente após a colheita, para fixação dos protozoários ciliados. Os frascos foram identificados com o número, período, tratamento e o tempo em que foram coletadas. As amostras permaneceram em repouso até o momento das determinações que foram executadas consoante metodologia de DEHORITY (1977).

Posteriormente, uma alíquota de 1mL de líquido ruminal foi transferida para um tubo de ensaio e coradas com 3 gotas de verde brilhante, homogeneizadas, e 24h após foi colocado 9 mL de glicerol, para posterior leitura dos principais grupos de protozoários ciliados no rúmen identificados, classificados e contados em microscopia óptica, conforme Dehority (1988).

Para a identificação das espécies, as amostras foram coradas de azul de metileno e lugol, analisadas em microscopia óptica adaptada com câmera de vídeo para captura de imagem e computador para a análise destas.

#### **4.5.4 Amônia**

Para a determinação do  $\text{NH}_3$ , foram colhidos 2 mL de líquido ruminal e colocados em frascos de vidro identificados e etiquetados, contendo 1 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1N. Estes frascos foram congelados em freezer a  $-10^\circ\text{C}$ , até posterior análise em laboratório.

A quantificação do  $\text{NH}_3$  foi executada em duplicata, seguindo a técnica de hipoclorito-fenol descrita por Broderick & Kang (1980), onde as amostras obtidas a campo e armazenadas sob congelamento foram descongeladas e adicionadas de

1mL de tungstato de sódio 10%, posteriormente as amostras foram centrifugadas a 2.000 rpm por 15 minutos, logo após foi retirados 25 µl do sobrenadante e acrescidos 5 ml de fenol e 5 ml de hipoclorito de sódio, os frascos foram colocados em banho-maria a 37° C por 15 minutos e após serem retirados e encontrando-se em temperatura ambiente, realizada a leitura em espectofotômetro a 630 nm (PERKIN ELMER - Lambda 10).

Obtidos os dados de leitura, foi feita uma análise de regressão da curva padrão, obtendo se uma equação (com R<sup>2</sup> superior a 0,99), que foi utilizada para determinar a concentração de amônia (NH<sup>3</sup>).

#### **4.5.5 Degradabilidade in situ**

Foi realizado um ensaio de degradabilidade da dieta total e mensuração das taxas de desaparecimento da MS, PB, FDN e FDA segundo metodologia de ORSKOV & McDONALD (1979) utilizando sacos de nylon medindo 10x20 cm e poros de 50 micrômetros, com 0,05g de amostra por cm<sup>2</sup> de saco de degradabilidade, perfazendo um total de 10 gramas por saquinho de degradabilidade.

Os horários de incubação ruminal foram 3, 6, 12, 24, 48, 72 e 96 horas. Para período zero 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 retirada dos sacos de náilon do rúmen, foram lavados em água corrente em balde, até que a água se apresentasse clara. Posteriormente, os sacos foram secos em estufa de ventilação forçada a 65°C por 48 horas.

Dos resíduos remanescentes nos saquinhos, foram realizadas determinações de MS, PB, FDN e FDA da dieta total oferecida, em função dos tempos de incubação e dos tratamentos utilizados, conforme descritos por Silva (2002). Posteriormente foram calculados os coeficientes de degradabilidade da MS, PB, FDN e FDA através da seguinte formula:

$$DgMS\% = [(AM * MSAM) - (RS * MSRS)] * 100 / (AM * MSAM)$$

Onde:

DgMS%: Degradabilidade da MS em porcentagem

AM: Peso da amostra da dieta

MSAM: Matéria seca da amostra da dieta

RS: Resíduo da amostra da dieta pós incubação ruminal

MSRS: matéria seca do resíduo pos incubação ruminal

Os percentuais de degradabilidade da PB, FDN e FDA foram calculados através da formula utilizada na MS, sendo apenas inseridos os valores de percentuais de PB, FDN e FDA da amostra e resido.

Das curvas obtidas dos desaparecimentos dos nutrientes no rúmen nos diversos tempos e para a estimativa do tempo de incubação zero horas (fração solúvel dos alimentos que foram incubados intraruminalmente), os dados de degradabilidade foram ajustados pelo modelo de ØRSKOV & McDONALD (1979), conforme equação:

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

Onde:

p = quantidade degradada no tempo “t”;

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

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

c = Taxa horária de degradação da fração potencialmente degradável;

e = o log natural de “-ct”.

As constantes a, b e c foram utilizadas para cálculos da degradabilidade potencial (a+b), que representa o alimento solubilizado ou degradado no rúmen quando o tempo não é fator limitante.

A degradabilidade efetiva foi estimada conforme equação de Orskov *et al.* (1980).

$$p = a + (bc)/(c+k)$$

Onde:



- p = representa a taxa de degradabilidade efetiva;
- a = interseção da curva no tempo zero, a fração rapidamente solúvel;
- b = fração potencialmente degradável, a fração degradada no tempo;
- c = Taxa horária de degradação, a fração potencialmente degradável;
- k = taxa de saída do rúmen por hora.

Orskov *et al.* (1980) relatam que k pode variar de 0,01 a 0,1. Já o A.F.R.C. (1992) recomenda a taxa de 0,05/h para gado de corte recebendo alto nível de dietas concentradas.

#### **4.5.6 Análise estatística**

O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino em esquema fatorial (4x4), conforme GOMES (1985), com 4 tratamentos.

Os dados de parâmetro sanguíneo foram analisados através de análise de variância utilizando o PROC GLM do SAS (2000), sendo as medias comparadas pelo teste de Tukey. Os demais dados foram analisados utilizando o PROC Mixed do SAS (2000). Para análises com apenas um tempo de coleta foi utilizado o nível de significância de 10% em virtude do numero reduzido de animais e nos demais casos 5%.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos durante o experimento estão expressos através das medias dos valores de cada variável estudada, sendo alocados em tabelas e gráficos.

### 5.1 pH do líquido ruminal

Os resultados médios referentes ao pH ruminal estão expostos na Tabela 2. Como pode ser verificado houve uma diferença significativa no pH em todos os tratamentos nas primeiras 2 horas após a alimentação ( $P < 0,05$ ), entretanto, não houve diferença entre os tratamentos nesse período.

Tabela 2 - Médias dos valores do pH para os tratamentos controle (CRTL), levedura (LEV), virginiamicina (VIRG) e bicarbonato (BICAR), nos diferentes tempos.

<b>Tempo (horas)</b>	<b>CRTL</b>	<b>LEV</b>	<b>VIRG</b>	<b>BICAR</b>
0h	6,99 <sup>aA</sup>	7,06 <sup>aA</sup>	7,12 <sup>aA</sup>	6,99 <sup>aA</sup>
2h	6,60 <sup>bA</sup>	6,72 <sup>bA</sup>	6,76 <sup>bA</sup>	6,69 <sup>bA</sup>
4h	6,57 <sup>bAB</sup>	6,57 <sup>bBA</sup>	6,74 <sup>bA</sup>	6,36 <sup>cB</sup>
6h	6,56 <sup>bAB</sup>	6,44 <sup>bBA</sup>	6,68 <sup>bA</sup>	6,35 <sup>cB</sup>
8h	6,56 <sup>bA</sup>	6,52 <sup>bA</sup>	6,67 <sup>bA</sup>	6,52 <sup>bcA</sup>

Médias com letras minúsculas iguais nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem entre si ( $P > 0,05$ )

Os valores mínimo e máximo do pH encontrados no líquido ruminal (6,35 e 7,12 respectivamente) estão um pouco acima do limite superior da faixa ideal para otimização da digestão da fibra e do crescimento das populações de bactérias celulolíticas, que, segundo Ørskov (1982), é de 6,5 e 6,8.

Segundo Williams et al. (1991), a elevação do pH ruminal 4 horas após o fornecimento de dieta com 50% de concentrado e suplementação com cultura de levedura provavelmente é consequência da modulação dos picos de lactato e da redução na concentração de ácido láctico no líquido ruminal. Não foi observada essa

mudança no pH dos animais recebendo o tratamento levedura, que após 2 horas os valores de pH continuaram a cair.

Os valores do pH ruminal são alterados em função da produção de saliva, acidez da dieta, produção de ácidos graxos voláteis e troca de bicarbonato através do epitélio ruminal (WHEELER,1980).

Putnam *et al.* (1997) e Erasmus *et al.* (1992), trabalhando com inclusão de levedura na dieta de bovinos, observaram os valores médios para o pH ruminal de 6,02 (sem adição de levedura) e 6,00 (com adição de levedura) e concluíram que estes não foram alterados pela adição da levedura na dieta. Os valores médios do pH ruminal encontrados nesse trabalho são mais elevados (6,65 sem aditivo e 6,66 com adição de levedura), porém, as médias são próximas.

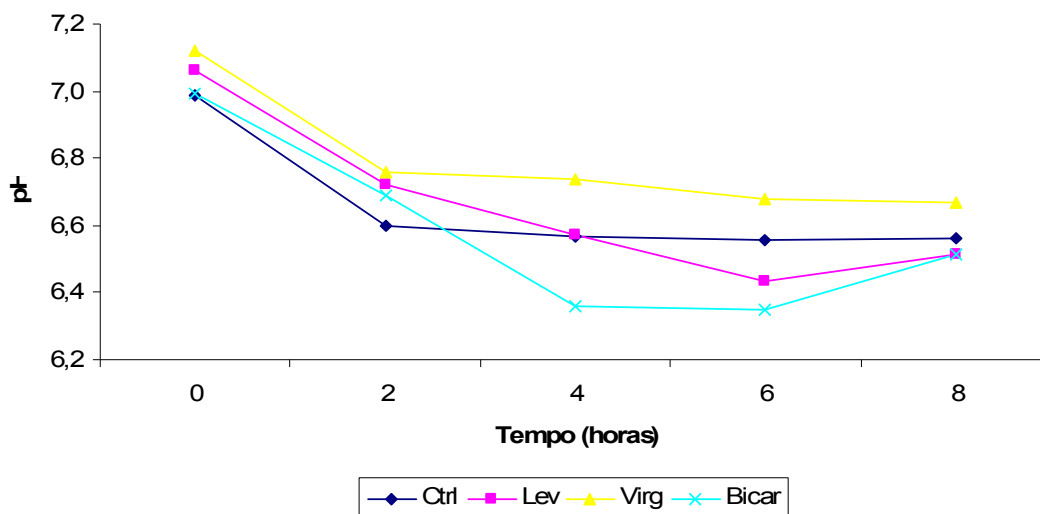
Em contrapartida Piva *et al.* (1993), constataram a diminuição do pH ruminal ( $p < 0,05$ ) quando adicionada levedura como aditivo na dieta (7,08) em comparação ao tratamento controle (7,20).

Duff *et al.* (1995), trabalhando com dietas concentradas e íonoforos não encontraram diferenças nos valores de pH ruminal, sendo compatível aos resultados encontrados nessa pesquisa.

