UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

AMORACYR JOSÉ COSTA NUÑEZ

Uso combinado de ionóforo e virginiamicina sobre o metabolismo, a digestibilidade e o comportamento ingestivo de novilhos Nelore confinados com dietas de alto concentrado

Pirassununga
2013

AMORACYR JOSÉ COSTA NUÑEZ

Uso combinado de ionóforo e virginiamicina sobre o metabolismo, a digestibilidade e o comportamento ingestivo de novilhos Nelore confinados com dietas de alto concentrado

Versão corrigida

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 Ciências.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Orientador: Prof. Dr. José Carlos Machado Nogueira Filho

Pirassununga
2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

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

N972u

Nuñez, Amoracyr José Costa
Uso combinado de ionóforo e virginiamicina sobre o metabolismo, a digestibilidade e o comportamento ingestivo de novilhos Nelore confinados com dietas de alto concentrado / Amoracyr José Costa Nuñez. -- Pirassununga, 2013.
126 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. José Carlos Machado Nogueira Filho.

1. Antibiótico 2. Confinamento 3. Gado de corte 4. Salinomicina 5. Nutrição. I. Título.

DEDICATÓRIA

Aos meus queridos pais,

Júlio e Rosana, pelo amor e apoio incondicionais. Por serem meus maiores exemplos de honestidade e caráter.

À minha querida irmã,

Juliana, pelo amor, companheirismo, amizade e exemplo de dedicação.

À minha querida sobrinha,

Maria Luísa, por tornar nossos dias mais alegres e cheios de luz.

À minha amada companheira,

Vivian, por simplesmente TUDO. Por ser minha inspiração rara e minha motivação para seguir em frente.

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela força de todos os dias.

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, pelas oportunidades de aprendizado e desenvolvimento profissional.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão da bolsa de estudos e financiamento do projeto de pesquisa.

Ao Prof. Dr. José Carlos Machado Nogueira Filho, pela orientação, ensinamentos, amizade e pela oportunidade de ser seu último orientado.

Ao Prof. Dr. Paulo Roberto Leme, pelos conhecimentos transmitidos, disponibilidade e amizade durante todos esses anos.

Ao amigo Dr. Rodrigo da Costa Gomes, pela amizade, companheirismo e por sempre esclarecer minhas dúvidas.

Ao Prof. Dr. Saulo da Luz e Silva, pelo apoio, amizade e auxílio nas análises estatísticas.

Ao Prof. Dr. Paulo Henrique Mazza Rodrigues, pelas orientações durante a condução do experimento e das análises laboratoriais.

Aos demais professores da FZEA/USP, pelos ensinamentos transmitidos.

Ao Prof. Dr. Jon Schoonmaker (Purdue University), pelos ensinamentos, oportunidades e confiança. Pela receptividade em sua casa, pelo apoio, amizade e bons momentos vividos em West Lafayette, durante meu estágio no exterior.

Aos demais professores e funcionários do Departamento de Animal Science da Purdue University, em especial ao Prof. Dr. Ronald Lemenager e ao Prof. Dr. Allan Schinckel, pela amizade e conhecimentos transmitidos.

Aos amigos de West Lafayette, em especial ao Fábio, à Christie e à Kaitlin, pela amizade, companheirismo e momentos compartilhados.

Aos amigos, José Luiz Fonseca Souza, Tiago Stella, Pedro Zillig, Paulo Fantinato, Claiton Zotti, Jose Luis Zuluaga e Miguel Santana, pelos bons momentos vividos em Pirassununga.

Aos estagiários e amigos, Fabio Pinese, Fernando Telles e Italo Borges, pelo comprometimento e dedicação durante o experimento e as análises laboratoriais. A condução deste projeto seria inviável sem a ajuda deles.

Aos demais amigos da FZEA/USP, Marina, Letícia, Aninha, Madeline, Thays, Roberta, Rosana, Luciane, Preto, Cucco, Chilena, Reíssa, Qui, Migué, Juliane, Carol Tobias, e todos os outros não mencionados, pela amizade e companheirismo.

Aos funcionários do Laboratório de Referência em Nutrição Animal do Instituto de Zootecnia em Nova Odessa, em especial à Dra. Rosana Possenti e à Patrícia Brás, pelo auxílio com as análises bromatológicas

Às amigas Mariana Caetano e Maria Antônia, pelo auxílio com as análises de amido.

Ao amigo Rodrigo Gourlart, pelo auxílio durante as etapas iniciais do experimento.

Ao Prof. Dr. Alexandre Vaz Pires e ao Evandro Maia Ferreira, pelo auxílio com as análises de ácidos graxos de cadeia curta.

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia da FZEA/USP, em especial ao Ricardinho, ao Mané, ao Zanca e ao João, pela amizade e auxílio durante o período experimental.

Aos funcionários do Laboratório de Bromatologia da FZEA/USP, Roseli, Rosilda e Raphael, pela paciência e auxílio com as análises de nitrogênio amoniacal.

Aos funcionários do Laboratório de Cromatografia da FMVZ/USP, em especial ao Ari e ao Gilson, pelo auxílio com as análises de ácido lático.

Aos demais funcionários da FZEA/USP, em especial aos funcionários da Secretaria de Pós-Graduação, pelo auxílio com as etapas burocráticas do programa.

À Phibro Animal Health Corporation, em especial ao Danilo Grandini e ao Pedro Terêncio, pelo suporte e fornecimento dos aditivos utilizados nos experimentos.

À Companhia Nacional de Nutrição Animal (CONNAN), pelo fornecimento do núcleo mineral.

A todos os meus familiares, em especial às minhas queridas avós, Alina e Elvira, pelo amor, carinho e exemplo de vida.

Aos meus queridos sogros, Sérgio Antônio e Elizabeth, pelo carinho e acolhimento. Por sempre me receberem de braços abertos e me proporcionarem momentos agradáveis.

Aos meus queridos cunhados, João Paulo e Renato, pela amizade, companheirismo e pelos momentos de descontração.

Ao meu querido cunhado, Carlos Augusto, e aos seus pais, José Carlos e Terezinha, pelo carinho, amizade e bons momentos compartilhados.

À Vanete e à Célia, pela dedicação, carinho e ajuda em todos os momentos.

Aos amigos, Fernando Francini, Leonardo Novaes, Paulo Jaoudé, Rodrigo Alves, Victor Miguel, Cilaine Pietrobon, Matheus Gil, Marcelo Kamachi, Adauto Foltran, Fábio Pim, Bruna Harter, Fabrício Baesteiro, Renan Packer, Rodofo Perez, Gustavo Pompermayer, Rafael Pim, Mariana Cancilieri, Renato Silveira, Thomas Silveira, Gabriela Acetoze, Yuri Farjalla, Tiago Zanetti, José Roberto Ferreira, Marli Ferreira, Murillo Ferreira, Luiza Ferreira Banov, Carlos Banov e todos os outros que não foram mencionados, pelo companheirismo de muitos anos.

A todos que não foram citados, mas contribuíram de maneira direta ou indireta para a realização deste trabalho.

Os meus mais sinceros agradecimentos.

EPÍGRAFE

" O acaso não existe. Quando alguém encontra algo de que verdadeiramente necessita, não é o acaso que tal proporciona, mas a própria pessoa; seu próprio desejo e sua própria necessidade o conduzem a isso."

Demian - Hermann Hesse

RESUMO

Uso combinado de ionóforo e virginiamicina sobre o metabolismo, a digestibilidade e o comportamento ingestivo de novilhos Nelore confinados com dietas de alto concentrado

Dois experimentos foram conduzidos com o objetivo de avaliar os efeitos do uso combinado de salinomicina e virginiamicina sobre o metabolismo ruminal, a digestibilidade, o comportamento ingestivo e as características sanguíneas de novilhos Nelore alimentados com dietas de alto concentrado. No experimento I, oito novilhos Nelore com 322 ± 26 kg de peso vivo (PV) inicial foram alocados no delineamento em quadrado latino 4 x 4 replicado, com quatro tratamentos em quatro períodos de 16 dias. Os tratamentos foram arranjados em esquema fatorial 2 x 2, com dois níveis de salinomicina (0 e 13 ppm) e dois níveis de virginiamicina (0 e 15 ppm) na matéria seca (MS) das dietas, que continham 80% de concentrado na MS. No experimento II, oito novilhos Nelore com 434 ± 35 kg de PV inicial foram alocados no mesmo delineamento, mas com períodos de 21 dias. Os tratamentos foram arranjados em esquema fatorial 2 x 2, com dois níveis de concentrado (70 e 90%) e dois níveis de virginiamicina (0 e 15 ppm) na MS das dietas. A salinomicina foi incluída em todas as dietas (13 ppm). Em ambos os experimentos, foram avaliados o consumo individual, a degradabilidade ruminal *in situ*, a digestibilidade aparente, a fermentação ruminal, o comportamento ingestivo, a população de protozoários ciliados ruminais e as características sanguíneas. As análises estatísticas foram realizadas pelo procedimento MIXED do SAS. No experimento I, houve efeito de nível de salinomicina e virginiamicina sobre as degradabilidades efetiva (DE) e potencial (DP) da fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), sendo que os menores valores ($P \leq 0,05$) foram observados para os animais tratados com os aditivos. A digestibilidade da proteína bruta (PB) foi maior ($P = 0,01$) para os novilhos que receberam salinomicina. Animais tratados com virginiamicina apresentaram maior ($P = 0,01$) concentração ruminal de propionato e menores ($P \leq 0,05$) concentrações de acetato, butirato e lactato. Esses animais também apresentaram maior ($P \leq 0,03$) tempo total de ruminação (TTR) e mastigação (TTM) e maior ($P = 0,05$) concentração de lactato no sangue. No experimento II, o aumento no teor de concentrado das dietas promoveu aumento ($P = 0,01$) no consumo de MS e nas digestibilidades aparentes da MS e PB, bem como redução ($P < 0,01$) na DE da FDN e PB. Animais tratados com ambos os aditivos apresentaram menor ($P = 0,03$) DE da FDN. As concentrações ruminais de acetato foram reduzidas ($P < 0,01$) com a inclusão de virginimicina, mas novilhos tratados com ambos os aditivos e alimentados com dieta contendo 90% de concentrado apresentaram aumento ($P < 0,01$) nas concentrações de propionato. O aumento no teor de concentrado promoveu redução ($P < 0,01$) no TTR e TTM dos animais, bem como na população de protozoários ciliados do rúmen e no pH sanguíneo. O uso combinado de salinomicina e virginiamicina apresentou efeitos positivos sobre a fermentação ruminal, especialmente quando a dieta com maior proporção de concentrado foi utilizada.

Palavras chave: Antibiótico; Confinamento; Gado de corte; Salinomicina; Nutrição.

ABSTRACT

Combined use of ionophore and virginiamycin on metabolism, digestibility, and feeding behavior of Nellore steers confined with high concentrate diets

Two experiments were conducted to evaluate the effects of the combined use of salinomycin and virginiamycin on ruminal metabolism, digestibility, feeding behavior, and blood characteristics of Nellore steers fed high concentrate diets. In experiment I, eight Nellore steers with 322 ± 26 kg of initial body weight (BW) were allotted to a replicated 4 x 4 Latin square, with four treatments and four 16-day periods. Treatments were arranged in a 2 x 2 factorial design, with two salinomycin levels (0 and 13 ppm) and two virginiamycin levels (0 and 15 ppm) in the diet dry matter (DM), which contained 80% concentrate on a DM basis. In experiment II, eight Nellore steers with 434 ± 35 kg of initial BW were allotted to the same experimental design, but with 21-day periods, in a 2 x 2 factorial arrangement of treatments, with two concentrate levels (70 and 90%) and two virginiamycin levels (0 and 15 ppm) in the diet DM. Salinomycin was included in all diets (13 ppm). In both experiments, individual intake, in situ ruminal degradability, apparent digestibility, ruminal fermentation, feeding behavior, ciliated protozoa counts, and blood characteristics were evaluated. Statistical analyses were conducted using the MIXED procedure of SAS. In experiment I, there were effects of salinomycin and virginiamycin on effective and potential degradabilities (ED and PD, respectively) of the neutral detergent fiber (NDF), with lower values ($P \leq 0.05$) observed for animals receiving the additives. Crude protein (CP) digestibility was higher ($P = 0.01$) for salinomycin-treated steers. Animals receiving virginiamycin showed higher ($P = 0.01$) ruminal concentrations of propionate and lower ($P \leq 0.05$) ruminal concentrations of acetate, butyrate, and lactate. These animals also showed higher ($P \leq 0.03$) total time spent ruminating (TTSR) and total time spent chewing (TTSC), as well as higher ($P = 0.05$) blood lactate concentrations. In experiment II, increasing concentrate levels increased ($P = 0.01$) DM intake and DM and CP digestibilities, but also decreased ($P < 0.01$) ED of the NDF and CP. Ruminal concentrations of acetate were reduced ($P < 0.01$) due to the inclusion of virginiamycin, but steers receiving both feed additives within the 90% concentrate group showed increased ($P < 0.01$) ruminal concentrations of propionate. Increasing concentrate levels decreased ($P < 0.01$) TTSR and TTSC, as well as ciliated protozoa counts and blood pH. The combined use of salinomycin and virginiamycin showed positive effects on ruminal fermentation, especially when animals were fed the higher concentrate diet.

Keywords: Antibiotic; Beef cattle; Feedlot; Nutrition; Salinomycin.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 - Evolução no número de animais confinados no Brasil 18

Figura 1.2 - Concentração total de ácidos orgânicos (●) e proporções molares de ácidos graxos de cadeia curta (■) e ácido lático (▲) 21

Figura 1.3 - Produção de ácido lático e ácidos graxos de cadeia curta por meio da fermentação de amido e açúcares solúveis por grupos de bactérias resistentes ou sensíveis ao pH ácido 22

Figura 1.4 - Estrutura química da salinomicina 24

Figura 1.5 - Estrutura química da virginiamicina, composta pelos fatores M e S 25

Figura 2.1 - Efeitos da interação nível de salinomicina x nível de virginiamicina sobre as variáveis (a) "fração b" e (b) degradabilidade potencial da matéria seca do milho 56

Figura 2.2 - Efeito da interação nível de salinomicina x nível de virginiamicina sobre a digestibilidade aparente do amido.....59

Figura 2.3 - Efeitos da interação nível de salinomicina x nível de virginiamicina sobre as concentrações ruminais de (a) isobutirato e (b) nitrogênio amoniacal.....64

Figura 2.4 - Relações entre tempo de coleta e concentrações ruminais de (a) acetato, (b) propionato, (c) isobutirato, (d) butirato, (e) isovalerato e (f) valerato 65

Figura 2.5 - Relações entre tempo de coleta e concentrações ruminais de (a) ácidos graxos de cadeia curta totais, (b) nitrogênio amoniacal, (c) lactato, (d) relação acetato propionato e (e) pH ruminal 66

Figura 2.6 - Efeitos da interação nível de salinomicina x nível de virginiamicina sobre as variáveis (a) número de eventos de mastigação, (b) taxa de ruminação da MS, (c) taxa de ruminação da FDN e (d) taxa de mastigação da FDN.....69

Figura 3.1 - Efeitos da interação nível de concentrado x nível de virginiamicina sobre as variáveis (a) "fração b" e (b) degradabilidade potencial da matéria seca da silagem de cana de açúcar 98

Figura 3.2 - Efeitos da interação nível de concentrado x nível de virginiamicina sobre as variáveis (a) concentração ruminal de propionato, (b) concentração ruminal de butirato e (c) relação acetato propionato....108

Figura 3.3 - Relações entre tempo de coleta e concentrações ruminais de (a) acetato, (b) propionato, (c) isobutirato e (d) butirato 110

Figura 3.4 - Relações entre tempo de coleta e concentrações ruminais de (a) isovalerato, (b) valerato, (c) lactato e (d) relação acetato propionato 111

Figura 3.5 - Efeitos da interação nível de concentrado x nível de virginiamicina sobre as variáveis (a) tempo total de alimentação, (b) tempo médio de alimentação por evento e (c) taxa de ingestão da FDN 115

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 - Composição da dieta basal com base na matéria seca 39

Tabela 2.2 - Composição química dos ingredientes 40

Tabela 2.3 - Níveis de salinomicina e virginiamicina sobre as variáveis de consumo de nutrientes 50

Tabela 2.4 - Efeitos dos níveis de salinomicina e virginiamicina sobre degradabilidade da matéria seca e da fibra insolúvel em detergente neutro da silagem de cana-de-açúcar 52

Tabela 2.5 - Efeitos dos níveis de salinomicina e virginiamicina sobre degradabilidade da matéria seca e da proteína bruta do farelo de soja 54

Tabela 2.6 - Efeitos dos níveis de salinomicina e virginiamicina sobre degradabilidade da matéria seca do milho 55

Tabela 2.7 - Efeitos dos níveis de salinomicina e virginiamicina sobre as variáveis de digestibilidade aparente e características fecais 57

Tabela 2.8 - Efeitos dos níveis de salinomicina e virginiamicina sobre as variáveis de fermentação ruminal 60

Tabela 2.9 - Efeitos dos níveis de salinomicina e virginiamicina sobre as variáveis de comportamento ingestivo 68

Tabela 2.10 - Efeitos dos níveis de salinomicina e virginiamicina sobre a contagem de protozoários ciliados ruminais 70

Tabela 2.11 - Efeitos dos níveis de salinomicina e virginiamicina sobre as características sanguíneas 71

Tabela 3.1 - Composição das dietas basais com base na matéria seca.....83

Tabela 3.2 - Composição química dos ingredientes 84

Tabela 3.3 - Efeitos dos níveis de concentrado e virginiamicina sobre as variáveis de consumo e digestibilidade aparente 94

Tabela 3.4 - Efeitos dos níveis de concentrado e virginiamicina sobre degradabilidade da matéria seca e da fibra insolúvel em detergente neutro da silagem de cana-de-açúcar 96

Tabela 3.5 - Efeitos dos níveis de concentrado e virginiamicina sobre degradabilidade da matéria seca e da proteína bruta do farelo de soja 99

Tabela 3.6 - Efeitos dos níveis de concentrado e virginiamicina sobre degradabilidade da matéria seca do milho.....101

Tabela 3.7 - Efeitos dos níveis de concentrado e virginiamicina sobre as variáveis de digestibilidade aparente e características fecais.....102

Tabela 3.8 - Efeitos dos níveis de concentrado e virginiamicina sobre as variáveis de fermentação ruminal 105

Tabela 3.9 - Efeitos da interação nível de concentrado x tempo de coleta sobre as variáveis concentração total de ácidos graxos de cadeia curta, concentração de nitrogênio amoniacal e pH do rúmen.....112

Tabela 3.10 - Efeitos dos níveis de concentrado e virginiamicina sobre as variáveis de comportamento ingestivo 113

Tabela 3.11 - Efeitos dos níveis de concentrado e virginiamicina sobre a contagem de protozoários ciliados ruminais.....116

Tabela 3.12 - Efeitos da interação nível de concentrado x tempo de coleta sobre a contagem de protozoários ciliados ruminais 117

Tabela 3.13 - Efeitos dos níveis de concentrado e virginiamicina sobre as características sanguíneas 118

LISTA DE ABREVIATURAS

AGCC	ácidos graxos de cadeia curta
CMS	consumo de matéria seca
DE	degradabilidade efetiva
DP	degradabilidade potencial
ED	energia digestível
EE	extrato etéreo
EL_g	energia líquida para ganho
EL_m	energia líquida para mantença
EM	energia metabolizável
FDA	fibra insolúvel em detergente ácido
FDN	fibra insolúvel em detergente neutro
FDN_{fe}	fibra insolúvel em detergente neutro fisicamente efetiva
H_2	hidrogênio molecular
HCO_3^-	bicarbonato
H_2SO_4	ácido sulfúrico
LSMEANS	*least squares means*
MM	matéria mineral
MS	matéria seca
NDT	nutrientes digestíveis totais
NEA	número diário de eventos de alimentação
NEM	número de eventos de mastigação
NER	número diário de eventos de ruminação
NFDA	nitrogênio ligado à fibra insolúvel em detergente ácido
NFDN	nitrogênio ligado à fibra insolúvel em detergente neutro
P.A.	pró-análise
PB	proteína bruta
PDIFF	probabilidade da diferença
pH	potencial hidrogeniônico
RLM	ração de lucro máximo
TAE	tempo de alimentação por evento
TIE_{FDN}	taxa de ingestão da fibra insolúvel em detergente neutro por evento
TIE_{MS}	taxa de ingestão da matéria seca por evento

TI_{FDN}	taxa de ingestão da fibra insolúvel em detergente neutro
TI_{MS}	taxa de ingestão da matéria seca
TME	tempo de mastigação por evento
TM_{FDN}	taxa de mastigação da fibra insolúvel em detergente neutro
TM_{MS}	taxa de mastigação da matéria seca
TRE	tempo de ruminação por evento
TR_{FDN}	taxa de ruminação da fibra insolúvel em detergente neutro
TR_{MS}	taxa de ruminação da matéria seca
TTA	tempo total de alimentação
TTM	tempo total de mastigação
TTO	tempo total em ócio
TTR	tempo total de ruminação

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 18
Referências 29
2 NÍVEIS DE SALINOMICINA E VIRGINIAMICINA SOBRE O METABOLISMO, A DIGESTIBILIDADE E O COMPORTAMENTO INGESTIVO DE NOVILHOS NELORE CONFINADOS COM DIETA DE ALTO CONCENTRADO 35
Resumo 35
Abstract 36
2.1 Introdução 36
2.2 Material e métodos 38
2.2.1 Animais, instalações e delineamento experimental 38
2.2.2 Dieta basal e tratamentos 38
2.2.3 Consumo individual 40
2.2.4. Degradabilidade ruminal in situ 42
2.2.5 Digestibilidade aparente e características fecais 44
2.2.6 Fermentação ruminal 44
2.2.7 Comportamento ingestivo 47
2.2.8 Protozoários ciliados 48
2.2.9 Características sanguíneas 48
2.2.10 Análises estatísticas 48
2.3 Resultados e discussão 49
2.3.1 Consumo de nutrientes 49
2.3.2 Degradabilidade ruminal in situ 51
2.3.3 Digestibilidade aparente e características fecais 56
2.3.4 Fermentação ruminal 60
2.3.5 Comportamento ingestivo 66
2.3.6 Protozoários ciliados ruminais 69
2.3.7 Características sanguíneas 71
2.4 Conclusões 72
Referências 72
3 NÍVEIS DE CONCENTRADO E USO COMBINADO DE IONÓFORO E VIRGINIAMICINA SOBRE O METABOLISMO, A DIGESTIBILIDADE E O COMPORTAMENTO INGESTIVO DE NOVILHOS NELORE CONFINADOS 79
Resumo 79
Abstract 80
3.1 Introdução 80
3.2 Material e métodos 82
3.2.1 Animais, instalações e delineamento experimental 82

3.2.2 Dietas basais e tratamentos 83
3.2.3 Consumo individual 84
3.2.4. Degradabilidade ruminal in situ 86
3.2.5 Digestibilidade aparente e características fecais 88
3.2.6 Fermentação ruminal 88
3.2.7 Comportamento ingestivo 91
3.2.8 Protozoários ciliados 92
3.2.9 Características sanguíneas 92
3.*2.10 Análises estatísticas* 92
3.3 Resultados e discussão 93
3.3.1 Consumo de nutrientes 93
3.3.2 Degradabilidade ruminal in situ 95
3.3.3 Digestibilidade aparente e características fecais 102
3.3.4 Fermentação ruminal 104
3.3.5 Comportamento ingestivo 112
3.3.6 Protozoários ciliados ruminais 115
3.3.7 Características sanguíneas 117
3.4 Conclusões 118
Referências 119

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui o maior rebanho comercial de bovinos do mundo, com mais de 190 milhões de cabeças em 2011, sendo o segundo maior produtor mundial de carne bovina, com 9,03 milhões de toneladas em equivalente carcaça produzidas, e o segundo maior exportador, com mais de 1,34 milhões de toneladas em equivalente carcaça exportadas naquele ano (USDA, 2012). Simultaneamente, o mercado interno de carne de qualidade tem se expandido, com diversas cadeias aumentando as suas exigências de redução na idade e melhor acabamento dos animais. Nesse atual cenário, o confinamento de bovinos é uma excelente estratégia para o incremento da produtividade na pecuária de corte.

No Brasil, o confinamento de bovinos é utilizado principalmente como ferramenta para terminação dos animais no período das secas, quando a oferta de forragens é limitada, a fim de garantir o fornecimento de matéria-prima para os frigoríficos e o mínimo de gordura de acabamento nas carcaças exigido pela indústria. O número de animais confinados no país vem crescendo substancialmente nos últimos anos (Figura 1.1), passando de 755.000 cabeças em 1990 para 3.048.000 em 2010 (FNP, 1997, 2003, 2011).

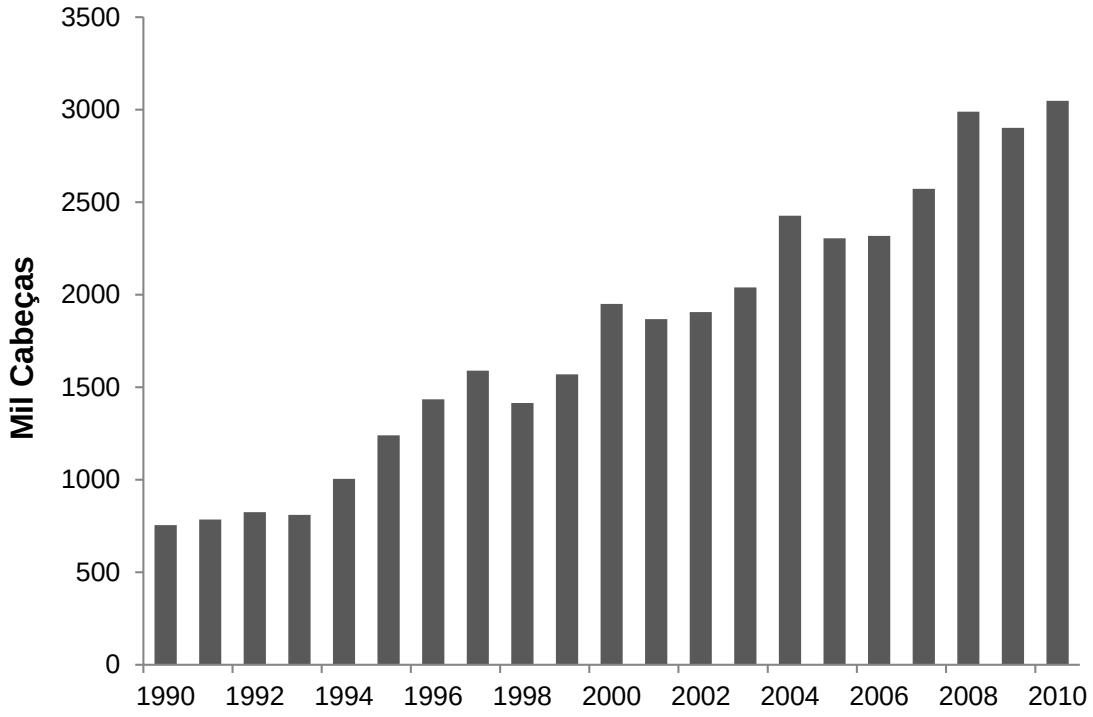

Figura 1.1 - Evolução no número de animais confinados no Brasil.
Adaptado de FNP (1997, 2003, 2011)

O período médio de confinamento no Brasil é geralmente curto, com cerca de 70 dias, o que representa aproximadamente apenas 7% do ciclo completo de produção (MILLEN et al., 2011). No entanto, o confinamento é uma atividade que requer altos investimentos, principalmente relacionados à alimentação. Estima-se que os custos com arraçoamento representem cerca de 70% dos custos totais de um confinamento (LIU et al., 2000), sendo necessário o emprego de técnicas que busquem maior eficiência no uso do alimento pelos animais. Nesse sentido, diversas estratégias nutricionais têm sido testadas, dentre elas, o fornecimento de rações com alta proporção de concentrado.

Em diversas regiões do país, o preço relativamente baixo de concentrados como milho, sorgo e diversos subprodutos, como a casca de soja, tornam o custo da unidade de energia do volumoso muito mais dispendioso. De acordo com Millen et al. (2011), o teor médio de volumosos em dietas de bovinos confinados passou de 28,8% em 2009 para 21% em 2011, o que representa redução de cerca de 27% em dois anos.

Contudo, sabe-se que a grande maioria dos bovinos confinados no Brasil é composta por animais *Bos indicus* da raça Nelore ou anelorados (MILLEN et al., 2009). Esses animais podem apresentar maior tendência ao desenvolvimento de distúrbios metabólicos em relação às raças taurinas quando alimentados com dietas com grande quantidade de grãos (BRAWNER et al., 1969; ELAM, 1976), o que promove efeitos negativos sobre o desempenho animal e pode resultar em grandes perdas econômicas.

