UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

JOSIANE HERNANDES ORTOLAN

**Efeitos da levedura, monensina sódica e salinomicina na
degradabilidade, digestibilidade, parâmetros ruminais e
protozoários ciliados de novilhos Nelore arraçados com
dietas concentradas**

JOSIANE HERNANDES ORTOLAN

Efeitos da levedura, monensina sódica e salinomicina na degradabilidade, digestibilidade, parâmetros ruminais e protozoários ciliados de novilhos Nelore arraçoados com dietas concentradas

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

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Orientador: Prof. Dr. José Carlos Machado Nogueira Filho

FICHA CATALOGRÁFICA

preparada pela

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

O78e

Ortolan, Josiane Hernandez

Efeito da levedura, monensina sódica e salinomicina na degradabilidade, digestibilidade, parâmetros ruminais e protozoários ciliados de novilhos Nelore arraçoados com dietas concentradas / Josiane Hernandez Ortolan – Pirassununga, 2005.
61 f.

Dissertação (Mestrado) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – Universidade de São Paulo.

Departamento de Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal.

Orientador: Prof. Dr. José Carlos Machado Nogueira Filho.

Unitermos: 1. Aditivos 2. Ionóforos 3. Nutrição
4. Parâmetros ruminais 5. Protozoários ciliados 6. *Sacharomyces cerevisiae* I. Título.

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

Amo vocês!

DEDICO

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

Amo você!

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por existir e ter capacidade de evoluir sempre, realizando mais uma etapa em minha vida.

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo pela oportunidade de realizar o trabalho.

À Empresa Alltech do Brasil, que nos proporcionou a execução do projeto através do patrocínio, obrigada pela confiança.

Ao Prof. Dr. José Carlos Machado Nogueira Filho, pela orientação, apoio na execução do projeto e amizade, parte fundamental para o sucesso dessa empreitada.

Às minhas irmãs Lene e Mara, simplesmente por existirem, amo vocês. Aos meus cunhados, David e Marcello, pelos ótimos finais de semana e por me ajudarem nas dúvidas com o excel. Aos meus avós, amo muito vocês. E sem esquecer da Brenda e Lua, vocês fazem parte da minha vida.

Ao Prof. Dr. Lúcio Francelino Araújo que pela amizade e confiança muitos frutos foram colhidos.

Ao Prof. Dr. Alexander Spers, que acreditou em mim e me ajudou a chegar onde estou, sem o seu carinho não teria concluído mais essa etapa.

Ao Prof. Dr. Paulo Roberto Leme, pela importante ajuda na execução e elaboração do projeto, e também, por ser meu co-orientador, solucionando a maioria das minhas dúvidas.

Ao Prof. Dr. Otto Mack Junqueira, por aceitar o convite de ser membro da banca de defesa desse trabalho.

Ao Amigo Ari, do laboratório de cromatografia da FMVZ, que sem ele as análises estatísticas não existiriam, “Ari, aprendi demais com você”.

Ao Prof. Dr. Douglas Emygdio de Faria, presidente da CPG e vice-diretor, pelo empenho fundamental em todas as etapas da realização desse trabalho.

Aos funcionários do departamento de Zootecnia, as meninas da secretaria, Erikinha, Sandrinha e Estelinha. As meninas do laboratório de bromatologia, Rosilda e Roseli, e sem esquecer do Rafinha, Cunha e Marquinhos, sem vocês nada teria acontecido, obrigada pela ajuda e amizade. Também agradecer aos meninos do setor dos Fistulados (Manoel, Ricardo e Tiago), que deram todo o apoio necessário

para a perfeita execução do experimento, sem esquecer do amigo Arnaldo, sempre auxiliando nos probleminhas do computador, obrigada.

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

As meninas da faxina, pela descontração e os cafezinhos, também não poderia esquecer do único menino, o Fabiano, obrigada a todos vocês, foram ótimos momentos.

Aos meus amigos, Luis Gustavo (Rombola), Gilson (Doug), Denise (Sol), Joel e todo o pessoal da Pós-graduação da FZEA-USP, Obrigada.

"A cada dia que vivo, mais me convenço de que o desperdício da vida está no amor que não damos, nas forças que não usamos, na prudência egoísta que nada arrisca, e que, esquivando-se do sofrimento, perdemos também a felicidade."

Carlos Drummond de Andrade

RESUMO

ORTOLAN, J.H. **Efeitos da levedura, monensina sódica e salinomicina na degradabilidade, digestibilidade, parâmetros ruminais e protozoários ciliados de Novilhos nelore arraçoados com dietas concentradas.** 2005. X p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2005.

Foram utilizados quatro Novilhos nelore, com peso vivo médio de 190 ± 32 kg, canulados no rúmen num experimento com delineamento Quadrado Latino 4x4, onde o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da levedura, monensina e salinomicina sobre os parâmetros ruminais e o aparecimento de protozoários ciliados ruminais. O experimento foi executado no Campus Administrativo de Pirassununga, na Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo. A dieta oferecida aos animais foi composta por silagem de sorgo e concentrado (30:70), onde foram submetidos a quatro tratamentos diferidos de acordo com o aditivo usado, 5,0g de Levedura (Beef Sacc®), 0,42g de salinomicina (Coxistac®), 2,0g de monensina sódica (Rumensin®) e o controle sem aditivo. Os parâmetros avaliados foram degradabilidade ruminal, *in situ* do volumoso e da dieta total, concentração de ácidos graxos voláteis e nitrogênio amoniacal, pH ruminal, taxa de passagem líquida, turnover e volume ruminal, e identificação e contagem dos protozoários ciliados. O período experimental foi subdividido em vinte e um dias de adaptação e sete de colheita, totalizando vinte e oito dias por período experimental. Foram mensurados os coeficientes de degradabilidade nos períodos de incubação de 0, 3, 6, 12, 24, 48, 72 e 96 horas. Para a colheita de líquido ruminal foram utilizados os horários 0, 2, 4, 6, 8 horas; as colheitas de marcador de fase líquida (PEG) foram realizadas às 0; 1,5; 3; 6; 12 e 24 horas após a alimentação. Houve aumento do valor para a fração “b” na MS, no tratamento levedura ($p < 0,05$), e no tratamento salinomicina. Também houve uma tendência a aumentar a fração “b” no FDN. O tratamento levedura aumentou significativamente o número de protozoários ciliados no rúmen ($p < 0,05$). Os valores referentes ao pH não foram afetados pelos tratamentos ($p > 0,05$). A concentração de amônia e os valores encontrados para a

cinética ruminal não foram afetados pelos tratamentos ($p>0,05$). O uso de ionóforos melhorou a proporção dos ácidos acético:propiónico, propiónico e butírico enquanto a levedura aumentou a concentração de ácido acético ($p<0,05$).

Palavras-chave: Aditivos, Ionóforos, Nutrição, Parâmetros ruminais, Protozoários ciliados, *Sacharomyces cerevisiae*.

ABSTRACT

Ortolan, J.H. **Effects of the Yeast, monensin and salinomycin in the degradability, digestibility, rumen parameters and ciliates protozoa in termination diet Nelore steers.** 2005. X f. M.Sc. Dissertation – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2005.

Four Nelore Steers had been used, with average alive weight of 190 ± 32 kg, rumen cannulas, in an experiment with Squared delineation Latin 4x4, where the objective of the work was to evaluate the effect of the yeast culture, monensin and salinomycin on the rumen parameters and the appearance of ciliates protozoa. The experiment was executed in the Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos of the Universidade de São Paulo. The diet offered to the animals was composed for ensilage and concentrated (30:70), where the four differed treatments had been submitted in accordance with the used additive, 5,0g of yeast culture (Beef Sacc), 0,42g of salinomycin (Coxistac), 2,0g of monensin (Rumensin) and the control without additive. The evaluated parameters had been ruminal degradability “in situ” of voluminous and the total diet, the concentration of volatile fatty acid concentration and ammoniac nitrogen concentration, pH ruminal, liquid passage, turnover and ruminal volume, and number and specie of ciliates protozoa. The experimental period was subdivided in twenty and one days of adaptation and seven of harvest, having totalized twenty and eight days for experimental period. The coefficients of degradability in the incubation periods of 0, 3, 6, 12, 24, 48, 72 and 96 hours had been measure. For the harvest of I eliminate ruminal had been used schedules 0, 2, 4, 6, 8 hours; the harvests of phase marker eliminate (PEG) had been carried through ace 0; 1,5; 3; 6; 12 and 24 hours after the feeding. It had increase of the value for fraction "b" in the MS, the treatment yeast culture, and the salinomycin treatment ($p < 0,05$). Also it had a trend to increase fraction "b" in the FDN. The treatment yeast culture significantly increased the number of ciliates protozoa in rumen ($p < 0,05$). The referring values to pH had not been affected by the treatments ($p > 0,05$). The ammonia concentration and the values found for the kinetic ruminal had not been affected by the treatments ($p > 0,05$). The use of ionophores improved

the acid ratio of the acetic:propionic, propionic and butiric while the yeast culture increased the acids concentration of acetic ($p<0,05$).