O fornecimento de dieta com alto teor de concentrado diminui a ruminação, limita a produção de saliva e também, estimula a produção de ácidos graxos voláteis, inclusive do lactato, resultando em condições desfavoráveis a ação das bactérias celulolíticas. Todos esses fatores contribuem para a queda do pH nas primeiras horas após a alimentação.

Após 2 h, o pH não alterou de maneira significativa, mesmo continuando a cair, com exceção do tratamento com bicarbonato de sódio que apresentou uma queda significativa ( $P < 0,05$ ) de 2h para 4h e também para 6h, não sendo coerente com os dados encontrados na literatura. Com relação aos demais tratamentos, houve diferença apenas entre virginiamicina e bicarbonato de sódio as 4h e 6h, sendo a virginiamicina superior ao tratamento com bicarbonato de sódio, podendo ser que a virginiamicina apresenta maior controle sobre a produção de lactato, conforme dados de Nunes, (2008).

Figura 2 - Valores de pH dos animais recebendo os tratamentos CTRL (controle) LEV (levedura), VIRG (virginiamicina) e BICAR (bicarbonato de sódio) em diferentes tempos de coleta.



O tratamento com adição de bicarbonato de sódio manteve a média de 6,58, o que é considerado bom nutricionalmente para rações com alto teor de concentrado. A capacidade tampão do bicarbonato de sódio é conhecida e questionada, e seus efeitos no ambiente ruminal ainda são motivos de discussão na comunidade científica. Russell e Chow (1993), argumentaram que a adição de bicarbonato tem pouco ou nenhum efeito direto sobre o pH do fluido ruminal, isso por que o rúmen seria saturado com  $\text{CO}_2$  liberado em um das etapas do processo de tamponamento. Esses autores ressaltaram que o efeito desse aditivo seria em aumentar a osmolaridade, aumentando o consumo de água e salivação, e desta forma aumentando a taxa de diluição dos ácidos graxos no rúmen, bem como a taxa de passagem da fase líquida (não mensurados nesse trabalho), carreando parte do amido e ácidos graxos para fora do ambiente ruminal.

Korhn e Dunlap (1998) são contrários a essa teoria relatando que o bicarbonato de sódio como tamponante é efetivo no ambiente ruminal, sendo seu efeito dependente da pressão de  $\text{CO}_2$  a qual é controlado pela eructação o que torna possível a ação deste tamponante. Segundo esses autores, a adição de bicarbonato

de sódio resultaria na dissociação do  $\text{Na}^+$  e  $\text{HCO}_3^-$ . Alguns destes  $\text{HCO}_3^-$  seriam convertidos em  $\text{H}_2\text{CO}_3$  e então liberados na forma de  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$ , consumindo  $\text{H}^+$  nesse processo. No entanto a adição de 0,8% de bicarbonato de sódio não foi suficiente para alterar o pH do líquido ruminal.

## 5.2 Parâmetros sanguíneos

O pH do sangue é altamente tamponado e mantido dentro das variações muito estreitas pelos rins, função respiratória e sistemas tampão (BLOCK, 1990). Em novilhos, o pH sanguíneo se encontra na faixa de 7,31 a 7,53, mantidos pelos mecanismos homeostáticos do corpo. No presente trabalho os valores médios de pH sanguíneo dos novilhos estiveram dentro da faixa citada acima, variando de 7,38 a 7,44.

Os valores médios dos parâmetros sanguíneos estão apresentados na Tabela 3. Com relação ao pH sanguíneo o tratamento virginiamicina apresentou menor valor de pH em relação ao tratamento levedura ( $P < 0,10$ ).

No entanto, os tratamentos controle e bicarbonato de sódio não apresentaram diferença estatística ( $P < 0,10$ ).

A mesma situação se repete quanto às concentrações de  $\text{sO}_2$ , uma vez que os valores encontrados para os tratamentos levedura e virginiamicina diferiram estatisticamente. Houve um aumento na concentração de oxigênio saturado ( $\text{sO}_2$ ) no tratamento levedura, enquanto no tratamento virginiamicina, o valor encontra se diminuído. Não houve diferença estatística entre os demais tratamentos ( $P < 0,05$ ). A saturação de oxigênio é um fator de previsão útil da quantidade o oxigênio disponível para a perfusão do tecido. Valore baixos de  $\text{sO}_2$  consistem baixos níveis de  $\text{PO}_2$ , como pode ser evidenciado nesse trabalho.

Os demais parâmetros sanguíneos avaliados não diferiram estatisticamente em relação aos tratamentos ( $P > 0,05$ ).

Pode se inferir que os parâmetros pH e  $\text{PCO}_2$  estão intimamente ligados uma vez que quando o pH do sangue aumenta, o valor de  $\text{PCO}_2$  diminui e quando o valor do pH diminui o valor que  $\text{PCO}_2$  aumenta e vice versa. Isso ocorre, pois o  $\text{PCO}_2$  e o pH são parâmetros utilizados para a avaliação do equilíbrio ácido base. O valor  $\text{PCO}_2$  representa o equilíbrio entre a produção celular de  $\text{CO}_2$  e a remoção

ventilatória do mesmo. É uma medida da tensão ou pressão do dióxido de carbono dissolvido no sangue.

Já o  $PO_2$  é uma medida da pressão do oxigênio no sangue. Este intensamente ligado ao pH, porém diferente do  $PCO_2$ , o  $PO_2$  a medida que o pH aumenta de valor, ele aumenta também. Já o  $sO_2$  é calculado a partir do  $PO_2$ ,  $PCO_2$  e pH medidos.

O  $HCO_3$  (bicarbonato) é o tamponador mais abundante no plasma sanguíneo, é um indicador da capacidade de tamponagem do sangue. É o componente metabólico do equilíbrio ácido básico.

No entanto o valor de  $TCO_2$  é calculado a partir do pH e  $PCO_2$ . Sua medida é útil principalmente para avaliação da concentração de  $HCO_3$ .  $TCO_2$  e  $HCO_3$  são úteis na avaliação do desequilíbrio ácido base e do desequilíbrio eletrolítico.

O Beecf (excesso de bases do fluido extracelular) refere-se a concentração de bases que podem ser tituladas menos a concentração de ácido que pode ser titulado do fluido intracelular.

Com relação ao lactato, a enzima lactato oxidase, converte de modo seletivo o lactato a piruvato e peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ). O  $H_2O_2$  liberado é oxidado no eletrodo de platina para produzir uma corrente que é proporcional a concentração de lactato na amostra.

Tabela 3 - Médias dos valores dos parâmetros sanguíneos nos tratamentos controle (CTRL), levedura (LEV), virginiamicina (VIRG) e bicarbonato (BICAR).

<i>Variáveis</i>	<i>Tratamento</i>				<i>CV</i>	<i>P</i>
	<b>CONTR</b>	<b>LEV</b>	<b>VIRG</b>	<b>BICAR</b>		
pH	7,416 <sup>a,b</sup>	7,440 <sup>a</sup>	7,388 <sup>b</sup>	7,414 <sup>a,b</sup>	0,41	0,08
$PCO_2$	44,250 <sup>a</sup>	43,875 <sup>a</sup>	46,000 <sup>a</sup>	45,125 <sup>a</sup>	4,94	0,57
$PO_2$	32,75 <sup>a</sup>	33,25 <sup>a</sup>	31,00 <sup>a</sup>	32,25 <sup>a</sup>	4,71	0,29
$TCO_2$	30,00 <sup>a</sup>	31,25 <sup>a</sup>	29,00 <sup>a</sup>	30,25 <sup>a</sup>	7,54	0,6
$HCO_3$	28,425 <sup>a</sup>	29,800 <sup>a</sup>	27,775 <sup>a</sup>	28,925 <sup>a</sup>	6,91	0,57
Beecf	3,75 <sup>a</sup>	5,75 <sup>a</sup>	2,50 <sup>a</sup>	4,75 <sup>a</sup>	47,64	0,22
$SO_2$	64,00 <sup>a,b</sup>	66,50 <sup>a</sup>	58,50 <sup>b</sup>	62,25 <sup>a,b</sup>	4,57	0,04
LACTATO	1,552 <sup>a</sup>	0,985 <sup>a</sup>	1,110 <sup>a</sup>	0,790 <sup>a</sup>	52,79	0,38

Médias seguidas de letras diferentes nas linhas diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P < 0,10$ ).

Apesar de haver grande diferença nos valores nos valores do lactato, não houve diferença estatística entre os tratamentos, possivelmente em função do elevado coeficiente de variação (CV). Os animais do tratamento controle apresentaram praticamente o dobro de lactato que os que receberam ração com bicarbonato, e apesar desta diferença não ter sido significativa pelo motivo citado, ela não pode ser negligenciada. Pelos resultados obtidos, um animal do grupo controle seria muito mais sensível à acidose sistêmica do que um que recebeu bicarbonato. Os animais que receberam levedura e virginiamicina também apresentaram valores numéricos de lactato inferiores ao controle (aproximadamente 1/3 menos).

### 5.3 Protozoários Ciliados

A descoberta dos protozoários do rúmen por GRUBY e DELAFOND, em 1843 deu início a uma série de estudos visando o melhor entendimento da simbiose entre estes unicelulares e seus hospedeiros, procurando com maior intensidade melhorar o desempenho dos rebanhos em benefício do próprio homem (HUNGATE, 1966).

Alguns dos efeitos diretos e indiretos dos protozoários ciliados sobre a nutrição do hospedeiro resultam de sua função ruminal. A presença ou ausência dos protozoários ciliados afeta os parâmetros ruminais, como pH, concentração de amônia, taxa de diluição e volume ruminal, bem como toda a extensão da digestão (FONTY et al., 1995; COALHO et al., 2001a,b,2002).

Existem dezenas de espécies de protozoários que habitam o rúmen. Estes ciliados não são patológicos, são anaeróbicos e atingem um número de  $10^5 - 10^6$  por mililitro de conteúdo ruminal em animais saudáveis. O número de microrganismos (protozoários, bactérias anaeróbicas, flagelados e fungos) no rúmen é de aproximadamente  $10^{10} - 10^{12}$  por mililitro, embora possa variar de acordo com algumas condições fisiológicas (HUNGATE, 1966).

Neste trabalho foram quantificados e identificados protozoários dos gêneros *Entodinium*, *Diplodinium*, *Epidinium*, *Eudiplodinium*, *Isotricha*, *Ostracodinium* e *Dasytricha*.

Os resultados dos efeitos dos tratamentos controle, levedura, virginiamicina e bicarbonato de sódio sobre o número total de protozoários ciliados no líquido ruminal em diferentes tempos estão descritos na Tabela 4 e ilustrados na Figura 3.

Tabela 4 - Médias dos valores da concentração de protozoários ciliados (numero de protozoários x 10<sup>4</sup>/mL) presentes no liquido ruminal dos animais submetidos aos tratamentos controle (CTRL), levedura (LEV), virginiamicina (VIRG) e bicarbonato (BICAR).