Em diversos trabalhos conduzidos no país, tem sido demonstrado que zebuínos atingem o ápice da curva de consumo com dietas de menor concentração energética em relação a europeus e cruzados (VÉRAS et al., 2000; ALMEIDA; LANNA, 2003; PUTRINO et al., 2007). Além disso, quando alimentados com rações ricas em concentrado, animais *Bos taurus* consomem mais alimentos em relação às suas exigências de mantença que *Bos indicus*, e assim ganham peso mais rápido e de maneira mais eficiente (KREHBIEL; KREIKEMEIER; FERRELL, 2000).

No entanto, a principal preocupação nutricional para zebuínos confinados e alimentados com altas quantidades de grãos diz respeito ao aumento no risco de ocorrência de desordens fisiológicas, como a acidose ruminal, que em estágios mais avançados evoluem para laminites e abscessos no fígado. Embora o aumento no consumo seja interessante, em função do maior aporte de energia para o ganho de

peso, taxas elevadas de ingestão de carboidratos de rápida degradação e dietas ricas em carboidratos não fibrosos estão fortemente associadas com a acidose ruminal (KRAUSE; OETZEL, 2006).

A acidose ruminal reflete o desbalanço entre a produção, utilização pelos microrganismos e absorção ruminal de ácidos orgânicos, o que promove acúmulo não fisiológico desses ácidos no rúmen, com consequente redução no pH para valores abaixo de 5,6. Essa redução no pH apresenta significante impacto sobre a atividade dos microrganismos, função ruminal, bem como sobre a produtividade e saúde dos animais (NAGARAJA; LECHTENBERG, 2007).

A acidose pode ser caracterizada como clínica ou subclínica de acordo com a extensão da redução no pH, tipo de ácido responsável por essa redução, e presença ou ausência de sinais clínicos. Valores de pH entre 5,0 e 5,6 ocasionados pelo acúmulo de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no rúmen caracterizam a ocorrência de acidose subclínica, enquanto valores abaixo de 5,0, podendo chegar até a 4,5 ou menos, caracterizam a acidose clínica (KRAUSE; OETZEL, 2006). Em condições de acidose clínica, o pH ruminal pode atingir valores inferiores a 4,5 devido ao acúmulo de ácido lático no meio, o que ocorre em função da maior produção e menor utilização desse ácido no rúmen (NAGARAJA; TITGEMEYER, 2007). A concentração ruminal de AGCC geralmente aumenta no início de uma condição de acidose subclínica, mas com a persistência dessa condição, a concentração desses ácidos é reduzida, com notável aumento na concentração de ácido lático (Figura 1.2).

A ingestão excessiva de carboidratos rapidamente fermentáveis e açúcares solúveis promove marcante alteração na população microbiana do rúmen, com acentuado aumento no número de *Streptococcus bovis*, que convertem piruvato a ácido lático ao invés de outros ácidos orgânicos. Em função do seu baixo pKa, o ácido lático é rapidamente dissociado em um próton (H^+) e um ânion ($C_3H_5O_3^-$). Desse modo, o aumento na concentração de lactato é acompanhado por redução no pH ruminal de forma a favorecer o desenvolvimento de *Lactobacillus*, o que promove acúmulo ainda maior de lactato no meio (RUSSELL; HINO, 1985) e leva o animal à condição de acidose (Figura 1.3). Nesse sentido, é fundamental que a pesquisa desenvolva estratégias que permitam o uso de dietas de alto concentrado com segurança para bovinos Nelore.

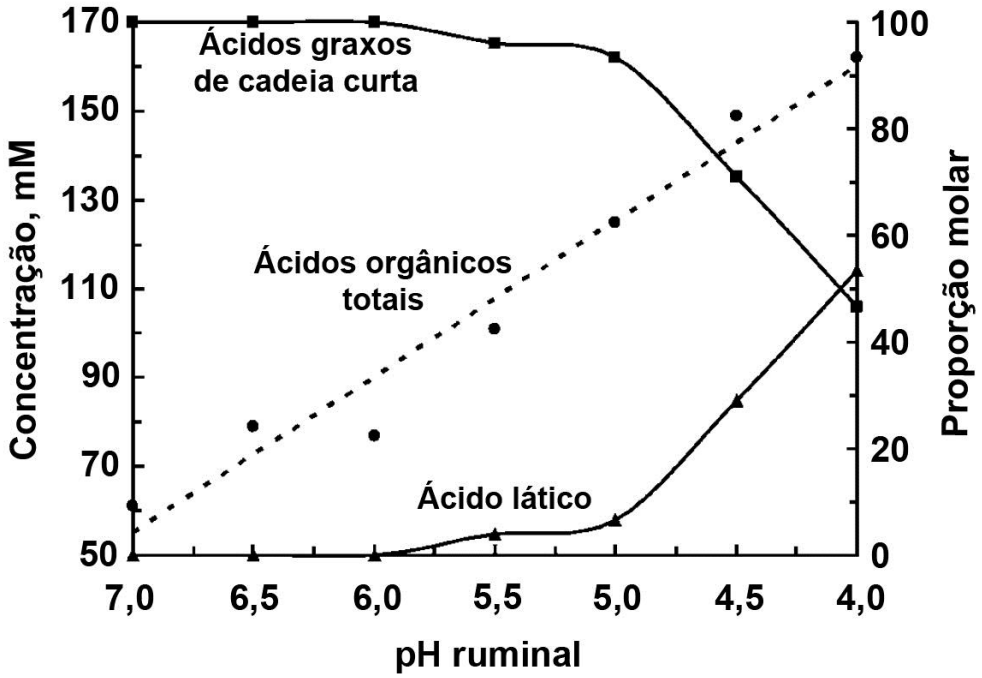

Figura 1.2 - Concentração total de ácidos orgânicos (●) e proporções molares de ácidos graxos de cadeia curta (■) e ácido lático (▲).
Adaptada de Nagaraja; Titgemeyer (2007)

Dentre as ferramentas de manejo nutricional utilizadas para viabilizar o fornecimento de dietas com alta proporção de grãos para zebuínos, o uso de antibióticos ionóforos e não ionóforos como aditivos alimentares merece destaque. Os antibióticos ionóforos, como a monensina sódica e a salinomicina, vêm sendo utilizados há mais de 30 anos como promotores de crescimento em dietas de ruminantes, com resultados consistentes na melhora do desempenho animal e do ambiente ruminal.

Os ionóforos, assim conhecidos devido à sua propriedade transportadora de íons, alteram a população microbiana do rúmen ao promover a inibição das bactérias gram-positivas, responsáveis pela produção de acetato, butirato, lactato e H_2 (precursor do metano), e selecionar as gram-negativas, produtoras de propionato e succinato ou utilizadoras de ácido lático (BERGEN; BATES, 1984). As moléculas de ionóforo apresentam capacidade de transportar cátions através da membrana citoplasmática das bactérias gram-positivas, o que gera desequilíbrio osmoelétrico e promove a ativação de diversos processos de homeostase, com consequente consumo de energia intracelular (ATP) e, por fim, morte da célula (PERES; SIMAS, 2006).

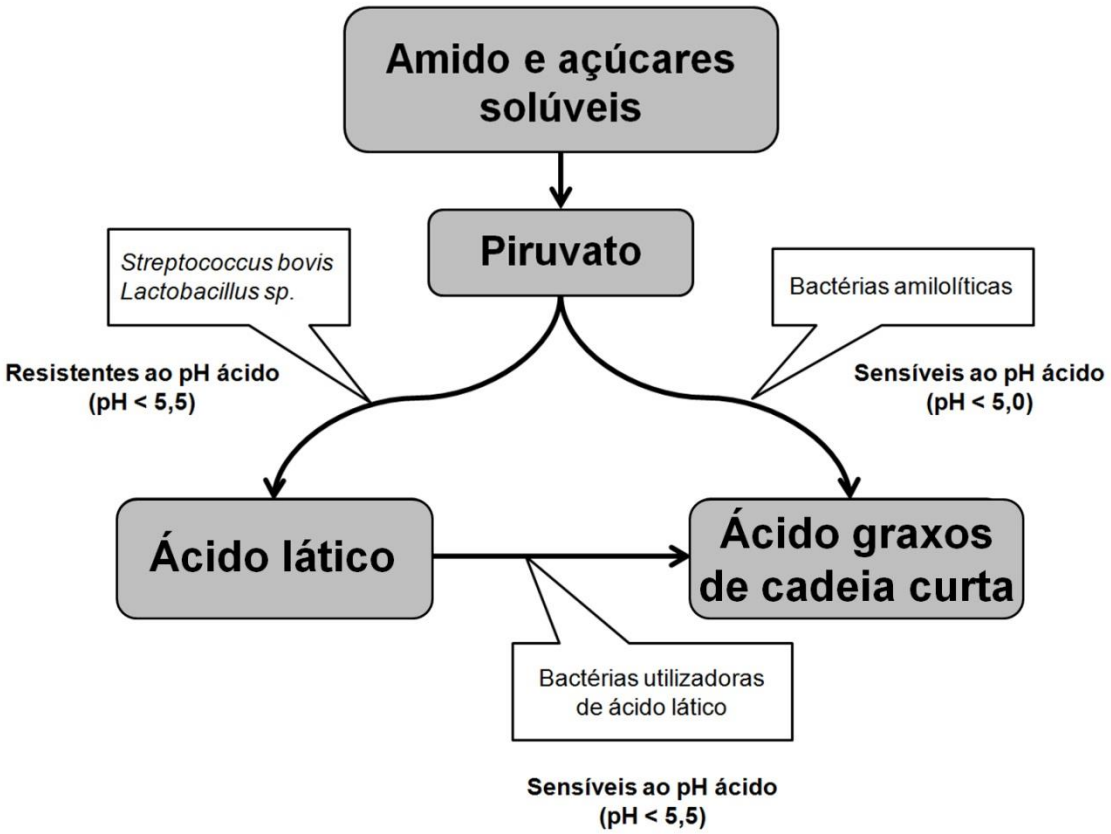

Figura 1.3 - Produção de ácido lático e ácidos graxos de cadeia curta por meio da fermentação de amido e açúcares solúveis por grupos de bactérias resistentes ou sensíveis ao pH ácido.
Adaptada de Nagaraja; Lechtenberg (2007)

Os principais efeitos dos ionóforos são: 1) melhora na eficiência do uso de energia devido ao aumento na produção de propionato e redução na produção de metano; 2) melhora na utilização de compostos nitrogenados em função da redução na degradação proteica, com consequente diminuição na absorção de amônia e aumento na quantidade de proteína de escape; 3) diminuição na ocorrência de desordens metabólicas em função da redução na produção lactato (BERGEN; BATES, 1984).

Para animais tratados com dietas contendo altos níveis de carboidratos rapidamente fermentáveis, os ionóforos geralmente promovem redução na ingestão de matéria seca (MS) sem alterar o ganho de peso, enquanto para animais alimentados com altas proporções de forragem, o ganho de peso é aumentado sem alteração no consumo de alimentos, o que resulta em melhora na eficiência alimentar em ambos os casos. Esse comportamento pode ser explicado pelo

mecanismo quimiostático de regulação de consumo. A maior disponibilidade de energia promovida pelo uso do ionóforo, em dietas de alto concentrado, faz com que um menor consumo forneça a mesma quantidade de energia. Já em dietas com alta proporção de forragem, a maior disponibilidade energética não promove redução na ingestão de alimentos, porém, com mais energia sendo aproveitada para um mesmo consumo, o ganho de peso é superior (LANNA; MEDEIROS, 2007).

A monensina é o ionóforo utilizado há mais tempo em dietas de ruminantes e, portanto, o mais estudado. No entanto, os resultados de desempenho obtidos com o uso de salinomicina têm se mostrado semelhantes aos obtidos para monensina (GIBB et al., 2001), com a vantagem de apresentar menor custo.

A salinomicina ($C_{42}H_{70}O_{11}$) (Figura 1.4) é um antibiótico ionóforo poliéter produzido por uma linhagem de *Streptomyces albus* (ZINN, 1986), muito utilizado como aditivo em rações de ruminantes e monogástricos para controlar problemas de coccidiose (McALLISTER et al., 1996). Em bovinos de corte confinados, estudos preliminares demonstraram que a salinomicina é efetiva no aumento do ganho de peso e da eficiência alimentar (McCLURE et al., 1980; MERCHEN; BERGER, 1985). Zinn (1986) fez um resumo dos resultados de 10 experimentos com bovinos confinados suplementados com salinomicina e verificou as seguintes respostas médias em relação aos tratamentos controle: aumento de 6,4% no ganho de peso diário, redução de 1,8% no consumo de MS e melhora de 8,1% na conversão alimentar.

Diversos autores verificaram alterações na digestibilidade e no metabolismo de ruminantes suplementados com salinomicina. Merchen e Berger (1985), ao avaliarem a digestibilidade de nutrientes e as características ruminais de ovinos suplementados com salinomicina, não observaram diferença na digestibilidade aparente da MS, matéria orgânica, fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido e amido entre os animais tratados com o ionóforo e o grupo controle. No entanto, os autores observaram aumento na concentração de propionato e redução nas concentrações de acetato e butirato, bem como na relação acetato:propionato de animais tratados com salinomicina.

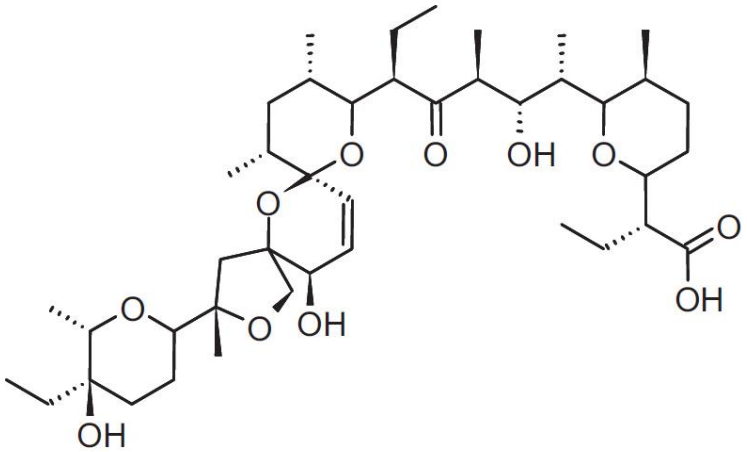

Figura 1.4 - Estrutura química da salinomicina.
Adaptada de Herrero et al. (2012)

Olumeyan et al. (1986) não observaram efeito da salinomicina sobre o pH ruminal e a concentração total de ácidos graxos de cadeia curta, mas verificaram redução na relação acetato:propionato. Os animais tratados com o ionóforo também apresentaram redução na população total de bactérias anaeróbias após oito semanas de tratamento, bem como aumento de 7,6 para 15,6% nas bactérias resistentes à salinomicina. Esses autores também verificaram aumento na proporção de bactérias amilolíticas e redução inicial no número total de protozoários nos animais tratados com o ionóforo, mas não observaram efeito sobre a população de bactérias celulolíticas e utilizadoras de lactato. Reffett-Stabel et al. (1989) observaram redução na concentração ruminal de acetato aos 28 e 90 dias e aumento na concentração de propionato aos 28 dias de suplementação com salinomicina em novilhos Angus.

O uso de antibióticos não ionóforos para gado de corte é pouco explorado no Brasil, no entanto, a virginiamicina tem apresentado efeitos positivos sobre o ganho de peso e a eficiência alimentar, tanto para monogástricos como para ruminantes. Em ruminantes, esse antibiótico tem apresentado maior inibição na produção de ácido lático em relação aos ionóforos (LANNA; MEDEIROS, 2007).

A virginiamicina (Figura 1.5), um antibiótico não ionóforo da classe das estreptograminas, é produzida por uma linhagem mutante de *Streptomyces virginae* e formada por dois componentes químicos distintos, fator M ($C_{28}H_{35}N_3O_7$) e fator S ($C_{43}H_{49}N_7O_{10}$) (CROOY; DE NEYS, 1972). A virginiamicina apresenta atividade principalmente contra bactérias gram-positivas, tanto aeróbias como anaeróbias,

com pouco ou nenhum efeito sobre a maioria das bactérias gram-negativas em função da impermeabilidade da parede celular (COCITO, 1979). No interior das células, ambos os fatores se ligam específica e irreversivelmente à subunidade 50S dos ribossomos, o que inibe a formação de ligações peptídicas durante a síntese de proteína, causando redução no crescimento (bacteriostase) ou morte da célula bacteriana (atividade bactericida) (COCITO, 1979).

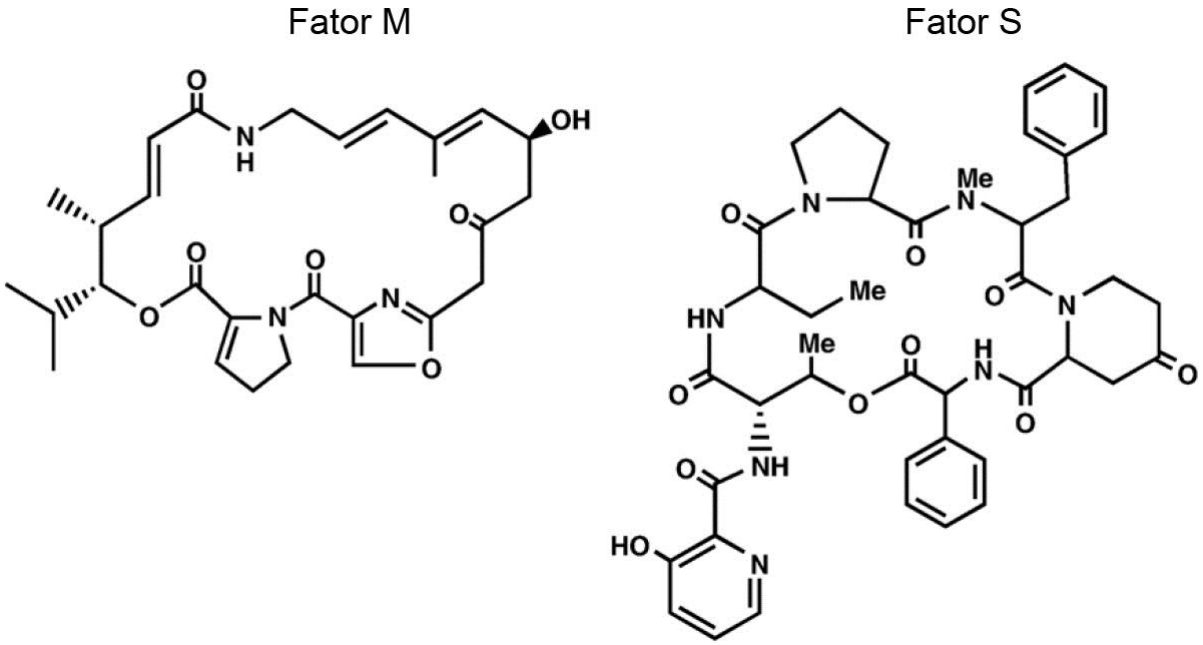

Figura 1.5 - Estrutura química da virginiamicina, composta pelos fatores M e S. Adaptada de Pulsawat; Kitani e Nihira (2007)

Em função das alterações promovidas na população de bactérias presentes no rúmen, a virginiamicina apresenta capacidade de melhorar a fermentação ruminal. Alguns autores sugerem aumento na concentração de ácido propiônico e redução na produção de amônia e hidrogênio, que é precursor do metano (HEDDE et al., 1980; NAGARAJA et al., 1987; NAGARAJA; TAYLOR, 1987). Esses autores também sugerem que a virginiamicina apresenta maior controle sobre a produção de ácido lático em relação à monensina, pois tem ação direta sobre as espécies produtoras desse composto.

Coe et al. (1999) avaliaram os efeitos de virginiamicina e monensina/tilosina sobre os produtos da fermentação e população microbiana ruminal de bovinos durante adaptação brusca a uma dieta com alto teor concentrado. Embora os animais não tenham apresentado quadro de acidose, as contagens de *Lactobacillus*

e *Streptococcus bovis* foram menores para animais tratados com virginiamicina em relação aos tratados com monensina/tilosina. As contagens de *Fusobacterium necrophorum*, principal agente etiológico de abscessos hepáticos, aumentaram no tratamento controle conforme houve aumento no teor de concentrado, enquanto para os animais tratados com virginiamicina as contagens permaneceram inalteradas.

Diversos autores também relatam melhora no desempenho de bovinos em função da utilização de virginiamicina. Bovinos a pasto suplementados com virginiamicina apresentaram aumentos de 18% no ganho de peso em relação ao grupo controle (FIEMS et al., 1992). Resultados semelhantes foram obtidos em experimento com bovinos recebendo dieta com alta proporção de amido e proteína, em que os animais tratados com virginiamicina apresentaram aumento de 7,8% no ganho de peso e melhora de 7,3% na conversão alimentar (ANDRIGHETTO et al., 1997).

Rogers et al. (1995) verificaram que a virginiamicina aumenta o ganho de peso e melhora a conversão alimentar com pouco ou nenhum efeito sobre a ingestão de MS, além de evitar flutuações no consumo e reduzir a ocorrência de abscessos hepáticos em bovinos confinados. Esses autores sugerem que as dosagens mais efetivas para aumento no ganho de peso diário, melhora na conversão alimentar e diminuição na ocorrência de abscessos no fígado foram de 19,3 a 27,3 ppm, 13,2 a 19,3 ppm e 16,5 a 19,3 ppm, respectivamente.

Em experimento com novilhos Holandeses confinados com dietas de alto concentrado (cerca de 90% na MS), não foram observadas diferenças no consumo de MS e no ganho de peso diário entre os três níveis de virginiamicina utilizados (0, 16 ou 22.5 ppm). No entanto, a inclusão de níveis crescentes do antibiótico promoveu aumentos lineares na eficiência alimentar e nas estimativas de energia líquida para mantença e ganho das dietas (SALINAS-CHAVIRA et al., 2009).

Em adição aos efeitos da virginiamicina sobre o metabolismo ruminal, existe também a possibilidade de atuação do antibiótico na fisiologia da digestão no intestino de bovinos, conforme ocorre em monogástricos. Em não ruminantes, a virginiamicina promove aumento na disponibilidade de nutrientes devido à inibição seletiva de bactérias entéricas (DIERICK et al., 1986). Em estudo *in vitro*, Vervaeke et al. (1979) observou redução na produção de ácidos orgânicos no conteúdo do íleo de suínos promovida pela virginiamicina, o que resulta em aumento na

disponibilidade de carboidratos para absorção intestinal. Além disso, a virginiamicina pode inibir a descarboxilação e a desaminação de aminoácidos no intestino, especialmente no íleo, promovendo economia de aminoácidos pela redução na formação de amônia e aminas biogênicas. Os aminoácidos que não sofrem degradação ficam disponíveis para o animal, com resultante aumento na quantidade de proteína metabolizável (DIERICK et al., 1986).

Os efeitos benéficos dos antibióticos ionóforos e não ionóforos sobre o desempenho e a fermentação ruminal de bovinos foram extensivamente comprovados. No entanto, diversos autores sugerem que esses efeitos ocorrem, em parte, devido a alterações na atividade de mastigação e no comportamento ingestivo dos animais, ou seja, no tempo despendido com ingestão de alimentos, ruminação e ócio, bem como no tamanho das refeições e na frequência de eventos relacionados à captura de alimentos (GALYEAN; ENG, 1998). De acordo com Owens et al. (1998), o número de eventos de alimentação pode ser tão importante quanto o consumo total de MS como causa de problemas relacionados à acidose.

Ao estudarem os efeitos de concentração de monensina e manejo de cocho sobre o metabolismo ruminal e o comportamento ingestivo de bovinos confinados, Erickson et al. (2003) verificaram menor tamanho e duração de refeições e menor variação no pH ruminal, sem alterações no consumo de MS, para animais sob manejo de cocho limpo tratados com monensina, o que indica que o maior parcelamento da ingestão pode ser uma das causas da melhora no ambiente ruminal. Fanning et al. (1999) observaram aumento no número de eventos de alimentação e redução na duração destes eventos, sem alterações no consumo de MS, o que também sugere maior parcelamento do consumo em função da utilização do ionóforo para novilhos em terminação.

Da mesma forma, ao avaliarem os efeitos do ionóforo lasalocida sobre o metabolismo ruminal e o comportamento ingestivo de vacas no início de lactação, Knowlton; Allen e Erickson (1996) observaram maior tempo total de ruminação e tendência de aumento no número e na duração dos eventos de ruminação e no tempo total de mastigação (alimentação e ruminação) para animais tratados com lasalocida. Houve tendência de redução na variação do pH ruminal de animais tratados com o ionóforo, o que também indica melhora no ambiente ruminal com a maior ruminação.

Assim, fica claro que tanto a salinomicina como a virginiamicina apresentam capacidade de alterar o ambiente ruminal e, consequentemente, melhorar o desempenho de bovinos de corte, e que o uso desses aditivos isoladamente já foi bastante estudado, com resultados consistentes. No entanto, trabalhos recentes têm sugerido possível efeito associativo do uso combinado de virginiamicina e ionóforo sobre o desempenho animal (SILVA et al., 2004; NUÑEZ, 2008).

Silva et al. (2004) não observaram diferenças no ganho de peso diário de animais tratados com virginiamicina ou salinomicina isoladamente em relação ao controle. No entanto, animais que receberam os dois aditivos em combinação apresentaram ganho de peso 17,9% superior ao do tratamento controle. A eficiência alimentar não diferiu entre os tratamentos, uma vez que os animais que ganharam mais peso também ingeriram mais alimentos. Contudo, os autores sugerem que, mesmo sem diferença estatística, houve melhora de 8% na eficiência alimentar dos animais tratados com os dois aditivos em relação ao controle.

Ao avaliar o desempenho de novilhos Nelore confinados com dietas de alto concentrado, Nuñez (2008) observou redução de 8,9% no consumo de MS de bovinos tratados com a combinação de virginiamicina e salinomicina em relação àqueles que receberam apenas ionóforo. No entanto, como essa resposta ocorreu sem promover alteração no ganho de peso, os animais tratados com a combinação dos aditivos apresentaram eficiência alimentar 11,4% superior em relação aos que receberam apenas salinomicina.

Além disso, Nuñez (2008) sugeriu que a redução na ocorrência de diarreia em função do uso combinado de virginiamicina e ionóforo pode indicar melhora no ambiente ruminal de bovinos confinados. No entanto, a eficácia aparentemente depende do tipo de dieta utilizada, uma vez que os aditivos combinados foram capazes de reduzir a incidência de diarreia para os animais tratados com ração contendo 73% de concentrado, mas não para aqueles que receberam dieta com 91% de grãos.

Além de promover melhora no ambiente ruminal e no desempenho animal, a inclusão de aditivos antimicrobianos em rações para gado de corte pode trazer diversos benefícios ao meio ambiente. Dentre eles, pode-se destacar a melhora na qualidade do ar pela redução na produção de metano e na quantidade de nitrogênio excretado, bem como na qualidade da água, pela redução na quantidade de nitrogênio nas fezes e urina que pode atingir o lençol freático por lixiviação

(TEDESCHI; FOX; TYLUTKI, 2003). Além disso, o uso desses aditivos apresenta potencial de reduzir a quantidade de matéria-prima necessária para produzir a mesma quantidade de carne (LANNA; MEDEIROS, 2007).

Em 2006, a União Europeia baniu o uso de antibióticos como promotores de crescimento, mesmo sem a apresentação de dados epidemiológicos que sugerissem que o uso desses aditivos em animais de produção pudesse aumentar a prevalência de doenças infecciosas em humanos. De acordo com Lanna e Medeiros (2007), o Brasil exporta carne para mais de 170 países, e está claro que existem restrições quanto à utilização de aditivos para bovinos de corte nas legislações de cada um desses países. Os autores comentam que, por ser um exportador com ampla gama de consumidores, o Brasil não poderá incluir na sua legislação todas as restrições encontradas nos países para os quais fornece carne. A adoção de restrições por pressão de alguns setores ou países, sem embasamentos científicos sólidos, acarretará em aumento no custo de produção, com consequente diminuição de competitividade da carne produzida no país.

Há alguns anos, o *Food and Drug Administration* norte-americano, reconhecido pela rigidez com que avalia as solicitações de registros de produtos, concluiu extensivo e detalhado estudo de avaliação da segurança ao consumidor pelo uso da virginiamicina (Food and Drug Administration, 2004). Os resultados publicados nesse estudo liberam o uso da virginiamicina para o segundo maior mercado importador de carne do mundo, os Estados Unidos. Da mesma forma, esse produto está liberado para uso em gado de corte na Austrália, país que mais exportou carne bovina em 2011. Nota-se também que o Japão, país que paga o maior valor agregado por carne de qualidade, libera o uso de virginiamicina.

Com base no exposto, o presente estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar os efeitos do uso combinado de ionóforo e virginiamicina sobre o metabolismo ruminal, a digestibilidade de nutrientes, o comportamento ingestivo e as características sanguíneas de novilhos Nelore confinados com dietas contendo elevada proporção de concentrado.