Keyword: Additives, Ionophores, Nutrition, Rumen parameters, Ciliates protozoa, *Sacharomyces cerevisiae*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Curva média da degradação da MS da dieta em novilhos Nelore recebendo os diferentes tratamentos com aditivos.	38
Figura 2 – Protozoários presentes no conteúdo ruminal de bovinos alimentados com dieta a base de silagem de sorgo e concentrado recebendo diferentes tratamentos, nos diferentes horários de colheitas após a alimentação.	43
Figura 3 – Valores da concentração de amônia no líquido ruminal de novilhos Nelore submetidos a diferentes tratamentos com aditivos.	46
Figura 4 – Valores de pH em bovinos alimentados com dieta a base de silagem de sorgo e concentrado recebendo diferentes tratamentos, nos diferentes horários de colheitas após a alimentação sobre o pH do líquido ruminal.	48
Figura 5 - Curvas das proporções acético:propiónico no rúmen em função do tempo após a alimentação de novilhos Nelore nos diferentes tratamentos propostos.	50
Figura 6 - Efeitos dos tratamentos sobre a porcentagem molar de ácido propiónico no líquido rúmen em função do tempo após a alimentação de novilhos Nelore nos diferentes tratamentos propostos.	51
Figura 7 - Efeitos dos tratamentos sobre a porcentagem molar de ácido acético no líquido rúmen em função do tempo após a alimentação de novilhos Nelore nos diferentes tratamentos propostos.	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição percentual da dieta na matéria seca.	25
Tabela 2 – Delineamento em quadrado latino 4x4.....	32
Tabela 3- Efeitos da adição dos tratamentos na degradabilidade da matéria seca da silagem (%).	34
Tabela 4- Efeitos da adição dos tratamentos na degradabilidade da proteína bruta da silagem (%).	35
Tabela 5- Efeitos da adição dos tratamentos na degradabilidade da fibra detergente neutro da silagem (%).	35
Tabela 6- Efeitos da adição dos tratamentos na degradabilidade da fibra detergente ácido da silagem (%).	36
Tabela 7- Efeitos da adição dos tratamentos na degradabilidade da matéria seca da dieta (%).	37
Tabela 8- Efeitos da adição dos tratamentos na degradabilidade da proteína bruta da dieta (%).	38
Tabela 9- Efeitos da adição dos tratamentos na degradabilidade da fibra detergente neutro da dieta (%).	39
Tabela 10- Efeitos da adição dos tratamentos na degradabilidade da fibra detergente ácido da dieta (%).	39
Tabela 11- Valores médios do consumo alimentar, digestibilidade in vitro da matéria seca da dieta total (%) e digestibilidade in vitro da matéria seca da silagem (%) de novilhos Nelore submetido a diferentes tratamentos.....	41
Tabela 12 - Média do número de protozoários ciliados no rúmen ($\times 10^4/\text{ml}$) e seu respectivo desvio padrão.	43
Tabela 13 – Taxa de passagem do líquido, volume ruminal e Turnover em novilhos Nelore submetidos a diferentes tratamentos com aditivos.	45
Tabela 14 – Concentração de amônia (mg/100mL) do líquido ruminal em novilhos Nelore submetidos a diferentes tratamentos com aditivos.	45
Tabela 15 – Efeitos dos diferentes tratamentos em diferentes horários de colheitas após a alimentação sobre o pH do líquido ruminal.....	47
Tabela 16- Efeitos dos diferentes tratamentos sobre a concentração média dos AGV's no líquido ruminal de novilhos Nelore.....	49

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1	IONÓFOROS E SEU MODO DE AÇÃO.....	16
2.2	USO DE LEVEDURA NA ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES	19
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	23
3.1	ANIMAIS E INSTALAÇÕES	23
3.2	TRATAMENTOS.....	24
3.3	DETERMINAÇÃO DA DEGRADABILIDADE <i>IN SITU</i>	25
3.4	DETERMINAÇÃO DA DIGESTIBILIDADE <i>IN VITRO</i>	27
3.5	DETERMINAÇÃO DO VOLUME RUMINAL, “TURNOVER” E TAXA DE PASSAGEM LÍQUIDA..	28
3.6	DETERMINAÇÃO DO PH RUMINAL	29
3.7	DETERMINAÇÃO DOS PROTOZOÁRIOS CILIADOS.....	29
3.8	DETERMINAÇÕES DE AMÔNIA NO LÍQUIDO RUMINAL.....	30
3.9	DETERMINAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS VOLÁTEIS (AGV).....	31
3.10	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	32
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.1	DEGRADABILIDADE RUMINAL	33
4.1.1	Silagem de Sorgo	34
4.1.2	Dieta Total	36
4.2	DIGESTIBILIDADE <i>IN VITRO</i>	40
4.3	PROTOZOÁRIOS CILIADOS.....	41
4.4	PARÂMETROS RUMINAIS AVALIADOS.....	44
4.4.1	Cinética ruminal	44
4.4.2	Amônia	45
4.4.3	pH.....	47
4.4.4	Ácidos Graxos Voláteis.....	48
5	CONCLUSÕES	52
6	REFERÊNCIAS.....	53

1 INTRODUÇÃO

A rápida expansão do crescimento populacional no mundo faz com que a demanda, principalmente por proteína animal, exceda sua produção. Em função disso, o aumento na eficiência do ciclo de produção animal, especialmente na criação de ruminantes, tem fundamental importância. Entre as várias alternativas para a melhoria no atendimento desta demanda, atualmente é utilizar-se de estratégias que induzam melhorias na formulação de dietas e adição de compostos que visem principalmente eficiência máxima na fermentação ruminal, tendo por consequência um aumento na produção de proteína microbiana para o animal, e cada vez mais surgem alternativas de alimentos e/ou aditivos para o uso na nutrição animal, principalmente na alimentação dos ruminantes.

A utilização de aditivos na alimentação animal significa uma forma de incrementar a produção de proteína de alto valor biológico para uma população humana em constante crescimento. É uma medida eficaz para aumentar a produção e rentabilidade das explorações pecuárias (CAMPOS NETO et al. 1995).

Atualmente, observam-se buscas incessantes na descoberta e conhecimento de novos aditivos, das mais diferentes origens, para serem aplicados junto à

alimentação animal. Dentro das pesquisas desenvolvidas nesta área, destacam-se os ionóforos. Pesquisas realizadas com estas substâncias têm registrado modificações na ingestão alimentar, produção de gases, produção de ácidos graxos, utilização da proteína e no enchimento e taxa de passagem pelo rúmen. A monensina tem sido o principal ionóforo utilizado como aditivo alimentar em dietas para bovinos de corte entre dezenas de outros ionóforos conhecidos, entre eles a salinomicina.

A utilização de leveduras nas dietas de bovinos de corte tem sido estudada nos últimos anos, com o intuito de desenvolver uma forma de aditivo natural, em substituição ao uso de outros convencionais como os ionóforos, permitindo assim que esses e/ou outros animais tenham um melhor aproveitamento da dieta oferecida, além de diminuir o risco de resíduos nos produtos oriundos das criações, tornando a alimentação humana mais saudável.

Vários autores relataram que a sua utilização tem promovido melhoria no desempenho, possivelmente devido aos efeitos no processo digestivo, degradação da parede celular, manutenção dos níveis adequados de amônia no rúmen, estabilização do pH ruminal, e ao aumento da população microbiana do rúmen.

Objetivou-se nesse trabalho a avaliação do efeito do uso de *Saccharomyces cerevisiae* como aditivo comparado ao uso de monenina e salinomicina sobre os parâmetros de fermentação ruminal, degradabilidade e digestibilidade, assim como a população de protozoários ciliados de novilhos Nelore, alimentados com dieta de terminação.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Ionóforos e seu modo de ação

O segredo do sucesso nos ruminantes é a relação simbiótica com os microrganismos presentes no rúmen que levam a uma maximização do processo fermentativo promovendo uma melhoria na eficiência alimentar. Uma das alternativas para a melhoria dos processos fermentativos ruminais é o uso de aditivos nas dietas destas espécies, como alguns ionóforos, antibióticos, enzimas, leveduras e tamponantes, entre outros. Sabe-se do papel fundamental que a população microbiana desempenha na digestão dos alimentos e atualmente nota-se um crescente interesse na utilização de novas tecnologias para modificá-la, com o objetivo de melhorar a eficiência de utilização dos nutrientes.

Ionóforos são compostos que alteram o transporte de cátions através das membranas celulares, que quando administrados a ruminantes, modificam o padrão da fermentação devido à seleção das bactérias ruminais.

Esses compostos são capazes de interagir com íons metálicos, dessa forma servindo como carreador destes através da membrana lipídica. O transporte se inicia quando o ionóforo, na forma aniônica, é estabilizado pela polaridade característica da superfície da membrana. Como um ânion, o ionóforo é capaz de se unir a um cátion metálico, na porção final ou outros sítios internos. A união de um cátion inicia a formação de um complexo cátion-ionóforo lipofílico que se difunde pelo interior da estrutura da membrana. Dentro da célula o ionóforo libera o cátion e se liga a um hidrogênio (H^+) o qual é transportado para fora da célula (BERGEN e BATES, 1984).

O fluxo de íons é muito importante para as células bacterianas e mitocôndrias. A energia metabólica é conservada em nível de membrana como um gradiente eletroquímico de íons H^+ , conhecido como transporte primário (PLAIZIER, 1997).

Bactérias gram-negativas que possuem sistema de transporte de elétrons na membrana celular terão melhores condições de sobrevivência quando comparadas as gram-positivas que dependem de fosforilação em nível de substrato via ATPase utilizando ATP para bombear íons H^+ para fora da célula (BERGEN e BATES, 1984). Existem vários tipos de ionóforos, entre eles os mais conhecidos são a monensina, lasalocida, narasina, salinomycin, tetronasina e avoparcina (SCHELLING, 1984). A função básica é criar um fluxo de transporte de íons através da membrana celular (RUSSEL, 1996).

Ionóforos têm sido amplamente utilizados para melhorar a eficiência alimentar em bovinos de produção (BERGEN e BATES, 1984) e regular as funções do rúmen em animais que recebem dietas ricas em amido. Eles agem em ambos metabolismos: da energia e do nitrogênio, aumentando a produção de propionato e diminuindo a de metano no rúmen, aumentando o fluxo duodenal de nitrogênio não amoniacal em animais tratados (SCHELLING, 1984).

A fermentação ruminal é alterada devido a uma mudança na ecologia ruminal (CHEN e WOLIN, 1979). As bactérias gram-positivas produtoras primárias de acetato, butirato, H_2 e formato são inibidas na presença de monensina, porém, as espécies gram-negativas, as quais produzem succinato que é precursor do propionato, são mais resistentes. Também, pode se citar a redução no número de

protozoários quando utilizado monensina na dieta de ruminantes (MENDOZA et al., 1993).

A adição dos ionóforos na dieta alimentar tem demonstrado um aumento na produção de ácido propiônico, o qual é utilizado como um precursor para a gliconeogênese, enquanto os ácidos acético e butírico não podem ser convertidos em glicose. (LEAN et al., 1992).