<b>Tratamentos</b>				
<b>Tempo</b>	<b>CTRL</b>	<b>LEV</b>	<b>VIRG</b>	<b>BICAR</b>
0	10,2773 <sup>a</sup>	19,3742 <sup>b</sup>	22,8998 <sup>b</sup>	36,3673 <sup>c</sup>
2	11,1723 <sup>a</sup>	20,3492 <sup>b</sup>	24,4973 <sup>b</sup>	36,9673 <sup>c</sup>
4	11,8573 <sup>a</sup>	21,0642 <sup>b</sup>	25,3748 <sup>b</sup>	37,2398 <sup>c</sup>
6	11,1898 <sup>a</sup>	20,5167 <sup>b</sup>	23,9373 <sup>b</sup>	35,3648 <sup>c</sup>
8	10,6498 <sup>a</sup>	19,7767 <sup>a</sup>	22,9423 <sup>a,b</sup>	34,2623 <sup>b</sup>

Médias com letras minúsculas iguais nas colunas não diferem entre si (P>0,05)

Houve diferença significativa entre os tratamentos em todos os tempos. O tratamento com bicarbonato de sódio obteve maior concentração de protozoários, deferindo estatisticamente dos demais (P<0,05). Os tratamentos levedura e virginiamicina, não diferiram entre si (P>0,05), mesmo o tratamento com virginiamicina apresentando um aumento no numero de protozoários em relação ao tratamento levedura. O tratamento controle (sem aditivos) apresentou a menor concentração de protozoários em relação aos demais tratamentos (P<0,05).

A flutuação do numero de ciliados relaciona se a natureza dos componentes da dieta, a quantidade e ao ato de ingerir alimento, a frequência ou restrição de alimento e ao intervalo de tempo após a alimentação (D' AGOSTO et al. 1998).

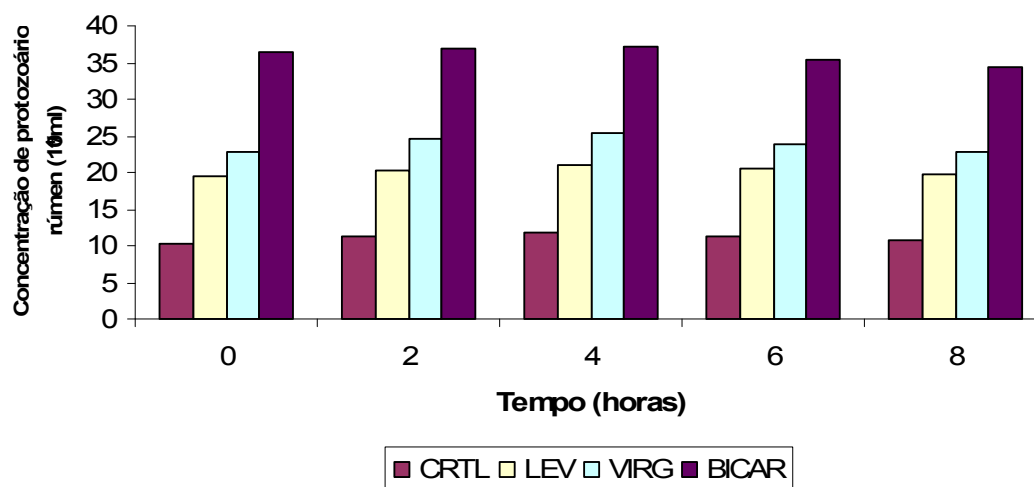
A importância dos ciliados e o papel que desempenham na microbiota ruminal foram tema de diversos estudos, que relacionaram as dietas a influencia positiva ou negativa de sua presença no desenvolvimento de hospedeiros.

Segundo Bird & Leng (1978), a importância dos ciliados no crescimento e produtividade é influenciada pelo teor de proteína na dieta e sua presença teria um efeito negativo em dietas com baixo teor protéico, pois com a escassez de proteína, eles se alimentariam das bactérias responsáveis pela síntese microbiana.



Em dietas ricas em grãos, os ciliados desempenham papel benéfico no ecossistema ruminal (Nagaraja et al., 1992).

Figura 3 - Efeitos dos tratamentos CRTL (controle) LEV (levedura), VIRG (virginiamicina) e BICAR (bicarbonato de sódio) sobre a concentração total de protozoários ciliados no líquido ruminal em diferentes tempos de coleta.



Os protozoários ciliados são responsáveis por parte da degradação da fibra em dietas com alto concentrado. Nesse tipo de dieta, baixos valores de pH causam redução no número de protozoários ciliados, o que explica a diminuição dos valores no tratamento controle em relação aos demais tratamentos aditivados.

Callaway & Martin (1997) e Wu (1997) observaram a redução do número de protozoários ciliados quando incluída levedura na dieta, contradizendo o observado nesse trabalho. Entretanto, pesquisas feitas por Plata *et al.* (1994) comprovaram o aumento do número de protozoários ciliados, sendo que este aumento pode estar ligado aos efeitos nutricionais promovidos pelas leveduras.

De acordo com Spedding (1990) o uso de *Saccharomyces cerevisiae* leva ao aumento na concentração de protozoários ciliados no rúmen. Uma possível explicação seria que a adição de levedura na dieta resultaria num aumento no número de bactérias ruminais totais, que poderiam ser usadas como fonte de proteína e energia para os protozoários (Dehority, 1986; Dehority e Orpin, 1988).

Entre outras melhorias, a inclusão de levedura na dieta pode resultar numa melhor estabilização do pH, entretanto, estas respostas ainda são contraditórias, sugerindo estudos futuros (Kamamma Krishnamoorthy & Krishnappa, 1996; Mathieu *et al.*, 1996; Putnam *et al.*, 1997; Roa *et al.*, 1997).

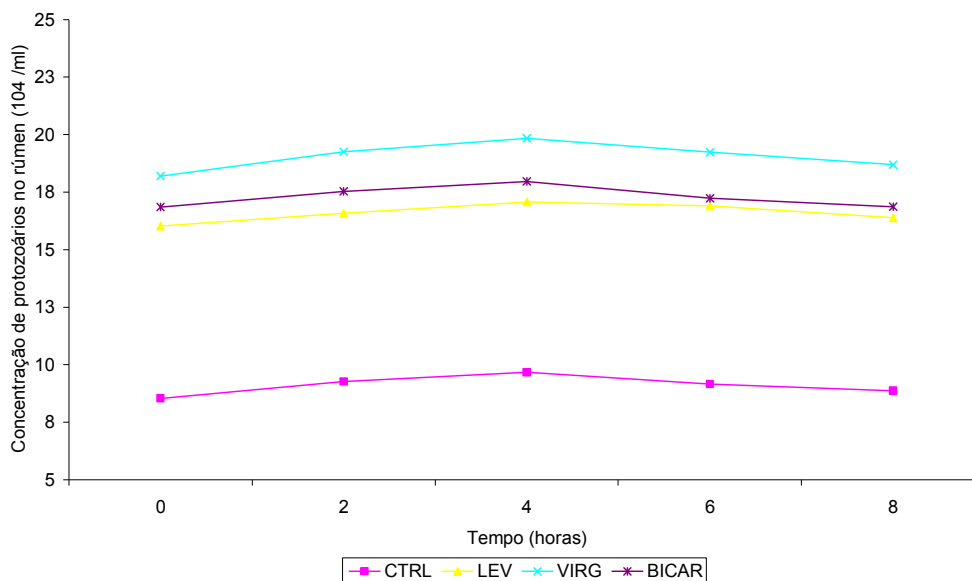
Murray *et al.* (1992) e Nagaraja *et al.* (1995), verificaram efeito tóxico da virginiamicina em relação aos protozoários ciliados, contrastando com os resultados obtidos nesse trabalho.

A adição de bicarbonato de sódio na dieta de animais em terminação melhora o pH do rúmen levando a um aumento no crescimento na fauna ruminal (ERDMAN *et al.* 1982). Apesar de neste trabalho o bicarbonato não ter elevado o pH do rúmen, ele provocou um aumento muito grande no número de protozoários, comprovando que as condições ruminais estavam melhores para estes microrganismos do que nos demais tratamentos apesar do menor valor de pH.

As figuras de 4 a 10 mostram a grandeza entre o tempo e a quantidade de cada gênero dos protozoários ciliados encontrados neste experimento. Em maior quantidade encontra-se o gênero *Entodinium* (68%), a seguir *Epidinium* (10%), *Isotricha* (10%), *Eudiplodinium* (3,5%), *Dasytricha* (3,5%), *Diplodinium* (3%) e em menor número *Isotricha* (2%).

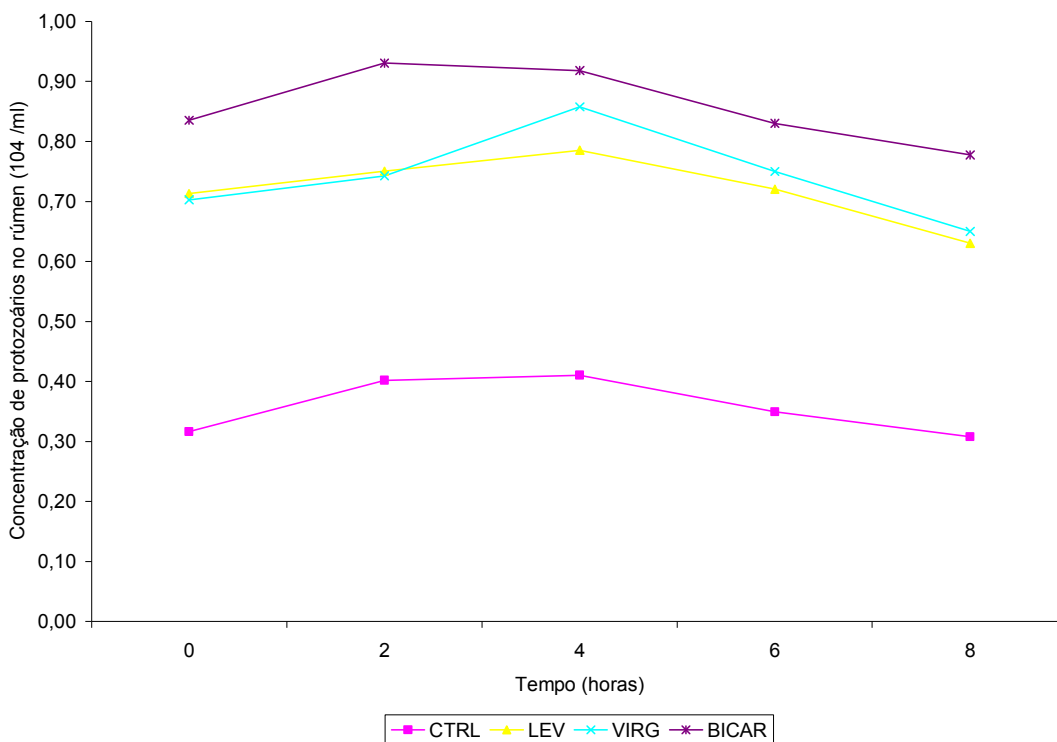
No gênero *Entodinium* (Figura 4) o tratamento com virginiamicina apresentou a maior concentração de protozoários, deferindo do tratamento controle ( $P < 0,05$ ), porém não houve diferença entre os tratamentos com levedura e bicarbonato de sódio ( $P > 0,05$ ). Os tratamentos levedura e virginiamicina, não diferiram entre si ( $P > 0,05$ ). O tratamento controle (sem aditivos) apresentou a menor concentração de protozoários em relação aos demais tratamentos ( $P < 0,05$ ).