Referências

ALMEIDA, R.; LANNA, D.P.D. Influence of breed on performance and dry matter intake by feedlot bull calves in Brazil. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.81, suppl. 1, p.111, 2003. Abstract.

ANDRIGHETTO, I.; ANDREOLI, D.; COZZI, G.; PARENTI, E.; VOLPATO, M.R. Quantitative and qualitative productive performance of young bulls and steers fed a diet added with virginiamycin. **Zootecnica e Nutrizione Animale**, Bologna, v.23, n.4, p.179-193, 1997.

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

BRAWNER, W.R.; HENTGES, J.F.; MOORE, J.E.; NEA, F.C.; HIMES, J.A. Naturally -induced bovine lactic acidosis. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.28, suppl., p.126, 1969. Abstract.

COCITO, C. Antibiotics of the virginiamycin family, inhibitors which contain synergistic components. **Microbiological Reviews**, Washington, v.43, n.2, p.145-198, 1979.

COE, M.L.; NAGARAJA, T.G.; SUN, Y.D.; WALLACE, N.; TOWNE, E.G.; KEMP, K.E.; HUTCHENSON, J.P. Effect of virginiamycin on ruminal fermentation in cattle during adaptation to a high concentrate diet and during an induced acidosis. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.77, n.8, p.2259-2268, 1999.

CROOY, P.; DE NEYS, R. Virginiamycin: nomenclature. **Journal of Antibiotics**, Tokyo, v.25, n.6, p.371-372, 1972.

DIERICK, N.A.; VERVAEKE, I.J.; DECUYPERE, J.A.; HENDERICKX, H.K. Influence of the gut flora and of some growth-promoting feed additives on nitrogen metabolism in pigs. 2. Studies in vivo. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v.14, n.2, p.177-193, 1986.

ELAM, C.J. Acidosis in feedlot cattle: practical observations. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.43, n.4, p.898-901, 1976.

ERICKSON, G.E.; MILTON, C.T.; FANNING, K.C.; COOPER, R.J.; SWINGLE, R.S.; PARROTT, J.C.; VOGEL, G.; KLOPFENSTEIN, T.J. Interaction between bunk management and monensin concentration on finishing performance, feeding behavior, and ruminal metabolism during an acidosis challenge with feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.81, n.11, p.2869-2879, 2003.

FANNING, K.; MILTON, T.; KLOPFENSTEIN, T.J.; JORDON, D.J.; COOPER, R.J.; PARROTT, C. Effects of rumensin level and bunk management strategy on finishing steers. **Nebraska Beef Cattle Report**, Lincoln, p.41-44, 1999.

Food and Drug Administration. Risk assessment of streptogramin resistance in *Enterococcus faecium* attributable to the use of streptogramins in animals. **Food and Drug Administration,** Center for Veterinary Medicine, 2004. Disponível em:

<http://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/NewsEvents/CVMUpdates/UCM054722.pdf>. Acesso em: 3-12-2012.

FIEMS, L.O.; BOUCQUE, C.V.; COTTYN, B.G.; MOERMANS, R.J.; BRABANDER, D.L. Effect of virginiamycin supplementation on the performance on the performance of young grazing cattle. **Grass and Forage Science**, Oxford, v.47, n.1, p.36-40, 1992.

FNP - CONSULTORIA E COMÉRCIO. **Anualpec: anuário da pecuária brasileira.** 4 ed. São Paulo: 1997. 329 p.

FNP - CONSULTORIA E COMÉRCIO. **Anualpec: anuário da pecuária brasileira.** 10 ed. São Paulo: 2003. 400 p.

FNP - CONSULTORIA E COMÉRCIO. **Anualpec: anuário da pecuária brasileira.** 18 ed. São Paulo: 2011. 378 p.

GALYEAN, M.L.; ENG, K.S. Application of research findings and summary of research needs: Bud Britton Memorial Symposium on metabolic disorders of feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.76, n.1, p.323-327, 1998.

GIBB, D.J.; MOUSTAFA, S.M.S.; WIEDMEIER, R.D.; MCALLISTER, T.A. Effect of salinomycin or monensin on performance and feeding behavior of cattle fed wheat- or barley-based diets. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v.81, n.2, p.253-261, 2001.

HEDDE, R.D.; ARMSTRONG, D.G.; PARISH, R.C.; QUACH, R. Virginiamycin effect on rumen fermentation in cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.51, suppl. 1, p.366-367, 1980. Abstract.

HERRERO, P.; BORRULL, F.; POCURULL, E.; MARCÉ, R.M. Novel amide polar-embedded reversed-phase column for the fast liquid chromatography-tandem mass spectrometry method to determine polyether ionophores in environmental waters. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v.1263, p.7-13, 2012.

KNOWLTON, K.F.; ALLEN, M.S.; ERICKSON, P.S. Lasalocid and particle size of corn grain for dairy cows in early lactation. 2. Effect on ruminal measurements and feeding behavior. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.79, n.4, p.565-574, 1996.

KRAUSE, K.M.; OETZEL, G.R. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.126, n.3, p.215-236, 2006.

KREHBIEL, C.R.; KREIKEMEIER, K.K.; FERRELL, C.L. Influence of *Bos indicus* crossbreeding and cattle age on apparent utilization of a high-grain diet. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.78, n.6, p.1641-1647, 2000.

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.

LIU, M.F.; GOONEWARDENE, L.A.; BAILEY, D.R.C.; BASARAB, J.A.; KEMP, R.A.; ARTHUR, P.F.; OKINE, E.K.; MAKARECHIAN, M. A study on the variation of feed efficiency in station tested beef bulls. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v.80, n.3, p.435-441, 2000.

MCALLISTER, T.A.; ANNETT, C.B.; OLSON, M.E.; MORCK, D.W.; CHENG, K.J. Effect of salinomycin on giardiasis and coccidiosis in growing lambs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.74, n.12, p.2896-2903, 1996.

MCCLURE, W.H.; FONTENOT, J.P.; WEBB, K.E.; LUCAS, D.M. Feedlot performance of cattle fed different salinomycin levels. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.51, suppl.1, p.380, 1980. Abstract.

MERCHEN, N.R.; BERGER, L.L. Effect of salinomycin level on nutrient digestibility and ruminal characteristics of sheep and feedlot performance of cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.60, n.5, p.1338-1346, 1985.

MILLEN, D.D.; PACHECO, R.D.L.; ARRIGONI, M.D.B.; GALYEAN, M.L.; VASCONCELOS, J.T. A snapshot of management practices and nutritional recommendations used by feedlot nutritionists in Brazil. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.87, n.10, p.3427-3439, 2009.

MILLEN, D.D.; PACHECO, R.D.L.; MEYER, P.M.; RODRIGUES, P.H.M.; DE BENI ARRIGONI, M. Current outlook and future perspectives of beef production in Brazil. **Animal Frontiers**, Champaign, v.1, n.2, p.46-52, 2011.

NAGARAJA, T.G.; LECHTENBERG, K.F. Acidosis in feedlot cattle. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v.23, n.2, p.333-350, 2007.

NAGARAJA, T.G.; TAYLOR, M.B. Susceptibility and resistance of ruminal bacteria to antimicrobial feed additives. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.53, n.7, p.1620-1625, 1987.

NAGARAJA, T.G.; TITGEMEYER, E.C. Ruminal acidosis in beef cattle: the current microbiological and nutritional outlook. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.90, suppl. 1, p.E17-E38, 2007.

NAGARAJA, T.G.; TAYLOR, M.B.; HARMON, D.L.; BOYER, J.E. In vitro lactic acid inhibition and alterations in volatile fatty acid production by antimicrobial feed additives. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.65, n.4, p.1064-1076, 1987.

NUÑEZ, A.J.C. **Uso combinado de ionóforo e virginiamicina em novilhos Nelore confinados com dietas de alto concentrado.** 2008. 67p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

OLUMEYAN, D.B.; NAGARAJA, T.G.; MILLER, G.W.; FREY, R.A.; BOYER, J.E. Rumen microbial changes in cattle fed diets with or without salinomycin. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.51, n.2, p.340-345, 1986.

OWENS, F.N.; SECRIST, D.S.; HILL, W.J.; GILL, D.R. Acidosis in cattle: a review. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.76, n.1, p.275-286, 1998.

PERES, J.R.; SIMAS, J. Perspectivas da utilização de ionóforos 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.

PULSAWAT, N.; KITANI, S.; NIHIRA, T. Characterization of biosynthetic gene cluster for the production of virginiamycin M, a streptogramin type A antibiotic, in *Streptomyces virginiae*. **Gene**, Amsterdam, v.393, n.1-2, p.31-42, 2007.

PUTRINO, S.M.; LEME, P.R.; SILVA, S.; MANELLA, M.Q.; NOGUEIRA FILHO, J.C.; LIMA, C.G.; ALLEONI, G.F. Digestibilidade aparente de dietas com níveis crescentes de concentrado em novilhos Brangus e Nelore. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.59, n.2, p.406-413, 2007.

REFFETT-STABEL, J.; SPEARS, J.W.; HARVEY, R.W.; LUCAS, D.M. Salinomycin and lasalocid effects on growth rate, mineral metabolism and ruminal fermentation in steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.67, n.10, p.2735-2742, 1989.

ROGERS, J.A.; BRANINE, M.E.; MILLER, C.R.; WRAY, M.I.; BARTLE, S.J.; PRESTON, R.L.; GILL, D.R.; PRITCHARD, R.H.; STILBORN, R.P.; BECHTOL, D.T. Effects of dietary virginiamycin on performance and liver abscess incidence in feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.73, n.1, p.9-20, 1995.

RUSSELL, J.B.; HINO, T. Regulation of lactate production in *Streptococcus bovis*: a spiralling effect that contributes to rumen acidosis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.68, n.7, p.1712-1721, 1985.

SALINAS-CHAVIRA, J.; LENIN, J.; PONCE, E.; SANCHEZ, U.; TORRENTERA, N.; ZINN, R.A. Comparative effects of virginiamycin supplementation on characteristics of growth-performance, dietary energetics, and digestion of calf-fed Holstein steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.87, n.12, p.4101-4108, 2009.

SILVA, S.L.; ALMEIDA, R.; SCHWAHOFER, D.; LEME, P.R.; LANNA, D.P.D. Effects of salinomycin and virginiamycin on performance and carcass traits of feedlot steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.82, suppl. 1, p.41-42, 2004. Abstract.

TEDESCHI, L.O.; FOX, D.G.; TYLUTKI, T.P. Potencial environmental benefits of ionophores in ruminant diets. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.32, n.5, p.1591-1602, 2003.

USDA: United States Department of Agriculture, 2012. Disponível em: <http://www.usda.gov>. Acesso em: 12-12-2012.

VERVAEKE, I.J.; DECUYPERE, J.A.; DIERICK, N.A.; HENDERICKX, H.K. Quantitative in vitro evaluation of the energy metabolism influenced by virginiamycin and spiramycin used as growth promoters in pig nutrition. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.49, n.3, p.846-856, 1979.

VÉRAS, A.S.C.; VALADARES FILHO, S.C.; COELHO DA SILVA, J.F.; PAULINO, M.F.; CECON, P.R.; VALADARES, R.F.D.; FERREIRA, M.A.; CABRAL, L.S. Consumo e digestibilidade aparente em bovinos Nelore, não-castrados, alimentados com rações contendo diferentes níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.29, n.6, p.2367-2378, 2000.

ZINN, R.A. Effect of salinomycin supplementation on characteristics of digestion and feedlot performance of cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.63, n.6, p.1996-2004, 1986.

2 NÍVEIS DE SALINOMICINA E VIRGINIAMICINA SOBRE O METABOLISMO, A DIGESTIBILIDADE E O COMPORTAMENTO INGESTIVO DE NOVILHOS NELORE CONFINADOS COM DIETA DE ALTO CONCENTRADO

Resumo

O presente estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar os efeitos da suplementação com salinomicina, virginiamicina e sua combinação sobre o metabolismo ruminal, a digestibilidade, o comportamento ingestivo e as características sanguíneas de novilhos Nelore alimentados com dieta de alto concentrado. Oito novilhos Nelore com 322 ± 26 kg de peso vivo inicial foram alocados no delineamento em quadrado latino 4 x 4 replicado, com quatro tratamentos em quatro períodos (16 dias por período). Os tratamentos foram arranjados em esquema fatorial 2 x 2, com dois níveis de salinomicina (0 e 13 ppm) e dois níveis de virginiamicina (0 e 15 ppm) na matéria seca (MS) da dieta. As dietas experimentais continham 80% de concentrado na MS e foram fornecidas em um trato diário às 08h00 para determinação do consumo individual. A degradabilidade ruminal *in situ* foi determinada por meio da técnica de sacos de náilon e o comportamento ingestivo foi avaliado pelo monitoramento visual das atividades de mastigação dos animais. A digestibilidade aparente dos nutrientes foi obtida por meio da coleta total de fezes, enquanto a fermentação ruminal foi avaliada pela determinação das concentrações de ácidos graxos de cadeia curta, nitrogênio amoniacal, lactato e pH do rúmen. As contagens de protozoários ciliados ruminais foram realizadas com auxílio de microscópio óptico, enquanto as determinações sanguíneas foram realizadas com auxílio de analisador automático. As análises estatísticas foram realizadas pelo procedimento MIXED do SAS. Não houve efeito de salinomicina ou virginiamicina sobre as variáveis de consumo. Animais tratados com salinomicina apresentaram menores ($P \leq 0,05$) degradabilidade efetiva (DE) e degradabilidade potencial (DP) da MS e da fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) da silagem de cana-de-açúcar em relação aos animais não tratados, da mesma forma que a DE e a DP da MS e da FDN desse alimento foram menores ($P \leq 0,02$) para o tratamento com virginiamicina em relação ao controle. Houve interação ($P = 0,03$) entre nível de salinomicina e virginiamicina sobre a DP da MS do milho, mas não houve efeito de virginiamicina sobre essa variável dentro de nenhum dos níveis do ionóforo. A digestibilidade da proteína bruta foi maior ($P = 0,01$) para os novilhos tratados com salinomicina, enquanto a digestibilidade do amido foi menor ($P < 0,01$) para os animais suplementados com virginiamicina dentro do grupo de animais que também receberam o ionóforo. Novilhos tratados com virginiamicina apresentaram maior ($P = 0,01$) concentração ruminal de propionato e menores ($P \leq 0,05$) concentrações de acetato, butirato e lactato, enquanto a concentração ruminal de nitrogênio amoniacal foi maior ($P = 0,01$) para novilhos tratados com virginiamicina dentro do grupo que também recebeu salinomicina. Animais tratados com virginiamicina apresentaram maior ($P \leq 0,03$) tempo total de ruminação e mastigação e maior ($P = 0,05$) concentração de lactato no sangue. A inclusão de virginiamicina na dieta de novilhos Nelore apresentou respostas positivas sobre a fermentação ruminal e o comportamento ingestivo. Entretanto, os efeitos associativos benéficos da combinação dos aditivos não puderam ser confirmados.

Palavras chave: Antibiótico; Confinamento; Gado de corte; Ionóforo; Nutrição.

Abstract

The current study was conducted to evaluate the effects of the supplementation with salinomycin, virginiamycin, and their combination on ruminal metabolism, digestibility, feeding behavior, and blood characteristics of Nellore steers fed a high concentrate diet. Eight Nellore steers with 322 ± 26 kg of initial body weight were allotted to a replicated 4 x 4 Latin square, with four treatments and four periods (16-day periods). Treatments were arranged in a 2 x 2 factorial design, with two salinomycin levels (0 and 13 ppm) and two virginiamycin levels (0 and 15 ppm) in the diet dry matter (DM). The experimental diets contained 80% concentrate in the DM and were fed once daily at 08h00 to determine individual intake. In situ ruminal degradability was determined using the nylon bag technique and feeding behavior was determined by visually monitoring chewing activity of the animals. Apparent nutrient digestibility was obtained by total fecal collection, whereas ruminal fermentation was evaluated by determining rumen concentrations of short chain fatty acids, ammonia nitrogen, lactate, and rumen pH. Ciliated protozoa counts were performed using an optical microscope and blood characteristics were determined using an automatic analyzer. Statistical analyses were conducted using the MIXED procedure of SAS. There were no effects of salinomycin or virginiamycin on intake variables. Salinomycin-treated animals showed lower ($P \leq 0.05$) values of effective degradability (ED) and potential degradability (PD) of the sugarcane DM and neutral detergent fiber (NDF) when compared with untreated animals. Similarly, ED and PD of the sugarcane DM and NDF were lower ($P \leq 0.02$) for the virginiamycin treatment when compared with the control group. There was an interaction ($P = 0.03$) between salinomycin and virginiamycin levels on PD of the corn DM, but there were no effects of virginiamycin on this variable within each salinomycin level. Crude protein digestibility was higher ($P = 0.01$) for salinomycin-treated steers, whereas starch digestibility was lower ($P < 0.01$) for animals receiving virginiamycin within the salinomycin-treated group. Virginiamycin-treated steers showed higher ($P = 0.01$) rumen concentration of propionate and lower ($P \leq 0.05$) rumen concentrations of acetate, butyrate, and lactate, whereas ruminal ammonia nitrogen was higher ($P = 0.01$) for steers fed virginiamycin within the salinomycin-treated group. Animals receiving virginiamycin showed higher ($P \leq 0.03$) total time spent ruminating and total time spent chewing. These animals also showed higher ($P = 0.05$) blood lactate concentrations. The inclusion of virginiamycin in the diet of Nellore steers showed positive responses on ruminal fermentation and feeding behavior. However, the beneficial associative effects of using salinomycin and virginiamycin in combination could not be confirmed.

Keywords: Antibiotic; Beef cattle; Feedlot; Ionophore; Nutrition.

2.1 Introdução

O número de bovinos terminados em confinamento no Brasil vem crescendo substancialmente nos últimos anos, e com isso, o aumento na proporção de concentrado das dietas se torna uma realidade. Em diversos confinamentos comerciais no país, a utilização de rações com menos de 25% de volumoso já é

prática comum (MILLEN et al., 2011). No entanto, a maioria dos animais confinados no Brasil é composta por bovinos da raça Nelore ou anelorados (MILLEN et al., 2009), que ao serem alimentados com dietas com teores de concentrado superiores a 75% da matéria seca (MS) podem apresentar desempenhos inferiores aos estimados (ALMEIDA et al., 2010). Essa redução no desempenho pode ser explicada, em partes, pela ocorrência de desordens metabólicas, como a acidose ruminal, uma vez que raças zebuínas apresentam maior tendência ao desenvolvimento desses distúrbios em relação às raças taurinas (BRAWNER et al., 1969; ELAM, 1976).

A suplementação com antibióticos ionóforos e não ionóforos é uma excelente ferramenta de manejo nutricional para viabilizar a utilização de dietas de alto concentrado para zebuínos. Esses aditivos atuam principalmente sobre as bactérias gram-positivas, responsáveis pela produção de acetato, butirato, lactato e H_2 (precursor do metano), selecionando as gram-negativas, produtoras de propionato e succinato ou utilizadoras de ácido lático (BERGEN; BATES, 1984; NAGARAJA; TAYLOR, 1987). Em virtude dessas alterações na população microbiana ruminal, animais suplementados com antibióticos ionóforos e não ionóforos podem apresentar melhora na eficiência de utilização da energia dos alimentos e redução na ocorrência de desordens metabólicas.

A salinomicina é um antibiótico ionóforo inicialmente utilizado como coccidiostático em dietas de ruminantes e monogástricos (McALLISTER et al., 1996). Quando utilizada como aditivo alimentar em dietas de bovinos de corte, a salinomicina promove melhora na fermentação ruminal (MERCHEN; BERGER, 1985; REFFETT-STABEL et al., 1989), com consequente melhora no desempenho animal (McCLURE et al., 1980; MERCHEN; BERGER, 1985). A virginiamicina é um antibiótico não ionóforo da classe das estreptograminas que também promove melhora na fermentação ruminal (NAGARAJA; TAYLOR, 1987; COE et al., 1999) e no desempenho (ROGERS et al., 1995; SALINAS-CHAVIRA et al., 2009) de bovinos de corte. Em ruminantes, a virginiamicina tem apresentado maior inibição na produção de ácido lático em relação aos ionóforos (LANNA; MEDEIROS, 2007).

A suplementação de dietas de bovinos de corte com antibióticos ionóforos e não ionóforos separadamente já foi extensivamente estudada, e os resultados são consistentes em demonstrar melhora no desempenho animal e na fermentação ruminal. No entanto, estudos recentes têm indicado um possível efeito aditivo sobre

o desempenho animal quando virginiamicina e ionóforo são utilizados em combinação (SILVA et al., 2004; NUÑEZ, 2008), o que torna necessária a condução de mais pesquisas nessa área. Dessa forma, o presente trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar os efeitos da suplementação com salinomicina, virginiamicina e sua combinação sobre o metabolismo ruminal, a digestibilidade de nutrientes, o comportamento ingestivo e as características sanguíneas de novilhos Nelore alimentados com dieta de alto concentrado.

2.2 Material e métodos

Todos os procedimentos experimentais foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA/USP).

2.2.1 Animais, instalações e delineamento experimental

Oito novilhos da raça Nelore, portadores de cânulas ruminais, com aproximadamente 322 ± 26 kg de peso vivo ao início do experimento, foram alocados no delineamento em quadrado latino 4 x 4 replicado, com quatro tratamentos em quatro períodos. Os tratamentos foram arranjados em esquema fatorial 2 x 2, com dois níveis de salinomicina (0 e 13 ppm) e dois níveis de virginiamicina (0 e 15 ppm) na MS da dieta. Os tratamentos foram distribuídos aleatoriamente entre os animais em cada período, de modo que nenhum novilho recebesse a mesma dieta mais de uma vez.

O experimento foi conduzido no Estábulo Experimental do Departamento de Zootecnia da FZEA/USP, que possui baias individuais, com comedouros de cimento e bebedouros automáticos comuns a cada duas baias. Os animais foram confinados por quatro períodos de 16 dias, com oito dias de adaptação seguidos por oito dias de coletas, entre os meses de outubro e dezembro de 2010.

2.2.2 Dieta basal e tratamentos

A dieta basal, com 80% de concentrado na MS, foi formulada com o auxílio do software de formulação de rações “Ração de Lucro Máximo 3.2” (RLM 3.2; LANNA et al., 2010) utilizando-se os seguintes ingredientes: silagem de cana-de-açúcar, milho moído, farelo de soja, farelo de trigo, calcário, ureia, núcleo mineral e cloreto

de potássio (Tabela 2.1). A composição química dos ingredientes é apresentada na Tabela 2.2.

Tabela 2.1 - Composição da dieta basal com base na matéria seca

Ingredientes (%)	Dieta basal
Silagem de cana-de-açúcar	20,00
Milho moído	60,10
Farelo de soja	7,80
Farelo de trigo	8,00
Calcário	1,70
Ureia	1,00
Núcleo mineral[1]	0,80
Cloreto de potássio	0,60
Composição química[2]	
NDT, *% MS*	75,98
ED, *Mcal/kg MS*	3,35
EM, *Mcal/kg MS*	2,75
EL_m, *Mcal/kg MS*	1,82
EL_g, *Mcal/kg MS*	1,19
Amido, *% MS*	39,63
PB, *% MS*	15,73
PDR, *% PB*	51,90
EE, *% MS*	3,05
FDN, *% MS*	24,92
$FDN_{forragem}$, *% MS*	13,95

[1]Composição: 16% Ca; 9% P; 1,4% Mg; 1,5% S; 11,4% Na; 17% Cl; 4800 mg/kg Zn; 1500 mg/kg Cu; 1200 mg/kg Mn; 150 mg/kg Co; 90 mg/kg I; 36 mg/kg Se; 900 mg/kg F.
[2]NDT: nutrientes digestíveis totais; ED: energia digestível; EM: energia metabolizável; EL_m: energia líquida para mantença; EL_g: energia líquida para ganho; PB: proteína bruta; PDR: proteína degradável no rúmen; EE: extrato etéreo; FDN: fibra insolúvel em detergente neutro; $FDN_{forragem}$: fibra insolúvel em detergente neutro proveniente da forragem.

Os quatro tratamentos foram estabelecidos em função dos níveis de salinomicina e virginiamicina incluídos na dieta basal: 1) 0 ppm de salinomicina e 0 ppm de virginiamicina; 2) 13 ppm de salinomicina e 0 ppm de virginiamicina; 3) 0 ppm de salinomicina e 15 ppm de virginiamicina; 4) 13 ppm de salinomicina e 15 ppm de virginiamicina.

Tabela 2.2 - Composição química dos ingredientes

Nutrientes[1]	Silagem de cana-de-açúcar	Milho moído	Farelo de soja	Farelo de trigo
MS, *%*	23,18	88,17	90,08	91,03
NDT, *% MS*	54,67	88,38	81,53	69,66
ED, *Mcal/kg MS*	2,41	3,90	3,59	3,07
EM, *Mcal/kg MS*	1,98	3,20	2,94	2,52
EL_m, *Mcal/kg MS*	1,13	2,19	1,98	1,62
EL_g, *Mcal/kg MS*	0,57	1,51	1,33	1,02
Amido, *% MS*	0,00	61,54	2,80	30,30
PB, *% MS*	3,53	11,09	53,50	17,41
PDR, *% PB*	52,00	49,00	62,18	75,30
EE, *% MS*	1,15	3,97	1,83	3,61
FDN, *% MS*	69,77	10,58	14,66	43,34
FDA, *% MS*	46,02	3,46	9,39	13,39
Lignina, *% MS*	7,55	0,73	1,08	4,50
NFDN, *% PB*	17,70	5,18	8,85	19,14
NFDA, *% PB*	18,43	7,74	7,89	4,46
MM, *%*	3,81	1,81	7,15	5,54

[1]MS: matéria seca; NDT: nutrientes digestíveis totais; ED: energia digestível; EM: energia metabolizável; EL_m: energia líquida para mantença; EL_g: energia líquida para ganho; PB: proteína bruta; PDR: proteína degradável no rúmen; EE: extrato etéreo; FDN: fibra insolúvel em detergente neutro; FDA: fibra insolúvel em detergente ácido; NFDN: nitrogênio ligado ao FDN; NFDA; nitrogênio ligado ao FDA; MM: matéria mineral.

2.2.3 Consumo individual

Tanto nos períodos de coleta como nos períodos de adaptação, foi realizado um trato diário às 08h00, no qual o concentrado era misturado à silagem nos cochos individuais, e em seguida a dieta completa era disponibilizada aos animais. Os aditivos foram adicionados à dieta completa por meio de mistura com fubá de milho (10 g mistura/kg MS). O consumo diário de MS foi obtido pela diferença entre a quantidade oferecida e as sobras, que foram quantificadas no dia seguinte. Procurou-se manter a quantidade de sobras na proporção de 5 a 10% do total oferecido, garantindo oferta *ad libitum* aos animais.

Amostras de silagem foram coletadas a cada dois dias para determinação da MS, com o objetivo de ajustar o consumo para uma proporção fixa de volumoso:concentrado. Amostras da dieta oferecida e das sobras foram coletadas três vezes por semana, e ao final de cada período constituíram amostras compostas por animal para determinações bromatológicas, que foram baseadas nas frações exigidas para estimar os nutrientes digestíveis totais (NDT) pela equação proposta

por Weiss; Conrad e St Pierre (1992). Assim, foram determinados os teores de MS, matéria mineral (MM), extrato etéreo (EE) e proteína bruta (PB) de acordo com a Association of Official Analytical Chemists - AOAC (1990); fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), fibra insolúvel em detergente ácido (FDA) e lignina de acordo com metodologia sugerida por Van Soest; Robertson e Lewis (1991), utilizando amilase nas determinações de FDN; nitrogênio ligado ao FDN (NFDN) e nitrogênio ligado ao FDA (NFDA) segundo Licitra; Hernandez e Van Soest (1996). Amostras da dieta oferecida e das sobras também foram analisadas para determinação dos teores de amido de acordo com Knudsen (1997).