Schelling (1984) descreveu sete categorias ou sistemas de modo de ação dos ionóforos. A modificação da produção de ácidos graxos voláteis (AGV) é a mais amplamente reconhecida. A alteração no consumo alimentar também deve ser considerada, e também mudança na produção de gás, provavelmente contribui em pequenas economias de energia. Mudanças na digestibilidade são provavelmente muito variáveis, como modo de ação, mas devem ser consideradas. A alteração na utilização da proteína parece resultar de vários fatores que ocorrem simultaneamente. A modificação do preenchimento ruminal e taxa de passagem podem ser importantes no caso de alguns dos sistemas citados anteriormente. A melhora na produção animal parece ocorrer quando esses fatores ocorrem em conjunto.

Sabe-se que a monensina aumenta a produção de ácido propiônico no rúmen e que resulta em decréscimo da proporção do ácido acético, mas sem alterar significativamente a produção de ATP. Esse efeito é determinado pela ação seletiva na população microbiana, diminuindo o número de bactérias gram-positivas (KONE et al., 1989; BEACON e MIR, 1985). Essas bactérias são produtoras primárias de acetato e butirato, mas em compensação, as gram-negativas têm como produto principal de sua fermentação o propionato, explicando-se, assim, esse aumento. A ação contra as bactérias gram-positivas ocorre por causa do sistema de transporte de íons, por meio das membranas celulares; essas bactérias não possuem (ao contrário das gram-negativas) sistema de transporte de elétrons acoplado à síntese de ATP e, assim, muitas delas não sobrevivem à ação do ionóforo. (MEDEL et al., 1991). A maior parte dos substratos energéticos, em dietas de ruminantes, constitui-se de carboidratos, fermentados pelos microrganismos a ácidos graxos voláteis, metano e dióxido de carbono. Os ácidos graxos voláteis produzidos pela fermentação microbiana são absorvidos e servem como fonte energética para ruminantes (SPEARS, 1990). Sprott et al. (1988) revelaram que a utilização de ionóforos produz alterações favoráveis nos ganhos, mas a extensão desta

modificação depende da qualidade da dieta, bem como da idade e condição corpórea do animal.

Segundo Rogers *et al.* (1997) a utilização de monensina (*Streptomyces cinnamonensis*) em dietas de terminação aumentou a proporção do propionato produzido, diminuiu o acetato e, por consequência a relação acetato:propionato. Após a retirada da monensina na dieta, os efeitos sobre a fermentação ruminal desapareceram. A adição de monensina causou um grande decréscimo na concentração de protozoários no rúmen em curto período, em relação ao período de tratamento.

Um outro ionóforo também muito usado é a salinomicina, pertencente ao mesmo grupo da monensina, resultantes do produto metabólico da *Streptomyces albus*, além de ser usado como aditivo em alimentos para controlar problemas de coccidiose promove, além do tratamento terapêutico, o ganho de peso em gado de corte e em outras espécies animal.

Zinn (1986), concluiu que a salinomicina tem efeito sobre o metabolismo ruminal, apresentando aumento na produção do ácido graxo propionato e melhorando a conversão alimentar, tendo atribuído a esse fato, a melhoria da eficiência de absorção dos nutrientes. Hristov *et al.* (2003) evidenciaram toxidez para protozoários ciliados quando utilizada a salinomicina.

2.2 Uso de levedura na alimentação de ruminantes

A adição de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) como aditivo na alimentação de ruminantes tem sido estudada como provável substituto a outros aditivos que será proibido para o uso na alimentação animal pela União Européia em 2006, devido ao risco da presença de resíduos antibióticos no leite e na carne e seus efeitos na saúde humana (OFFICIAL JOURNAL OF THE EUROPEAN UNION, 2003).

Nesse contexto, existe uma busca por aditivos alternativos que possa melhorar a eficiência do uso dos nutrientes no rúmen pelos microrganismos

ruminais. Estas substâncias atuam sobre a fauna e flora ruminal, estimulando o desenvolvimento de determinados microrganismos, principalmente bactérias celulolíticas, resultando em melhora na produção animal com o aumento da degradação de fibras vegetais.

Segundo Dawson (1992), a utilização de leveduras promove um maior desenvolvimento dos microrganismos 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.

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).

Respostas em aumento no ganho de peso, na produção de leite ou na digestibilidade do trato total dos componentes do alimento com o uso de leveduras não tem sido consistentes (WILLIAMS e NEWBOLD, 1990; DENIGAN et al., 1992). Alguns dados têm mostrado uma melhora significativa na digestibilidade de frações da fibra (GOMES-ALARCON et al., 1990; VAN HORN et al., 1994), coincidindo com um aumento no número de bactérias celulolíticas no rúmen (WIEDMEIER et al., 1987).

Iwanska et al. (1999) sugerem 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.

As leveduras apresentam grande capacidade de armazenamento e podem auxiliar a manutenção do pH no rúmen (a estabilização do pH ruminal foi relacionada com o aumento do consumo de sólidos em dietas para bezerros). Além disso, podem contribuir para o suprimento de nutrientes para a população bacteriana do intestino (ROSE, 1997).

Saccharomyces cerevisiae tem grande afinidade por oxigênio, melhorando as condições do rúmen para os microrganismos anaeróbios. O conteúdo ruminal é essencialmente anaeróbio, mas pequenas concentrações de oxigênio dissolvido podem ser encontradas. Ele é tóxico a bactérias anaeróbias e reduz a adesão das bactérias celulolíticas à celulose. Os carboidratos estruturais da planta, dos quais a celulose é o principal componente, são as principais fontes de energia para o ruminante. As bactérias celulolíticas são especialmente sensíveis ao teor de oxigênio dissolvido, e respondem mais favoravelmente à presença de levedura (NEWBOLD et al., 1996).

Wallace (1994) e Newbold et al. (1995), constataram que as leveduras removem o oxigênio que chega ao rúmen através do alimento e da saliva, proporcionando aumento no número de bactérias celulolíticas viáveis, sendo que as bactérias que utilizam ácido láctico são estimuladas pela presença de ácidos dicarboxílicos. Assim, o pH do rúmen torna-se mais estável, a metanogênese e a proporção de ácidos graxos voláteis são alteradas e a concentração de ácido láctico diminui. Essas mudanças elevam a taxa de digestão da celulose e o fluxo de proteína microbiana, que resulta em maior ingestão de matéria seca e, portanto, melhor desempenho.

Segundo Wallace (1994), o uso de culturas de *Saccharomyces cerevisiae* pode melhorar o ganho de peso 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.

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).

A relação volumoso:concentrado da dieta também é importante para determinar o efeito da adição de leveduras (WILLIAMS et al. 1991; ADAMS et al. 1995). 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%). Williams *et al.* (1991) relataram um melhor efeito da levedura em animais alimentados com alto teor de concentrado.

Nos estudos conduzidos por Piva *et al.* (1993), as concentrações de NH₃ 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 fluído ruminal (ERASMUS *et al.*, 1992) e também causa aumento na degradação ruminal da fibra (CHADEMANA e OFFER, 1990).

3 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada nas instalações do Departamento de Zootecnia da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA/USP), em Pirassununga, SP, situado a 21° 8'' de latitude sul e 47° 25'42'' de longitude oeste, com altitude de 634 metros. O clima da região é do tipo Cwa na classificação de Köppen, portanto subtropical com período seco bem definido, inverno seco e verão quente e chuvoso.

3.1 Animais e Instalações

O experimento foi realizado com 4 animais da raça Nelore, com idade aproximada de 12 meses, castrados, canulados no rúmen e peso vivo médio de 190

$\pm$ 32 kg. Esses animais foram alojados em baias individuais de alvenaria, com bebedouros automáticos e cochos. Todos os animais foram vacinados e receberam vermífugo antes do início do período experimental.

3.2 Tratamentos

A dieta oferecida aos animais foi composta por silagem de sorgo, como volumoso, e concentrado, na proporção volumoso:concentrado de 30:70. A dieta foi oferecida diariamente, duas vezes ao dia, às 8h e às 16h, em quantidade de matéria seca, equivalente a 2,8% do peso vivo. As sobras foram pesadas e recolhidas amostras diariamente antes da primeira alimentação, refrigeradas e posteriormente feitas análises de MS, PB, FDA e FDN no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Zootecnia. A cada início de período experimental foram amostradas 500g de silagem de sorgo e dieta total para determinação da porcentagem de MS para correção da proporção de concentrado oferecido. A água ficava a disposição dos animais por intermédio de bebedouros automáticos.

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

A composição da dieta em porcentagem de matéria seca está apresentada na Tabela 1. Foram utilizados quatro tratamentos diferidos de acordo com o aditivo a ser usado. Os tratamentos utilizados foram os seguintes:

CTL: Controle – sem aditivo – somente fubá de milho;

SA: 0.42g de salinomicina (Coxistac[®]) adicionada em fubá de milho;

MO: 2,0g de monensina sódica (Rumensin[®]) adicionada em fubá de milho;

LE: 5,0g de levedura (Beef Sacc[®]) adicionada em fubá de milho.

Cada aditivo completou uma mistura de 100g com o fubá de milho e adicionada aos cochos dos animais, juntamente com a dieta total de uma só vez, de modo a ingerirem cada tratamento em sua totalidade.

O experimento teve duração entre março e julho de 2004, onde cada período experimental foi constituído de 28 dias, divididos em 21 dias de adaptação e 7 dias para as colheitas das amostras de conteúdo ruminal e ensaio de degradabilidade.

Tabela 1 – Composição percentual da dieta na matéria seca.

Ingrediente	% na matéria seca
Silagem de sorgo	30,00
Fubá de milho	20,30
Casca de soja	38,30
Farelo de soja (46%)	10,10
Uréia	0,60
Núcleo mineral ¹	0,70
Nutrientes	
Nutrientes Digestíveis Totais	73,9
Proteína Bruta	14,9
Proteína Degradável no Rúmen	9,6
Extrato Etéreo	5,0
Índice de Fibra	20,0
Cálcio	0,45
Fósforo	0,31

¹ Composição do Núcleo Mineral: Cálcio 7,9%, Fósforo 5,9%, Magnésio 2,7%, Enxofre 6,0%, Sódio 18,7%, Manganês 3240 ppm, Zinco 5400 ppm, Ferro 1620 ppm, Cobre 1620 ppm, Cobalto 90 ppm, Iodo 90 ppm, Selênio 25ppm, Vitamina A 250.000 UI/Kg.