Figura 4 - Efeitos dos tratamentos CTRL (controle) LEV (levedura), VIRG (virginiamicina) e BICAR (bicarbonato de sódio) sobre a concentração de protozoários ciliados do gênero *Entodinium* no líquido ruminal em diferentes tempos de coleta.



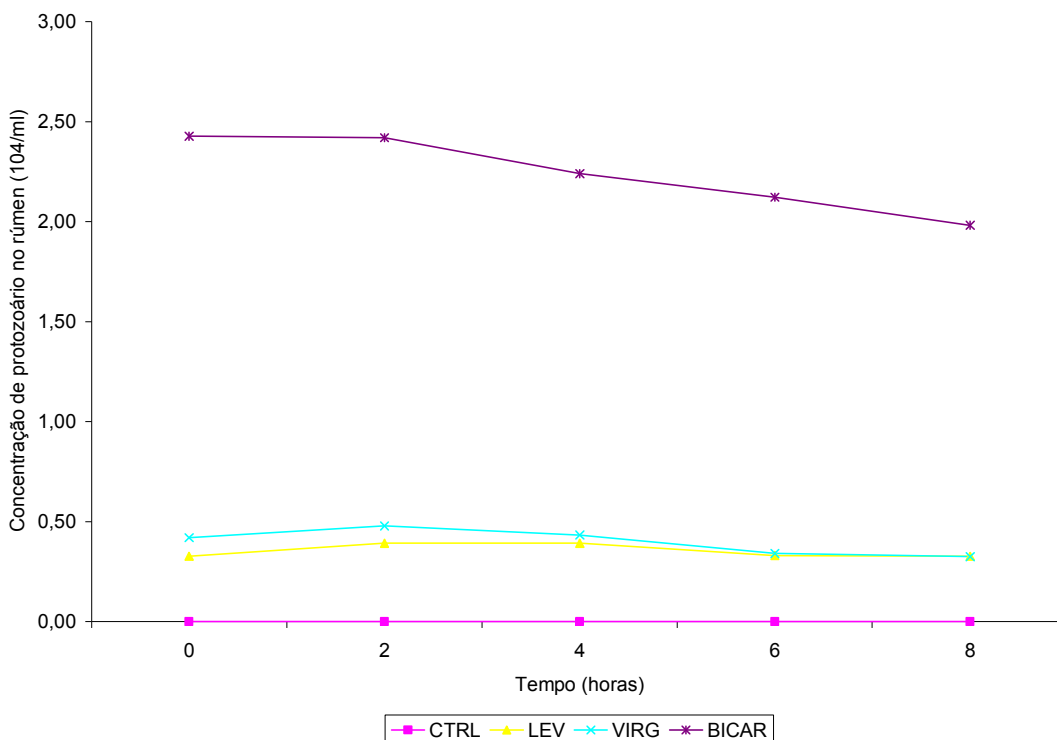
O gênero *Diplodinium* (Figura 5) no tratamento com bicarbonato de sódio apresentou a maior concentração de protozoários, diferindo do tratamento controle ( $P < 0,05$ ), porém não houve diferença entre os tratamentos com levedura e virginiamicina ( $P > 0,05$ ). Os tratamentos levedura e bicarbonato de sódio, não diferiram entre si ( $P > 0,05$ ). O tratamento controle (sem aditivos) apresentou a menor concentração de protozoários em relação aos demais tratamentos ( $P < 0,05$ ).

Figura 5 - Efeitos dos tratamentos CTRL (controle) LEV (levedura), VIRG (virginiamicina) e BICAR (bicarbonato de sódio) sobre a concentração de protozoários ciliados do gênero *Diplodinium* no líquido ruminal em diferentes tempos de coleta.



O tratamento com bicarbonato de sódio apresentou a maior concentração de protozoários do gênero *Eudiplodinium* (Figura 6), deferindo dos tratamentos controle, levedura e virginiamicina ( $P < 0,05$ ). Os tratamentos levedura e virginiamicina não diferiram entre si ( $P > 0,05$ ). Os tratamentos levedura e bicarbonato de sódio, não diferiram entre si ( $P > 0,05$ ). O tratamento controle (sem aditivos) não apresentou protozoários ciliados em nenhum dos tempos de coleta, possivelmente por não haver condições favoráveis no rúmen.

Figura 6 - Efeitos dos tratamentos CTRL (controle) LEV (levedura), VIRG (virginiamicina) e BICAR (bicarbonato de sódio) sobre a concentração de protozoários ciliados do gênero *Eudiplodinium* no líquido ruminal em diferentes tempos de coleta.

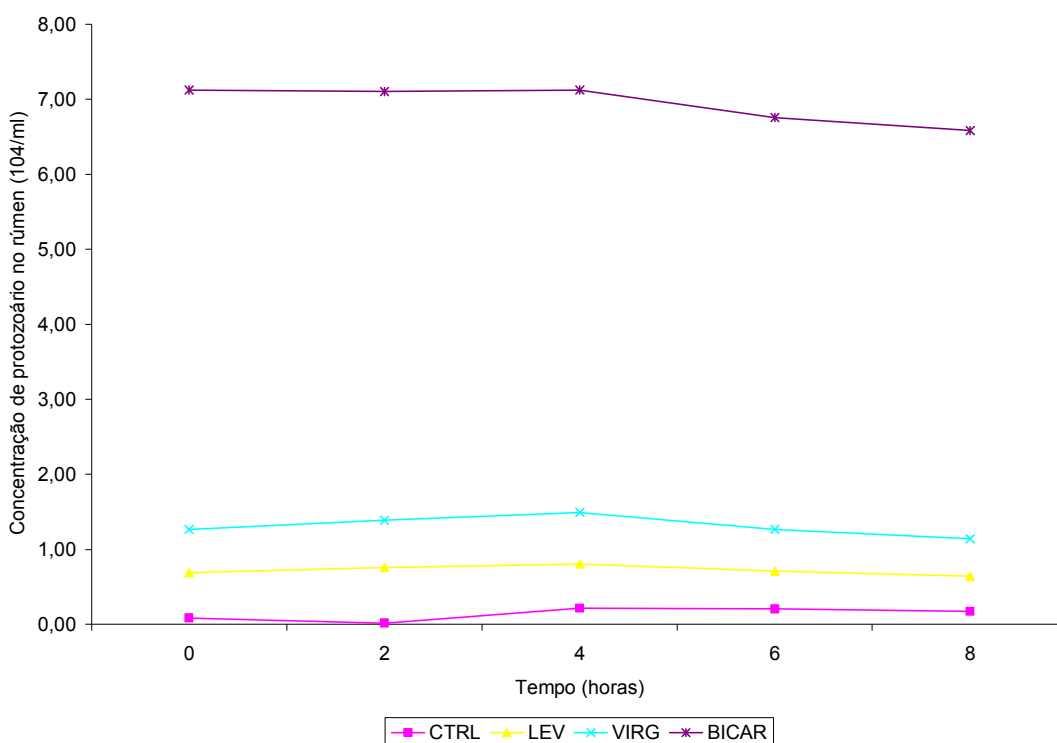


No gênero *Epidinium* (Figura 7), o tratamento bicarbonato continuou apresentando maior concentração de protozoários, deferindo dos tratamentos controle, levedura e virginiamicina ( $P < 0,05$ ). Os tratamentos levedura e virginiamicina não diferiram entre si ( $P > 0,05$ ). No entanto o tratamento virginiamicina foi superior ao tratamento com levedura ( $P < 0,05$ ).

Mathieu *et al.* (1996) observaram uma tendência em aumentar o gênero *Epidinium* quando adicionado o tratamento levedura, mesmo efeito encontrado nesse trabalho quando comparado ao tratamento controle. Entretanto foi notada

também a presença de protozoários do mesmo gênero quando adicionado o tratamento salinomicina (ionóforo) na dieta, só que em menor concentração. Já nessa pesquisa foi utilizado o tratamento virginiamicina sendo observado um aumento em relação ao controle.

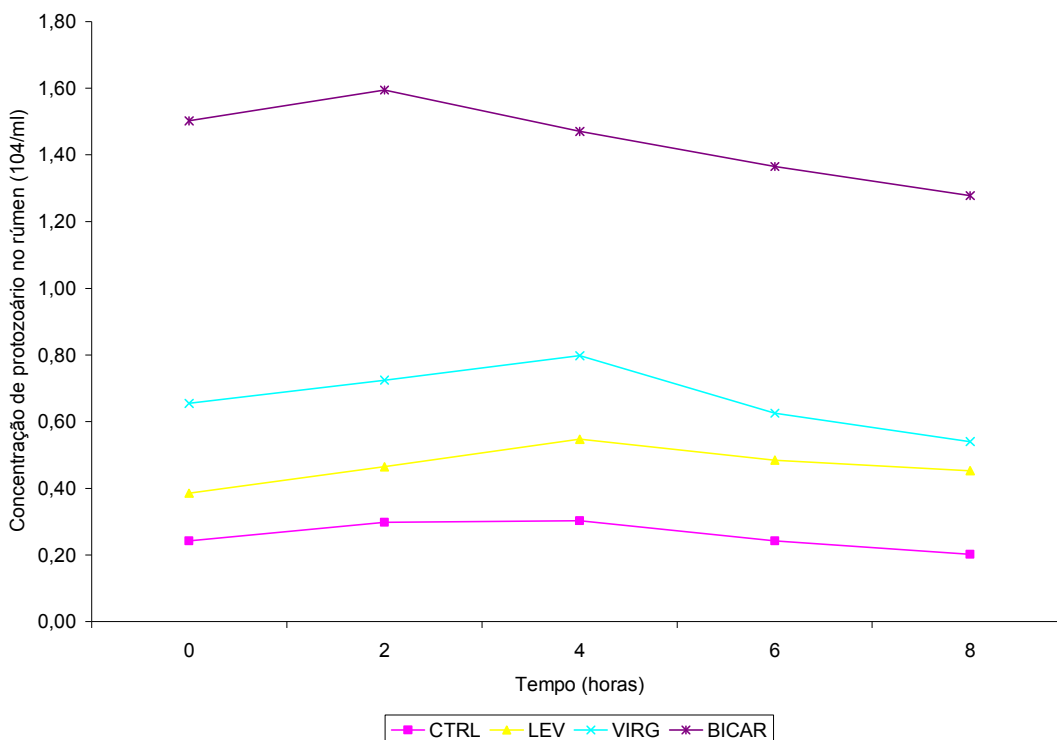
Figura 7 - Efeitos dos tratamentos CTRL (controle) LEV (levedura), VIRG (virginiamicina) e BICAR (bicarbonato de sódio) sobre a concentração de protozoários ciliados do gênero *Epidinium* no líquido ruminal em diferentes tempos de coleta.