O NDT foi estimado por meio da equação proposta por Weiss; Conrad e St Pierre (1992), apresentada na eq. 2.1. Os valores de NDT foram convertidos em energia digestível (ED) (eq. 2.2), energia metabolizável (EM) (eq. 2.3) e energia líquida para mantença (EL_m) (eq. 2.4) e ganho (EL_g) (eq. 2.5) de acordo com o National Research Council (1996). O consumo de cada nutriente foi obtido pela diferença entre o teor do nutriente no oferecido e nas sobras.

$$\begin{aligned} NDT = {} & 0{,}98(1000 - FDN_N - PB - MM - NFDA_i - EE) + \\ & k_{dPB}PB + 2{,}25(EE - 10) + \\ & 0{,}75(FDN_N - LIG)\left[1 - (\frac{LIG}{FDN_N})^{0{,}667}\right] - 70 \end{aligned} \quad (2.1)$$

Em que:

FDN_N = nitrogênio ajustado à fibra insolúvel em detergente neutro, %; FDN_N = FDN - NFDN + $NFDA_i$;

$NFDA_i$ = nitrogênio indisponível complexado à FDA, %; NFDAi = 0,7NFDA;

k_{dPB} = digestibilidade verdadeira da PB; k_{dPB} = exp(-0,0012NFDA), para forragens; k_{dPB} = 1- 0,0004NFDA, para concentrados.

$$1\ kg\ NDT = 4{,}409 Mcal\ ED \quad (2.2)$$

$$EM, Mcal/kg = 0{,}82 ED\ (Mcal/kg) \quad (2.3)$$

$$EL_m, Mcal/kg = 1{,}37EM - 0{,}138EM^2 + 0{,}0105EM^3 - 1{,}12 \quad (2.4)$$

$$EL_g, Mcal/kg = 1{,}42EM - 0{,}174EM^2 + 0{,}0122EM^3 - 1{,}65 \quad (2.5)$$

2.2.4. Degradabilidade ruminal in situ

A determinação da degradabilidade ruminal *in situ* foi realizada de acordo com Mehres e Ørskov (1977), com o auxílio de sacos de náilon de 10 x 20 cm e poros de 50 µm (Ankom, R1020-10 x 20 cm, *forage bags*, 14502, NY, Estados Unidos). Os sacos de náilon foram identificados, pesados individualmente e, então, receberam amostras de aproximadamente 7 g de silagem de cana-de-açúcar ou 5 g de farelo de soja ou milho, previamente secas a 55°C por 72 h e moídas em moinho com peneira de 5 mm (silagem de cana-de-açúcar) ou 2 mm (farelo de soja e milho).

Os sacos de náilon foram inseridos no rúmen às 08h00 do primeiro dia de coleta e incubados durante 3, 6, 12, 24, 48 e 72 h para as amostras de farelo de soja e milho, e durante 12, 24, 48, 72, 96 e 120 h para as amostras de silagem de cana-de-açúcar. Após a retirada, os sacos foram lavados e secos em estufa a 55°C por 72 h. Para a obtenção do tempo zero, os sacos foram mergulhados em água aquecida a 39°C por 5 min e secos da mesma forma que aqueles incubados no rúmen.

Após a secagem, todos os sacos foram pesados, e a degradabilidade foi determinada em função do peso das amostras antes e após a incubação (eq. 2.6). Foram determinadas as degradabilidades da MS nas amostras de silagem de cana-de-açúcar, farelo de soja e milho (AOAC, 1990), PB nas amostras de farelo de soja (AOAC, 1990) e FDN nas amostras de silagem de cana-de-açúcar (VAN SOEST; ROBERTSON; LEWIS, 1991). A FDN foi determinada com a utilização de amilase.

$$DgMS\ (\%) = 100\ \times \left(\frac{(1-(PSPI-PSV)}{(PSAI-PSV)}\right) \quad (2.6)$$

Em que:
DgMS (%) = degradabilidade da MS em porcentagem;
PSPI = peso do saco após incubação;
PSAI = peso do saco antes da incubação;
PSV = peso do saco vazio.

Os percentuais de degradabilidade da PB e FDN foram calculados por meio da mesma equação (eq. 2.6) utilizada para determinar a degradabilidade da MS,

sendo as diferenças (PSPI - PSV) e (PSAI - PSV) multiplicadas pelos respectivos teores de PB e FDN divididos por 100.

Os parâmetros de degradação foram estimados pelo modelo proposto por Ørskov e McDonald (1979) (eq. 2.7), e os valores de "a", "b" e "c" obtidos foram utilizados para calcular a degradabilidade potencial (DP) (eq. 2.8), que representa a quantidade de alimento solubilizado ou degradado no rúmen quando o tempo não é fator limitante, e a degradabilidade efetiva (DE) de acordo com Ørskov; Hovell e Mould (1980) (eq. 2.9), que representa a quantidade de alimento efetivamente degradado em função do tempo no qual o mesmo permanece no rúmen. Para o presente estudo, considerou-se a taxa de passagem de 5%/h de acordo com recomendação do Agricultural and Food Research Council (1993) para bovinos de corte em alto nível de alimentação, mas consumindo menos do que duas vezes a mantença.

$$Dg\ (\%)\ = a + (b \times (1 - e^{-ct})) \tag{2.7}$$

Em que:
Dg = quantidade degradada no tempo t;
a = fração rapidamente solúvel;
b = fração potencialmente degradável;
c = taxa horária de degradação da fração potencialmente degradável;
e = log natural de "-ct".

$$DP\ (\%)\ = a + b \tag{2.8}$$

Em que:
DP = degradabilidade potencial;

$$DE\ (\%) = a + (\frac{(b \times c)}{(c + k)}) \tag{2.9}$$

Em que:
DE = degradabilidade efetiva;
k = taxa de passagem da MS, %/h.

2.2.5 Digestibilidade aparente e características fecais

A digestibilidade aparente da MS, PB, amido e FDN foram determinadas por meio das concentrações desses nutrientes na ração consumida e nas fezes. Dessa forma, realizou-se a coleta total de fezes por três dias consecutivos (dias 6, 7 e 8 dos períodos de coleta), sendo as mesmas pesadas, homogeneizadas e amostradas em 5% do total excretado. As amostras foram congeladas (uma amostra por animal por período) para posteriores análises de MS e PB (AOAC, 1990), amido (KNUDSEN, 1997) e FDN (VAN SOEST; ROBERTSON; LEWIS, 1991) utilizando amilase. O cálculo da digestibilidade foi realizado por meio da equação a seguir (eq. 2.10).

$$Digest.aparente\ (\%) = \frac{(g\ nutriente\ consumido) - g\ nutriente\ nas\ fezes}{(g\ nutriente\ consumido)} \times 100 \qquad (2.10)$$

Nos dias de coleta total, às 08h00 e às 20h00, também foram realizadas medições do pH fecal. Imediatamente após a coleta, 4 g de fezes frescas foram misturadas a 4 mL de água deionizada e o pH foi determinado com auxílio de potenciômetro digital calibrado com soluções-tampão de pH 4,01 e 7,01.

2.2.6 Fermentação ruminal

Para as análises de fermentação ruminal, amostras de líquido foram coletadas do rúmen antes da alimentação (0 h) e 2, 4, 6 e 8 horas após o fornecimento das dietas, no quinto dia de coleta de cada período experimental. As determinações do pH ruminal foram realizadas em alíquotas de 100 mL das amostras, imediatamente após a coleta, com auxílio de potenciômetro digital calibrado com soluções-tampão de pH 4,01 e 7,01. As medições foram realizadas diretamente nas amostras de líquido ruminal.

Para as determinações das concentrações ruminais de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), alíquotas de 40 mL das amostras foram congeladas a -18°C, imediatamente após as coletas, para posterior análise. Os AGCC quantificados foram: acético, propiônico, isobutírico, butírico, isovalérico e valérico. No momento da análise, as amostras foram descongeladas e 1,0 mL de fluido ruminal, 0,250 mL de solução 3:1 de ácido metafosfórico 25% com ácido fórmico 98-100% e 0,125 mL de solução 100 mM de ácido 2-etil-butírico (padrão interno) foram pipetados em

microtubos de 1,5 mL e centrifugados (Eppendorf 5804R, Hamburgo, Alemanha) a 15000 x g por 30 min a 4°C. Após a centrifugação, cerca de 1,0 mL do sobrenadante foi transferido para *vials* cromatográficos, sendo 1 µL injetado em cromatógrafo gasoso (CG HP 7890A; Injetor HP 7683B, Agilent Technologies) equipado com coluna capilar HP-FFAP (19091F-112; 25 m; 0,320 mm; 0,50 µm; J & W Agilent Technologies). A injeção foi automática, sendo o H_2 o gás de arraste, mantido em um fluxo de 31,35 mL/min. A temperatura do injetor e do detector foi de 260°C. O tempo total da corrida cromatográfica foi de 16,5 min divididos em três rampas de aquecimento: 80°C (1 min), 120°C (20°C/min; 3 min) e 250°C (10°C/min; 2 min).

A curva de calibração externa foi determinada com padrões cromatográficos (Chem Service, West Chester, PA, EUA) de ácido acético (99,5%; CAS 64-19-97), propiônico (99%; CAS 79-09-4), isobutírico (99%; CAS 79-31-2), butírico (98,7%; CAS 107-92-6), isovalérico (99%; CAS 503-74-2) e valérico (99%; CAS 109-52-4). A solução-padrão de maior concentração continha 205,695 mM de ácido acético, 54,522 mM de ácido propiônico, 6,107 mM de ácido isobutírico, 46,266 mM de ácido butírico, 9,008 mM de ácido isovalérico e 8,910 mM de ácido valérico. As soluções-padrão subsequentes foram obtidas através de diluições da solução de maior concentração por 1/2, 1/4, 1/8 e 1/16. A preparação dos *vials* cromatográficos de soluções-padrão foi realizada da mesma forma que as amostras citadas anteriormente.

Para as análises de nitrogênio amoniacal, as amostras de líquido ruminal foram descongeladas e centrifugadas (Eppendorf 5804R, Hamburgo, Alemanha) a 1570 x g por 15 min a 24°C. Após a centrifugação, 5 mL do sobrenadante foram pipetados em tubos de digestão, e a destilação foi realizada com destilador micro-Kjeldahl, utilizando-se 10 mL de solução de tetraborato de sódio 5% no funil do aparelho e 10 mL de ácido bórico em balão de Erlenmeyer na saída do nitrogênio amoniacal. A titulação foi realizada utilizando-se ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0,05 N. O teor de nitrogênio amoniacal, em porcentagem, foi determinado por meio da eq. 2.11, e a conversão para mg/dL foi realizada ao multiplicar o valor obtido por 1000.

$$\%\ N\ amoniacal = \frac{(normalidade\ H_2SO_4 \times miliequivalente\ do\ N \times 100)}{(volume\ da\ amostra \times volume\ H_2SO_4)} \quad (2.11)$$

Em que:

Normalidade do H_2SO_4 = 0,05;

Miliequivalente do N = 0,014;

Volume da amostra = 5 mL;

Volume H_2SO_4 = volume de ácido sulfúrico, em mL, gasto na titulação.

As concentrações ruminais de ácido lático foram determinadas por meio de técnica colorimétrica. O reagente precipitante foi preparado por meio da adição de 23,29 mL de ácido fosfórico 85% P.A. em balão volumétrico de 1000 mL, e o volume completado com água deionizada. Para o preparo do reagente de cor, 1,5 g de hidroxi-bifenil foram adicionados em balão volumétrico de 100 mL, e o volume completado com dimetilformamida. As amostras de fluido do rúmen foram descongeladas e centrifugadas (Eppendorf 5804R, Hamburgo, Alemanha) a 15000 x g por 15 min a 4°C, e o sobrenadante foi transferido para microtubos de 1,5 mL. Em seguida, 100 µL de amostra foram transferidos dos microtubos para tubos de ensaio de 5 mL contendo 3,90 mL de reagente precipitante, com posterior homogeneização em agitador mecânico. De forma semelhante, o padrão foi preparado por meio da adição de 100 µL de solução de ácido lático 0,08% em tubo de ensaio de 5 mL contendo 3,90 mL de reagente precipitante, seguida de homogeneização em agitador mecânico.

As etapas seguintes foram conduzidas da mesma forma tanto para as amostras como para o padrão. Para a realização da reação de conversão de ácido lático a acetaldeído, 1 mL do sobrenadante foi transferido dos tubos de ensaio de 5 mL para tubos de ensaio de 10 mL, com posterior adição de 6 mL de H_2SO_4 concentrado (98% P.A.) e homogeneização em agitador mecânico. Os tubos foram colocados em banho-maria a 80°C por 3 min e esfriados em água corrente por 2 min. Em seguida, 100 µL de reagente de cor foram adicionados aos tubos, com posterior homogeneização e descanso por 10 min. Os tubos foram novamente colocados em banho-maria a 100°C por 3 min e esfriados em água corrente por 2 min. Finalmente, foi realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro (Nova-2000UV) a 565 nm, sendo a coloração obtida estável por no máximo 1 h. A

concentração de ácido lático, em porcentagem, foi obtida pela eq. 2.12, e a conversão para mM foi obtida pela multiplicação do valor obtido por 10000, com posterior divisão pelo peso molecular do ácido lático (90,08 g/mol).

$$\text{Ácido lático } (\%) = \frac{\text{Absorbância da amostra}}{\text{Absorbânia do padrão}} \times 0{,}08 \qquad (2.12)$$

2.2.7 Comportamento ingestivo

O comportamento ingestivo foi avaliado por meio do monitoramento visual da alimentação e da ruminação dos animais durante 24 h (MAEKAWA et al., 2002), com início às 08h00 do terceiro dia de coleta e término às 08h00 do quarto dia de coleta, em cada um dos períodos experimentais. As atividades de alimentação e ruminação foram anotadas a cada 5 min, assumindo-se que cada atividade persistiu pelo próximo intervalo de 5 min. Um evento de alimentação foi definido como no mínimo 5 min de atividade de alimentação seguido por, no mínimo, 5 min de outra atividade. A soma de todos os eventos de alimentação representa o número diário de eventos de alimentação (NEA; eventos/dia). O número diário de eventos de ruminação (NER; eventos/dia) foi definido da mesma forma.

O tempo total de alimentação (TTA; min/dia) foi definido como a soma dos tempos de cada um dos eventos com no mínimo 5 min de duração nos quais o animal passou se alimentando. O tempo médio de alimentação por evento (TAE; min/evento) foi obtido pelo TTA dividido pelo NEA. O tempo total de ruminação (TTR; min/dia), da mesma forma, foi definido como a soma dos tempos de cada um dos eventos de ruminação, enquanto o tempo médio de ruminação por evento (TRE; min/evento) foi obtido pela razão entre o TTR e o NER. O tempo total de mastigação (TTM; min/dia) foi calculado pela soma do TTA e do TTR. O número diário de eventos de mastigação (NEM; eventos/dia) foi obtido pela soma do NEA e do NER, enquanto o tempo médio de mastigação por evento (TME; min/evento) foi calculado pela razão entre o TTM e o NEM. O tempo total em ócio (TTO; min/dia) foi obtido pelo TTM subtraído do período total de 24 h (1440 min).

A taxa de ingestão (TI_{MS} e TI_{FDN} da MS e FDN, respectivamente; g/min) foi calculada pelo consumo de MS ou FDN no dia da avaliação dividido pelo TTA. A taxa de ingestão por evento (TIE_{MS} e TIE_{FDN} da MS e FDN, respectivamente; g/evento) foi determinada como sendo a razão entre o consumo de MS ou FDN no

dia da avaliação e o NEA. Também foram determinadas as taxas de ruminação (TR_{MS} e TR_{FDN} da MS e FDN, respectivamente; min/kg) e mastigação (TM_{MS} e TM_{FDN} da MS e FDN, respectivamente; min/kg) da MS e FDN, em que o TTR ou o TTM foram divididos pelas quantidades ingeridas desses nutrientes no dia da avaliação.

2.2.8 Protozoários ciliados

Foram realizadas coletas de líquido ruminal, antes da alimentação e 4 h após, no quinto dia do período de coletas, para identificação e contagem dos seguintes gêneros de protozoários ciliados: *Entodinium*, *Diplodinium*, *Isotricha*, *Dasytricha*, *Eudiplodinium, Epidinium* e *Ostracodinium.* Para tanto, alíquotas de 10 mL de líquido ruminal foram transferidas para frascos de vidro contendo 20 mL de solução de formaldeído 37%, e permaneceram em repouso até o momento das análises. O preparo das amostras foi realizado de acordo com metodologia proposta por Dehority (2003), e a contagem foi realizada por meio de microscópio óptico comum provido de retículo com área de 0,4362 mm^2.

2.2.9 Características sanguíneas

No sexto dia de coleta, 2 h após a alimentação, amostras de sangue foram coletadas da veia jugular dos animais. O sangue foi colhido em seringa plástica sem a adição de anticoagulante, e utilizado imediatamente em analisador automático portátil i-STAT, equipado com cartucho CG4+ (i-STAT system; Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, Estados Unidos). Foram realizadas determinações de pH, concentração de lactato e concentração de bicarbonato (HCO_3^-) do sangue.

2.2.10 Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa estatístico computacional SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM, 2002), e os resultados foram analisados como quadrado latino 4 x 4 replicado, em esquema fatorial 2 x 2 de tratamentos, sendo cada animal em cada período e em cada quadrado considerado a unidade experimental. A normalidade dos resíduos foi verificada pelo Teste de Shapiro-Wilk (procedimento UNIVARIATE), e os dados que não apresentaram distribuição normal foram submetidos à transformação logarítmica de base 10, inversa ou pela raiz quadrada. Os resultados foram analisados pelo procedimento MIXED e as médias dos tratamentos foram ajustadas pelo método dos quadrados

mínimos (LSMEANS). Quando observada diferença significativa pelo teste F ($P \leq 0,05$), as médias foram separadas pelo teste t de Student (PDIFF). Tendências foram discutidas quando $0,05 < P < 0,10$.

Para medidas não repetidas no tempo, o modelo incluiu os efeitos aleatórios de animal dentro de quadrado, período e quadrado, e os efeitos fixos de nível de salinomicina, nível de virginiamicina e da interação nível de salinomicina x nível de virginiamicina. Para medidas repetidas no tempo, o modelo incluiu os efeitos aleatórios de animal dentro de quadrado, período e quadrado, e os efeitos fixos de nível de salinomicina, nível de virginiamicina, tempo de coleta e das interações nível de salinomicina x nível de virginiamicina, nível de salinomicina x tempo de coleta, nível de virginiamicina x tempo de coleta e nível de salinomicina x nível de virginiamicina x tempo de coleta.

2.3 Resultados e discussão

2.3.1 Consumo de nutrientes

Não houve efeito de nível de salinomicina ou virginiamicina sobre o consumo de matéria seca (CMS), e uma vez que apenas uma dieta basal foi utilizada nesse experimento, os consumos de NDT, ED, EM, PB, FDN e amido também não diferiram entre os tratamentos (Tabela 2.3). A suplementação com antibióticos ionóforos e não ionóforos em dietas de alto concentrado geralmente reduz a ingestão, uma vez que esses aditivos promovem alterações na fermentação ruminal, com consequente aumento na disponibilidade de energia dos alimentos para os animais (BERGEN; BATES, 1984). Essa maior disponibilidade energética faz com que uma menor ingestão forneça a mesma quantidade de energia, e assim, as exigências dos animais passam a ser atendidas com menos alimentos, o que caracteriza o mecanismo quimiostático de regulação de consumo (LANNA; MEDEIROS, 2007). No entanto, a ausência de diferença no CMS entre os níveis de salinomicina e virginiamicina observada no presente estudo sugere que não houve limitação na ingestão de alimentos em virtude do suprimento da demanda energética dos animais.

Resultados semelhantes foram encontrados por Salinas-Chavira et al. (2009), que não detectaram diferenças no CMS de novilhos Holandeses confinados com dietas de alto concentrado (cerca de 90%) e suplementados com três níveis de

virginiamicina (0, 16 ou 22,5 ppm). No entanto, apesar de não ter havido efeito sobre o CMS, a eficiência alimentar aumentou linearmente com a inclusão de virginiamicina. Da mesma forma, Rogers et al. (1995) observaram melhora na conversão alimentar de bovinos tratados com virginiamicina, mas sem afetar o CMS. Nesses experimentos, o aumento na eficiência alimentar sem alteração no CMS também sugere que a maior disponibilidade de energia da dieta, promovida pela inclusão do antibiótico, não foi suficiente para reduzir a ingestão de alimentos em razão do suprimento das demandas energéticas dos animais.

Tabela 2.3 - Efeitos dos níveis de salinomicina e virginiamicina sobre as variáveis de consumo de nutrientes

Item[1]	Tratamento[2]				EPM[3]	Valor de P[4]		
	Nível SL (ppm)		Nível VM (ppm)			SL	VM	SL x VM
	0	13	0	15				
CMS, *kg/dia*	6,82	6,76	6,80	6,77	0,16	0,70	0,83	0,70
CNDT, *kg/dia*	5,19	5,14	5,17	5,15	0,12	0,68	0,88	0,71
CED, *Mcal/dia*	22,87	22,66	22,81	22,72	0,54	0,69	0,86	0,71
CEM, *Mcal/dia*	18,75	18,58	18,70	18,63	0,44	0,69	0,87	0,71
CPB, *kg/dia*	1,09	1,08	1,09	1,08	0,02	0,71	0,87	0,71
CFDN, *kg/dia*	1,70	1,68	1,70	1,68	0,04	0,45	0,45	0,52
CAmido, *kg/dia*	2,61	2,59	2,60	2,60	0,07	0,79	0,99	0,77

[1]CMS = consumo de matéria seca; CNDT = consumo de nutrientes digestíveis totais, CEM = consumo de energia metabolizável; CPB = consumo de proteína bruta; CFDN = consumo de fibra insolúvel em detergente neutro; CAmido = consumo de amido. [2]Nível SL = nível de salinomicina na MS; Nível VM = nível de virginiamicina na MS. [3]Erro padrão da média. [4]SL = efeito do nível de salinomicina; VM = efeito do nível de virginiamicina; SL x VM = efeito da interação nível de salinomicina x nível de virginiamicina.

Zinn (1986) também não observou diferença no CMS de bovinos suplementados com cinco níveis de salinomicina (0 a 22 ppm) em dietas contendo 90% de concentrado. Resultados semelhantes foram obtidos por Gibb et al. (2001), que também não relataram diferenças no CMS para animais suplementados com 13 ppm de salinomicina em relação ao controle.

Por outro lado, Silva et al. (2004) observaram que novilhos Nelore suplementados com a combinação de salinomicina e virginiamicina em dieta

contendo 77% de concentrado na MS apresentaram maior CMS em relação aos animais que receberam os aditivos isolados, enquanto novilhos não suplementados apresentaram consumos intermediários. Merchen e Berger (1985), ao trabalharem com cinco níveis de suplementação de salinomicina (0 a 33 ppm) para bovinos em terminação alimentados com ração contendo 85% de concentrado, verificaram redução quadrática no CMS com o aumento na inclusão do ionóforo na dieta.

2.3.2 Degradabilidade ruminal in situ

Não houve efeito de nível de salinomicina sobre a fração rapidamente solúvel ("fração a") e a taxa horária de degradação da fração potencialmente degradável ("taxa c") da MS ou da FDN da silagem de cana-de-açúcar (Tabela 2.4). Contudo, houve redução na fração potencialmente degradável ("fração b") da MS ($P = 0,03$) e da FDN ($P = 0,02$) desse volumoso para animais suplementados com o ionóforo, o que explica as reduções observadas na DE ($P = 0,05$ e 0,04 para MS e FDN, respectivamente) e DP ($P < 0,01$) de ambos os nutrientes com a inclusão de salinomicina na dieta.

De forma semelhante, não houve diferença na "fração a" e na "taxa c" da MS e da FDN da silagem entre os níveis de virginiamicina estudados, mas a inclusão do antibiótico reduziu a "fração b" de ambos os nutrientes ($P = 0,01$ e 0,03 para a MS e a FDN, respectivamente) (Tabela 2.4). Com isso, os valores de DE e DP da MS e da FDN da silagem de cana-de-açúcar foram reduzidos ($P \leq 0,02$) com a adição de virginiamicina nas dietas.

Em geral, o fornecimento de dietas de alto concentrado para bovinos promove redução no pH do rúmen, com consequente diminuição na atividade celulolítica das bactérias desse compartimento, o que causa redução na degradabilidade ruminal da fração fibrosa dos alimentos (GRANT; MERTENS, 1992; KRAJCARSKI-HUNT et al., 2002). Assim, com a inclusão de aditivos antimicrobianos capazes de estabilizar a fermentação e controlar a redução do pH, espera-se que o ambiente ruminal se torne mais favorável à proliferação de bactérias celulolíticas, com resultante aumento na degradabilidade da fibra (OSBORNE et al., 2004). No entanto, em situações nas quais a redução no pH do rúmen não é determinante, as alterações na população microbiana ruminal promovidas por esses aditivos, principalmente em animais que não foram previamente adaptados aos mesmos, podem prejudicar a atividade das bactérias celulolíticas, com consequente redução na degradabilidade

ruminal da fibra (SIMPSON, 1978; POOS; HANSON; KLOPFENSTEIN, 1979), o que pode ter ocorrido no presente estudo.

Tabela 2.4 - Efeitos dos níveis de salinomicina e virginiamicina sobre degradabilidade da matéria seca e da fibra insolúvel em detergente neutro da silagem de cana-de-açúcar

Item[1]	Tratamento[2]				EPM[3]	Valor de P[4]		
	Nível SL (ppm)		Nível VM (ppm)			SL	VM	SL x VM
	0	13	0	15				
	Degradabilidade da MS							
Fração a, *%*	21,78	21,49	21,35	21,92	1,14	0,49	0,19	0,20
Fração b, *%*	22,68	20,76	23,04	20,40	0,63	0,03	0,01	0,60
Taxa c, *%/h*	3,56	4,26	4,17	3,65	0,26	0,10	0,21	0,78
DE, *%*	31,44	30,56	31,85	30,15	0,89	0,05	<0,01	0,57
DP, *%*	44,46	42,25	44,39	42,32	1,21	<0,01	<0,01	0,10
	Degradabilidade da FDN							
Fração a, *%*	6,21	5,93	6,04	6,11	1,10	0,34	0,68	0,42
Fração b, *%*	29,17	26,39	29,05	26,51	0,81	0,02	0,03	0,44
Taxa c, *%/h*	2,77	3,31	3,30	2,78	0,20	0,14	0,14	0,97
DE, *%*	12,76	11,69	13,34	11,11	1,18	0,04	<0,01	0,39
DP, *%*	31,33	28,17	30,86	28,64	1,38	<0,01	0,02	0,13

[1]Fração a = fração rapidamente solúvel; Fração b = fração potencialmente degradável; Taxa c = taxa horária de degradação da fração potencialmente degradável; DE = degradabilidade efetiva (considerando uma taxa de passagem de 5%/h); DP = degradabilidade potencial. [2]Nível SL = nível de salinomicina na MS; Nível VM = nível de virginiamicina na MS. [c]Erro padrão da média. [d]SL = efeito do nível de salinomicina; VM = efeito do nível de virginiamicina; SL x VM = efeito da interação nível de salinomicina x nível de virginiamicina.

Resultados similares foram obtidos por Poos; Hanson e Klopfenstein (1979), que relataram redução na degradabilidade ruminal da MS e da fibra com a inclusão de níveis crescentes de monensina (0, 22 e 38 ppm) na dieta de ovinos. Van Nevel e Demeyer (1992), em ensaio *in vitro*, observaram que a virginiamicina e a salinomicina são potentes inibidores da degradação ruminal da fração fibrosa dos alimentos. Da mesma forma, Haïmoud et al. (1995) observaram redução na degradabilidade ruminal da fibra em vacas holandesas suplementadas com 33 ppm de monensina em relação ao grupo sem aditivos. Vagnoni et al. (1995) também

observaram redução na degradação ruminal da MS e da FDN de feno de capim *Coast Cross* com a inclusão de monensina na dieta de novilhos holandeses, o que está de acordo com o resultados apresentados neste estudo.

Por outro lado, Dinius et al. (1976) não observaram efeito da inclusão de monensina sobre a degradabilidade ruminal da celulose em novilhos previamente adaptados ao ionóforo. Hristov et al. (2000) também não observaram efeito da inclusão de salinomicina sobre a degradação ruminal da MS de silagem de alfafa em novilhos Jersey alimentados com dieta contendo cerca de 70% de grãos de cevada. Similarmente, Salinas-Chavira et al. (2009) não observaram efeitos da inclusão de virginiamicina sobre a degradabilidade ruminal da FDN de novilhos holandeses, o que difere dos resultados obtidos no presente estudo.

Não foram observados efeitos de nível de salinomicina ou virginiamicina sobre as variáveis de degradabilidade ruminal da MS do farelo de soja avaliadas, assim como não houve efeito de nível de virginiamicina sobre as variáveis de degradabilidade ruminal da PB daquele alimento (Tabela 2.5). Por outro lado, a suplementação com salinomicina promoveu aumento na "fração a" (P = 0,04) e redução na "fração b" (P = 0,03) da PB do farelo de soja, mas sem alterar a "taxa c", a DE e a DP.

De acordo com Bergen e Bates (1984), a inclusão de ionóforos em dietas de bovinos pode reduzir a degradação ruminal da proteína, com consequente aumento na quantidade de proteína de escape. Isso pode ocorrer tanto em virtude da redução na população de bactérias proteolíticas como por algum efeito direto dos aditivos sobre as atividades de proteólise e desaminação (VAN NEVEL; DEMEYER, 1977). No entanto, no presente estudo, esses efeitos não puderam ser confirmados, uma vez que a redução na "fração b" promovida pela inclusão de salinomicina foi compensada pelo aumento na "fração a", o que resultou em valores de DP semelhantes entre os níveis do ionóforo. Além disso, é importante ressaltar que valores de DP acima de 100%, como os observados neste experimento, são comumente observados para alguns alimentos quando procedimentos estatísticos baseados em modelos não lineares são utilizados para determinar as curvas de degradação (MOGENTALE et al., 2010).