3.3 Determinação da degradabilidade *in situ*

A degradabilidade *in situ* foi executada conforme a técnica preconizada por Orskov e McDonald (1979) onde se mensurou as taxas de desaparecimento da MS, PB, FDN e FDA, utilizando-se sacos de náilon da marca ANKON, medindo 10x20 cm e poros com 50 micrômetros, totalizando 0,05g de amostra por cm².

O ensaio foi conduzido com amostras da dieta total e silagem. Os saquinhos foram pesados individualmente e a seguir foram pesadas amostras de silagem e dieta total de 10 gramas para cada saquinho. Essas amostras foram pré-secadas em estufa a 65° C durante 48 horas e em seguida processadas em moinho tipo Willey com peneira de crivo com diâmetro de 2mm. Os saquinhos foram vedados com elástico afim de não perder amostras e fixados em mosquetões.

Os horários de incubação ruminal foram 3, 6, 12, 24, 48, 72 e 96 horas. Para tempo zero os sacos de náilon forma mergulhados em água aquecida a 39°C por 5 minutos conforme técnica descrita por Cummins et al. (1983). Após a retirada dos sacos de náilon do rúmen, estes foram lavados em água corrente com balde, até que a água se apresentasse clara, e após esse procedimento foram levados à estufa de ventilação forçada a 65°C por 48 horas. Após a secagem dos sacos, os mesmos foram pesados e as amostras armazenadas em sacos plásticos identificados, que posteriormente foram analisados em laboratório para matéria seca (MS) e proteína bruta (PB) segundo as normas da A.O.A.C. (1980) e fibra em detergente neutro (FDN) segundo Van Soest et al. (1991).

Para calcular a degradabilidade da MS foi utilizada a fórmula:

$$DgMS\% = 100 \times [1 - (PSPI - PVS) / (PSAI - PSV)]$$

Onde:

DgMS%= degradabilidade da MS em porcentagem;

PSPI= peso do saco após a incubação;

PSAI= peso do saco antes da incubação;

PSV= peso do saco vazio.

Os percentuais de degradabilidade obtidos para PB, FDN, FDA foram calculados através da fórmula utilizada para a degradabilidade da MS, sendo as diferenças (PSPI - PSV) e (PSAI - PSV) multiplicadas pelas respectivas porcentagens de PB, FDN e FDA.

Os dados de degradabilidade obtidos foram ajustados pelo modelo de Ørskov e McDonald (1979), segundo a 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 e a degradabilidade efetiva conforme equação de Orskov *et al.* (1980).

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

Onde:

p = representa a taxa de degradabilidade efetiva;

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

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

c = é a taxa horária de degradação, 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. A.F.R.C. (1992) recomenda taxa de 0,05/h para gado de corte recebendo alto nível de dietas mistas.

3.4 Determinação da Digestibilidade *in vitro*

Foram pesados dois gramas de amostra seca e moída de cada tratamento (silagem e dieta) com uma repetição. Esses tratamentos foram subdivididos em 4 outros tratamentos: dieta + monensina, dieta + Salinomicina, dieta + levedura, dieta + controle; silagem + monensina, silagem + salinomicina, silagem + levedura, silagem + controle. Posteriormente, foi coletado líquido ruminal dos animais já adaptados aos tratamentos propostos (monensina, salinomicina, levedura e controle). A coleta foi feita às 7h da manhã com auxílio de uma bomba de sucção através da cânula ruminal. Após a colheita, o líquido foi filtrado com auxílio de gaze, colocado em garrafas térmicas e levado para o laboratório onde estavam as amostras. Posteriormente, o líquido foi transferido para os tubos de digestibilidade com as amostras. Foram adicionados ao tubo, 40 mL de saliva artificial (preparada no dia anterior) e 10 mL de líquido ruminal que, posteriormente foram incubados durante 48 horas a 37° e 40° C em banho Maria. Os tubos foram agitados e injetado

gás carbônico para retirar o oxigênio 3 vezes ao dia. Após esse período foi adicionado 5mL pepsina ácida a 4% e 2 mL de ácido clorídrico a 40%, e mantidos os mesmo parâmetros e após 48h, os tubos foram filtrados em cadinhos com filtro previamente pesados e levados a estufa de ventilação forçada a 65°C por 3 dias, e posteriormente pesados. Os cálculos foram obtidos através da fórmula:

$$\text{DIVMS} = 100 \times \frac{\text{g/MS amostra} - (\text{g/MS residual} - \text{g/MS do branco})}{\text{g/MS amostra}}$$

3.5 Determinação do volume ruminal, “turnover” e taxa de passagem líquida.

Para determinação do volume ruminal, “turnover” (fluxo líquido por kg de MS consumida por hora) e taxa de passagem líquida foi aplicada à técnica de Hyden (1959), utilizando como marcador de fase líquida o polietilenoglicol com peso molecular 4.000 (PEG-4.000F). Foram diluídos 250mg de PEG em 500mL de água destilada, e armazenados em frascos de boca larga para facilitar a colocação do líquido dentro do rúmen através da cânula antes da primeira alimentação. Foi colhido uma amostra de 50 mL de líquido ruminal para análise nos horários 0 ;1,5 ;3 ;6 ;12 e 24 horas sendo que para a hora 0 foi colhido líquido ruminal antes da oferta da dieta.

As amostras foram armazenadas em frascos de vidro e congeladas a - 20°C, para posterior análise.

As amostras foram descongeladas em temperatura ambiente, e centrifugadas a 3.500 rpm por 10 minutos e uma alíquota de 2 ml foi adicionada a 10 ml de água destilada com adição de 1 ml de cloreto de bário, 10%; 2ml de hidróxido de bário 0,3 N, e 2 ml de sulfato de zinco 5%, misturados para desproteíntização. As amostras permaneciam em repouso por 5 minutos e então centrifugadas a 3.500 rpm por 10 minutos. Procedeu-se a turvação do PEG, através da adição de 5 ml de solução combinada de ácido tricloroacético 30%, mais cloreto de bário 5% ao sobrenadante diluído em diferentes proporções com água destilada, de acordo com a hora da colheita. Após 5 minutos procedeu-se as leituras de absorbância em espectrofotômetro, ajustando-o para um comprimento de onda igual a 500 nm e

zerando o aparelho com água destilada. Os valores de absorbância, corrigidos para as diluições foram utilizados para calcular as concentrações de PEG em mg/mL, através de equações de regressão linear obtidos a partir da calibração do aparelho com diferentes concentrações de solução padrão. Admitiu-se um R^2 mínimo de 0,99 para a curva padrão.

A taxa de passagem de líquido ou taxa eferente de fluxo, em porcentagem por hora, foi calculada através da regressão linear do logaritmo natural da concentração do PEG 4.000 em função do tempo. O volume de líquido ruminal, em litros, estimados através da extrapolação da concentração inicial (zero hora) e a dosagem do marcador (250g/animal). Esses dados ainda foram utilizados para calcular o fluxo líquido por hora (L/h) e o fluxo líquido por Kg de MS consumida por hora (L/Kg MS/h).

3.6 Determinação do pH ruminal

O pH ruminal foi mensurado durante o período de colheita. As colheitas foram executadas diretamente do rúmen nos horários de 0 hora (antes da alimentação) e 2, 4, 6 e 8 horas após alimentação. O líquido ruminal foi colhido com bomba de vácuo, e determinado o pH através de peagâmetro digital calibrado com solução tampão de pH 4,0 e pH 7,0.

3.7 Determinação dos protozoários ciliados

Os protozoários ciliados do rúmen foram avaliados através de colheitas executadas nos horários de 0 hora (antes da alimentação) e 2, 3, 4, 6 e 8 horas após a alimentação.

Foram colhidos 100 mL de líquido ruminal, por meio de bomba de sucção, que foi transferida para um balão kitasato e uma alíquota de 20 mL foi colhida para frascos de vidro com 10 mL de formaldeído a 37%. Os frascos foram agitados imediatamente após a colheita, para fixação dos protozoários ciliados. As amostras permaneceram em repouso até o momento das determinações que foram executadas segundo metodologia de Dehority (1977), para estabelecer as curvas de pico de aparecimento dos gêneros de ciliados.

Para identificação dos protozoários ciliados foi utilizado corante (verde brilhante) para melhor identificação, colocando um mL de líquido ruminal em uma câmara de contagem de Sedgwick-Rafter, a fim de ser observado em microscópio ótico comum provido de retículo com área de $0,4362\text{mm}^2$.

3.8 Determinações de amônia no líquido ruminal

Foram colhidos 2,0 mL de líquido ruminal em frascos de vidro contendo 1,0 mL de ácido sulfúrico 1 N nos horários de 0 hora (antes da alimentação) e 2, 4, 6 e 8 horas após alimentação. As amostras foram armazenadas sob refrigeração até a realização das análises, em duplicata. A determinação do nitrogênio amoniacal foi realizada por colorimetria, pelo método de Weatherburn (1967).

A desproteinização das amostras foi realizada através da adição de 1ml de tungstato de sódio 10% aos tubos contendo amostras fixadas e centrifugação a 3.000 rpm durante 15 minutos. Posteriormente foram colhidos 25 microlitros de sobrenadantes e colocados em tubos de ensaio acrescentados de 5 mL de reagente fenol (50 mg de nitroprussiato de sódio e 10 g de cristais de fenol diluídos em 1 litro de água destilada) e 5 mL de reagente hipoclorito de sódio (10 g de hidróxido de sódio, 21,3 g de fosfato de sódio dibásico anidro e 25 mL de solução de hipoclorito de sódio 5% diluídos em 1 litro de água destilada). Os tubos foram arrolhados, agitados e mantidos em banho-maria a 37°C por 15 minutos. Foram feitas leituras de absorbância através do espectrofotômetro regulado em 630 nm, valores estes, utilizados para calcular as concentrações de nitrogênio amoniacal em mg/100 mL de

liquido ruminal, através de equações de regressão linear, gerada a partir de uma curva de calibração do aparelho com diferentes concentrações de solução padrão. Admitiu-se um R^2 mínimo de 0,99 para esta curva. O aparelho foi zerado com um branco contendo soluções de tungstato de sódio 10%, solução de H_2SO_4 1 N e água destilada, diluídos em reagente fenol e hipoclorito nas proporções para análise.