O mesmo efeito continua no gênero *Dasytrichia* (Figura 8) o tratamento com bicarbonato de sódio apresentou a maior concentração de protozoários, deferindo do tratamento controle, levedura e virginiamicina ( $P < 0,05$ ). Os tratamentos levedura e virginiamicina, não diferiram entre si ( $P > 0,05$ ). Também o tratamento Levedura e

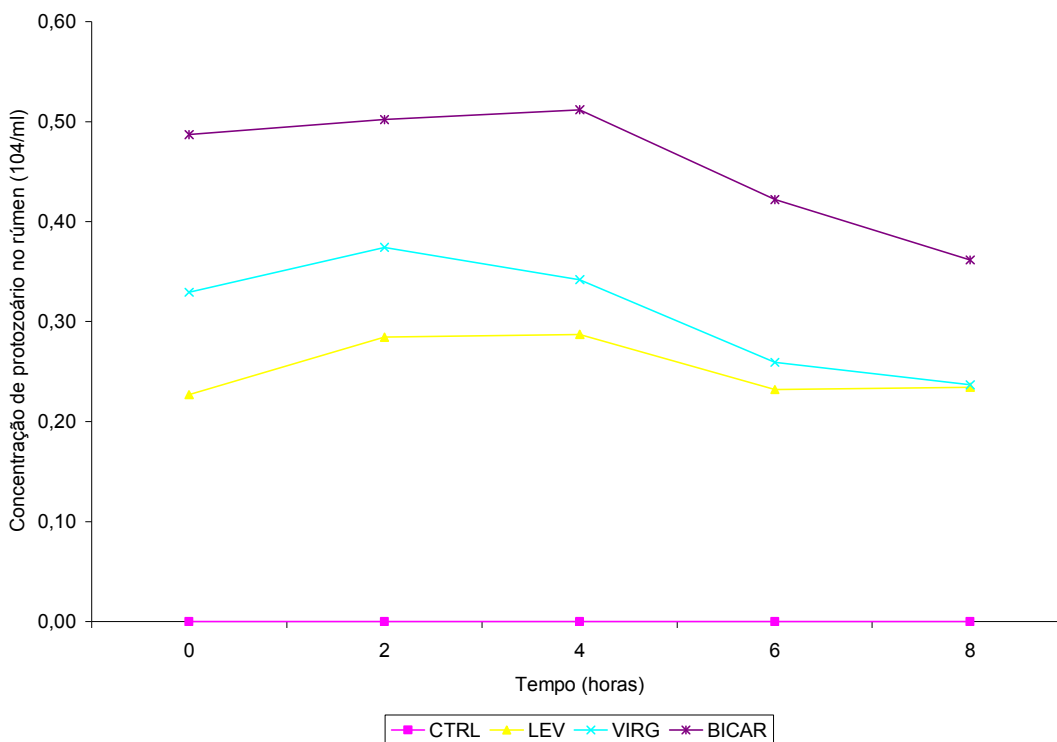
controle não diferiram. ( $P>0,05$ ). O tratamento controle (sem aditivos) apresentou a menor concentração de protozoários em relação aos demais tratamentos ( $P<0,05$ ).

Figura 8 - Efeitos dos tratamentos CTRL (controle) LEV (levedura), VIRG (virginiamicina) e BICAR (bicarbonato de sódio) sobre concentração de protozoários ciliados do gênero *Dasytrichia* no líquido ruminal em diferentes tempos de coleta.



Também pode se observar os mesmos efeitos visualizados nas últimas figuras. O tratamento com bicarbonato de sódio apresentou a maior concentração de protozoários do gênero *Ostracodinium* (Figura 9), deferindo do tratamento controle, levedura e virginiamicina ( $P<0,05$ ). Os tratamentos levedura e virginiamicina, não diferiram entre si ( $P>0,05$ ). O tratamento controle (sem aditivos) não apresentou protozoários ciliados em nenhum dos tempos de coleta.

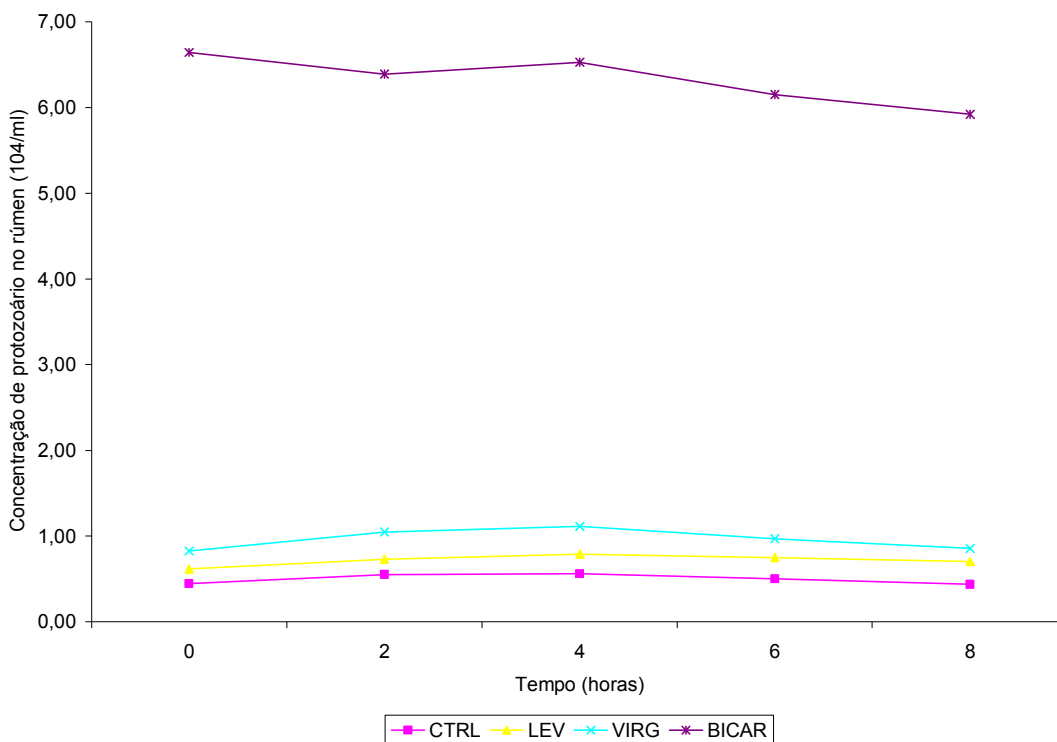
Figura 9 - Efeitos dos tratamentos CTRL (controle) LEV (levedura), VIRG (virginiamicina) e BICAR (bicarbonato de sódio) sobre a concentração de protozoários ciliados do gênero *Ostracodinium* no líquido ruminal em diferentes tempos de coleta.



No gênero *Isotricha* (Figura 10), o tratamento bicarbonato continuou apresentando maior concentração de protozoários, deferindo dos tratamentos controle, levedura e virginiamicina ( $P < 0,05$ ). Os tratamentos controle, levedura e virginiamicina não diferiram entre si ( $P > 0,05$ ).



Figura 10 - Efeitos dos tratamentos CTRL (controle) LEV (levedura), VIRG (virginiamicina) e BICAR (bicarbonato de sódio) sobre concentração de protozoários ciliados do gênero *Isotricha* no líquido ruminal em diferentes tempos de coleta.



#### 5.4 Amônia

Os valores encontrados para amônia ( $\text{NH}_3$ ) contida no líquido ruminal dos novilhos submetidos aos tratamentos em função do tempo de coletas estão apresentados na Tabela 5. Não houve efeito significativo nos valores encontrados ( $P > 0,05$ ).

Pode se observar um aumento nos valores após o recebimento da alimentação (tempo 2 h) em todos os tratamentos estudados (Figura 11). Isso está intimamente ligado a máxima atividade fermentativa exercida pelo rúmen nesse horário, sendo que após o pico de fermentação os valores em todos os tratamentos diminuem ao longo do tempo, até a próxima oferta de alimento. Esse fenômeno é

decorrente da absorção da amônia pela parede do rúmen e também pela utilização da amônia pelas bactérias ruminais.

Segundo Van Soest (1994), o metabolismo da proteína dietética no rúmen é resultado da hidrólise de peptídeos a aminoácidos, que podem ser usados para síntese de proteína microbiana ou para formar pequenos peptídeos. Aminoácidos em excesso para os microrganismos são oxidados e deaminados a amônia e ácido carboxílico. A disponibilidade de carboidratos promove a utilização da amônia para síntese de aminoácidos e crescimento microbiano. O nível de amônia ruminal ótimo é em torno de 10 mg/100 mL. Entretanto, esse valor médio sofre variação, uma vez que as bactérias são capazes de sintetizar proteína.

Mesmo não apresentando efeito significativo, o tratamento levedura comportou-se de forma esperada, uma vez que um dos efeitos da adição de levedura na dieta, segundo Newbold et al. (1996), é estimular a atividade e o crescimento das bactérias ruminais, principalmente as celulolíticas, e aumentar a utilização de amônia, a síntese e o fluxo de proteína microbiana para o duodeno.

No entanto, na maioria dos trabalhos a adição de levedura tanto em dietas ricas em concentrado como em volumoso, não tem influenciado a concentração média de amônia ruminal (GATTASS et al. 2008).

Leng (1990), afirmou que, em condições tropicais, são necessários mínimos de 10 mg/100mL e 20 mg/100mL para maximização da digestão e do consumo de MS, respectivamente. Os valores obtidos nessa pesquisa foram respectivamente, 14,06 (controle), 9,06 (levedura), 12,30 (virginiamicina) e 12,22 (bicarbonato de sódio), o que permite inferir que a síntese de proteína microbiana não esteve limitada, uma vez que a dieta continha 13,3% de PB na MS e que as concentrações ruminais médias de amônia superaram 6,2 mg/100mL, nível considerado por Hoover (1986) como ótimo para o crescimento microbiano em bovinos alimentados com dieta com alto teor protéico.

Foi observado um comportamento semelhante entre o pH ruminal e a concentração de amônia no líquido ruminal, onde os menores valores dos dois parâmetros se encontram nos mesmos horários (0 e 8h).