Resultados semelhantes foram encontrados por Rodrigues; Lucci e Melotti (2000), que verificaram aumento na "fração a" e redução na "fração b" da PB do farelo de soja em vacas mestiças suplementadas com lasalocida e alimentadas com

rações contendo dois níveis de concentrado. No entanto, esses autores observaram tendência de redução na DP da PB com a inclusão do ionóforo nas dietas, o que não foi observado no presente estudo. Salinas-Chavira et al. (2009) também não observaram efeito da inclusão de virginiamicina sobre a degradabilidade ruminal dos compostos nitrogenados em novilhos holandeses, o que está de acordo com os resultados obtidos neste experimento. Por outro lado, vacas de leite suplementadas com monensina apresentaram redução na degradação ruminal da PB em relação ao grupo controle, fato que promoveu aumento na quantidade de proteína dietética disponível para digestão no intestino (HAÏMOUD et al., 1995).

Tabela 2.5 - Efeitos dos níveis de salinomicina e virginiamicina sobre degradabilidade da matéria seca e da proteína bruta do farelo de soja

Item[1]	Tratamento[2]				EPM[3]	Valor de P[4]		
	Nível SL (ppm)		Nível VM (ppm)			SL	VM	SL x VM
	0	13	0	15				
	Degradabilidade da MS							
Fração a, *%*	25,33	25,51	25,21	25,64	0,33	0,73	0,41	0,37
Fração b, *%*	73,76	73,16	73,66	73,27	0,41	0,38	0,56	0,70
Taxa c, *%/h*	10,11	10,09	10,27	9,93	0,42	0,94	0,87	0,93
DE, *%*	74,07	73,98	73,95	74,09	0,56	0,94	0,90	0,88
DP, *%*	99,09	98,68	98,86	98,91	0,16	0,20	0,89	0,52
	Degradabilidade da PB							
Fração a, *%*	5,80	8,12	6,90	7,02	0,59	0,04	0,91	0,37
Fração b, *%*	94,89	92,31	93,69	93,51	0,62	0,03	0,87	0,32
Taxa c, *%/h*	10,16	9,95	10,25	9,85	0,53	0,92	0,93	0,96
DE, *%*	68,08	68,72	68,32	68,48	0,85	0,68	0,92	0,93
DP, *%*	100,41	100,43	100,32	100,52	0,20	0,97	0,52	0,70

[1]Fração a = fração rapidamente solúvel; Fração b = fração potencialmente degradável; Taxa c = taxa horária de degradação da fração potencialmente degradável; DE = degradabilidade efetiva (considerando uma taxa de passagem de 5%/h); DP = degradabilidade potencial. [2]Nível SL = nível de salinomicina na MS; Nível VM = nível de virginiamicina na MS. [3]Erro padrão da média. [4]SL = efeito do nível de salinomicina; VM = efeito do nível de virginiamicina; SL x VM = efeito da interação nível de salinomicina x nível de virginiamicina.

Não foram observados efeitos de nível de salinomicina ou virginiamicina sobre a "fração a", a "taxa c" e a DE da MS do milho (Tabela 2.6), No entanto, houve

interação entre nível de salinomicina e virginiamicina sobre a "fração b" (P = 0,01) e a DP (P = 0,03). A "fração b" da MS do milho foi menor (P = 0,02) para os animais que receberam virginiamicina apenas dentro do grupo de novilhos que também foram suplementados com salinomicina (Figura 2.1a). No entanto, apesar desse efeito sobre a "fração b", não houve diferença entre os níveis de virginiamicina para a DP da MS do milho dentro de nenhum dos níveis de salinomicina avaliados (Figura 2.1b).

Tabela 2.6 - Efeitos dos níveis de salinomicina e virginiamicina sobre degradabilidade da matéria seca do milho

Item[1]	Tratamento[2]				EPM[3]	Valor de P[4]		
	Nível SL (ppm)		Nível VM (ppm)			SL	VM	SL x VM
	0	13	0	15				
Fração a, *%*	15,64	16,13	15,63	16,14	0,33	0,35	0,33	0,24
Fração b, *%*	83,38	83,97	83,98	83,37	0,57	0,49	0,47	0,01
Taxa c, *%/h*	5,80	5,35	5,68	5,47	0,28	0,59	0,87	0,47
DE, *%*	59,72	59,12	59,36	59,48	0,66	0,59	0,91	0,33
DP, *%*	98,78	100,10	99,37	99,51	0,47	0,13	0,87	0,03

[1]Fração a = fração rapidamente solúvel; Fração b = fração potencialmente degradável; Taxa c = taxa horária de degradação da fração potencialmente degradável; DE = degradabilidade efetiva (considerando uma taxa de passagem de 5%/h); DP = degradabilidade potencial. [2]Nível SL = nível de salinomicina na MS; Nível VM = nível de virginiamicina na MS. [c]Erro padrão da média. [d]SL = efeito do nível de salinomicina; VM = efeito do nível de virginiamicina; SL x VM = efeito da interação nível de salinomicina x nível de virginiamicina.

Em animais alimentados com dietas de alto grão, as bactérias amilolíticas do rúmen podem representar mais de 90% da população de bactérias encontradas nesse compartimento (LEEDLE; BRYANT; HESPELL, 1982). Adicionalmente, de acordo com Guo et al. (2010), a inclusão de virginiamicina em dietas de bovinos pode reduzir a população de bactérias amilolíticas ruminais em relação àquelas encontradas em animais não tratados.

No presente estudo, não foi possível determinar as variáveis de degradabilidade do amido do milho. No entanto, uma vez que o milho contém grande quantidade desse nutriente na MS (61,54%; Tabela 2.2), a determinação da degradabilidade da MS pode ser bastante representativa em relação à degradabilidade do amido para esse alimento. Dessa forma, mesmo sem diferença

na DP, uma possível redução na população de bactérias amilolíticas pode justificar a redução observada na "fração b" da MS do milho para animais tratados com virginiamicina dentro do grupo de animais que também receberam o ionóforo salinomicina.

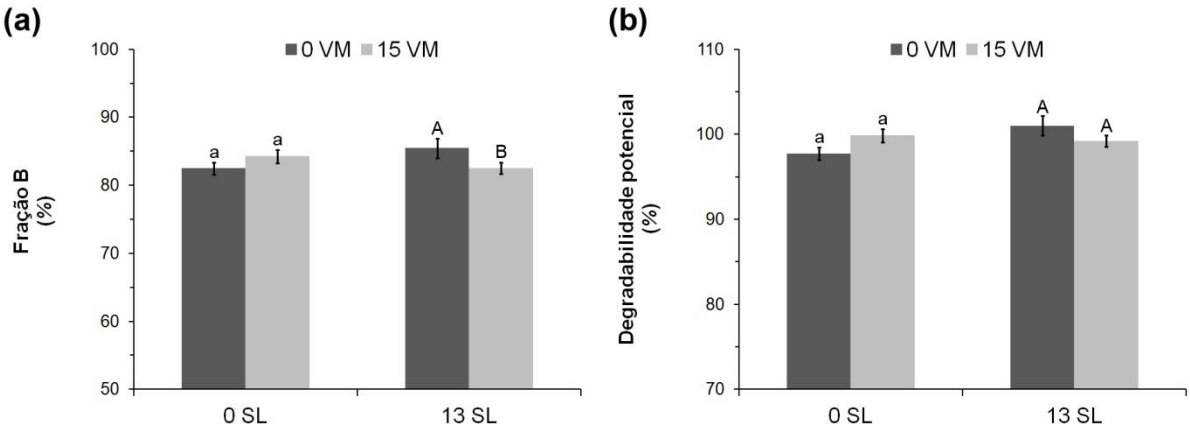

Figura 2.1 - Efeitos da interação nível de salinomicina x nível de virginiamicina sobre as variáveis (a) "fração b" e (b) degradabilidade potencial da matéria seca do milho.

[ab]Médias com letras minúsculas distintas dentro do mesmo nível de salinomicina diferem entre si. [AB]Médias com letras maiúsculas distintas dentro do mesmo nível de salinomicina diferem entre si. As barras de erros representam o erro padrão da média. 0 SL e 13 SL representam os níveis de 0 e 13 ppm de salinomicina, respectivamente. 0 VM e 15 VM representam os níveis de 0 e 15 ppm de virginiamicina, respectivamente.

2.3.3 Digestibilidade aparente e características fecais

Não houve efeito de nível de salinomicina sobre a digestibilidade aparente da MS no trato total (Tabela 2.7). No entanto, animais que receberam o ionóforo apresentaram maior digestibilidade aparente da PB (P = 0,01). Os ionóforos apresentam capacidade de reduzir a degradação ruminal da proteína da dieta e a produção de proteína microbiana, fato que promove aumento na quantidade de proteína de escape que chega ao intestino para a digestão. Essas alterações podem aumentar a digestibilidade aparente dos compostos nitrogenados, uma vez que a proteína dietética que não sofre degradação ruminal é, em geral, mais digestível que a proteína bacteriana (VAN SOEST, 1994). Entretanto, conforme relatado anteriormente, não foram observados efeitos de nível de salinomicina sobre a degradação ruminal da PB do farelo de soja no presente estudo. Assim, as causas que justificam o aumento na degradabilidade aparente da PB no trato digestório total

em virtude de possível aumento na quantidade de proteína de escape permanecem incertas.

Resultados similares foram obtidos por Webb; Fontenot e Luca (1980), que observaram aumentos lineares na digestibilidade da PB com o aumento no nível de salinomicina na dieta de bovinos. De forma semelhante, Merchen e Berger (1985) relataram aumento de 5,4% na digestibilidade aparente da PB com a inclusão de salinomicina na dieta de ovinos em relação ao controle. Apesar disso, esses autores também não observaram aumento na digestibilidade aparente da MS, o que está de acordo com os resultados obtidos no presente estudo.

Tabela 2.7 - Efeitos dos níveis de salinomicina e virginiamicina sobre as variáveis de digestibilidade aparente e características fecais

Item[1]	Tratamento[2]				EPM[3]	Valor de P[4]		
	Nível SL (ppm)		Nível VM (ppm)			SL	VM	SL x VM
	0	13	0	15				
DMS, %	66,49	68,56	68,74	66,31	0,77	0,12	0,07	0,17
DPB, %	69,08	72,12	70,65	70,56	0,64	0,01	0,93	0,28
DFDN, %	35,98	39,41	40,01	35,38	1,31	0,15	0,06	0,34
DAmido, %	90,83	91,86	92,59	90,10	0,79	0,32	0,02	0,03
MS fecal, %	17,61	17,46	17,53	17,54	0,15	0,53	0,98	0,51
pH fecal	5,60	5,64	5,64	5,60	0,04	0,22	0,30	0,83

[1]DMS = digestibilidade aparente da matéria seca; DPB = digestibilidade aparente da proteína bruta; DFDN = digestibilidade aparente da fibra insolúvel em detergente neutro; DAmido = digestibilidade aparente do amido; MS fecal = matéria seca fecal. [2]Nível SL = nível de salinomicina na MS; Nível VM = nível de virginiamicina na MS. [3]Erro padrão da média. [4]SL = efeito do nível de salinomicina; VM = efeito do nível de virginiamicina; SL x VM = efeito da interação nível de salinomicina x nível de virginiamicina.

A digestibilidade aparente da FDN também não diferiu entre os níveis de salinomicina (Tabela 2.7), no entanto, como a degradabilidade ruminal desse nutriente foi menor para os animais suplementados com o ionóforo, é possível concluir que a digestão pós-ruminal foi aumentada para o tratamento com salinomicina. Resultados semelhantes foram relatados por Haïmoud et al. (1995), que observaram redução na degradação ruminal da fibra com a inclusão de monensina na dieta de vacas holandesas, mas com aumento na digestão pós-

ruminal, de forma que a digestão no trato total não foi alterada pela inclusão do ionóforo. Da mesma forma, Zinn (1986) relatou redução na degradação ruminal da fibra para animais tratados com 11 ppm de salinomicina em relação ao controle, mas sem diferença na digestibilidade do trato total, o que também indica aumento na digestão pós-ruminal da fração fibrosa.

Não houve efeito da inclusão de virginiamicina sobre a digestibilidade aparente da PB (Tabela 2.7), o que está de acordo com os resultados observados para a degradabilidade ruminal desse nutriente, que também não diferiram entre os níveis do antibiótico. Houve tendência (P = 0,06) de redução na digestibilidade aparente da FDN para os animais tratados com virginiamicina, o que sugere que a menor degradabilidade ruminal da fibra observada para os animais tratados com o antibiótico não foi compensada com aumento na digestão pós-ruminal da forma como ocorreu com a salinomicina.

Resultados semelhantes foram obtidos por Salinas-Chavira et al. (2009), que não observaram efeito da inclusão de níveis crescentes de virginiamicina sobre a digestibilidade aparente da PB em novilhos holandeses. Por outro lado, esses autores não relataram diferenças entre os níveis de antibiótico para a digestibilidade aparente da FDN. Em oposição aos resultados obtidos no presente estudo, Skrivanová et al. (1994) observaram aumento na digestibilidade aparente da PB da dieta de bezerros alimentados com virginiamicina em relação ao grupo controle.

Foi observada interação (P = 0,03) entre nível de salinomicina e virginiamicina sobre a digestibilidade aparente do amido (Tabela 2.7), sendo que dentro do grupo de animais suplementados com 13 ppm de salinomicina, aqueles que também receberam virginiamicina apresentaram menores (P < 0,01) valores de digestibilidade desse nutriente (Figura 2.2).

Apesar de não ter havido diferença na degradabilidade ruminal da MS do milho (61,54% de amido na MS) entre os níveis de virginiamicina para os animais suplementados com salinomicina, a menor "fração b" desse nutriente observada em novilhos que receberam ambos os aditivos em relação aos que foram tratados com apenas salinomicina pode justificar a redução na digestibilidade aparente do amido. No entanto, uma avaliação mais detalhada da degradabilidade ruminal do amido poderia elucidar melhor essa questão.

Finalmente, é possível concluir que tanto a tendência de redução na digestibilidade aparente da FDN observada para os animais tratados com

virginiamicina, como a diminuição na digestibilidade aparente do amido para novilhos suplementados com o antibiótico dentro do grupo de animais tratados com salinomicina, foram responsáveis pela tendência de redução (P = 0,07) na digestibilidade aparente da MS observada para o tratamento com virginiamicina (Tabela 2.7).

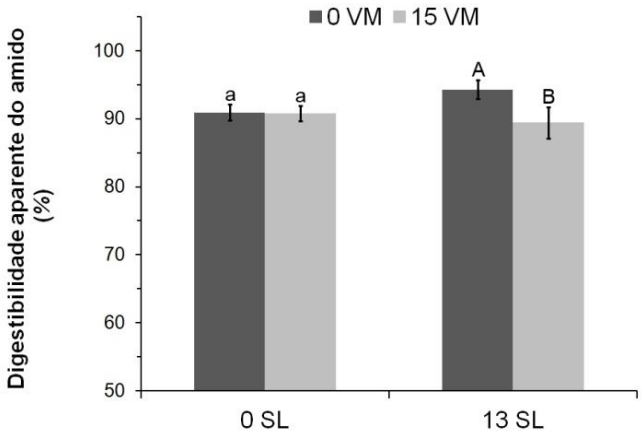

Figura 2.2 - Efeito da interação nível de salinomicina x nível de virginiamicina sobre a digestibilidade aparente do amido.
[ab]Médias com letras minúsculas distintas dentro do mesmo nível de salinomicina diferem entre si. [AB]Médias com letras maiúsculas distintas dentro do mesmo nível de virginiamicina diferem entre si. As barras de erros representam o erro padrão da média. 0 SL e 13 SL representam os níveis de 0 e 13 ppm de salinomicina, respectivamente. 0 VM e 15 VM representam os níveis de 0 e 15 ppm de virginiamicina, respectivamente.

Não houve diferença entre os tratamentos para as variáveis MS e pH das fezes (Tabela 2.7). O pH fecal é o indicador mais simples da quantidade de amido fermentada no intestino grosso (CHANNON; ROWE; HERD et al., 2004), sendo que valores mais baixos refletem maior quantidade de ácidos resultantes dessa fermentação (DeGREGORIO et al., 1982). Como não houve efeito dos aditivos sobre o pH fecal, é provável que a quantidade de amido fermentado no intestino grosso tenha sido semelhante para os animais dos diferentes tratamentos.

2.3.4 Fermentação ruminal

Não houve efeito de nível de salinomicina sobre a concentração de AGCC, exceto para o valerato, que teve sua concentração reduzida (P < 0,01) com a inclusão de ionóforo na dieta (Tabela 2.8). A relação acetato propionato também não diferiu entre os níveis de salinomicina avaliados. Em geral, o efeito dos ionóforos sobre a população de bactérias ruminais resulta em aumento na produção de propionato e redução na produção de acetato e butirato, com consequente melhora na eficiência de utilização da energia dos alimentos (BERGEN; BATES, 1984). No entanto, no presente estudo, esses resultados não puderam ser confirmados com a inclusão do ionóforo salinomicina nas dietas.

Tabela 2.8 - Efeitos dos níveis de salinomicina e virginiamicina sobre as variáveis de fermentação ruminal

Item	Tratamento[1]				EPM[2]	Valor de P[4]		
	Nível SL (ppm)		Nível VM (ppm)			SL	VM	SL x VM
	0	13	0	15				
Acetato, *mM*	61,88	60,87	63,40	59,35	1,05	0,52	0,01	0,71
Propionato, *mM*	22,29	22,80	21,46	23,63	0,57	0,51	0,01	0,88
Isobutirato, *mM*	1,15	1,17	1,17	1,14	0,02	0,94	0,44	0,02
Butirato, *mM*	11,10	11,38	11,99	10,48	0,30	0,52	0,01	0,12
Isovalerato, *mM*	2,49	2,44	2,78	2,14	0,07	0,18	<0,01	0,81
Valerato, *mM*	1,64	1,46	1,61	1,49	0,04	<0,01	0,02	0,07
Total,[4] *mM*	100,12	100,11	102,42	97,81	1,79	0,98	0,06	0,71
A/P[5]	2,91	2,82	3,07	2,66	0,04	0,07	<0,01	0,08
pH ruminal	6,46	6,45	6,42	6,48	0,03	0,71	0,08	0,25
Lactato, *mM*	0,420	0,390	0,422	0,388	0,012	0,28	0,05	0,82
$N\text{-}NH_3$,[6] *mg/dL*	14,71	14,61	14,12	15,20	0,57	0,49	0,31	0,01

[1]Nível SL = nível de salinomicina na MS; Nível VM = nível de virginiamicina na MS [2]Erro padrão da média. [3]SL = efeito do nível de salinomicina; VM = efeito do nível de virginiamicina; SL x VM = efeito da interação nível de salinomicina x nível de virginiamicina. [4]Total = ácidos graxos de cadeia curta totais. [5]A/P = relação acetato propionato. [6]$N\text{-}NH_3$ = nitrogênio amoniacal.

De forma semelhante, Zinn (1986) também não reportou diferenças na concentração de AGCC para bovinos tratados com níveis crescentes de salinomicina (0 a 16,5 ppm). Similarmente, Hristov et al. (2000) não observaram

diferenças na concentração molar de AGCC para novilhos Jersey tratados com 13 ppm de salinomicina em relação a animais não tratados.

Por outro lado, ao avaliarem a inclusão de quatro níveis de salinomicina (0, 5,5, 11 ou 22 ppm) na dieta de ovinos, Merchen e Berger (1985) relataram reduções lineares nas concentrações de acetato e butirato, e aumento linear na concentração de propionato com a crescente inclusão de salinomicina na dieta, o que resultou em redução na relação acetato propionato. Apesar dessas diferenças, não houve efeito do ionóforo sobre a concentração total de AGCC. McClure et al. (1980) também observaram reduções lineares nas concentrações de ácidos acético e butírico, e aumento linear na concentração de ácido propiônico com o crescente nível de inclusão de salinomicina na dieta.

O pH ruminal também não diferiu entre os níveis de salinomicina (Tabela 2.8), o que está de acordo com os resultados obtidos por McClure et al. (1980) e Hristov et al. (2000) para bovinos, e com os resultados relatados por Merchen e Berger (1985) para ovinos. No entanto, os valores de pH ruminal para ambos os tratamentos foram relativamente altos em relação aos comumente observados para animais tratados com dietas de alto concentrado, o que pode ter reduzido a magnitude do efeito do ionóforo sobre essa variável.

Animais tratados com virginiamicina apresentaram redução nas concentrações ruminais de ácido acético ($P = 0,01$), butírico ($P = 0,01$), isovalérico ($P < 0,01$) e valérico ($P = 0,02$), e tendência de redução ($P = 0,06$) nas concentrações de AGCC totais (Tabela 2.8). No entanto, a suplementação com esse antibiótico aumentou a concentração ruminal de propionato ($P = 0,01$), que combinada à menor concentração de acetato, promoveu redução na relação acetato propionato ($P < 0,01$).

Alguns autores reportaram que a virginiamicina pode aumentar as concentrações de ácido propiônico *in vitro* (HEDDE et al., 1980; NAGARAJA et al., 1987), o que aumenta a disponibilidade de energia dos alimentos para os animais. Devido às diferenças na incorporação de hidrogênio metabólico, as eficiências de fermentação de hexose a acetato, propionato e butirato são de 62, 109 e 78%, respectivamente. Dessa forma, a quantidade de energia recuperada nos produtos finais da fermentação pode ser maior quando se aumenta a produção de ácido propiônico em relação aos ácidos acético e butírico (CHALUPA, 1977).

De forma semelhante, Nagaraja et al. (1995) observaram aumento na concentração ruminal de ácido propiônico às 6, 9, 12 e 24 h após a suplementação com grãos de cevada para ovinos tratados com virginiamicina em relação aos não tratados. Já a concentração ruminal de acetato foi maior às 3 e 9 h após a alimentação, enquanto a concentração de butirato foi maior às 6, 9 e 12 h após a alimentação para animais não tratados com o antibiótico.

Coe et al. (1999) realizaram dois experimentos para verificar o efeito da virginiamicina sobre a fermentação ruminal de bovinos. No primeiro, os autores avaliaram os efeitos da virginiamicina e da combinação de monensina/tilosina durante a adaptação de novilhos holandeses a uma dieta com 100% de concentrado, enquanto no segundo os efeitos dos antibióticos foram avaliados após indução de acidose ruminal. Em ambos os experimentos não foram reportados efeitos da inclusão de virginiamicina sobre as concentrações ruminais de AGCC, o que difere dos resultados obtidos no presente estudo.

Animais tratados com virginiamicina apresentaram tendência (P=0,08) para maior pH ruminal em relação a animais não tratados (Tabela 2.8). No entanto, conforme comentado anteriormente, os valores de pH foram mais elevados em relação àqueles comumente reportados na literatura para dietas de alto concentrado, o que sugere que os animais estavam bem adaptados à ração utilizada. Hedde et al. (1980), observaram maiores valores de pH ruminal para novilhos Hereford alimentados com dieta de 82% de concentrado e suplementados com virginiamicina ou monensina em relação ao controle sem aditivos. Contudo, os valores de pH observados foram de 5,17, 5,55 e 5,50 para o controle, virginiamicina e monensina, respectivamente. De forma semelhante, Coe et al. (1999), ao induzirem um quadro de acidose ruminal em novilhos holandeses, observaram que a virginiamicina foi mais eficiente em aumentar o pH do que a combinação de monensina/tilosina.

Não houve diferença na concentração ruminal de lactato entre os níveis de salinomicina avaliados (Tabela 2.8), mas animais tratados com virginiamicina apresentaram menores (P = 0,05) produções desse composto em relação aos animais não tratados. Tem sido relatado que a virginiamicina apresenta maior controle sobre a produção de lactato do que os ionóforos (LANNA; MEDEIROS, 2007). No entanto, conforme ocorreu com o pH ruminal, os valores observados para ambos os tratamentos foram inferiores àqueles geralmente reportados para animais

recebendo dietas de alto concentrado, o que mostra boa adaptação dos mesmos às rações.

Coe et al. (1999) relataram a efetividade da virginiamicina em reduzir a produção de ácido lático após a indução experimental de acidose ruminal em novilhos holandeses. Esses autores observaram concentrações ruminais de lactato da ordem de 19,4 e 15,8 mM para o grupo controle e para o tratamento com monensina, respectivamente, enquanto a concentração nos animais tratados com virginiamicina permaneceu abaixo de 2 mM. Por outro lado, Salinas-Chavira et al. (2009) não verificaram efeito da inclusão de virginiamicina sobre a concentração ruminal de ácido lático para novilhos holandeses alimentados com dieta contendo cerca de 90% de concentrado. No entanto, esses autores também observaram valores de pH relativamente altos (ao redor de 6,00) tanto para animais tratados com o antibiótico como para o grupo controle, sugerindo que a acidose ruminal não foi um problema, fato que pode ter minimizado os efeitos da virginiamicina sobre o controle do ácido lático.

Houve interação entre nível de salinomicina e virginiamicina para as concentrações ruminais de isobutirato (P = 0,02) e nitrogênio amoniacal (P = 0,01). Dentro do grupo de animais que não receberam salinomicina, aqueles tratados com virginiamicina apresentaram menores (P = 0,03) concentrações de isobutirato (Figura 2.3a). Com relação ao nitrogênio amoniacal, dentro do grupo de animais tratados com salinomicina, aqueles que também foram suplementados com virginiamicina apresentaram maiores (P = 0,01) concentrações desse composto (Figura 2.3b).

Conforme mencionado anteriormente, a suplementação com aditivos antimicrobianos pode reduzir as atividades de proteólise e desaminação da proteína dietética no rúmen, com consequente redução na concentração de nitrogênio amoniacal nesse compartimento (BERGEN; BATES, 1984). A desaminação de aminoácidos pelas bactérias ruminais é particularmente sensível à presença desses aditivos, uma vez que essas substâncias atuam sobre bactérias utilizadoras de aminoácidos. Além disso, as bactérias resistentes aos aditivos antimicrobianos que permanecem no rúmen apresentam atividade de desaminação reduzida, o que compromete ainda mais o processo de degradação proteica (McALLISTER et al., 1994). No entanto, no presente estudo não foram observados efeitos da inclusão de salinomicina ou virginiamicina sobre a degradação da fração proteica no rúmen.

Dessa forma, as razões pelas quais houve aumento na concentração ruminal de nitrogênio amoniacal nos animais que receberam virginiamicina dentro do grupo tratado com salinomicina permanecem incertas.

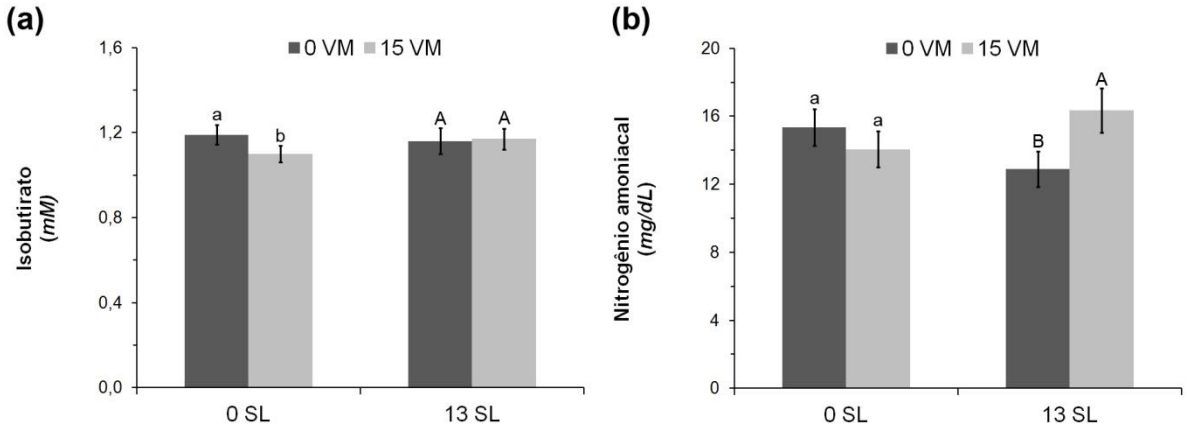

Figura 2.3 - Efeitos da interação nível de salinomicina x nível de virginiamicina sobre as concentrações ruminais de (a) isobutirato e (b) nitrogênio amoniacal.

[ab]Médias com letras minúsculas distintas dentro do mesmo nível de salinomicina diferem entre si. [AB]Médias com letras maiúsculas distintas dentro do mesmo nível de salinomicina diferem entre si. As barras de erros representam o erro padrão da média. 0 SL e 13 SL representam os níveis de 0 e 13 ppm de salinomicina, respectivamente. 0 VM e 15 VM representam os níveis de 0 e 15 ppm de virginiamicina, respectivamente.