3.9 Determinação de ácidos graxos voláteis (AGV)

Foram colhidos alíquotas de 5 mL de liquido ruminal nos horários de 0 hora (antes da alimentação), 2, 4, 6 e 8 horas após o fornecimento das dietas. O liquido foi colhido em diferentes áreas do rúmen, com auxílio de bomba de vácuo, e armazenados em frascos contendo 1 mL de H_2COO (ácido Fórmico) e posteriormente congeladas a $-20^{\circ}C$. As determinações quantitativas dos AGV's (ácido acético, butírico, e propiônico) foram executadas segundo o método de Erwin et al. (1961), utilizando-se cromatografia gasosa.

As amostras foram descongeladas em temperatura ambiente e submetidas a duas centrifugações iguais, com 10 minutos a $4^{\circ}C$ e 3.500 rpm, posteriormente injetadas num cromatógrafo a gás (modelo 9001 Gas Chromatograph, marca Finnigan) com colunas de vidro de 2 metros de comprimento x 1/8" (polegada), empacotada com 80/120 carbopak B-DA/4% carbonax 20M. O nitrogênio foi utilizado como gás de arraste com 25mL/minuto oxigênio como gás comburente na vazão de 175mL/minuto, e hidrogênio, como gás combustível na vazão de 15 mL/minuto. As temperaturas utilizadas foram as seguintes: injetor a $220^{\circ}C$, da coluna a $75^{\circ}C$ inicial seguida de uma rampa aumentando $20^{\circ}C$ /minuto até atingir $210^{\circ}C$, e do detentor de ionização de chama a $250^{\circ}C$.

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

Foi injetado 1 microlitro de amostra centrifugada no cromatógrafo, integrado a um computador, que processava os cálculos de quantificação, utilizando-se do software BORWIN versão 1.21 para cromatografia.

Foram calculadas as porcentagens molares (% molar) dos ácidos acéticos, butírico, e propiônico, assim como a relação acético:propiônico e a quantidade total de ácidos graxos voláteis (mM).

3.10 Delineamento Experimental

O delineamento experimental utilizado foi o quadrado latino 4x4 descrito por Gomes (1985), apresentado na tabela 2. As análises estatísticas foram elaboradas através do programa “Statistical Analysis System” (SAS, 2002), utilizando o procedimento GLM para análise de variância e as médias comparadas pelo teste de tukey.

Tabela 2 – Delineamento em quadrado latino 4x4.

Períodos	Animais			
	62	1	2	453
I	C	D	B	A
II	A	B	C	D
III	D	C	A	B
IV	B	A	D	C

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Degradabilidade Ruminal

Foi avaliada a degradabilidade da MS, PB, FDN e FDA da silagem de sorgo com o propósito de investigar o efeito de diferentes aditivos na degradabilidade da fibra do volumoso. Também foi avaliada a degradabilidade da MS, PB, FDN e FDA da dieta total com o intuito de analisar o efeito dos aditivos propostos na degradação protéica da dieta.

4.1.1 Silagem de Sorgo

Os resultados referentes à inclusão dos aditivos nos tratamentos sobre a degradabilidade da MS, PB, FDN, FDA e parâmetros a, b, c de ØRSKOV e MAcDONALD (1979) da silagem de sorgo estão apresentados nas tabelas 3, 4, 5 e 6 e os dados mostram que não houve efeito dos tratamentos sobre os parâmetros da degradabilidade da MS, PB, FDN e FDA.

Contrariando os dados obtidos na tabela 5, WHOLT *et al.* (1998), em estudos com leveduras, observaram aumento na digestibilidade do FDN, contribuindo para uma maior digestibilidade da MS. Também, NEWBOLD *et al.* (1995), relataram que a adição da levedura à dieta de ruminantes estimulou a taxa de digestão da fibra, e que o aumento no número de bactérias celulolíticas estava associado ao aumento da taxa de degradação da fibra no rúmen. Embora o aumento de bactérias celulolíticas esteja relacionado com a melhor digestibilidade da fibra, WIEDMEIER *et al.* (1987), apontaram que mesmo com o aumento das bactérias celulolíticas no rúmen, não houve aumento da degradação da fibra, como apresentado neste experimento (tabela 3).

Tabela 3- Efeitos da adição dos tratamentos na degradabilidade da matéria seca da silagem (%).

Tempo	Tratamentos				Média	C.V.
	Controle	Salinomicina	Monensina	Levedura		
0			16,87			
3	28,03	28,24	28,92	27,01	28,05	9,47
6	30,70	30,78	33,26	32,42	31,79	8,92
12	37,65	38,15	38,27	38,63	38,17	10,13
24	47,10	46,65	49,13	47,14	47,50	14,14
48	58,11	58,34	59,18	59,19	58,70	10,80
72	61,92	62,27	64,54	62,95	62,92	10,03
96	68,36	66,52	67,63	69,63	68,03	9,31
Parâmetros*						
A	20,09	19,95	20,54	20,24	20,21	9,36
B	48,78	46,81	49,25	49,40	48,56	14,65
C	0,03	0,04	0,04	0,03	0,03	33,79
Dp	68,87	66,77	69,80	69,64	68,77	10,64
De (0,05)	40,18	40,36	41,58	40,68	40,70	8,83

*a, b e c são parâmetros de ØRSKOV e MAcDONALD (1979), Dp = degradabilidade potencial, De = degradabilidade efetiva para taxas de passagem igual a 0,05.

Tabela 4- Efeitos da adição dos tratamentos na degradabilidade da proteína bruta da silagem (%).

Tempo	Tratamentos				Média	C.V.
	Controle	Salinomicina	Monensina	Levedura		
0	48,45					
3	57,39	52,08	55,44	50,06	53,74	10,89
6	58,83	58,25	63,84	57,09	59,66	10,82
12	67,95	67,91	68,01	71,50	68,66	15,03
24	76,03	81,21	79,27	80,72	79,07	9,23
48	87,91	92,95	89,31	89,23	89,67	4,83
72	91,32	94,05	91,86	93,87	92,78	3,58
96	95,00	95,59	95,96	95,65	95,30	2,88
Parâmetros*						
A	51,08	47,81	49,31	46,31	48,63	5,71
B	45,34	50,17	46,48	49,80	47,95	6,29
C	0,03	0,04	0,05	0,04	0,04	45,52
Dp	96,43	97,99	95,79	96,12	96,58	1,98
De (0,05)	70,74	70,23	72,44	69,31	70,68	7,54

*a, b e c são parâmetros de ORSKOV e MACDONALD (1979), Dp = degradabilidade potencial, De = degradabilidade efetiva para taxas de passagem igual a 0,05.

Não houve diferença significativa nos valores entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Tabela 5- Efeitos da adição dos tratamentos na degradabilidade da fibra detergente neutro da silagem (%).

Tempo	Tratamentos				Média	C.V.
	Controle	Salinomicina	Monensina	Levedura		
0	2,54					
3	4,34	3,02	3,49	3,22	3,52	20,49
6	7,28	7,37	4,80	7,78	6,81	42,06
12	15,53	15,64	14,23	15,01	15,10	35,38
24	27,17	24,24	27,71	28,41	26,88	26,21
48	36,29	38,69	39,70	43,31	39,50	27,29
72	44,05	46,66	49,63	47,66	47,00	20,74
96	55,79	51,58	54,97	56,29	54,66	20,48
Parâmetros*						
A	2,34	0,88	0,07	0,62	0,98	177,43
B	66,86	59,95	70,27	63,11	65,05	21,01
C	0,01	0,02	0,02	0,02	0,02	38,33
Dp	69,20	60,83	70,35	63,73	66,03	20,90
De (0,05)	18,59	18,78	19,08	20,18	19,16	23,23

*a, b e c são parâmetros de ORSKOV e MACDONALD (1979), Dp = degradabilidade potencial, De = degradabilidade efetiva para taxas de passagem igual a 0,05.

Não houve diferença significativa nos valores entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Tabela 6- Efeitos da adição dos tratamentos na degradabilidade da fibra detergente ácido da silagem (%).

Tempo	Tratamentos				Média	C.V.
	Controle	Salinomicina	Monensina	Levedura		
0			1,19			
3	5,14	5,83	9,54	8,29	7,20	56,98
6	9,75	11,07	14,42	14,08	12,33	39,11
12	21,52	20,46	21,25	15,01	22,05	25,38
24	31,16	32,93	38,07	35,35	34,38	22,71
48	45,26	46,81	49,34	50,10	47,87	17,42
72	50,59	52,90	56,66	53,73	53,47	14,69
96	58,91	57,39	59,72	61,44	59,31	15,04
Parâmetros*						
a	0,72	0,82	2,27	2,03	1,46	163,46
b	66,62	58,86	59,35	60,81	61,41	19,41
c	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	32,32
Dp	67,34	59,68	61,62	62,85	62,87	18,51
De (0,05)	23,17	24,02	26,89	26,93	25,25	18,41

*a, b e c são parâmetros de ORSKOV e MACDONALD (1979), Dp = degradabilidade potencial, De = degradabilidade efetiva para taxas de passagem igual a 0,05.

Não houve diferença significativa nos valores entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

4.1.2 Dieta Total

Os resultados obtidos na inclusão de aditivos nos tratamentos sobre a degradabilidade da MS, PB, FDN, FDA e parâmetros a, b, c de ØRSKOV e MACDONALD (1979) da dieta estão descritos nas tabelas 7, 8, 9 e 10, enquanto os valores estimados estão representados na figura 1.

A tabela 7 mostra que houve um aumento significativo ($p < 0,05$) no tratamento levedura quando comparado ao tratamento controle, sendo que esse aumento do valor para a fração “b” na MS, no tratamento levedura, pôde ser ressaltado pelos processos digestivos associados ao aumento do número de microrganismos ruminais quando a levedura foi utilizada (Weidmeier et al., 1987; Williams et al., 1991). O valor de “b” para o tratamento salinomicina, são controversos quando comparados na literatura, onde diversos autores relatam que o uso de ionóforos modifica a população de microrganismos ruminais, não favorecendo ao aumento

dessa fração potencialmente degradável, sendo que esse aumento é de extrema importância para o melhor aproveitamento da dieta pelo animal.