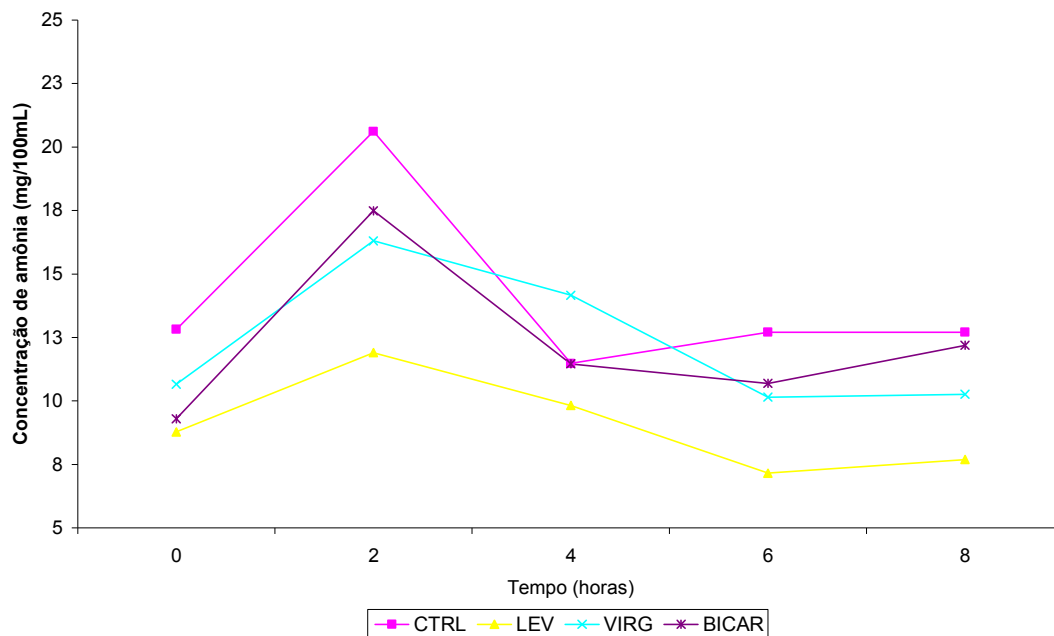
Outro dado relevante se deve ao fato de, logo após a alimentação, a proteólise dos alimentos que chegam ao rúmen levar a produção de amônia, que juntamente com a ruminação, contribui para a neutralização do meio ruminal, e posterior aumento no pH ruminal.

A ação de agentes tamponantes sobre a disponibilidade de amônia no rúmen é bastante discutida, pois a adição de bicarbonato de sódio entre 0,8 a 1,5% da matéria seca da dieta de novilhos em crescimento não alterou o nível de amônia no rúmen (WEELER, 1980).

Tabela 5 - Concentração de amônia (mg/100mL) presente no líquido ruminal dos animais submetidos aos tratamentos controle (CTRL), levedura (LEV), virginiamicina (VIRG) e bicarbonato (BICAR).

<b>Tratamentos</b>				
<b>Tempo</b>	<b>CTRL</b>	<b>LEV</b>	<b>VIRG</b>	<b>BICAR</b>
0	12,82	8,77	10,65	9,29
2	20,61	11,90	16,31	17,49
4	11,47	9,82	14,16	11,46
6	12,70	7,14	10,15	10,69
8	12,71	7,69	10,25	12,18
<b>Média</b>	<b>14,06</b>	<b>9,06</b>	<b>12,30</b>	<b>12,22</b>

Figura 11 - Valores da concentração de amônia no líquido ruminal dos animais submetidos aos tratamentos controle (CTRL), levedura (LEV), virginiamicina (VIRG) e bicarbonato de sódio (BICAR).

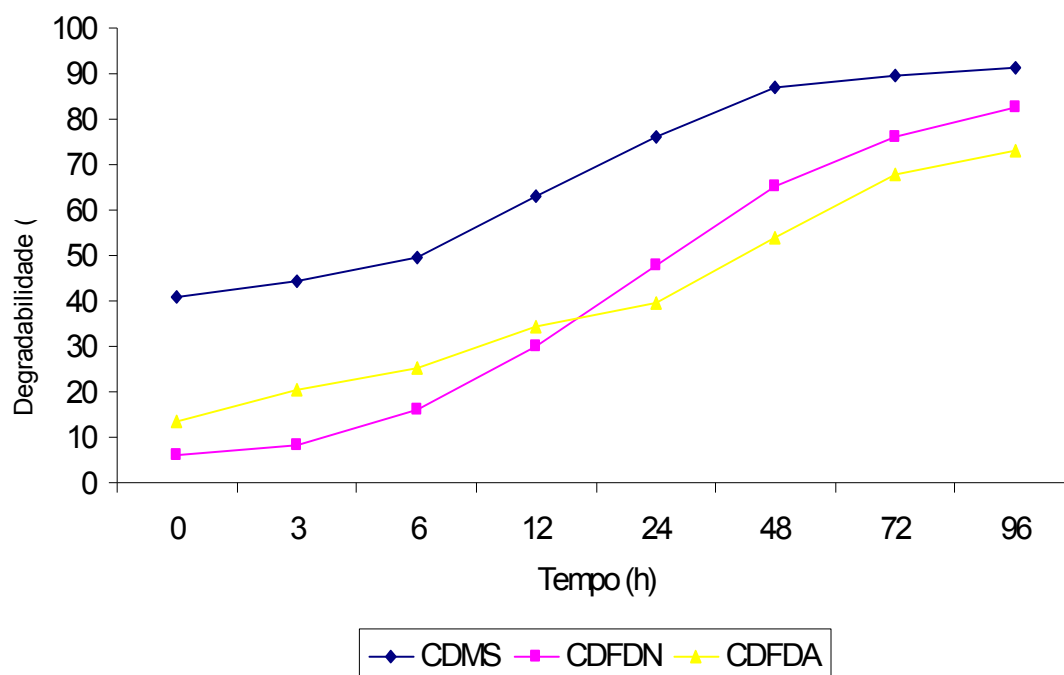


### 5.5 Degradabilidade Ruminal

Foi avaliada a degradabilidade ruminal da MS, PB, FDN e FDA da dieta total oferecida aos animais com o intuito de analisar o efeito dos aditivos na degradação da fibra da dieta.

Os resultados obtidos com a inclusão de aditivos nos tratamentos sobre os coeficientes de degradabilidade, degradabilidade potencial, degradabilidade efetiva e cinética de degradação (parâmetros a, b e c de ORSKOV e MAcDONALD, 1979) da matéria seca e proteína bruta da dieta estão descritos nas tabelas 6, 7 e 8, enquanto os valores estimados dos coeficientes de degradabilidade da matéria seca (CDMS), da fibra detergente neutro (CDFDN) e da fibra detergente ácido (CDFDA) em diferentes tempos estão representados na figura 12.

Figura 12 – Valores estimados dos coeficientes de degradabilidade da matéria seca (CDMS), fibra detergente neutro (CDFDN) e fibra detergente ácido (CDFDA) em diferentes tempos de incubação.



Os valores encontrados para os parâmetros que compõem a cinética da degradação da dieta não apresentaram diferença estatística para as frações prontamente solúvel, potencialmente degradável e taxa de degradação.

Houve diferença ( $p < 0,05$ ) entre os aditivos apenas quando mensurado o coeficiente de degradabilidade da matéria seca (tabela 7). O tratamento virginiamicina apresentou maior CDMS em relação aos demais tratamentos. Este efeito parece ter ocorrido, pois uma das características da virginiamicina (já vista anteriormente) é de atuar alterando a população de bactérias presente no rúmen, a virginiamicina apresenta capacidade de estabilizar a fermentação ruminal, assim concomitantemente melhorando a degradabilidade da matéria seca na dieta.

Os demais parâmetros avaliados na degradabilidade ruminal não apresentaram efeito em relação ao tratamento.

O uso de aditivos microbianos tem sido objeto de interesse para maximização da degradação da parede celular dos alimentos. Entretanto, os resultados disponíveis na literatura são inconsistentes, em virtude da grande variação na

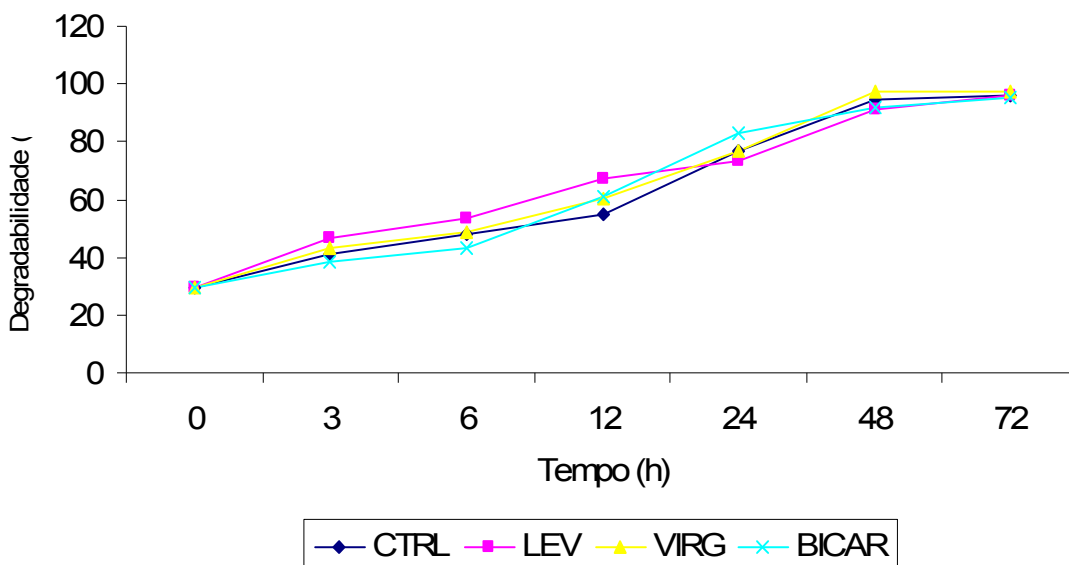
quantidade adicionada, nas espécies de microrganismos, nas dietas e nos tipos de aditivos microbianos utilizados (Martin & Nisbet, 1992).

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* exibe determinado grau de viabilidade ruminal, podendo promover melhoria nos processos digestivos, como o aumento inicial da taxa de degradação da fibra e na degradação da parede celular (WILLIAMS et al., 1991).

Segundo Newbold et al. (1996), os efeitos benéficos desses compostos microbianos estão associados com o aumento das bactérias celulolíticas. Eles têm sido considerados um potente aditivo alimentar que melhora a digestão da FDN em forragens de baixa qualidade (AYALA et al., 1992). Entretanto não foi evidenciado melhora na digestibilidade do FDN neste trabalho.

Foi observada uma interação significativa ( $p < 0,05$ ) entre tratamento e tempo para o coeficiente de degradabilidade da proteína bruta (CDPB), representada na figura 13.

Figura 13 - Efeitos dos tratamentos CTRL (controle), LEV (levedura), VIRG (virginiamicina) e BICAR (bicarbonato de sódio) sobre o coeficiente de degradabilidade da proteína bruta (CDPB) em diferentes tempos de coleta.



A intensidade da degradabilidade ruminal da proteína de um alimento, segundo Orskov (1980), é um dos indicadores de maior importância nas avaliações da qualidade protéica para os animais ruminantes.