Em ensaio *in vitro*, foi observada redução na produção ruminal de nitrogênio amoniacal com a inclusão de monensina (VAN NEVEL; DEMEYER, 1977). De forma semelhante, McAllister et al. (1994) verificaram redução na concentração ruminal de nitrogênio amoniacal com a inclusão de salinomicina por meio de utilização da técnica de rúmen artificial. Por outro lado, Coe et al. (1999) não observaram efeito da inclusão de virginiamicina ou da combinação de monensina/tilosina sobre a concentração ruminal de nitrogênio amoniacal em novilhos holandeses durante adaptação progressiva a uma dieta com 100% de concentrado, resultados que diferem dos observados no presente estudo.

Além dos efeitos de nível de salinomicina e virginiamicina relatados, foram observados efeitos de tempo de coleta sobre as variáveis de fermentação ruminal. As concentrações ruminais de acetato (Figura 2.4a), propionato (Figura 2.4b), butirato (Figura 2.4d) e valerato (Figura 2.4f) aumentaram ($P < 0,01$), enquanto as concentrações de isobutirato (Figura 2.4c) e isovalerato (Figura 2.4e) diminuíram ($P < 0,01$) com o aumento no tempo de coleta.

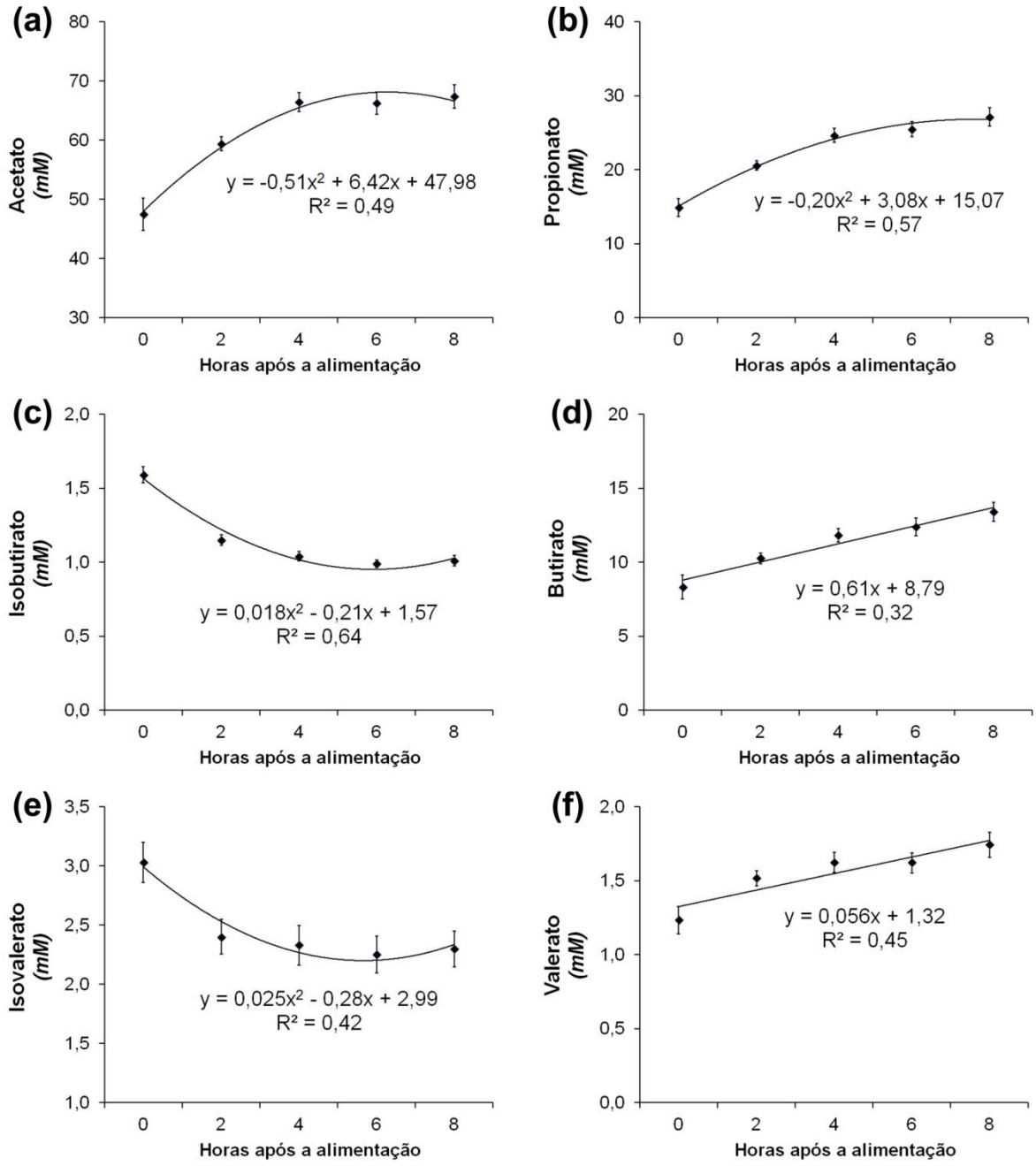

Figura 2.4 - Relações entre tempo de coleta e concentrações ruminais de (a) acetato, (b) propionato, (c) isobutirato, (d) butirato, (e) isovalerato e (f) valerato.
As barras de erros representam o erro padrão da média.

De forma semelhante, as concentrações ruminais de AGCC totais (Figura 2.5a) e lactato (Figura 2.5c) aumentaram ($P < 0,01$), enquanto as concentrações de nitrogênio amoniacal (Figura 2.5b), a relação acetato propionato (Figura 2.5d) e o pH ruminal (Figura 2.5e) foram reduzidos ($P < 0,01$) com o maior tempo de coleta.

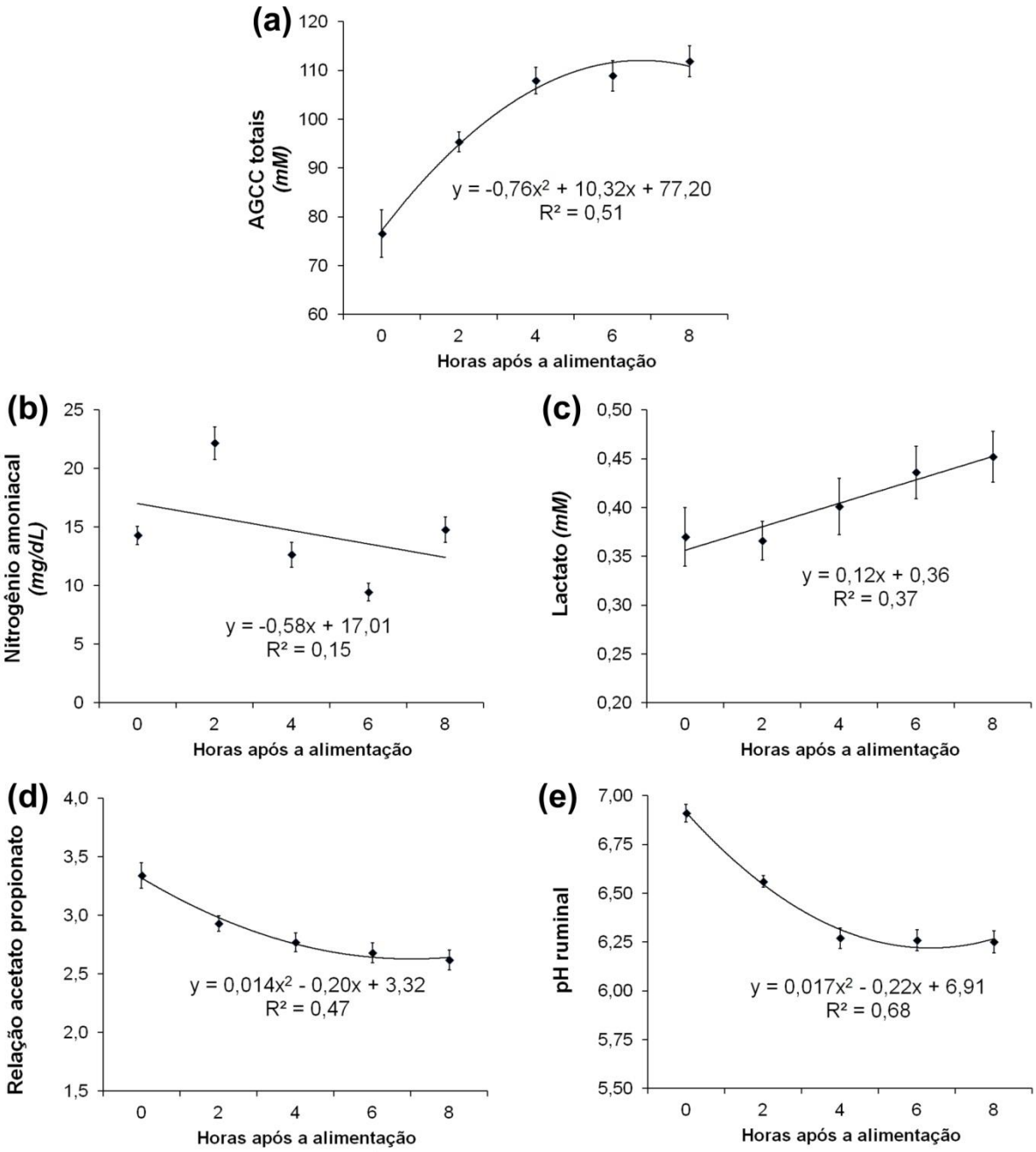

Figura 2.5 - Relações entre tempo de coleta e concentrações ruminais de (a) ácidos graxos de cadeia curta totais, (b) nitrogênio amoniacal, (c) lactato, (d) relação acetato propionato e (e) pH ruminal.
As barras de erros representam o erro padrão da média.

2.3.5 Comportamento ingestivo

Não houve efeito de nível de salinomicina sobre nenhuma das variáveis avaliadas (Tabela 2.9), o que indica que o ionóforo não promoveu alterações na atividade de mastigação dos animais. Diferentemente, Erickson et al. (2003)

observaram menor TAE e menor TIE_{MS} para bovinos tratados com monensina em relação a animais não tratados. Os resultados obtidos no presente estudo também diferem dos relatados por Knowlton; Allen e Erickson (1996), que observaram maior TTR e tendência de aumento no NER, TRE e TTM para vacas de leite tratadas com lasalocida. Além disso, é possível que hajam diferenças nas respostas sobre o comportamento ingestivo em virtude do tipo de ionóforo utilizado, uma vez que Gibb et al. (2001) observaram que animais suplementados com monensina apresentaram maior NEA e maior TTA em relação a novilhos tratados com salinomicina.

Animais tratados com 15 ppm de virginiamicina passaram 47,8 min/dia a mais ruminando (P = 0,01) em relação a animais não tratados (Tabela 2.9). Como consequência do maior TTR, os animais que receberam o antibiótico também apresentaram maior TTM (P = 0,03) e menor TTO (P = 0,03). Dessa forma, os animais suplementados com virginiamicina gastaram 45,6 min/dia a mais em atividade de mastigação em relação aos animais não tratados.

O funcionamento ruminal adequado está diretamente associado com o aumento na atividade de mastigação, uma vez que a maior produção de saliva decorrente dessa atividade promove maior fluxo de substâncias tamponantes para o rúmen, com consequente manutenção de um pH ótimo para a atividade dos microrganismos (SANTINI et al., 1992). Dessa forma, o aumento no TTR e no TTM pode ser uma das razões pelas quais houve melhora na fermentação ruminal dos animais suplementados com virginiamicina.

Houve interação entre nível de salinomicina e virginiamicina para as variáveis NEM (P = 0,01), TR_{MS} (P = 0,04), TR_{FDN} (P = 0,03) e TM_{FDN} (P = 0,03) (Tabela 2.9). Dentro do grupo de animais tratados com salinomicina, aqueles que também receberam virginiamicina apresentaram maiores NEM (P = 0,04), TR_{MS} (P < 0,01), TR_{FDN} (P < 0,01) e TM_{FDN} (P = 0,01) (Figura 2.6).

Todos esses resultados indicam que a virginiamicina apresenta capacidade para alterar o comportamento ingestivo de novilhos Nelore alimentados com dieta de alto concentrado a favor de uma maior atividade de ruminação e mastigação, e que esse pode ser um dos fatores responsáveis pela melhora observada na fermentação ruminal dos animais do presente estudo.

Tabela 2.9 - Efeitos dos níveis de salinomicina e virginiamicina sobre as variáveis de comportamento ingestivo

Item[1]	Tratamento[2]				EPM[3]	Valor de P[4]		
	Nível SL (ppm)		Nível VM (ppm)			SL	VM	SL x VM
	0	13	0	15				
TTA, *min/dia*	210,3	194,4	203,4	201,3	7,3	0,14	0,83	0,50
NEA, *eventos/dia*	14,2	14,6	14,4	14,4	0,7	0,69	0,99	0,13
TAE, *min/evento*	16,0	14,3	15,2	15,1	1,0	0,10	0,65	0,21
TTR, *min/dia*	400,6	400,9	376,9	424,7	11,0	0,99	0,01	0,08
NER, *eventos/dia*	14,5	14,0	14,0	14,5	0,4	0,48	0,41	0,16
TRE, *min/evento*	27,9	28,8	27,1	29,6	0,7	0,51	0,06	0,91
TTM, *min/dia*	610,9	595,3	580,3	625,9	13,5	0,42	0,03	0,06
NEM, *eventos/dia*	28,7	28,6	28,4	28,9	0,8	0,91	0,66	0,01
TME, *min/evento*	21,8	21,2	20,8	22,2	0,7	0,48	0,13	0,51
TTO, *min/dia*	829,1	844,7	859,7	814,1	13,5	0,42	0,03	0,06
TI_{MS}, *g/min*	34,6	36,1	34,9	35,8	1,9	0,49	0,88	0,23
TIE_{MS}, *g/evento*	516,6	497,1	511,2	502,6	25,7	0,60	0,82	0,06
TI_{FDN}, *g/min*	8,6	8,9	8,8	8,7	0,43	0,40	0,62	0,37
TIE_{FDN}, *g/evento*	128,5	123,2	128,3	123,5	6,5	0,58	0,61	0,07
TR_{MS}, *min/kg*	59,2	61,0	55,9	64,3	2,4	0,58	0,02	0,04
TR_{FDN}, *min/kg*	237,4	246,7	222,8	261,3	9,1	0,44	<0,01	0,03
TM_{MS}, *min/kg*	90,4	90,8	86,4	94,9	3,4	0,93	0,08	0,06
TM_{FDN}, *min/kg*	361,9	367,0	344,0	385,0	12,5	0,75	0,02	0,03

[1]TTA = tempo total de alimentação; NEA = número diário de eventos de alimentação; TAE = tempo médio de alimentação por evento; TTR = tempo total de ruminação; NER = número diário de eventos de ruminação; TRE = tempo médio de ruminação por evento; TTM = tempo total de mastigação; NEM = número diário de eventos de mastigação; TME = tempo médio de mastigação por evento; TTO = tempo total em ócio; TI_{MS} = taxa de ingestão da MS; TIE_{MS} = taxa de ingestão da MS por evento; TI_{FDN} = taxa de ingestão da FDN; TIE_{FDN} = taxa de ingestão da FDN por evento; TR_{MS} = taxa de ruminação da MS; TR_{FDN} = taxa de ruminação da FDN; TM_{MS} = taxa de mastigação da MS; TM_{FDN} = taxa de mastigação da FDN. [2]Nível SL = nível de salinomicina na MS; Nível VM = nível de virginiamicina na MS. [3]Erro padrão da média. [4]SL = efeito do nível de salinomicina; VM = efeito do nível de virginiamicina; SL x VM = efeito da interação nível de salinomicina x nível de virginiamicina.

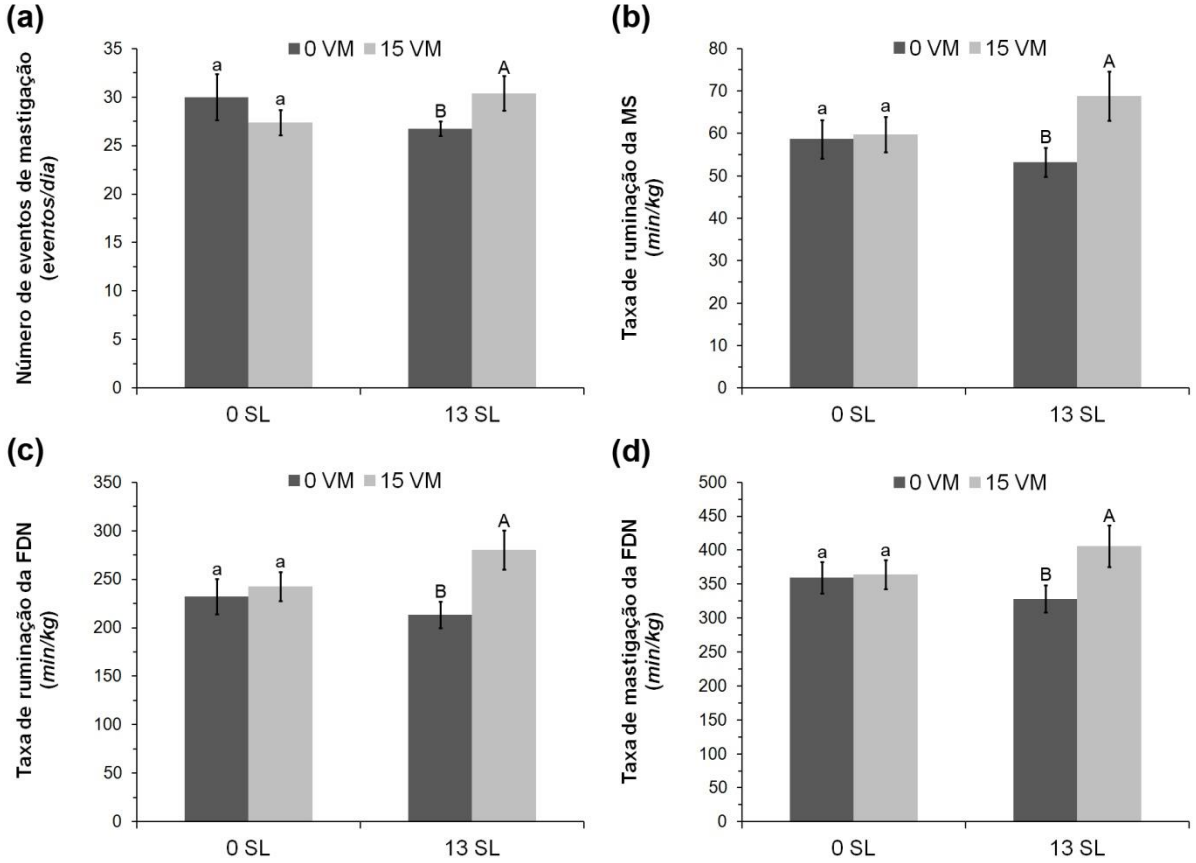

Figura 2.6 - Efeitos da interação nível de salinomicina x nível de virginiamicina sobre as variáveis (a) número de eventos de mastigação, (b) taxa de ruminação da MS, (c) taxa de ruminação da FDN e (d) taxa de mastigação da FDN.

[ab]Médias com letras minúsculas distintas dentro do mesmo nível de salinomicina diferem entre si. [AB]Médias com letras maiúsculas distintas dentro do mesmo nível de salinomicina diferem entre si. As barras de erros representam o erro padrão da média. 0 SL e 13 SL representam os níveis de 0 e 13 ppm de salinomicina, respectivamente. 0 VM e 15 VM representam os níveis de 0 e 15 ppm de virginiamicina, respectivamente.

2.3.6 Protozoários ciliados ruminais

As populações de protozoários dos gêneros *Diplodinium*, *Isotricha*, *Dasytricha*, *Eudiplodinium* e *Ostracodinium* foram identificadas em poucas amostras, e em quantidades muito baixas. Dessa forma, a condução de análises estatísticas para comparação das médias se tornou inviável para esses gêneros, e portanto, apenas as médias brutas por tratamento são apresentadas (Tabela 2.10). Não houve efeito da inclusão de salinomicina sobre as contagens de protozoários do gênero *Entodinium* e sobre o total de protozoários ciliados ruminais. No entanto, houve tendência de aumento na população de *Entodinium* (P = 0,07) e na população total de protozoários ciliados (P = 0,08) no rúmen de novilhos alimentados com 15 ppm de virginiamicina em relação aos que não receberam o antibiótico.

Tabela 2.10 - Efeitos dos níveis de salinomicina e virginiamicina sobre a contagem de protozoários ciliados ruminais

Item	Tratamento[1]				EPM[2]	Valor de P[3]		
	Nível SL (ppm)		Nível VM (ppm)			SL	VM	SL x VM
	0	13	0	15				
Entodinium, $x\ 10^4/mL$	8,10	9,88	7,73	10,26	0,81	0,17	0,07	0,14
Diplodinium, $x\ 10^4/mL$	0,023	0,000	0,020	0,003	0,007	-	-	-
Isotricha, $x\ 10^4/mL$	0,103	0,130	0,113	0,121	0,025	-	-	-
Dasytricha, $x\ 10^4/mL$	0,007	0,007	0,000	0,013	0,005	-	-	-
Eudiplodinium, $x\ 10^4/mL$	0,066	0,067	0,073	0,060	0,019	-	-	-
Ostracodinium, $x\ 10^4/mL$	0,000	0,013	0,000	0,013	0,005	-	-	-
Total, $x\ 10^4/mL$	8,29	10,09	7,92	10,46	0,83	0,17	0,08	0,13

[1]Nível SL = nível de salinomicina na MS; Nível VM = nível de virginiamicina na MS [2]Erro padrão da média. [3]SL = efeito do nível de salinomicina; VM = efeito do nível de virginiamicina; SL x VM = efeito da interação nível de salinomicina x nível de virginiamicina.

Esses resultados diferem daqueles comumente reportados na literatura. Nagaraja et al. (1995) observaram que os aumentos na contagem total de protozoários ciliados foram menores para ovinos suplementados com grãos de cevada e virginiamicina do que para aqueles suplementados apenas com cevada. Os autores sugerem que isso pode ter ocorrido tanto devido ao efeito inibitório direto da virginiamicina sobre os protozoários, como também de maneira indireta, devido à redução na população de bactérias pelo antibiótico, uma vez que os protozoários utilizam as bactérias como fontes de aminoácidos e ácidos nucleicos (DEHORITY, 2003). Outros estudos também demonstraram redução na população de protozoários ciliados no rúmen de ovinos suplementados com virginiamicina (GODFREY et al., 1995; MURRAY et al., 1992).

De forma semelhante, Olumeyan et al. (1986) observou efeito da inclusão de salinomicina sobre a contagem de protozoários ciliados no rúmen de bovinos. Esses autores reportaram redução na população total de protozoários ciliados e em espécies do gênero *Entodinium* após duas ou quatro semanas da suplementação com o ionóforo. Entretanto, as populações de protozoários ciliados não diferiram entre os animais tratados e o grupo controle após seis semanas da inclusão do aditivo. Também foi observada redução na população ruminal de protozoários em ovinos suplementados com salinomicina durante sete dias, resultado que se

manteve até 35 dias após o início do tratamento com o ionóforo (COSTA; HOONA; CHAPMAN, 1994). No presente estudo, no entanto, os efeitos inibitórios da salinomicina e da virginiamicina sobre a população ruminal de protozoários ciliados não puderem ser confirmados.

2.3.7 Características sanguíneas

Não houve efeito da inclusão de salinomicina sobre as características sanguíneas avaliadas, da mesma forma que não houve efeito de nível de virginiamicina sobre o pH e a concentração de HCO_3^- do sangue (Tabela 2.11). No entanto, houve aumento na concentração de lactato sanguíneo (P = 0,05) com a inclusão de 15 ppm de virginiamicina na dieta.

Tabela 2.11 - Efeitos dos níveis de salinomicina e virginiamicina sobre as características sanguíneas

Item[1]	Tratamento[2]				EPM[3]	Valor de P[4]		
	Nível SL (ppm)		Nível VM (ppm)			SL	VM	SL x VM
	0	13	0	15				
pH	7,424	7,413	7,422	7,414	0,007	0,30	0,45	0,14
Lactato, *mM*	0,680	0,679	0,574	0,786	0,057	0,61	0,05	0,27
HCO_3^-, *mM*	28,90	27,74	27,88	28,76	0,49	0,16	0,28	0,19

[1]pH = pH sanguíneo; Lactato = concentração sanguínea de lactato; HCO_3^- = concentração sanguínea de bicarbonato. [2]Nível SL = nível de salinomicina na MS; Nível VM = nível de virginiamicina na MS. [3]Erro padrão da média. [4]SL = efeito do nível de salinomicina; VM = efeito do nível de virginiamicina; SL x VM = efeito da interação nível de salinomicina x nível de virginiamicina.

A diminuição no pH, bem como o aumento nas concentrações de lactato e diminuição nas concentrações de HCO_3^- do sangue são sintomas associados à ocorrência de acidose ruminal (NAGARAJA et al., 1981). Em bovinos, a acidose metabólica pode ser classificada de acordo com o pH sanguíneo em moderada (pH 7,25 a 7,20), severa (pH 7,25 a 7,20) e grave (pH 7,10 a 7,0) (RADOSTITS et al., 2002). No presente estudo, os valores de pH sanguíneo permaneceram acima de 7,40, fato que demonstra que não houve ocorrência de acidose nos animais de nenhum dos tratamentos.

Maruta e Ortolani (2002), ao induzirem a ocorrência de acidose ruminal em bovinos, observaram concentrações sanguíneas de lactato muito superiores às observadas no presente estudo, com valores da ordem de 11,7 e 6,8 mM para

novilhos Jersey e Gir, respectivamente. Esses autores também observaram concentrações de HCO_3^- no sangue inferiores às observadas para os animais deste trabalho. Assim, fica claro que as características sanguíneas avaliadas no presente estudo não refletiram sintomas da ocorrência de acidose ruminal, fato que explica a ausência de efeito dos aditivos sobre o pH e a concentração de HCO_3^- do sangue. Além disso, a redução na concentração ruminal de lactato, bem como a tendência de aumento no pH ruminal de novilhos suplementados com virginiamicina indicam que o aumento na concentração sanguínea de lactato para esses animais não está relacionado com a ocorrência de acidose ruminal.

2.4 Conclusões

A inclusão de virginiamicina em dieta de alto concentrado para bovinos Nelore promoveu efeitos positivos sobre a fermentação ruminal e o comportamento ingestivo dos animais, enquanto os efeitos da suplementação com salinomicina foram menos evidentes. No entanto, as poucas interações observadas entre os níveis dos aditivos sugerem que os possíveis efeitos associativos benéficos da utilização de ionóforo e virginiamicina em combinação não puderam ser confirmados.

Referências

AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL. **Energy and protein requirements of ruminants.** Wallingford: CAB International, 1993. 159 p.

ALMEIDA, R.; MEDEIROS, S.R.; CALEGARE, L.; ALBERTINI, T.A.; LANNA, D.P.D. Fazendas de terminação. In: PIRES, A. V. **Bovinocultura de corte**. Piracicaba: FEALQ, 2010, cap. 11, p.183-199.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis.** 15th ed. Arlington: 1990. 1117 p.

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

BRAWNER, W.R.; HENTGES, J.F.; MOORE, J.E.; NEA, F.C.; HIMES, J.A. Naturally induced bovine lactic acidosis. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.28, suppl., p.126, 1969. Abstract.

CHALUPA, W. Manipulating rumen fermentation. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.45, n.3, p.585-599, 1977.

CHANNON, A.F.; ROWE, J.B.; HERD, R.M. Genetic variation in starch digestion in feedlot cattle and its association with residual feed intake. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Melbourne, v.44, n.5, p.469-474, 2004.

COE, M.L.; NAGARAJA, T.G.; SUN, Y.D.; WALLACE, N.; TOWNE, E.G.; KEMP, K.E.; HUTCHENSON, J.P. Effect of virginiamycin on ruminal fermentation in cattle during adaptation to a high concentrate diet and during an induced acidosis. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.77, n.8, p.2259-2268, 1999.

COSTA, N.D.; HOONA, J.; CHAPMAN, H.M. The effect of salinomycin on rumen protozoal numbers and selenium retention in sheep. In: ANNUAL SCIENTIFIC MEETING. NUTRITION SOCIETY OF AUSTRALIA, 18 , 1994, Perth. **Proceedings of the Nutrition Society of Australia...** Perth: Nutrition Society of Australia, 1994. p.84.

DeGREGORIO, R.M.; TUCKER, R.E.; MITCHELL JR, G.E.; GILL, W.W. Carbohydrate fermentation in the large intestine of lambs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.54, n.4, p.855-862, 1982.