Também, pode se relatar uma tendência no FDN para a fração “b” (tabela 9), tanto no tratamento levedura como na salinomicina.

Geralmente aceita-se que os efeitos da monensina sobre a fermentação ruminal são devidos às variações na ecologia microbiana do rúmen (BERGEN e BATES, 1984).

Tabela 7- Efeitos da adição dos tratamentos na degradabilidade da matéria seca da dieta (%).

Tempo	Tratamentos					C.V.
	Controle	Salinomicina	Monensina	Levedura	Média	
0			18,42			
3	41,32	37,80	36,33	37,12	38,14	17,87
6	48,59 ^x	43,67 ^{xy}	43,67 ^y	39,71 ^y	43,91	15,79
12	56,49	54,24	52,31	54,22	54,31	15,13
24	65,40	67,22	68,14	68,56	67,18	9,88
48	80,95	83,56	85,44	82,66	83,03	7,75
72	86,20	92,61	86,96	89,25	88,76	6,24
96	92,33	91,94	90,76	92,77	91,95	3,12
Parâmetros*						
A	26,37	23,91	23,09	23,27	24,16	14,71
B	62,85 ^y	70,44 ^x	68,28 ^{xy}	70,40 ^x	67,99	6,12
C	0,05	0,04	0,04	0,04	0,04	35,87
Dp	89,22	94,35	91,37	93,68	92,16	3,54
De (0,05)	58,09	57,14	55,68	55,31	56,56	10,86

*a, b e c são parâmetros de ORSKOV e MACDONALD (1979), Dp = degradabilidade potencial, De = degradabilidade efetiva para taxas de passagem igual a 0,05.

^{x e y} Médias com letras diferentes na mesma linha são diferentes pelo teste de Tukey (P<0,05).

Figura 1– Curva média da degradação da MS da dieta em novilhos Nelore recebendo os diferentes tratamentos com aditivos.

Tabela 8- Efeitos da adição dos tratamentos na degradabilidade da proteína bruta da dieta (%).

Tempo	Tratamentos				Média	C.V.
	Controle	Salinomicina	Monensina	Levedura		
0	22,52					
3	50,29	52,08	52,74	50,06	51,29	14,20
6	61,27	58,46	61,84	55,05	59,16	11,35
12	68,16	68,20	72,68	66,51	68,88	12,67
24	76,33	76,18	79,27	73,56	76,33	13,51
48	87,91	88,57	85,73	85,15	86,84	8,13
72	91,32	94,05	91,48	91,37	92,06	4,61
96	95,00	95,09	93,16	95,15	94,60	3,20
Parâmetros*						
A	26,85	29,81	25,95	27,67	27,57	12,09
B	62,54	63,53	62,47	65,73	63,56	7,62
C	0,11	0,08	0,13	0,08	0,10	45,52
Dp	89,39	93,34	88,42	93,41	91,14	4,17
De (0,05)	69,56	68,42	71,23	65,70	68,73	10,89

*a, b e c são parâmetros de ORSKOV e MACDONALD (1979), Dp = degradabilidade potencial, De = degradabilidade efetiva para taxas de passagem igual a 0,05.

Não houve diferença significativa nos valores entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Tabela 9- Efeitos da adição dos tratamentos na degradabilidade da fibra detergente neutro da dieta (%).

Tempo	Tratamentos				Média	C.V.
	Controle	Salinomicina	Monensina	Levedura		
0			5,43			
3	19,24	11,56	23,43	16,17	17,61	42,97
6	29,85	21,03	30,38	26,10	27,00	29,58
12	45,69 ^x	37,08 ^y	43,44 ^x	36,07 ^y	40,38	20,56
24	50,67	53,30	55,32	50,82	52,34	19,00
48	74,02	76,61	79,34	75,01	76,04	10,66
72	81,42	88,04	82,14	88,40	85,00	8,12
96	89,34	86,17	86,92	88,24	87,67	4,56
Parâmetros*						
A	9,95	4,51	8,92	6,99	7,59	54,90
B	80,24	89,82	82,64	86,55	84,81	8,44
C	0,04	0,03	0,03	0,03	0,03	35,58
Dp	90,19	94,33	91,56	93,55	92,41	6,06
De (0,05)	43,99	41,11	42,11	41,72	42,23	15,67

*a, b e c são parâmetros de ORSKOV e MACDONALD (1979), Dp = degradabilidade potencial, De = degradabilidade efetiva para taxas de passagem igual a 0,05.

^{x e y} Médias com letras diferentes na mesma linha são diferentes pelo teste de Tukey (P<0,05)

Tabela 10- Efeitos da adição dos tratamentos na degradabilidade da fibra detergente ácido da dieta (%).

Tempo	Tratamentos				Média	C.V.
	Controle	Salinomicina	Monensina	Levedura		
0			9,60			
3	26,55	19,38	17,19	15,72	19,25	45,25
6	27,57	23,14	23,43	20,16	23,61	33,57
12	38,44	35,23	35,10	30,86	34,88	28,30
24	51,42	43,10	45,58	46,80	46,38	25,05
48	71,02	72,93	68,93	70,81	70,92	12,72
72	80,08	83,39	77,54	82,07	80,77	7,10
96	88,71	88,31	85,95	89,65	88,15	3,37
Parâmetros*						
A	13,70	9,41	9,26	8,19	10,14	42,88
B	82,38	84,50	89,31	87,23	85,62	7,28
C	0,02	0,02	0,03	0,02	0,03	55,59
Dp	96,08	93,91	97,60	95,43	95,90	4,38
De (0,05)	42,72 ^x	39,30 ^{xy}	34,34 ^y	38,11 ^{xy}	38,90	15,23

*a, b e c são parâmetros de ORSKOV e MACDONALD (1979), Dp = degradabilidade potencial, De = degradabilidade efetiva para taxas de passagem igual a 0,05.

^{x e y} Médias com letras diferentes na mesma linha são diferentes pelo teste de Tukey (P<0,05)

4.2 Digestibilidade *in vitro*

O consumo alimentar é representado pela quantidade consumida de alimento num período de 24h, onde o alimento consumido é determinado, com base na matéria seca, pela diferença entre o fornecido e o que foi rejeitado diariamente pelos animais (sobra).

Os valores encontrados para o consumo alimentar médio, digestibilidade *in vitro* da matéria seca da dieta total (%) e digestibilidade *in vitro* da matéria seca da silagem (%) estão apresentados na tabela 11.

Diminuições no consumo de matéria seca, acarretadas pela inclusão de monensina, foram relatadas por Restle et al. (2001) e Maas et al. (2001), que trabalharam com novilhas e vacas de corte mantidas em regime de confinamento. Abe et al. (1994), ao ministrarem monensina, cápsula de liberação controlada, a vacas leiteiras, também verificaram menor ingestão de matéria seca.

Enquanto muitas das bactérias celulolíticas são sensíveis à monensina (Shelling, 1984), a digestibilidade ruminal da FDN na presença do ionóforo não é inibida, sugerindo que uma população celulolítica diferenciada, isto é, selecionada pela capacidade de resistência ou tolerância à monensina, consegue manter a atividade celulolítica no rúmen (Russel & Strobel, 1989).

Contrariando os resultados obtidos nesse estudo Putnam et al. (1997), relataram que houve uma tendência de aumento da ingestão de MS. Também, Wohlt et al. (1998) confirmou um aumento na digestibilidade da MS.

Tabela 11- Valores médios do consumo alimentar, digestibilidade in vitro da matéria seca da dieta total (%) e digestibilidade in vitro da matéria seca da silagem (%) de novilhos Nelore submetido a diferentes tratamentos.

Parâmetros	Tratamentos			
	Controle	Salinomicina	Monensina	Levedura
Consumo alimentar médio (MS kg/dia)	8,46 ^b	8,34 ^{ab}	8,16 ^a	7,83 ^c
Digestibilidade in vitro da matéria seca da dieta total (%)	78,65 ^b	81,36 ^{ab}	84,62 ^a	81,85 ^{ab}
Digestibilidade in vitro da matéria seca da silagem (%)	54,31 ^b	56,34 ^{ab}	57,97 ^{ab}	60,22 ^a

^{a, b} Médias com letras diferentes na mesma linha são diferentes pelo teste de Tukey (P<0,05).

4.3 Protozoários Ciliados

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

De acordo com Nogueira Filho et al. (2004), a população microbiana presente no rúmen origina processos digestivos extremamente complexos nos ruminantes. Essa fauna é composta por protozoários ciliados, bactérias e fungos que proporciona os processos digestivos e a síntese de proteína microbiana para atender as exigências desses animais.

Foram encontrados protozoários dos gêneros *Entodinium*, *Diplodinium*, *Epidinium*, *Eudiplodinium*, *Isotricha* e *Dasytricha*. A média do número de protozoários encontrados está descrito na tabela 12. O aparecimento de protozoários quanto ao tempo de colheita está ilustrado na figura 2.

Verificou-se diferença entre os tratamentos ($p < 0.05$) para a contagem de protozoários ciliados após a alimentação.

Porém, 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) comprovam o aumento do número de protozoários ciliados, sendo que este aumento pode estar ligado aos efeitos nutricionais promovidos pelos fatores nutricionais das leveduras.

Spedding (1990) relata que 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). Também, a inclusão de levedura na dieta pode resultar numa melhor estabilização do pH, entretanto, estas respostas ainda são contraditórias, sugerindo estudos futuros (Kamalamma Krishnamoorthy & Krishnappa, 1996; Mathieu *et al.*, 1996; Putnam *et al.*, 1997; Roa *et al.*, 1997).

Em contrapartida, o tratamento monensina apresentou diminuição no número de protozoário em relação ao controle. Mendoza *et al.* (1993) observaram redução no número de protozoários quando utilizado monensina.