De acordo com Williams et al. (1991), a inclusão de leveduras na dieta de novilhos aumentou a degradabilidade da fibra após 12h de incubação. Já Chademana e Offer (1990), observaram um aumento na taxa inicial de degradação ruminal. Wiedmeier et al. (1987) encontraram um aumento na degradação da hemicelulose, mas não do FDA, quando adicionada levedura na dieta. Outros experimentos publicados não encontraram diferença estatística na degradação ruminal (Carro et al., 1992).

Plata et al. (1994), observaram que a adição de levedura na dieta aumentou o desaparecimento do FDN após 6 horas de incubação. Embora nesse experimento não foi observado efeito algum no desaparecimento do FDN (Tabela 6).

Segundo Bergamaschine, Andrade e Malheiros (1997), a adição de 1,4% de bicarbonato de sódio em dietas para bovinos de corte melhorou a degradabilidade da matéria seca, e que a degradabilidade da proteína bruta de não foram influenciadas pelo tratamento.

A inclusão do 0,8% de bicarbonato de sódio na dieta de novilhos arraçados com alto teor concentrado não apresentou efeito significativo em nenhum dos parâmetros de degradabilidade aferidos. Esse resultado pode ter ocorrido pela baixa inclusão do bicarbonato de sódio em relação a outros trabalhos.

A degradabilidade *in situ*, estimada pela incubação de amostras de alimento em sacos de náilon no rúmen tem sido objeto de pesquisas em varias pesquisas. Este tipo de mensuração, sem considerar a taxa de passagem, pode superestimar o perfil da degradação, uma vez que as partículas do alimento estão sujeitas a passagem para o restante do trato gastrointestinal, antes mesmo de serem completamente degradadas. Com isso, a degradação do alimento é resultante de dois parâmetros que atuam concomitantemente: a taxa de passagem e a taxa de degradação (ORSKOV, 1982).

Tabela 6 - Efeito dos tratamentos sobre os coeficientes de degradabilidade (CD) da fibra detergente neutro (FDN) e fibra detergente ácido (FDA), da degradabilidade potencial (Dp) e da degradabilidade efetiva (De) da fibra detergente neutro (FDN) e fibra detergente ácido (FDA).

<b>Parâmetros</b>	<b>Tratamentos</b>				
	<b>CTRL</b>	<b>LEV</b>	<b>VIRG</b>	<b>BICAR</b>	<b>P</b>
CDFDN	42,23	41,95	40,76	41,29	0,73
CDFDA	41,93	41,85	41,93	38,06	0,56
DpFDN	85,61	76,26	82,89	87,17	0,68
DpFDA	90,56	66,60	64,42	57,49	0,39
DeFDN	35,48	36,91	34,43	33,27	0,92
DeFDA	37,96	35,82	37,19	35,53	0,90

Neste contexto, o conceito de degradabilidade efetiva (De) é utilizado quando se inclui a taxa de passagem no cálculo da degradabilidade do alimento. Com isso, juntamente com a taxa de degradação e a degradabilidade efetiva dos alimentos utilizados nas dietas de ruminantes, aliados aos dados de composição química, irão permitir a formulação de dietas adequadas a níveis de produção mais eficientes.



Tabela 7 – Cinética da degradabilidade ruminal da matéria seca (MS) e proteína bruta (PB) sobre os tratamentos propostos.

<b>Tratamentos</b>					
<b>MS</b>					
<b>Parâmetros</b>	<b>CTRL</b>	<b>LEV</b>	<b>VIRG</b>	<b>BICAR</b>	<b>P<sup>1</sup></b>
A	31,59	35,75	38,84	32,93	0,45
B	62,00	55,74	90,76	61,99	0,59
C	0,08	0,06	0,04	0,05	0,63
CDMS*	68,94 <sup>b</sup>	67,30 <sup>c</sup>	69,01 <sup>a</sup>	65,84 <sup>d</sup>	0,03
DpMS	93,59	91,49	90,50	91,69	0,15
DeMS	67,05	64,12	65,84	60,72	0,60
<b>PB</b>					
<b>Parâmetros</b>	<b>CTRL</b>	<b>LEV</b>	<b>VIRG</b>	<b>BICAR</b>	<b>p</b>
A	24,80	29,52	33,50	30,35	0,82
B	75,13	67,55	82,72	69,53	0,41
C	0,06	0,08	0,04	0,04	0,53
DpPB	97,46	90,61	98,56	93,90	0,39
DePB	64,65	66,14	65,32	57,83	0,07

<sup>a</sup> As diferenças foram significativas ( $p < 0,05$ ), a, b e c referem-se aos parâmetros de ORSCOV e MACDONALD(1979), CDMS (coeficiente de degradabilidade da matéria seca), DP = a+b DE = degradabilidade efetiva para as taxas de passagem iguais a 0,05/h

## 6 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos no presente trabalho pode-se concluir que:

A inclusão de levedura manteve o pH sanguíneo mais próximo da média da faixa de referência, enquanto a virginiamicina apresentou o valor mais baixo que o tratamento controle.

O efeito da adição de bicarbonato de sódio á dieta aumentou o número de protozoários ciliados, enquanto o uso da levedura e virginiamicina mantiveram a mesma tendência.

A concentração de amônia ruminal não foi afetada pelos tratamentos.

A adição de virginiamicina na dieta de bovinos de corte aumentou o coeficiente de degradabilidade da matéria seca.

## 7 REFERÊNCIAS

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

ALLEN, M.S. BEEDE, D.K. **Causes, detection and prevention of ruminal acidosis in dairy cattle**. Tri-State Dairy Nutrition Conference. M.L. Eastridge, ed. 1996.

AYALA, O.J. et al. Effect of a probiotic and a molasses-urea supplement on fiber digestibility of sesame straw. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.70, Suppl.1, p.307, 1992.

BERGAMASCHINE, A.F.; ANDRADE, P. de; MALHEIROS, E.B. Efeitos de diferentes níveis de bicarbonato de sódio em rações com bagaço-de-cana de açúcar auto hidrolizado sobre a degradação *in situ* do milho e farelo de algodão. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 26, n. 3, p. 557-561, 1997.

BERGER, W.G.; BATES, D.B. Ionophores: Their effects on production efficiency and mode of action. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.58, p.1465-1483, 1984.

BIRD, S.H., LENG, R.A.. The effects of defaunation of the rumen on the growth of cattle on low protein high energy diets. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.40, p.163-167, 1979.

BLOCK, E. The response to the balance of major minerals by dairy cow. **Dairy Science Abstracts**, v.52, p.12, 1990.

BOLSEN, K.K. AXE, D.E. **Sodium bicarbonate and feed flavor supplements for calves fed forage sorghum silage**. Manhattan: Kansas State Agricultural Experiment Station, 1984. 69 p. (Report of progress, 448).

BRODERICK, G. A.; KANG, J.A. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid in vitro media. **Journal of Dairy Science**. v. 63/64, 1980.

CALLAWAY, E.S.; MARTIN, S.A. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on ruminal bacteria that utilise lactate and digest cellulose. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.80, n.9, p.2035-2044, 1997.

CARLSON, G.P. Fluid, electrolyte, and acid-base balance. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5 ed. San Diego: Academic Press, 1997. p.485-516.

CARRO, M.D.; LEBZIEN, P.; ROHR, K. Effects of yeast culture on rumen fermentation, digestibility and duodenal flow in dairy cows fed a silage based diet. **Livestock Production Science**, v.37, p.219-229, 1992.

CHADEMANA, I.; OFFER, N.W. The effect of dietary inclusion of yeast culture on digestion in the sheep. **Animal Production**, v.50, p.483-489, 1990.

CHURCH, D.C. **Digestive physiology and nutrition of ruminants**. Corvallis, O e B Books, v. 1, 1976.

COALHO, M.R. et al. Concentração de amônia e de uréia plasmática em bovinos consumindo dietas com diferentes níveis de proteína não degradável no rúmen. In: REUNION LATINOAMERICANA DE PRODUCCIÓN ANIMAL, 17., 2001, Havana. **Anais...** Havana, 2001b. 1 CD-ROM.

COALHO, M.R. et al. Estudo da população de protozoários ciliados e do pH em bovinos submetidos a dietas com diferentes níveis de proteína não degradável no rúmen. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife. **Anais...** Recife, 2002. 1 CD-ROM.

COALHO, M.R. et al. Protozoários ciliados no rúmen de bovinos consumindo dietas com diferentes níveis de proteína não degradável. In: REUNION LATINOAMERICANA DE PRODUCCIÓN ANIMAL, 17, 2001, Havana. **Anais...** Havana, 2001a. 1 CD-ROM.

COCITO C. Antibiotics of the virginiamycin family, inhibitors which contain synergistic components. **Microbiology Review**. v.43(2), p.145-192. 1979.

COE, M.L., NAGARAJA, T.G., SUN, Y.D., WALLACE, N., TOWNE, E.G., KEMP, K.E. and HUTCHESON, J.P. Effect of virginiamycin on ruminal fermentation in cattle during adaptation to high concentrate diet and during induced acidosis. **Journal of Animal Science**. v.77, p. 2259-2268. 1999.

CROOY, P., De NEYS, R. Virginiamycin: nomenclature. *Journal of Antibiotic (Tokyo)*. v.25(6), p.371–372. 1972.

CUMMINS, K.A. et al. Nitrogen degradability and microbial protein synthesis in calves fed diets of varying degradability by the bag technique. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.66, n.11, p.2356-2364, 1983.

D' AGOSTO, M. SANTA-ROSA, M.R. AROEIRA, L.J.M. LOPES, F.C.F. Influencia da dieta no comportamento na população de ciliados do rúmen. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.50, n.2, p.153-159, 1998.

DAWSON, K.A.; HOPKINS, D.M. Differential effects of live yeast culture in animal production: a review of research over the last six years. Supplement to the Proceedings of Alltech's 8<sup>th</sup> Annual Symposium 1992. Alltech Technical Publications, Nicholasville, KY.

DEHORITY, B.A.; ORPIN, C.G. Development of, and natural fluctuations in, rumen microbial populations. In: HOBSON, P.N. (Ed.). **The Rumen Microbial Ecosystem**. London: Elsevier Applied Science, 1988. p.151-183.

DEHORITY, B.A. Protozoa of the digestive tract of herbivorous mammals. **Insect Science Application**, Champaign, v.7, p.279-296, 1986.

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

DE SOMER, P., VAN DIJCK, P. A preliminary report on antibiotic number 899, a streptogramin-like substance. *Antibiotic Chemotherapy*. v. 5, c. 11, 1955.

DUFF, G.C.; GALYEAN, M.L.; BRANINE, M.E. Effects of lasalocida and monensin plus tylosin on serum metabolic hormones and clinical chemistry profiles of beef steers fed a 90% concentrate diet. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.72, n.4, p.1049-1058, 1995.

DUNLOP, R.H. Pathogenesis of ruminant lactic acidosis. **Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine**, v.16, 259-302, 1972.