DEHORITY, B.A. **Rumen microbiology.** 1 ed. Nottingham: Nottingham University Press, 2003. 372 p.

DINIUS, D.A.; SIMPSON, M.E.; MARSH, P.B. Effect of monensin fed with forage on digestion and the ruminal ecosystem of steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.42, n.1, p.229-234, 1976.

ELAM, C.J. Acidosis in feedlot cattle: practical observations. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.43, n.4, p.898-901, 1976.

ERICKSON, G.E.; MILTON, C.T.; FANNING, K.C.; COOPER, R.J.; SWINGLE, R.S.; PARROTT, J.C.; VOGEL, G.; KLOPFENSTEIN, T.J. Interaction between bunk management and monensin concentration on finishing performance, feeding behavior, and ruminal metabolism during an acidosis challenge with feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.81, n.11, p.2869-2879, 2003.

GIBB, D.J.; MOUSTAFA, S.M.S.; WIEDMEIER, R.D.; MCALLISTER, T.A. Effect of salinomycin or monensin on performance and feeding behavior of cattle fed wheat- or barley-based diets. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v.81, n.2, p.253-261, 2001.

GODFREY, S.I.; NAGARAJA, T.G.; WINSLOW, S.W.; ROWE, J.B. Rumen microbial adaptation to long-term feeding of virginiamycin in sheep fed barley and virginiamycin as a supplement. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v.46, n.6, p.1149-1158, 1995.

GRANT, R.H.; MERTENS, D.R. Influence of buffer pH and raw corn starch addition on in vitro fiber digestion kinetics. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.75, n.10, p.2762-2768, 1992.

GUO, T.J.; WANG, J.Q.; BU, D.P.; LIU, K.L.; WANG, J.P.; LI, D.; LUAN, S.Y.; HUO, X.K. Evaluation of the microbial population in ruminal fluid using real time PCR in

steers treated with virginiamycin. **Czech Journal of Animal Science**, Praga, v.55, n.7, p.276-285, 2010.

HAÏMOUD, D.A.; VERNAY, M.; BAYOURTHE, C.; MONCOULON, R. Avoparcin and monensin effects on the digestion of nutrients in dairy cows fed a mixed diet. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v.75, n.3, p.379-385, 1995.

HEDDE, R.D.; ARMSTRONG, D.G.; PARISH, R.C.; QUACH, R. Virginiamycin effect on rumen fermentation in cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.51, suppl. 1, p.366-367, 1980. Abstract.

HRISTOV, A.N.; MCALLISTER, T.A.; OLSON, M.E.; CHENG, K.J.; YANKE, L.J.; SHELFORD, J.A. Effect of Tween 80 and salinomycin on ruminal fermentation and nutrient digestion in steers fed a diet containing 70% barley. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v.80, n.2, p.363-372, 2000.

KNOWLTON, K.F.; ALLEN, M.S.; ERICKSON, P.S. Lasalocid and particle size of corn grain for dairy cows in early lactation. 2. Effect on ruminal measurements and feeding behavior. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.79, n.4, p.565-574, 1996.

KNUDSEN, K.E.B. Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdã, v.67, n.4, p.319-338, 1997.

KRAJCARSKI-HUNT, H.; PLAIZIER, J.C.; WALTON, J.P.; SPRATT, R.; MCBRIDE, B.W. Short communication: Effect of subacute ruminal acidosis on *in situ* fiber digestion in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.85, n.3, p.570-573, 2002.

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.

LANNA, D.P.D.; ALMEIDA, R.; NEPOMUCENO, N.H.C.; BARIONI, L.G.; CAIXETA FILHO, J.V.; HOFFMANN, B.M.; CALEGARE, L.N.P. **RLM 3.2 - Ração de Lucro Máximo,** 2010. Disponível em: <http://www.integrasoftware.com.br>. Acesso em: 15 maio 2012.

LEEDLE, J.A.; BRYANT, M.P.; HESPELL, R.B. Diurnal variations in bacterial numbers and fluid parameters in ruminal contents of animals fed low- or high-forage diets. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.44, n.2, p.402-412, 1982.

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T.M.; VAN SOEST, P.J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdã, v.57, n.4, p.347-358, 1996.

MAEKAWA, M.; BEAUCHEMIN, K.A.; CHRISTENSEN, D.A. Chewing activity, saliva production, and ruminal pH of primiparous and multiparous lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.85, n.5, p.1176-1182, 2002.

MARUTA, C.A.; ORTOLANI, E.L. Susceptibilidade de bovinos das raças Jersey e Gir à acidose láctica ruminal: II - Acidose metabólica e metabolização do Lactato-L. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.32, n.1, p.61-65, 2002.

McALLISTER, T.A.; ANNETT, C.B.; OLSON, M.E.; MORCK, D.W.; CHENG, K.J. Effect of salinomycin on giardiasis and coccidiosis in growing lambs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.74, n.12, p.2896-2903, 1996.

McALLISTER, T.A.; MOUSTAFA, S.M.S.; CHENG, K.J.; NEWBOLD, C.J.; MCKAIN, N.; WALLACE, R.J. Effect of salinomycin on fermentation and nitrogen metabolism in the artificial rumen. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v.74, n.3, p.575-578, 1994.

McCLURE, W.H.; FONTENOT, J.P.; WEBB, K.E.; LUCAS, D.M. Feedlot performance of cattle fed different salinomycin levels. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.51, suppl.1, p.380, 1980. Abstract.

MEHRES, A.Z.; ØRSKOV, E.R. A study of artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. **Journal of Agriculture Science**, Cambridge, v.88, n.3, p.645-650, 1977.

MERCHEN, N.R.; BERGER, L.L. Effect of salinomycin level on nutrient digestibility and ruminal characteristics of sheep and feedlot performance of cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.60, n.5, p.1338-1346, 1985.

MILLEN, D.D.; PACHECO, R.D.L.; ARRIGONI, M.D.B.; GALYEAN, M.L.; VASCONCELOS, J.T. A snapshot of management practices and nutritional recommendations used by feedlot nutritionists in Brazil. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.87, n.10, p.3427-3439, 2009.

MILLEN, D.D.; PACHECO, R.D.L.; MEYER, P.M.; RODRIGUES, P.H.M.; DE BENI ARRIGONI, M. Current outlook and future perspectives of beef production in Brazil. **Animal Frontiers**, Champaign, v.1, n.2, p.46-52, 2011.

MOGENTALE, S.M.; SILVA, E.J.A.; MEYER, P.M.; MARINO, C.T.; SUCUPIRA, M.C.A.; DEMARCHI, J.J.A.A.; RODRIGUES, P.H.M. Effects of flavomycin on ruminal fermentation, in situ degradability and in vivo digestibility in bovine fed sugarcane diets. **American Journal of Animal and Veterinary Sciences**, Nova York, v.5, n.2, p.76-85, 2010.

MURRAY, P.J.; ROWE, J.B.; AITCHISON, E.M.; WINSLOW, S.G. Liveweight gain and wool growth in sheep fed rations containing virginiamycin. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Melbourne, v.32, n.8, p.1037-1043, 1992.

NAGARAJA, T.G.; TAYLOR, M.B. Susceptibility and resistance of ruminal bacteria to antimicrobial feed additives. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.53, n.7, p.1620-1625, 1987.

NAGARAJA, T.G.; GODFREY, S.I.; WINSLOW, S.W.; 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, n.6, p.1137-1147, 1995.

NAGARAJA, T.G.; TAYLOR, M.B.; HARMON, D.L.; BOYER, J.E. In vitro lactic acid inhibition and alterations in volatile fatty acid production by antimicrobial feed additives. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.65, n.4, p.1064-1076, 1987.

NAGARAJA, T.G.; AVERY, T.B.; BARTLEY, E.E.; GALITZER, S.J.; DAYTON, A.D. Prevention of lactic acidosis in cattle by lasalocid or monensin. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.53, n.1, p.206-216, 1981.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of beef cattle.** 7th ed. Washington, D.C.: National Academic Press, 1996. 242 p.

NUÑEZ, A.J.C. **Uso combinado de ionóforo e virginiamicina em novilhos Nelore confinados com dietas de alto concentrado.** 2008. 67p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

OLUMEYAN, D.B.; NAGARAJA, T.G.; MILLER, G.W.; FREY, R.A.; BOYER, J.E. Rumen microbial changes in cattle fed diets with or without salinomycin. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.51, n.2, p.340-345, 1986.

OSBORNE, J.K.; MUTSVANGWA, T.; ALZAHAL, O.; DUFFIELD, T.F.; BAGG, R.; DICK, P.; VESSIE, G.; MCBRIDE, B.W. Effects of monensin on ruminal forage degradability and total tract diet digestibility in lactating dairy cows during grain-induced subacute ruminal acidosis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.87, n.6, p.1840-1847, 2004.

ØRSKOV, E.R.; McDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v.92, n.2, p.499-503, 1979.

ØRSKOV, E.R.; HOVELL, F.D.D.; MOULD, F. The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. **Tropical Animal Production**, Santo Domingo, v.5, n.3, p.195-213, 1980.

POOS, M.I.; HANSON, T.L.; KLOPFENSTEIN, T.J. Monensin effects on diet digestibility, ruminal protein bypass and microbial protein synthesis. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.48, n.6, p.1516-1524, 1979.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. **Clínica veterinária. Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüínos.** 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737 p.

REFFETT-STABEL, J.; SPEARS, J.W.; HARVEY, R.W.; LUCAS, D.M. Salinomycin and lasalocid effects on growth rate, mineral metabolism and ruminal fermentation in steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.67, n.10, p.2735-2742, 1989.

RODRIGUES, P.H.M.; LUCCI, C.S.; MELOTTI, L. Efeitos da lasalocida sódica e proporção volumoso/concentrados sobre a degradabilidade *in situ* do farelo de soja e do feno Coast Cross (*Cynodon dactylon*) em vacas secas. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.37, n.3, p.259-264, 2000.

ROGERS, J.A.; BRANINE, M.E.; MILLER, C.R.; WRAY, M.I.; BARTLE, S.J.; PRESTON, R.L.; GILL, D.R.; PRITCHARD, R.H.; STILBORN, R.P.; BECHTOL, D.T. Effects of dietary virginiamycin on performance and liver abscess incidence in feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.73, n.1, p.9-20, 1995.

SALINAS-CHAVIRA, J.; LENIN, J.; PONCE, E.; SANCHEZ, U.; TORRENTERA, N.; ZINN, R.A. Comparative effects of virginiamycin supplementation on characteristics of growth-performance, dietary energetics, and digestion of calf-fed Holstein steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.87, n.12, p.4101-4108, 2009.

SANTINI, F.J.; LU, C.D.; POTCHOIBA, M.J.; FERNANDEZ, J.M.; COLEMAN, S.W. Dietary fiber and milk yield, mastication, digestion, and rate of passage in goats fed afalfa hay. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.75, n.1, p.209-219, 1992.

SILVA, S.L.; ALMEIDA, R.; SCHWAHOFER, D.; LEME, P.R.; LANNA, D.P.D. Effects of salinomycin and virginiamycin on performance and carcass traits of feedlot steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.82, suppl. 1, p.41-42, 2004. Abstract.

SIMPSON, M.E. Effects of certain antibiotics in vitro cellulose digestibility and volatile fatty acid (VFA) production by ruminal microorganisms. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.47, suppl. 1, p.429, 1978. Abstract.

SKRIVANOVÁ, V.; MAROUNEK, M.; ŠIMUNEK, J.; BENDA, V. Effect of virginiamycin on digestibility of nutrients, blood and immunologic parameters, and quality of meat in veal calves. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v.123, n.02, p.275-278, 1994.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **SAS/STAT.**: guide of personal computers. Version 9.0. Cary, 2002. 1 v.

VAGNONI, D.B.; CRAIG, W.M.; GATES, R.N.; WYATT, W.E.; SOUTHERN, L.L. Monensin and ammoniation or urea supplementation of bermudagrass hay diets for steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.73, n.6, p.1793-1802, 1995.

VAN NEVEL, C.J.; DEMEYER, D.I. Effect of monensin on rumen metabolism in vitro. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.34, n.3, p.251-257, 1977.

VAN NEVEL, C.J.; DEMEYER, D.I. Influence of antibiotics and a deaminase inhibitor on volatile fatty acids and methane production from detergent washed hay and soluble starch by rumen microbes in vitro. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdã, v.37, n.1-2, p.21-31, 1992.

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

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.

WEBB, K.E.; FONTENOT, J.P.; LUCA, D.M. Metabolism studies in steers fed different levels of salinomycin. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.51, suppl. 1, p.407, 1980. Abstract.

WEISS, W.P.; CONRAD, H.R.; ST PIERRE, N.R. A theoretically-based model for predicting total digestible nutrient values of forages and concentrates. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdã, v.39, n.1-2, p.95-110, 1992.

ZINN, R.A. Effect of salinomycin supplementation on characteristics of digestion and feedlot performance of cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.63, n.6, p.1996-2004, 1986.

3 NÍVEIS DE CONCENTRADO E USO COMBINADO DE IONÓFORO E VIRGINIAMICINA SOBRE O METABOLISMO, A DIGESTIBILIDADE E O COMPORTAMENTO INGESTIVO DE NOVILHOS NELORE CONFINADOS

Resumo

O presente estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar os efeitos do uso combinado de salinomicina e virginiamicina sobre o metabolismo ruminal, a digestibilidade, o comportamento ingestivo e as características sanguíneas de novilhos Nelore alimentados com dietas contendo dois níveis de concentrado. Oito novilhos Nelore (434 ± 35 kg de peso vivo inicial) foram alocados no delineamento em quadrado latino 4 x 4 replicado, com quatro tratamentos em quatro períodos de 21 dias. Os tratamentos foram arranjados em esquema fatorial 2 x 2, com dois níveis de concentrado (70 e 90%) e dois níveis de virginiamicina (0 e 15 ppm) na matéria seca (MS) da dieta. A salinomicina foi incluída em todos as dietas (13 ppm), que foram fornecidas diariamente às 08h00 para determinação do consumo individual. A degradabilidade ruminal *in situ* foi determinada por meio da técnica de sacos de náilon e o comportamento ingestivo foi avaliado pelo monitoramento visual das atividades de mastigação dos animais. A digestibilidade aparente foi obtida por meio da coleta total de fezes, enquanto a fermentação ruminal foi avaliada pela determinação das concentrações de ácidos graxos de cadeia curta, nitrogênio amoniacal, lactato e pH do rúmen. As contagens de protozoários ciliados ruminais foram realizadas com auxílio de microscópio óptico, enquanto as determinações sanguíneas foram realizadas com auxílio de analisador automático. As análises estatísticas foram realizadas pelo procedimento MIXED do SAS. O aumento no teor de concentrado das dietas promoveu aumento ($P = 0,01$) no consumo de MS, entretanto, não houve efeito de virginiamicina sobre essa variável. As degradabilidades efetiva (DE) e potencial (DP) da fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), bem como a DE da proteína bruta (PB) foram reduzidas ($P < 0,01$) com o aumento no nível de concentrado das dietas. A DP da MS do milho também foi menor ($P < 0,01$) para os novilhos tratados com 90% de concentrado. Animais tratados com ambos os aditivos apresentaram menor ($P = 0,03$) DE da FDN. Os novilhos do tratamento com 90% de concentrado apresentaram maiores ($P < 0,01$) digestibilidades aparentes da MS e da PB em relação àqueles tratados com 70% de concentrado, enquanto a digestibilidade aparente do amido foi reduzida ($P = 0,05$) com a inclusão de virginiamicina nas rações. As concentrações ruminais de acetato foram reduzidas ($P \leq 0,01$) tanto pelo aumento no teor de concentrado como pela inclusão de virginimicina nas dietas. Houve aumento ($P < 0,01$) nas concentrações de propionato e redução ($P < 0,01$) nas concentrações de butirato com a inclusão de virginiamicina nas dietas dos animais tratados com 90% de concentrado. O aumento no teor de concentrado promoveu redução ($P < 0,01$) nos tempos totais de ruminação e mastigação dos animais, bem como na população de protozoários ciliados do rúmen e no pH sanguíneo. O uso combinado de salinomicina e virginiamicina apresentou efeitos positivos sobre a fermentação ruminal, especialmente quando a dieta com maior proporção de concentrado foi utilizada. No entanto, os efeitos benéficos da combinação dos aditivos sobre as demais características avaliadas não foram demonstrados.

Palavras chave: Antibiótico; Confinamento; Gado de corte; Salinomicina; Nutrição.

Abstract

The current study was conducted to evaluate the effects of the combined use of salinomycin and virginiamycin on ruminal metabolism, digestibility, feeding behavior, and blood characteristics of Nellore steers fed diets with different concentrate levels. Eight Nellore steers (434 ± 35 kg of initial body weight) were allotted to a replicated 4 x 4 Latin square, with four treatments and four 21-day periods. Treatments were arranged in a 2 x 2 factorial design, with two concentrate levels (70 and 90%) and two virginiamycin levels (0 and 15 ppm) in the diet dry matter (DM). Salinomycin was included in all diets (13 ppm), which were delivered daily at 08h00 to determine individual intake. In situ ruminal degradability was determined using the nylon bag technique and feeding behavior was determined by visually monitoring chewing activity of the animals. Apparent digestibility was obtained by total fecal collection, whereas ruminal fermentation was evaluated by determining rumen concentrations of short chain fatty acids, ammonia nitrogen, lactate, and rumen pH. Ciliated protozoa counts were performed using an optical microscope and blood characteristics were determined using an automatic analyzer. Statistical analyses were conducted using the MIXED procedure of SAS. Increasing concentrate levels increased ($P = 0.01$) DM intake, but no effects of virginiamycin were observed for this variable. Effective and potential degradabilities (ED and PD, respectively) of the neutral detergent fiber (NDF) and ED of the crude protein (CP) were reduced ($P < 0.01$) as dietary concentrate levels increased. Potential degradability of the corn DM was also lower ($P < 0.01$) for steers fed the 90% concentrate diet. Animals receiving both feed additives showed lower ($P = 0.03$) ED of the NDF. Steers from the 90% concentrate treatment showed higher ($P < 0.01$) DM and CP apparent digestibilities when compared with those receiving the 70% concentrate diet, whereas starch apparent digestibility was reduced due to the inclusion of virginiamycin in the rations. Ruminal concentrations of acetate were reduced ($P \leq 0.01$) as concentrate level increased and also due to the inclusion of virginiamycin in the diets. Ruminal concentrations of propionate were increased ($P < 0.01$), whereas butyrate concentrations were decreased ($P < 0.01$) with the inclusion of virginiamycin in the diets of animals from the 90% concentrate treatment. Increasing concentrate levels decreased ($P < 0.01$) total time spent ruminating and total time spent chewing, as well as ciliated protozoa counts and blood pH. The combined use of salinomycin and virginiamycin showed positive effects on ruminal fermentation, especially when animals were fed the higher concentrate diet. However, the beneficial effects of using both feed additives in combination on the other characteristics were not demonstrated.

Keywords: Antibiotic; Beef cattle; Feedlot; Nutrition; Salinomycin.

3.1 Introdução

A pecuária brasileira é caracterizada pela produção em sistemas de pastagens tropicais (MILLEN et al., 2011), e está sujeita a decréscimos na produtividade devido ao menor acúmulo de forragens em períodos em que há redução na pluviosidade, temperatura e disponibilidade de luz. Dessa forma, o confinamento de bovinos se torna importante ferramenta de manejo para garantir a

manutenção da produtividade e o fornecimento de matéria-prima de qualidade para a indústria no período de entressafra.

Com o aumento no número de animais confinados, o fornecimento de dietas com elevada proporção de concentrado se torna prática comum, sendo que a utilização de rações com mais de 75% de grãos já é uma realidade em diversos confinamentos comerciais no Brasil (MILLEN et al., 2011). Entretanto, a grande maioria dos animais confinados no país é composta por zebuínos da raça Nelore ou anelorados (MILLEN et al., 2009), que podem apresentar maior tendência ao desenvolvimento de desordens metabólicas em relação às raças taurinas quando alimentados com dietas de alto concentrado (BRAWNER et al., 1969; ELAM, 1976).

Assim, é importante que a pesquisa desenvolva estratégias que viabilizem o fornecimento de dietas com alta proporção de grãos para raças zebuínas com segurança. Nesse atual cenário, o uso de antibióticos ionóforos e não ionóforos como aditivos alimentares é uma ferramenta de manejo nutricional que merece destaque. Ao atuarem sobre as bactérias gram-positivas do rúmen, principais produtoras de ácido acético, butírico e lático, e selecionarem as bactérias gram-negativas, responsáveis pela produção de propionato e utilização de lactato, esses aditivos promovem alterações na fermentação ruminal capazes de melhorar a eficiência de utilização da energia e de compostos nitrogenados, bem como reduzir a incidência de distúrbios metabólicos, como a acidose ruminal (BERGEN; BATES, 1984; NAGARAJA; TAYLOR, 1987).

A salinomicina é um antibiótico ionóforo muito utilizado como aditivo em dietas de bovinos de corte, com capacidade de promover melhora na fermentação ruminal (MERCHEN; BERGER, 1985; REFFETT-STABEL et al., 1989) e no desempenho animal (McCLURE et al., 1980; MERCHEN; BERGER, 1985). A virginiamicina é um antibiótico não ionóforo que também atua sobre a fermentação ruminal (NAGARAJA; TAYLOR, 1987) e promove melhora no desempenho (ROGERS et al., 1995; SALINAS-CHAVIRA et al., 2009), apresentando maior redução na produção de lactato quando comparada aos antibióticos ionóforos (COE et al., 1999).

A utilização de antibióticos ionóforos e não ionóforos isoladamente vem sendo estudada há diversos anos, com resultados positivos consistentes na viabilização de dietas de alto concentrado para bovinos confinados. Contudo, pesquisas recentes têm indicado a possibilidade de efeito sinérgico sobre o desempenho animal com o uso combinado de virginiamicina e ionóforo (SILVA et al., 2004; NUÑEZ, 2008).

Adicionalmente, Nuñez (2008) observou, em virtude da redução na ocorrência de diarreia, que a combinação dos aditivos pode melhorar o ambiente ruminal de bovinos confinados. No entanto, essa eficácia aparentemente depende dos teores de concentrado utilizados, uma vez que os aditivos combinados foram capazes de reduzir a incidência de diarreia para animais tratados com ração contendo 73% de grãos, mas não para aqueles que receberam dieta com 91% de concentrado.

Dessa forma, o presente estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar os efeitos do uso combinado de salinomicina e virginiamicina sobre o metabolismo ruminal, a digestibilidade de nutrientes, o comportamento ingestivo e as características sanguíneas de novilhos Nelore alimentados com dietas contendo 70 ou 90% de concentrado na matéria seca (MS).

3.2 Material e métodos

Todos os procedimentos experimentais foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA/USP).

3.2.1 Animais, instalações e delineamento experimental

Oito novilhos da raça Nelore, portadores de cânulas ruminais, com aproximadamente 434 ± 35 kg de peso vivo ao início do experimento, foram alocados no delineamento em quadrado latino 4 x 4 replicado, com quatro tratamentos em quatro períodos. Os tratamentos foram arranjados em esquema fatorial 2 x 2, com dois níveis de concentrado (70 e 90%) e dois níveis de virginiamicina (0 e 15 ppm) na MS da dieta. Os tratamentos foram distribuídos aleatoriamente entre os animais em cada período, de modo que nenhum novilho recebesse a mesma dieta mais de uma vez.

O experimento foi conduzido no Estábulo Experimental do Departamento de Zootecnia da FZEA/USP, que possui baias individuais, com comedouros de cimento e bebedouros automáticos comuns a cada duas baias. Os animais foram confinados por quatro períodos de 21 dias, com 13 dias de adaptação seguidos por oito dias de coletas, entre os meses de março e junho de 2011.

3.2.2 Dietas basais e tratamentos

As dietas basais, com 70 ou 90% de concentrado na MS, foram formuladas com o auxílio do software de formulação de rações “Ração de Lucro Máximo 3.2” (RLM 3.2; LANNA et al., 2010) utilizando-se os seguintes ingredientes: silagem de cana-de-açúcar, milho moído, farelo de soja, farelo de trigo, calcário, ureia, núcleo mineral e cloreto de potássio (Tabela 3.1). A composição química dos ingredientes é apresentada na Tabela 3.2.

Tabela 3.1 - Composição das dietas basais com base na matéria seca

Ingredientes (%)	70% concentrado	90% concentrado
Silagem de cana-de-açúcar	30,00	10,00
Milho moído	49,55	71,50
Farelo de soja	9,50	6,30
Farelo de trigo	7,00	8,00
Calcário	1,50	1,80
Ureia	1,00	1,00
Núcleo mineral[1]	0,80	0,80
Cloreto de potássio	0,65	0,60
Composição química[2]		
NDT, *% MS*	73,25	79,38
ED, *Mcal/kg MS*	3,23	3,50
EM, *Mcal/kg MS*	2,65	2,87
EL_m, *Mcal/kg MS*	1,74	1,92
EL_g, *Mcal/kg MS*	1,12	1,28
Amido, *% MS*	32,88	46,60
PB, *% MS*	15,64	15,87
PDR, *% PB*	52,11	51,44
EE, *% MS*	2,63	3,17
FDN, *% MS*	31,04	18,91
FDNforragem, *% MS*	21,53	7,18

[1]Composição: 16% Ca; 9% P; 1,4% Mg; 1,5% S; 11,4% Na; 17% Cl; 4800 mg/kg Zn; 1500 mg/kg Cu; 1200 mg/kg Mn; 150 mg/kg Co; 90 mg/kg I; 36 mg/kg Se; 900 mg/kg F.
[2]NDT: nutrientes digestíveis totais; ED: energia digestível; EM: energia metabolizável; EL_m: energia líquida para mantença; EL_g: energia líquida para ganho; PB: proteína bruta; PDR: proteína degradável no rúmen; EE: extrato etéreo; FDN: fibra insolúvel em detergente neutro; $FDN_{forragem}$: fibra insolúvel em detergente neutro proveniente da forragem.

Os quatro tratamentos foram estabelecidos em função dos níveis de concentrado e virginiamicina utilizados nas dietas: 1) 70% de concentrado e 0 ppm de virginiamicina; 2) 70% de concentrado e 15 ppm de virginiamicina; 3) 90% de concentrado e 0 ppm de virginiamicina; 4) 90% de concentrado e 15 ppm de virginiamicina. Em todos os tratamentos utilizou-se o ionóforo salinomicina na concentração de 13 ppm.

Tabela 3.2 - Composição química dos ingredientes

Nutrientes[1]	Silagem de cana-de-açúcar	Milho moído	Farelo de soja	Farelo de trigo
MS, *%*	23,68	88,35	90,45	89,53
NDT, *% MS*	56,50	87,96	81,07	71,61
ED, *Mcal/kg MS*	2,49	3,88	3,57	3,16
EM, *Mcal/kg MS*	2,04	3,18	2,93	2,59
EL_m, *Mcal/kg MS*	1,19	2,18	1,97	1,69
EL_g, *Mcal/kg MS*	0,63	1,50	1,32	1,07
Amido, *% MS*	0,00	61,54	2,80	30,30
PB, *% MS*	3,59	11,12	52,32	18,30
PDR, *% PB*	52,00	49,00	62,18	75,30
EE, *% MS*	1,30	3,78	1,76	2,82
FDN, *% MS*	71,78	10,54	15,20	40,50
FDA, *% MS*	46,10	3,86	9,35	11,70
Lignina, *% MS*	6,40	0,80	1,04	3,71
NFDN, *% PB*	24,95	5,77	8,51	18,21
NFDA, *% PB*	22,51	7,81	7,89	4,29
MM, *%*	3,45	1,91	7,29	2,59

[1]MS: matéria seca; NDT: nutrientes digestíveis totais; ED: energia digestível; EM: energia metabolizável; EL_m: energia líquida para mantença; EL_g: energia líquida para ganho; PB: proteína bruta; PDR: proteína degradável no rúmen; EE: extrato etéreo; FDN: fibra insolúvel em detergente neutro; FDA: fibra insolúvel em detergente ácido; NFDN: nitrogênio ligado ao FDN; NFDA; nitrogênio ligado ao FDA; MM: matéria mineral.

3.2.3 Consumo individual

Tanto nos períodos de coleta como nos períodos de adaptação, foi realizado um trato diário às 08h00, no qual o concentrado era misturado à silagem nos cochos individuais, e em seguida a dieta completa era disponibilizada aos animais. Os aditivos foram adicionados à dieta completa por meio de mistura com fubá de milho (10 g mistura/kg MS). O consumo diário de MS foi obtido pela diferença entre a quantidade oferecida e as sobras, que foram quantificadas no dia seguinte. Procurou-se manter a quantidade de sobras na proporção de 5 a 10% do total oferecido, garantindo oferta *ad libitum* aos animais.