No caso da salinomicina, a media total dos protozoários manteve a mesma tendência que o controle embora Hristov *et al.* (2003) constatassem a toxidez desse ionóforo.

A alta concentração de protozoários ciliados no grupo controle pode provavelmente ser explicado pelo alto nível de concentrado na dieta (70%), levando normalmente a um aumento nas concentrações de protozoários ciliados no rúmen (Dehority e Orpin, 1988).

Mathieu *et al.* (1996) observaram uma tendência em aumentar o gênero *Epidinium* quando adicionado o tratamento levedura. Entretanto foi notada também a presença de protozoários do mesmo gênero quando adicionado o tratamento salinomicina na dieta, só que em menor concentração, enquanto nos tratamentos monensina e controle não foram identificados presença de protozoários desse mesmo gênero.

Tabela 12 - Média do número de protozoários ciliados no rúmen ($\times 10^4/\text{ml}$) e seu respectivo desvio padrão.

Gêneros	Tratamentos			
	Controle	Salinomicina	Monensina	Levedura
<i>Entodinium</i>	24,93 $\pm$ 15,90 ^{b,c}	28,97 $\pm$ 4,10 ^b	17,41 $\pm$ 5,62 ^c	49,87 $\pm$ 11,00 ^a
<i>Epidinium</i>	0,00 $\pm$ 0,00 ^c	0,38 $\pm$ 0,09 ^b	0,00 $\pm$ 0,00 ^c	0,71 $\pm$ 0,52 ^a
<i>Isotricha</i>	0,00 $\pm$ 0,00 ^d	1,29 $\pm$ 0,45 ^a	0,49 $\pm$ 0,20 ^c	0,97 $\pm$ 0,45 ^b
<i>Dasytricha</i>	0,00 $\pm$ 0,00 ^c	0,00 $\pm$ 0,00 ^c	0,32 $\pm$ 0,13 ^b	1,21 $\pm$ 0,30 ^a
<i>Diplodinium</i>	1,65 $\pm$ 0,60 ^b	2,53 $\pm$ 1,20 ^a	1,49 $\pm$ 1,00 ^b	3,18 $\pm$ 0,80 ^a
<i>Eudiplodinium</i>	0,83 $\pm$ 0,15 ^a	0,78 $\pm$ 0,26 ^a	0,42 $\pm$ 0,23 ^b	0,94 $\pm$ 0,30 ^a
Total	27,42 $\pm$ 6,34 ^{b,c}	33,43 $\pm$ 4,60 ^b	20,40 $\pm$ 7,07 ^c	56,26 $\pm$ 11,94 ^a

^{a,b,c,d} Médias com letras diferentes na mesma linha são diferentes pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Figura 2– Protozoários presentes no conteúdo ruminal de bovinos alimentados com dieta a base de silagem de sorgo e concentrado recebendo diferentes tratamentos, nos diferentes horários de colheitas após a alimentação.

4.4 Parâmetros Ruminais Avaliados

4.4.1 Cinética ruminal

A cinética ruminal é influenciada diretamente pelo nível de consumo, constituição física da dieta, diferenças individuais entre animais na sua atividade de ruminação, além do próprio indicador utilizado para a determinação utilizada para a determinação desse parâmetro (WATTIAUX, 1992).

Os resultados obtidos nesse experimento não demonstraram efeitos significativos quanto aos tratamentos propostos ($P>0,05$), podendo ser evidenciados na tabela 13.

O valor médio apresentado pelos animais nesse experimento para a taxa de passagem do líquido ruminal equivalente a 8,90%/h, podendo ser justificado pelo alto teor de concentrado na dieta, uma vez que dietas extremamente volumosas tendem a aumentar esse valor.

Constatou-se para o parâmetro *turnover* o valor médio de 2,12. Hungate (1966) foi categórico ao afirmar que alimentos grosseiros induzem à menor taxa de turnover, em decorrência do maior tempo de permanência desses alimentos no rúmen para sofrer o ataque microbiano, o que levaria a um aumento de volume ruminal.

Lucci et al.(1982) obtiveram valores mais elevados de turnover/24 horas e volumes líquidos ruminais em vacas leiteiras fistuladas, arraçadas unicamente com volumosos quando comparadas àquelas que recebiam concentrados. As concentrações bacterianas também foram mais elevadas quando ingeriam apenas alimentos fibrosos, e os volumes líquidos ruminais também foram mais altos.

Tabela 13– Taxa de passagem do líquido, volume ruminal e Turnover em novilhos Nelore submetidos a diferentes tratamentos com aditivos.

Parâmetro	Tratamentos				Média	D.P. ¹
	Controle	Salinomicina	Monensina	Levedura		
Turnover	2,14	2,08	2,06	2,20	2,12	0,45
Volume ruminal (L)	29,62	26,48	24,55	26,47	26,59	5,91
Tx Passagem (%/h)	8,92	8,69	8,80	9,18	8,90	1,91

DP¹: Desvio padrão da média;

Não houve diferença significativa nos valores entre os tratamentos pelo teste de Tukey (P<0,05).

4.4.2 Amônia

Os valores encontrados para amônia (NH₃) contida no líquido ruminal dos novilhos Nelore submetidos aos tratamentos em função do tempo de colheita estão apresentadas na Tabela 14.

Tabela 14– Concentração de amônia (mg/100mL) do líquido ruminal em novilhos Nelore submetidos a diferentes tratamentos com aditivos.

Tempo (horas)	Tratamentos				D.P. ¹
	Controle	Salinomicina	Monensina	Levedura	
0	13,94	8,12	11,48	11,16	5,26
2	37,11	39,22	34,22	42,31	7,11
4	32,48	30,50	33,32	28,87	8,33
6	23,88	18,88	25,31	20,53	7,88
8	20,09	10,99	15,85	15,42	7,36
Média	25,50	22,10	24,04	23,66	12,23

DP¹: Desvio padrão da média;

Não houve diferença significativa nos valores entre os tratamentos pelo teste de Tukey (P<0,05).

Não houve efeito significativo nos valores encontrados. Pode-se observar um maior aumento para horário de 2 horas (figura 3) após o recebimento da alimentação ($p>0,05$) para todos os tratamentos estudados. Isso está intimamente ligado à máxima atividade fermentativa exercida pelo rúmen nesse horário, sendo que após o pico de fermentação, esses valores vão diminuindo com o passar do tempo (figura 3), fenômeno esse decorrente da absorção da amônia pela parede do rúmen e também pela utilização da mesma pelas bactérias ruminais.

Em contrapartida aos resultados encontrados referentes ao uso da levedura, Williams e Newbold (1990) relataram que um dos modos de ação da levedura está diretamente ligado a reciclagem do NH_3 no interior do rúmen, levando a uma melhora na produção de proteína, podendo aumentar a concentração de determinadas bactérias ruminais.

Figura 3– Valores da concentração de amônia no líquido ruminal de novilhos Nelore submetidos a diferentes tratamentos com aditivos.

Confirmando os dados obtidos nessa pesquisa, Clary et al. (1993), também trabalhando com dietas concentradas e suplementadas com monensina não encontraram diferenças nos valores de NH_3 .

4.4.3 pH

Os valores encontrados para o pH ruminal, não foram afetados estatisticamente ($p>0,05$) pelos tratamentos utilizados (tabela 15).

Tabela 15 – Efeitos dos diferentes tratamentos em diferentes horários de colheitas após a alimentação sobre o pH do líquido ruminal.

Tempo	Tratamentos							
	Controle		Salinomicina		Monensina		Levedura	
0	6,51	± 0,35	6,65	±0,74	6,27	±1,10	6,38	±0,82
2	6,11	±0,38	6,13	±0,24	6,03	±0,41	6,01	±0,37
4	6,15	±0,20	6,03	±0,19	6,01	±0,62	5,99	±0,36
6	6,27	±0,54	6,36	±0,44	6,13	±0,86	6,20	±0,65
8	6,13	±0,66	6,19	±0,35	6,14	±0,69	6,10	±0,50
Média	6,19	±0,43	6,26	±0,42	6,10	±0,64	6,14	±0,52

Não houve diferença significativa nos valores entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($P<0,05$).

Putnam *et al.* (1997) e Erasmus *et al.* (1992), trabalhando com inclusão de levedura na dieta de bovinos, observaram respectivamente os valores médios de 6,02 e 6,00 para o pH ruminal e concluíram que estes não foram alterados pela adição da levedura na dieta.

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).

Ruminantes alimentados com dietas ricas em concentrados tendem a diminuir o pH do líquido ruminal, podendo levar a uma acidose, porém quando suplementados com monensina, tendem a aumentar o pH, tornando-se o meio ideal para fermentação (RUSSEL E STROBEL, 1898). Porém, isso não foi evidenciado na tabela 15. No entanto, 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 (tabela 15).

Figura 4– Valores de pH em bovinos alimentados com dieta a base de silagem de sorgo e concentrado recebendo diferentes tratamentos, nos diferentes horários de colheitas após a alimentação sobre o pH do líquido ruminal.

4.4.4 Ácidos Graxos Voláteis

Os ácidos graxos voláteis (AGV), predominantemente na forma de ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico, fornecem a maior parte da energia absorvida pelos ruminantes, estimada em 50-70% da energia digestível total (SUTTON, 1980), sendo importante para o entendimento do processo fermentativo no rúmen sob diferentes sistemas de alimentação.

As concentrações médias dos valores obtidos para AGV estão apresentadas na tabela 16, enquanto as concentrações dos AGV's em relação ao tempo está ilustrada nas figuras 5, 6 e 7.

Tabela 16- Efeitos dos diferentes tratamentos sobre a concentração média dos AGV's no líquido ruminal de novilhos Nelore.

AGV's	Tratamento			
	Controle	Salinomicina	Monensina	Levedura
Ac. Acético (%)	68,81 ^a	66,49 ^{ab}	64,56 ^b	68,75 ^a
Ac. Butírico (%)	10,84 ^{ab}	11,45 ^a	10,87 ^{ab}	9,96 ^b
Ac. Propiônico (%)	20,33 ^b	22,05 ^{ab}	24,55 ^a	21,27 ^b
AC:PR	3,40 ^a	3,08 ^{ab}	2,74 ^b	3,20 ^a
Total AGV (mM)	101,81	89,74	86,52	97,64

^{a,b} Médias com letras diferentes na mesma linha são diferentes pelo teste de Tukey (P<0,05).