ERDMAN, R.A., HEMKEN, R.W., BULL, L.S. Dietary sodium bicarbonate and magnesium oxide on production and physiology in early lactation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.65, p. 712, 1982.

ERASMUS, L.J.; BOTHA, P.M.; KISTNER, A. Effect of yeast culture supplement on production, rumen fermentation, and duodenal nitrogen flow in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.75, p.3056-3065, 1992.

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

FONTY, G. et al. L'écosystème microbien du réticulorumen. In: JARRIGE, R. et al. (Ed.). **Nutrition des ruminants domestiques: ingestion et digestion**. Paris: Inra, 1995. p.299-347.

GATTASS, C.B.A., MORAIS, M.G., ABREU, U.G.P., FRANCO, G.L., STEIN, J., LEMPP, B. Efeito da suplementação com cultura de levedura na fermentação ruminal de bovinos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa. v.37, n.4, p.711-716, 2008.

GOMES, F.P. **Curso de estatística experimental**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/ USP, 1985. p. 467.

HARRISON, G.A. et al. Influence of addition of yeast culture supplement to diets of lactating dairy cows on ruminal fermentation and microbial populations. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.71, p.2967-2975, 1988.

HEDDE, R.D.; ARMSTRONG, R.C. Parish and Quach, 1980. Virginiamycin effect on rumen fermentation in cattle. **Journal of Animal Science**. v.55, 1980.

HOOVER, W.H. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.68, n.10, p.2755-2766, 1986.

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

IWANSKA, S. et al. The effect of *Saccharomyces cerevisiae* 1026 used alone or with vitamin-mineral premix on milk yield and milk composition in dairy cows. **Acta Veterinaria Hungarica**, Hungary, v.47, n.1, p.41-52, 1999.

KAMALAMMA KRISHNAMOORTHY, U.; KRISHNAPPA, P. Effect of feeding yeast culture (Yea-sacc1026) on rumen fermentation in vitro and production performance in crossbred cows. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.57, p.247-256, 1996.

LANNA, D.P.D.; MEDEIROS, S.R. Uso de aditivos na bovinocultura de corte. In SANTOS, F.A.P.; MOURA, J.C.; FARIA V.P. **Requisitos de qualidade na bovinocultura de corte**. Piracicaba: FEALQ, 2007, cap. 15, p.297-324.

LENG, R.A. Factors affecting the utilization of poor quality forages by ruminants particularly under tropical conditions. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v.3, n.1, p.277-303, 1990.

MARINHO, A.A.M. Ciliate protozoa in the rumen of grazing sheep. **Revista Portuguesa de Ciencias Veterinaria**, v.78, p. 157-165, 1983.

MARTIN, A.S.; NISBET, D.J. Effect of direct-feed microbial on rumen microbial fermentation. **Journal Dairy Science**, Savoy, v.75, p.1736-1744, 1992.

MATHIEU, F. et al. The effect of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* on fermentations in the rumen of faunated and defaunated sheep; protozoal and probiotic interactions. **Reproduction Nutrition Development**, France, v.36, p.271-287, 1996.

MENDES NETTO, D. **Comparação de soluções de bicarbonato e ringer com lactato no tratamento da acidose metabólica de garrotes com acidose láctica ruminal aguda**. 1997. 81p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.

MERTENS, D.R. Effects of buffers upon fiber digestion. In: HALE, W.H.; MEINHARD, P. (Ed.) **Regulations of acid-base balance**. Piscataway: Church and Dwight. P. 65-76, 1979.

MOULD, F.L.; ORSKOV, E.R.; MANN, S.O. Associative effects of mixed feeds. 2. The effect of dietary additions of bicarbonate salts on the voluntary intake and digestibility of diets containing various proportions of hay and barley. **Animal Feed Science and Technology**, v. 37, 1991. Kulmbach, Germany. 1991.

MURRAY, P.J.; ROWE, J.B.; AITCHISON, E.M.; WINSLOW, S.G. Live weight gain and wool growth in sheep fed rations containing virginiamycin. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 32, p. 1037-1043. 1992.

MUTSVANGWA, T. et al. The effect of dietary inclusion of yeast culture (Yea-Sacc) on patterns of rumen fermentation, food intake and growth of intensively fed bulls. **Animal Production**, v.55, p.35-40, 1992.

NAGARAJA, T.G.; GODFREY, S.I.; WINSLOW, S.G.; ROWE, J.B. Responses in ciliated protozoa and rumen fermentation in sheep supplemented with barley plus virginiamycin. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 46, p. 1137-1147, 1995.

NAGARAJA, T.G., TOWNE, G. BEHARKA, A.A. Moderation of ruminal fermentation by ciliated protozoa in cattle fed a high-grain diet. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.58, p.2410-2414, 1992.

NAGARAJA, T.G., TAYLOR, M.B. HARMON, D.L., BOYER, J.E. *In vitro* lactic acid inhibition and alternations in volatile fatty acid production by antimicrobial feed additives. **Journal of Animal Science**. v.65, p.1064-1076, 1987.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC - Nutrient requirements of cattle. **National Academy Press**. Washington. 2000.

NEWBOLD, C.J.; WALLACE, R.J.; McINTOSH, F.M. Mode of action of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a feed additive for ruminants. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.76, n.2, p.249-261, 1996.

NEWBOLD, J.R.; RUST, S.R. Effect of asynchronous nitrogen and energy supply on growth ruminal bacteria in batch culture. *Journal of Animal Science*. v. 70, p. 538-546, 1992.

NISBET, D.J.; MARTIN, S.A. Effect of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on lactate utilization by ruminal bacterium *Selenomonas ruminantium*. **Journal of Animal Science**, v. 69, p.4628-4633, 1991

NUNEZ, A.J.C. Uso combinado de ionóforo e virginiamicina em novilhos Nelore confinados com dieta de alto concentrado. 2008. 67f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

OWENS F.N., SECRIST, D.S., HILL, W.J., GILL, D.R. **Acidosis in cattle: a review**. *Journal of Animal Science*. v.76 p.275-286. 1996.



ORSKOV, E.R. Protein nutrition in ruminants. London:Academic Press, 160p, 1982.

ORSKOV, E.R.; HOVELL, F.D.; MOULD, F. Uso de la tecnica de la bolsa de nylon para la evaluación de los alimentos. *Producción Animal Tropical*, 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 Agriculture Science**, v.92, n.1, p.499-503, 1979.

PEREIRA, M.N. **Uso de tamponantes para vacas leiteiras**. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/radarestecnicos>> . Acesso em: 20 jun. 2009.

PERES, J.R.; SIMAS, J. Perspectivas da utilização de ionoforos na produção de bovinos. In: BITTAR, C.M.; MOURA, J.C.; FARIA, V.P.; MATTOS, W.R.S. **Minerais e aditivos para bovinos**. Piracicaba: FEALQ, 2006. Cap. 9, p.225-247.

PIVA, G. et al. Effects of yeast on dairy cow performance, ruminal fermentation, blood components, and milk manufacturing properties. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.76, n.9, p.2717-2722, 1993.

PLATA, P.F. et al. Effect of a yeast culture on neutral detergent fiber digestion in steers fed oat straw based diets. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.49, p.203-210, 1994.

PRESTON, R.L. Feeding programs to minimize rumen acidosis. WESTERN NUTRITION CONFERENCE, 16., 1995. **Proceedings...** 1995. p.245.

PUTNAM, D.E. et al. Effects of yeast culture in the diets of early lactation dairy cows on ruminal fermentation and passage of nitrogen fractions and aminoacids to the small intestine. **Journal of Dairy Science**, Champaign v.80, p.374-384, 1997.

RADOSTITS, O.M.; BLOOD, D.C.; GAY, C.C. **Veterinary Medicine**. 8.ed. London: Bailliere Tindall, 1995. 1763p.

ROA, V.M.L. et al. Effect of fiber source and a yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae* 1026) on digestion and the environment in the rumen of cattle. **Animal Feed Science Technology**, Amsterdam, v.64, p.327-336, 1997.

RUSSELL, J.B. CHOW, J.N. Another theory for the action of ruminal buffer salts: decreased starch fermentation and propionate production. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, n. 3, p. 826-830, 1993.

SAS INSTITUTE INC. **SAS user's guide: statistics**. 5.ed. Cary, NC, 2000.

SILVA, J.D. QUEIROZ, A.C. Análise de Alimentos (métodos químicos e biológicos). 2 ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, p.156, 2002.

SOMMART, K. et al. Effects of yeast culture and protein levels on ruminal fermentation, intake, digestibility and performance in ruminants fed straw based diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.71, Suppl.1, p.281, 1993.

SPEDDING, A. Yea-Sacc1026 plus monensin: effects on performance of bulls in silage beef and cereal beef programs. In: LYONS, T.P. (Ed.). **Biotechnology in the Feed Industry**. Nicholasville: Alltech Technical Publications, 1990. v.6.

STAPLES, C.R., LOUGH, D.S. Efficacy of supplemental dietary neutralizing agents for lactating dairy cows. A Review. **Animal of Feed Science. Technology**, v. 23, p.277. 1989.

STEAWART, C. S. Factors affecting cellulolytic activity of rumen contents. **Appl. Environ Microbiol.**, v.33, p. 497-502, 1977.

STOCK, R.; MADER, T. **Feed additives for beef cattle. Nebguide G85-761-A**. Disponível: site NebGuide (April 1997). URL: <http://www.ianr.unl.edu/pubs/beef/g761.htm>. Consultado em 20 nov.2009.

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

Van SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. London: Comstock Publishing Associates, 1994. 476p.

WALLACE, R.J. Ruminal microbiology, biotechnology and ruminant nutrition: progress and problems. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.72, p.2992-3003, 1994.

WALLI, T.K. Role of yeast culture in rumen ecosystem and animal performance. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.9, p.117-121, 1994.

WIEDMEIER, R.D., ARABEL, M.J., WALTERS, J.L. Effect of yeast culture and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on ruminal characteristics and nutrient digestibility. **Journal of Dairy Science**. v. 70, p.2063-2068. 1987.

WHEELER, W. E. Gastrointestinal tract pH environment and the influence of buffering materials on the performance of ruminants. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 51, n. 1, p. 224-235, 1980.

WILLIAMS, P.E.V. et al. Effects of the inclusion of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae* plus growth medium) in the diet of dairy cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen of steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.69, n.7, p.3016-3026, 1991.

WILLIAMS, V.J.; MACKENZIE, D.D.S. The absorption of lactic acid from the reticulo-rumen of the sheep. **Australian of Journal of Biological Sciences**, v.18, p.917-934, 1965.

WILLIAMS, P.E.V.; TAIT, C.A.G.; INNES, G.M. et al. Effects of the inclusion of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae* plus growth medium) in the diet of dairy cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen of steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.69, n.7, p.3016-3026, 1991.

WU, J.S. The microbiologist's function in developing action-specific microorganisms. In: LYONS, T.P. (Ed.). **Biotechnology in the feed industry**. Nicholasville: Alltech Technical Publications, 1997. p.181-198.