Pode-se concluir que a adição de monensina promoveu menor concentração de ácido acético e maior de ácido propiônico entre os tratamentos, conforme pode ser observado pela menor proporção acético:propiônico apresentada na tabela 16 (p<0,05).

Numerosos estudos têm demonstrado um aumento do ácido propiônico e diminuição do ácido acético e butírico, enquanto a concentração total de AGV's se mantém estável ou sofre pequena diminuição, sendo consequência da troca na ecologia microbiana do rúmen (MEDEL et al. 1991).

De acordo com Schelling (1984) a monensina atua sobre os metabolismos de energia e de nitrogênio no rúmen, aumentando a produção de propionato e diminuindo a de metano no rúmen, condizendo com o observado na tabela 16 (p<0,05).

Também, Shell et al. (1983), trabalhando com novilhos alimentados com dietas de alta quantidade de grãos e suplementados com monensina, obtiveram aumento do ácido propiônico.

O tratamento salinomicina, por ser um ionóforo como a monensina, seguiu a mesma tendência nos resultados encontrados para o tratamento monensina, apenas sendo um pouco menos expressivo, porém significativo (p<0,05).

A adição de leveduras nas dietas tem demonstrado aumentar a concentração de ácidos graxos voláteis (MUTSVANGWA et al., 1992) e a proporção molar de propionato (HARRISON et al., 1988). Entretanto, não foi observado um aumento para o ácido propiônico quando utilizado o tratamento levedura (figura 6), embora possa

se observar, um aumento na concentração total de ácidos graxos, em decorrência ao aumento na concentração de ácido acético. (tabela 16).

Figura 5- Curvas das proporções acético:propiónico no rúmen em função do tempo após a alimentação de novilhos Nelore nos diferentes tratamentos propostos.

Figura 6- Efeitos dos tratamentos sobre a porcentagem molar de ácido propiônico no líquido rúmen em função do tempo após a alimentação de novilhos Nelore nos diferentes tratamentos propostos.

Figura 7- Efeitos dos tratamentos sobre a porcentagem molar de ácido acético no líquido rúmen em função do tempo após a alimentação de novilhos Nelore nos diferentes tratamentos propostos.

5 CONCLUSÕES

Pelo presente estudo pode-se concluir que:

1. Tanto o uso da levedura quanto o uso de ionóforos podem melhorar a fração potencialmente degradável da dieta.
2. O efeito da adição de levedura á dieta aumentou o número de protozoários ciliados, favorecendo a fermentação ruminal, enquanto o uso da monensina diminuiu o número de protozoários. A salinomicina manteve a mesma tendência do tratamento controle.
3. Os valores de pH não foram alterados pelos tratamentos utilizados na dieta.
4. O uso de ionóforos melhorou a proporção dos ácidos acético:propiónico, propiónico e butírico enquanto a levedura aumentou a concentração de ácido acético.
5. A cinética ruminal e a concentração de amônia não foram afetadas pelos tratamentos propostos.

6 REFERÊNCIAS

ABE, N.; LEAN, I.J.; RABIEE, A. et al. Effects of sodium monensin on reproductive performance of dairy cattle. II. Effects on metabolites in plasma, resumption of ovarian cyclicity and oestrus in lactating cows. **Australian Veterinary Journal**, v.71, n.9, p.277-282, 1994.

ADAMS, A.L. et al. Effects of varying forage types on milk production responses to whole cottonseed, tallow, and yeast. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.78, n.3, p.573-581, 1995.

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.

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

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, p.307, 1992. Supplement 1.

BEACON, S.E.; MIR, Z. A comparison of monensin and chlortetracycline in high-concentrate and high-forage diets for implanted and nonimplanted finishing steers and heifers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.65, p.705-715, 1985.

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.

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.

CAMPOS NETO, O. et al. Avaliação da monensina sódica em vacas leiteiras. **Scientia Agrícola**, v.52, n.2, p.268-273, 1995.

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.

CHEN, M.; WOLIN, M.J. Effect of monensin and lasalocid sodium on the growth of methanogenic and rumen saccharolytic bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, v.38, n.1, p.72-77, 1979.

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

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.

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.

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.

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 8th Annual Symposium 1992. **Alltech Technical Publications, Nicholasville, KY.**

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

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

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.

DENIGAN, M.E. et al. Influence of feeding varying levels of Amaferm on performance of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.75, p.1616-1621, 1992.

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.

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.

FOX, D.G. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: III Cattle requirement and diet adequacy. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.70, p.3578-3596, 1992.

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

GOMES-ALARCON, R.A.; DUDAS, C.; HUBER, J.T. Influence of cultures of *Aspergillus oryzae* on rumen and total tract digestibility of dietary components. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.73, p.703-710, 1990.

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.

HRISTOV, A.N. et al. Evaluation of several potential bioactive agents for reducing protozoal activity in vitro. **Animal Feed Science Technology**, v.105, p.163-184, 2003.

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

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

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**, v.57, p.247-256, 1996.

KONE, P.; MACHADO, P.F.; COOK, R.M. Effect of the combination of monensin and isoacids on rumen fermentation in vitro. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.72, n.10, p.2767-2771, 1989.

LEAN, I.J. et al. Bovine ketosis: a review.II. biochemistry and prevention. **Veterinary Bulletin**, v.62, n.1, p.01-14, 1992.

LUCCI, C.S. et al. Populações microbianas dos rumens de vacas leiteiras submetidas a diversas rações. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v.19, p.153-156, 1982.

MAAS, J.A. et al. The effect of season and monensin sodium on the digestive characteristics of autumn and spring pasture fed to sheep. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.79, n.4, p.1052-1058, 2001.

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**, v.36, p.271-287, 1996.

MEDEL, M. et al. Modo de acción del monensin en metabolismo ruminal y comportamiento animal. **Ciencia e Investigación Agraria**, v.18, n.3, p.153-173, 1991.

MENDOZA, M.G.D.; BRITTON, R.A.; STOCK, R.A. Influence of ruminal protozoa on site and extent of starch digestion and ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, Champaign, p.1572-1578, 1993.

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.

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, C.J. et al. Different strains of *Saccharomyces cerevisiae* differ in their effects on ruminal bacterial numbers in vitro and in sheep. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.73, p.1811-1818, 1995.

NOGUEIRA FILHO, J.C.M. et al. Volume líquido e taxa de *turnover* no rúmen de zebuínos e bubalinos submetidos a dietas com volumoso e concentrados e sua relação com protozoários ciliados. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.5, n.1, p.1-7, 2004.

OFFICIAL JOURNAL OF THE EUROPEAN UNION. **Regulation 1831/2003 of the European Parliament and of the September 2003 on Additives for Use in Animal Nutrition**. L268/29-L268/43 in OJEU of 10/18/2003, 2003.

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.

PAIZIER, J.C.B. Studies on de rumen physiology and metabolic function with pre and postpartum administration of Rumensin CRC. In: A SYMPOSIUM HELD, 1., 1977, Ontario. **Proceedings...** Ontario: Veterinary College, 1997. p.71-85.

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 Technology**, v.49, p.203-210, 1994.

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.

RESTLE, J. et al. Terminação em confinamento de vacas e novilhas sob dietas com ou sem monensina sódica. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.30, n.6, p.1801-1812, 2001.

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**, v.64, p.327-336, 1997.

ROGERS, M. et al. The effects of short-term and long-term monensin supplementation, and its subsequent withdrawal on digestion in sheep. **Animal Feed Science Technology**, v.65, p.113-127, 1997.

ROSE, A.H. Yeast, a microorganism for all species: a theoretical look at its mode of action. In: **LYONS, T.P., ed. Biotechnology in the feed industry**. Nicholasville: Alltech Technical Publications, 1997. p. 113-118.

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

SAS INSTITUTE INC. **SAS user's guide: statistics**. 5.ed. Cary, NC, 2002.

SCHELLING, G.T. Monensin mode of action in the rumen. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.58, n.6, p.1518-1527, 1984.

SHELL, L.A. et al. Effect of monensin on total volatile fatty acid production by steers fed a high grain diet. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.57, n.1, p.178-185, 1983.

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, p.281, 1993. Supplement 1.

SPEARS, J.W. Ionophores and nutrient digestion and absorption in ruminants. In: SYMPOSIUM GUT METABOLISM AND NUTRIENT SUPPLY, 1990, Raleigh. **Proceedings...** Raleigh: North Carolina State University, 1990. p.632-637.

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.

SPROTT, L.R. et al. Effects of ionophores on cow herd production: a review. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.66, p.1340-1346, 1988.

SUTTON, J.D.; Digestion and end product formation in the rumen from production rations. In: **Digestive physiology and metabolism in ruminants**. S.I.: MTP Press Ltd., 1980. p. 271-290.

VAN HORN, H.H. et al. Symposium: dairy manure and waste management: components of dairy manure managements systems. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.77, p.2008-2030, 1994.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Symposium: Carbohydrate methodology, metabolism and nutritional implications in dairy cattle. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and no starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v. 74, p. 3583-97. 1991.

WALLACE, R.J. Ruminant 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.

WATTIAUX, M.A.; MERTENS, D.R.; SATTER, L.D. Kinetics of hydration and effect of liquid uptake on specific gravity of small hay and silage particles. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.70, p.3597-3606, 1992.

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

WIEDMEIER, R.D.; ARAMBEL, 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.

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, P.E.V.; NEWBOLD, C.J. Rumen proboscis: the effects of novel microorganisms on rumen fermentation and ruminant productivity. In: HARESIGN, W.; COLE, D.J.A. (Ed.). **Recent advances in animal nutrition**. London, UK: Butterworths, 1990. p.211-227.

WOHLT, J.E.; CORCIONE, T.T.; ZAJAC, P.K. Effect of yeast on feed intake and performance of cows fed diets based on corn silage during early lactation. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.5, p.1345-1352, 1998.

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.

ZINN, R.A. Effect of salinomycin supplementation on characteristics of digestion and feedlot performance of cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.63, p.1996-2003, 1986.