Amostras de silagem foram coletadas a cada dois dias para determinação da MS, com o objetivo de ajustar o consumo para uma proporção fixa de volumoso:concentrado. Amostras da dieta oferecida e das sobras foram coletadas três vezes por semana, e ao final de cada período constituíram amostras compostas por animal para determinações bromatológicas, que foram baseadas nas frações exigidas para estimar os nutrientes digestíveis totais (NDT) pela equação proposta por Weiss; Conrad e St Pierre (1992). Assim, foram determinados os teores de MS, matéria mineral (MM), extrato etéreo (EE) e proteína bruta (PB) de acordo com a

Association of Official Analytical Chemists - AOAC (1990); fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), fibra insolúvel em detergente ácido (FDA) e lignina de acordo com metodologia sugerida por Van Soest; Robertson e Lewis (1991), utilizando amilase nas determinações de FDN; nitrogênio ligado ao FDN (NFDN) e nitrogênio ligado ao FDA (NFDA) segundo Licitra; Hernandez e Van Soest (1996). Amostras da dieta oferecida e das sobras também foram analisadas para determinação dos teores de amido de acordo com Knudsen (1997).

O NDT foi estimado por meio da equação proposta por Weiss; Conrad e St Pierre (1992), apresentada na eq. 3.1. Os valores de NDT foram convertidos em energia digestível (ED) (eq. 3.2), energia metabolizável (EM) (eq. 3.3) e energia líquida para mantença (EL_m) (eq. 3.4) e ganho (EL_g) (eq. 3.5) de acordo com o National Research Council (1996). O consumo de cada nutriente foi obtido pela diferença entre o teor do nutriente no oferecido e nas sobras.

$$\begin{aligned} NDT = {} & 0{,}98(1000 - FDN_N - PB - MM - NFDA_i - EE) + \\ & k_{dPB}PB + 2{,}25(EE - 10) + \\ & 0{,}75(FDN_N - LIG)\left[1 - (\frac{LIG}{FDN_N})^{0{,}667}\right] - 70 \end{aligned} \quad (3.1)$$

Em que:

FDN_N = nitrogênio ajustado à fibra insolúvel em detergente neutro, %; FDN_N = FDN - NFDN + $NFDA_i$;

$NFDA_i$ = nitrogênio indisponível complexado à FDA, %; NFDAi = 0,7NFDA;

k_{dPB} = digestibilidade verdadeira da PB; k_{dPB} = exp(-0,0012NFDA), para forragens; k_{dPB} = 1- 0,0004NFDA, para concentrados.

$$1\ kg\ NDT = 4{,}409 Mcal\ ED \quad (3.2)$$

$$EM, Mcal/kg = 0{,}82ED\ (Mcal/kg) \quad (3.3)$$

$$EL_m, Mcal/kg = 1{,}37EM - 0{,}138EM^2 + 0{,}0105EM^3 - 1{,}12 \quad (3.4)$$

$$EL_g, Mcal/kg = 1{,}42EM - 0{,}174EM^2 + 0{,}0122EM^3 - 1{,}65 \quad (3.5)$$

3.2.4. Degradabilidade ruminal in situ

A determinação da degradabilidade ruminal *in situ* foi realizada de acordo com Mehres e Ørskov (1977), com o auxílio de sacos de náilon de 10 x 20 cm e poros de 50 µm (Ankom, R1020-10 x 20 cm, *forage bags*, 14502, NY, Estados Unidos). Os sacos de náilon foram identificados, pesados individualmente e, então, receberam amostras de aproximadamente 7 g de silagem de cana-de-açúcar ou 5 g de farelo de soja ou milho, previamente secas a 55°C por 72 h e moídas em moinho com peneira de 5 mm (silagem de cana-de-açúcar) ou 2 mm (farelo de soja e milho).

Os sacos de náilon foram inseridos no rúmen às 08h00 do primeiro dia de coleta e incubados durante 3, 6, 12, 24, 48 e 72 h para as amostras de farelo de soja e milho, e durante 12, 24, 48, 72, 96 e 120 h para as amostras de silagem de cana-de-açúcar. Após a retirada, os sacos foram lavados e secos em estufa a 55°C por 72 h. Para a obtenção do tempo zero, os sacos foram mergulhados em água aquecida a 39°C por 5 min e secos da mesma forma que aqueles incubados no rúmen.

Após a secagem, todos os sacos foram pesados, e a degradabilidade foi determinada em função do peso das amostras antes e após a incubação (eq. 3.6). Foram determinadas as degradabilidades da MS nas amostras de silagem de cana-de-açúcar, farelo de soja e milho (AOAC, 1990), PB nas amostras de farelo de soja (AOAC, 1990) e FDN nas amostras de silagem de cana-de-açúcar (VAN SOEST; ROBERTSON; LEWIS, 1991). As análises de FDN foram realizadas com a utilização de amilase.

$$DgMS\ (\%) = 100\ \times (\frac{(1-(PSPI-PSV)}{(PSAI-PSV)}) \qquad (3.6)$$

Em que:

DgMS (%) = degradabilidade da MS em porcentagem;

PSPI = peso do saco após incubação;

PSAI = peso do saco antes da incubação;

PSV = peso do saco vazio.

Os percentuais de degradabilidade da PB e FDN foram calculados por meio da mesma equação (eq. 3.6) utilizada para determinar a degradabilidade da MS,

sendo as diferenças (PSPI - PSV) e (PSAI - PSV) multiplicadas pelos respectivos teores de PB e FDN divididos por 100.

Os parâmetros de degradação foram estimados pelo modelo proposto por Ørskov e McDonald (1979) (eq. 3.7), e os valores de "a", "b" e "c" obtidos foram utilizados para calcular a degradabilidade potencial (DP) (eq. 3.8), que representa a quantidade de alimento solubilizado ou degradado no rúmen quando o tempo não é fator limitante, e a degradabilidade efetiva (DE) de acordo com Ørskov; Hovell e Mould (1980) (eq. 3.9), que representa a quantidade de alimento efetivamente degradado em função do tempo no qual o mesmo permanece no rúmen. Para o presente estudo, considerou-se a taxa de passagem de 5%/h de acordo com recomendação do Agricultural and Food Research Council (1993) para bovinos de corte em alto nível de alimentação, mas consumindo menos do que duas vezes a mantença.

$$Dg\ (\%)\ = a + (b \times (1 - e^{-ct})) \tag{3.7}$$

Em que:
Dg = quantidade degradada no tempo t;
a = fração rapidamente solúvel;
b = fração potencialmente degradável;
c = taxa horária de degradação da fração potencialmente degradável;
e = log natural de "-ct".

$$DP\ (\%)\ = a + b \tag{3.8}$$

Em que:
DP = degradabilidade potencial;

$$DE\ (\%) = a + (\frac{(b \times c)}{(c + k)}) \tag{3.9}$$

Em que:
DE = degradabilidade efetiva;
k = taxa de passagem da MS, %/h.

3.2.5 Digestibilidade aparente e características fecais

A digestibilidade aparente da MS, PB, amido e FDN foram determinadas por meio das concentrações desses nutrientes na ração consumida e nas fezes. Dessa forma, realizou-se a coleta total de fezes por três dias consecutivos (dias 6, 7 e 8 dos períodos de coleta), sendo as mesmas pesadas, homogeneizadas e amostradas em 5% do total excretado. As amostras foram congeladas (uma amostra por animal por período) para posteriores análises de MS e PB (AOAC, 1990), amido (KNUDSEN, 1997) e FDN (VAN SOEST; ROBERTSON; LEWIS, 1991) utilizando amilase. O cálculo da digestibilidade foi realizado por meio da equação a seguir (eq. 3.10).

$$Digest.aparente\ (\%) = \frac{(g\ nutriente\ consumido) - g\ nutriente\ nas\ fezes}{(g\ nutriente\ consumido)} \times 100 \qquad (3.10)$$

Nos dias de coleta total, às 08h00 e às 20h00, também foram realizadas medições do pH fecal. Imediatamente após a coleta, 4 g de fezes frescas foram misturadas a 4 mL de água deionizada e o pH foi determinado com auxílio de potenciômetro digital calibrado com soluções-tampão de pH 4,01 e 7,01.

3.2.6 Fermentação ruminal

Para as análises de fermentação ruminal, amostras de líquido foram coletadas do rúmen antes da alimentação (0 h) e 2, 4, 6 e 8 horas após o fornecimento das dietas, no quinto dia de coleta de cada período experimental. As determinações do pH ruminal foram realizadas em alíquotas de 100 mL das amostras, imediatamente após a coleta, com auxílio de potenciômetro digital calibrado com soluções-tampão de pH 4,01 e 7,01. As medições foram realizadas diretamente nas amostras de líquido ruminal.

Para as determinações das concentrações ruminais de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), alíquotas de 40 mL das amostras foram congeladas a -18°C, imediatamente após as coletas, para posterior análise. Os AGCC quantificados foram: acético, propiônico, isobutírico, butírico, isovalérico e valérico. No momento da análise, as amostras foram descongeladas e 1,0 mL de fluido ruminal, 0,250 mL de solução 3:1 de ácido metafosfórico 25% com ácido fórmico 98-100% e 0,125 mL de solução 100 mM de ácido 2-etil-butírico (padrão interno) foram pipetados em

microtubos de 1,5 mL e centrifugados (Eppendorf 5804R, Hamburgo, Alemanha) a 15000 x g por 30 min a 4°C. Após a centrifugação, cerca de 1,0 mL do sobrenadante foi transferido para *vials* cromatográficos, sendo 1 µL injetado em cromatógrafo gasoso (CG HP 7890A; Injetor HP 7683B, Agilent Technologies) equipado com coluna capilar HP-FFAP (19091F-112; 25 m; 0,320 mm; 0,50 µm; J & W Agilent Technologies). A injeção foi automática, sendo o H_2 o gás de arraste, mantido em um fluxo de 31,35 mL/min. A temperatura do injetor e do detector foi de 260°C. O tempo total da corrida cromatográfica foi de 16,5 min divididos em três rampas de aquecimento: 80°C (1 min), 120°C (20°C/min; 3 min) e 250°C (10°C/min; 2 min).

A curva de calibração externa foi determinada com padrões cromatográficos (Chem Service, West Chester, PA, EUA) de ácido acético (99,5%; CAS 64-19-97), propiônico (99%; CAS 79-09-4), isobutírico (99%; CAS 79-31-2), butírico (98,7%; CAS 107-92-6), isovalérico (99%; CAS 503-74-2) e valérico (99%; CAS 109-52-4). A solução-padrão de maior concentração continha 205,695 mM de ácido acético, 54,522 mM de ácido propiônico, 6,107 mM de ácido isobutírico, 46,266 mM de ácido butírico, 9,008 mM de ácido isovalérico e 8,910 mM de ácido valérico. As soluções-padrão subsequentes foram obtidas através de diluições da solução de maior concentração por 1/2, 1/4, 1/8 e 1/16. A preparação dos *vials* cromatográficos de soluções-padrão foi realizada da mesma forma que as amostras citadas anteriormente.

Para as análises de nitrogênio amoniacal, as amostras de líquido ruminal foram descongeladas e centrifugadas (Eppendorf 5804R, Hamburgo, Alemanha) a 1570 x g por 15 min a 24°C. Após a centrifugação, 5 mL do sobrenadante foram pipetados em tubos de digestão, e a destilação foi realizada com destilador micro-Kjeldahl, utilizando-se 10 mL de solução de tetraborato de sódio 5% no funil do aparelho e 10 mL de ácido bórico em balão de Erlenmeyer na saída do nitrogênio amoniacal. A titulação foi realizada utilizando-se ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0,05 N. O teor de nitrogênio amoniacal, em porcentagem, foi determinado por meio da eq. 3.11, e a conversão para mg/dL foi realizada ao multiplicar o valor obtido por 1000.

$$\%\ N\ amoniacal = \frac{(normalidade\ H_2SO_4 \times miliequivalente\ do\ N \times 100)}{(volume\ da\ amostra \times volume\ H_2SO_4)} \quad (3.11)$$

Em que:

Normalidade do H_2SO_4 = 0,05;

Miliequivalente do N = 0,014;

Volume da amostra = 5 mL;

Volume H_2SO_4 = volume de ácido sulfúrico, em mL, gasto na titulação.

As concentrações ruminais de ácido lático foram determinadas por meio de técnica colorimétrica. O reagente precipitante foi preparado por meio da adição de 23,29 mL de ácido fosfórico 85% P.A. em balão volumétrico de 1000 mL, e o volume completado com água deionizada. Para o preparo do reagente de cor, 1,5 g de hidroxi-bifenil foram adicionados em balão volumétrico de 100 mL, e o volume completado com dimetilformamida. As amostras de fluido do rúmen foram descongeladas e centrifugadas (Eppendorf 5804R, Hamburgo, Alemanha) a 15000 x g por 15 min a 4°C, e o sobrenadante foi transferido para microtubos de 1,5 mL. Em seguida, 100 µL de amostra foram transferidos dos microtubos para tubos de ensaio de 5 mL contendo 3,90 mL de reagente precipitante, com posterior homogeneização em agitador mecânico. De forma semelhante, o padrão foi preparado por meio da adição de 100 µL de solução de ácido lático 0,08% em tubo de ensaio de 5 mL contendo 3,90 mL de reagente precipitante, seguida de homogeneização em agitador mecânico.

As etapas seguintes foram conduzidas da mesma forma tanto para as amostras como para o padrão. Para a realização da reação de conversão de ácido lático a acetaldeído, 1 mL do sobrenadante foi transferido dos tubos de ensaio de 5 mL para tubos de ensaio de 10 mL, com posterior adição de 6 mL de H_2SO_4 concentrado (98% P.A.) e homogeneização em agitador mecânico. Os tubos foram colocados em banho-maria a 80°C por 3 min e esfriados em água corrente por 2 min. Em seguida, 100 µL de reagente de cor foram adicionados aos tubos, com posterior homogeneização e descanso por 10 min. Os tubos foram novamente colocados em banho-maria a 100°C por 3 min e esfriados em água corrente por 2 min. Finalmente, foi realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro (Nova-2000UV) a 565 nm, sendo a coloração obtida estável por no máximo 1 h. A

concentração de ácido lático, em porcentagem, foi obtida pela eq. 3.12, e a conversão para mM foi obtida pela multiplicação do valor obtido por 10000, com posterior divisão pelo peso molecular do ácido lático (90,08 g/mol).

$$\text{Ácido lático } (\%) = \frac{\text{Absorbância da amostra}}{\text{Absorbânia do padrão}} \times 0{,}08 \qquad (3.12)$$

3.2.7 Comportamento ingestivo

O comportamento ingestivo foi avaliado por meio do monitoramento visual da alimentação e da ruminação dos animais durante 24 h (MAEKAWA et al., 2002), com início às 08h00 do terceiro dia de coleta e término às 08h00 do quarto dia de coleta, em cada um dos períodos experimentais. As atividades de alimentação e ruminação foram anotadas a cada 5 min, assumindo-se que cada atividade persistiu pelo próximo intervalo de 5 min. Um evento de alimentação foi definido como no mínimo 5 min de atividade de alimentação seguido por, no mínimo, 5 min de outra atividade. A soma de todos os eventos de alimentação representa o número diário de eventos de alimentação (NEA; eventos/dia). O número diário de eventos de ruminação (NER; eventos/dia) foi definido da mesma forma.

O tempo total de alimentação (TTA; min/dia) foi definido como a soma dos tempos de cada um dos eventos com no mínimo 5 min de duração nos quais o animal passou se alimentando. O tempo médio de alimentação por evento (TAE; min/evento) foi obtido pelo TTA dividido pelo NEA. O tempo total de ruminação (TTR; min/dia), da mesma forma, foi definido como a soma dos tempos de cada um dos eventos de ruminação, enquanto o tempo médio de ruminação por evento (TRE; min/evento) foi obtido pela razão entre o TTR e o NER. O tempo total de mastigação (TTM; min/dia) foi calculado pela soma do TTA e do TTR. O número diário de eventos de mastigação (NEM; eventos/dia) foi obtido pela soma do NEA e do NER, enquanto o tempo médio de mastigação por evento (TME; min/evento) foi calculado pela razão entre o TTM e o NEM. O tempo total em ócio (TTO; min/dia) foi obtido pelo TTM subtraído do período total de 24 h (1440 min).

A taxa de ingestão (TI_{MS} e TI_{FDN} da MS e FDN, respectivamente; g/min) foi calculada pelo consumo de MS ou FDN no dia da avaliação dividido pelo TTA. A taxa de ingestão por evento (TIE_{MS} e TIE_{FDN} da MS e FDN, respectivamente; g/evento) foi determinada como sendo a razão entre o consumo de MS ou FDN no

dia da avaliação e o NEA. Também foram determinadas as taxas de ruminação (TR_{MS} e TR_{FDN} da MS e FDN, respectivamente; min/kg) e mastigação (TM_{MS} e TM_{FDN} da MS e FDN, respectivamente; min/kg) da MS e FDN, em que o TTR ou o TTM foram divididos pelas quantidades ingeridas desses nutrientes no dia da avaliação.

3.2.8 Protozoários ciliados

Foram realizadas coletas de líquido ruminal, antes da alimentação e 4 h após, no quinto dia do período de coletas, para identificação e contagem dos seguintes gêneros de protozoários ciliados: *Entodinium*, *Diplodinium*, *Isotricha*, *Dasytricha*, *Eudiplodinium, Epidinium* e *Ostracodinium.* Para tanto, alíquotas de 10 mL de líquido ruminal foram transferidas para frascos de vidro contendo 20 mL de solução de formaldeído 37%, e permaneceram em repouso até o momento das análises. O preparo das amostras foi realizado de acordo com metodologia proposta por Dehority (2003), e a contagem foi realizada por meio de microscópio óptico comum provido de retículo com área de 0,4362 mm^2.

3.2.9 Características sanguíneas

No sexto dia de coleta, 2 h após a alimentação, amostras de sangue foram coletadas da veia jugular dos animais. O sangue foi colhido em seringa plástica sem a adição de anticoagulante, e utilizado imediatamente em analisador automático portátil i-STAT, equipado com cartucho CG4+ (i-STAT system; Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, Estados Unidos). Foram realizadas determinações de pH, concentração de lactato e concentração de bicarbonato (HCO_3) do sangue.

3.2.10 Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa estatístico computacional SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM, 2002), e os resultados foram analisados como quadrado latino 4 x 4 replicado, em esquema fatorial 2 x 2 de tratamentos, sendo cada animal em cada período e em cada quadrado considerado a unidade experimental. A normalidade dos resíduos foi verificada pelo Teste de Shapiro-Wilk (procedimento UNIVARIATE), e os dados que não apresentaram distribuição normal foram submetidos à transformação logarítmica de base 10, inversa ou pela raiz quadrada. Os resultados foram analisados pelo procedimento MIXED e as médias dos tratamentos foram ajustadas pelo método dos quadrados

mínimos (LSMEANS). Quando observada diferença significativa pelo teste F ($P \leq 0,05$), as médias foram separadas pelo teste t de Student (PDIFF). Tendências foram discutidas quando $0,05 < P < 0,10$.

Para medidas não repetidas no tempo, o modelo incluiu os efeitos aleatórios de animal dentro de quadrado, período e quadrado, e os efeitos fixos de nível de concentrado, nível de virginiamicina e da interação nível de concentrado x nível de virginiamicina. Para medidas repetidas no tempo, o modelo incluiu os efeitos aleatórios de animal dentro de quadrado, período e quadrado, e os efeitos fixos de nível de concentrado, nível de virginiamicina, tempo de coleta e das interações nível de concentrado x nível de virginiamicina, nível de concentrado x tempo de coleta, nível de virginiamicina x tempo de coleta e nível de concentrado x nível de virginiamicina x tempo de coleta.

3.3 Resultados e discussão

3.3.1 Consumo de nutrientes

Houve efeito ($P < 0,01$) de nível de concentrado sobre o consumo de MS (CMS), de forma que os animais tratados com 90% de concentrado apresentaram consumo 6,5% superior em relação àqueles alimentados com 70% de concentrado (Tabela 3.3). Essa diferença sugere que uma limitação física no consumo, resultante do maior teor de FDN na dieta (Tabela 3.1), pode ter ocorrido para os animais do tratamento com 70% de concentrado. No entanto, esses resultados não eram esperados para a faixa de NDT observada no presente estudo (73,25 e 79,38% para as dietas com 70 e 90% de concentrado, respectivamente). De acordo com Van Soest (1994), maiores consumos são observados quando o NDT da dieta se encontra ao redor de 67%, mas esse valor pode ser ainda menor para bovinos da raça Nelore (VÉRAS et al., 2000; ALMEIDA; LANNA, 2003). O aumento no teor energético da dieta faz com que um menor consumo forneça a mesma quantidade de energia, e as exigências dos animais passem a ser atendidas com menor ingestão de alimentos. Assim, era esperado que o maior teor de NDT da dieta com 90% de concentrado promovesse redução no CMS.

Os consumos de NDT, ED, EM e amido também apresentaram valores superiores ($P < 0,01$) para animais tratados com 90% de concentrado (Tabela 3.3), o que ocorreu em razão do maior CMS associado aos maiores teores de NDT, ED, EM

e amido da dieta (Tabela 3.1). O consumo de PB também foi maior (P = 0,01) para os novilhos do tratamento com 90% de concentrado, mas isso se deve principalmente ao maior CMS para esses animais, uma vez que o teor de PB das duas dietas era semelhante. No entanto, apesar do menor CMS, o consumo de FDN foi maior (P < 0,01) para os animais tratados com 70% de concentrado, fato que ocorreu em razão do maior teor desse nutriente na dieta.

Tabela 3.3 - Efeitos dos níveis de concentrado e virginiamicina sobre as variáveis de consumo e digestibilidade aparente

Item[1]	Tratamento[2]				EPM[3]	Valor de P[4]		
	Nível Conc (%)		Nível VM (ppm)			Conc	VM	Conc x VM
	70	90	0	15				
CMS, *kg/dia*	7,73	8,23	7,92	8,04	0,19	0,01	0,34	0,56
CNDT, *kg/dia*	5,72	6,53	6,07	6,17	0,16	<0,01	0,30	0,49
CED, *Mcal/dia*	25,20	28,78	26,78	27,20	0,70	<0,01	0,30	0,50
CEM, *Mcal/dia*	20,66	23,60	21,96	22,30	0,57	<0,01	0,29	0,48
CPB, *kg/dia*	1,24	1,32	1,27	1,29	0,03	0,01	0,33	0,54
CFDN, *kg/dia*	2,28	1,57	1,91	1,94	0,07	<0,01	0,24	0,60
CAmido, *kg/dia*	2,58	3,78	3,15	3,21	0,13	<0,01	0,19	0,36

[1]CMS = consumo de matéria seca; CNDT = consumo de nutrientes digestíveis totais, CEM = consumo de energia metabolizável; CPB = consumo de proteína bruta; CFDN = consumo de fibra insolúvel em detergente neutro; CAmido = consumo de amido. [2]Nível Conc = nível de concentrado na MS; Nível VM = nível de virginiamicina na MS. [3]Erro padrão da média. [4]Conc = efeito do nível de concentrado; VM = efeito do nível de virginiamicina; Conc x VM = efeito da interação nível de concentrado x nível de virginiamicina.

De forma semelhante, ao avaliarem dietas com diferentes níveis de concentrado na MS (73, 79 e 85%) e bagaço de cana-de-açúcar como fonte de volumoso, Leme et al. (2003) observaram aumento linear no CMS de novilhos Nelore com o aumento no teor de concentrado das dietas. Nuñez (2008) também observou maior CMS para novilhos Nelore alimentados com dieta contendo 91% de concentrado na MS em relação ao grupo de animais tratados com dieta com 73% de concentrado.

Por outro lado, Silva et al. (2002) relataram comportamento quadrático para o CMS em porcentagem de peso vivo de bovinos da raça Nelore alimentados com

níveis crescentes de concentrado na dieta (20, 40, 60 ou 80%), sendo que o consumo máximo estimado foi obtido com 42,6% de concentrado. Similarmente, ao avaliarem a inclusão de níveis crescentes de concentrado nas dietas de novilhos Nelore, Putrino et al. (2007) também observaram comportamento quadrático para o CMS em porcentagem de peso vivo, com o maior valor observado para o nível de concentrado de 40%.

Não houve efeito de nível de virginiamicina sobre nenhuma das variáveis de consumo avaliadas. A utilização de antibióticos como aditivos alimentares para ruminantes promove aumento na disponibilidade energética dos alimentos. Em dietas de alto concentrado, essa maior disponibilidade de energia geralmente promove redução no CMS, uma vez que a ingestão é regulada pelas exigências energéticas dos animais, que passam a ser atendidas com menores quantidades de alimentos (LANNA; MEDEIROS, 2007). No presente estudo, a ausência de efeito da inclusão de virginiamicina sobre o CMS sugere que não houve limitação na ingestão devido ao suprimento das demandas energéticas dos animais, fato confirmado pelo maior CMS observado para o tratamento com 90% de concentrado.

De forma semelhante, Rogers et al. (1995), ao realizarem diversos experimentos para avaliar os efeitos da inclusão de virginiamicina sobre o desempenho de bovinos confinados, observaram que a inclusão do antibiótico melhorou a conversão alimentar, mas sem afetar o CMS. Salinas-Chavira et al. (2009) também não relataram diferenças no CMS de novilhos Holandeses alimentados com dieta de alto concentrado e suplementados com níveis crescentes de virginiamicina. Por outro lado, Nuñez (2008) observou redução no CMS de novilhos Nelore confinados com dietas de alto concentrado e suplementados com virginiamicina e salinomicina em combinação em relação aos animais que receberam apenas o ionóforo.

3.3.2 Degradabilidade ruminal in situ

Houve tendência de redução na fração rapidamente solúvel ("fração a") (P = 0,08) e na DE (P = 0,06) da MS da silagem de cana-de-açúcar para os animais tratados com 90% de concentrado em relação ao tratamento com 70% de grãos (Tabela 3.4). Além disso, a fração potencialmente degradável ("fração b"), a DE e a DP da FDN da silagem de cana-de-açúcar foram menores (P < 0,01) para os

animais do grupo com 90% de concentrado em relação aos novilhos do tratamento com 70% de concentrado.

Tabela 3.4 - Efeitos dos níveis de concentrado e virginiamicina sobre degradabilidade da matéria seca e da fibra insolúvel em detergente neutro da silagem de cana-de-açúcar

Item[1]	Tratamento[2]				EPM[3]	Valor de P[4]		
	Nível Conc (%)		Nível VM (ppm)			Conc	VM	Conc x VM
	70	90	0	15				
	Degradabilidade da MS							
Fração a, *%*	22,46	21,73	21,91	22,28	0,22	0,08	0,35	0,26
Fração b, *%*	34,69	14,32	23,93	25,09	2,09	<0,01	0,51	0,02
Taxa c, *%/h*	2,59	2,28	2,93	1,95	0,22	0,43	0,02	0,91
DE, *%*	33,20	25,91	30,31	28,80	0,74	0,06	0,54	0,68
DP, *%*	57,18	36,05	45,84	47,40	2,19	<0,01	0,42	0,02
	Degradabilidade da FDN							
Fração a, *%*	4,99	5,07	4,87	5,19	0,37	0,88	0,53	0,72
Fração b, *%*	40,27	16,97	28,57	28,68	2,57	<0,01	0,96	0,31
Taxa c, *%/h*	2,62	2,36	2,61	2,37	0,32	0,71	0,73	0,33
DE, *%*	17,83	9,50	14,53	12,80	0,94	<0,01	0,03	0,31
DP, *%*	48,68	23,59	35,23	37,04	3,12	<0,01	0,79	0,07

[1]Fração a = fração rapidamente solúvel; Fração b = fração potencialmente degradável; Taxa c = taxa horária de degradação da fração potencialmente degradável; DE = degradabilidade efetiva (considerando uma taxa de passagem de 5%/h); DP = degradabilidade potencial. [2]Nível Conc = nível de concentrado na MS; Nível VM = nível de virginiamicina na MS. [3]Erro padrão da média. [4]Conc = efeito do nível de concentrado; VM = efeito do nível de virginiamicina; Conc x VM = efeito da interação nível de concentrado x nível de virginiamicina.

O aumento no teor de carboidratos rapidamente fermentáveis em dietas de bovinos apresenta efeitos negativos sobre a degradabilidade da fibra, o que pode ocorrer devido a diversos fatores: 1) preferência dos microrganismos ruminais por carboidratos não fibrosos em detrimento dos carboidratos fibrosos; 2) redução no pH ruminal devido à rápida fermentação dos carboidratos não fibrosos, com consequente diminuição na atividade celulolítica das bactérias; 3) competição dos microrganismos ruminais por nutrientes essenciais, com vantagem das bactérias amilolíticas sobre as celulolíticas (HOOVER, 1986).

Os efeitos do pH ruminal sobre a degradabilidade da fibra podem ocorrer em duas etapas, sendo que reduções no pH para valores superiores a 6,0 promovem diminuição moderada na degradação da fração fibrosa, enquanto reduções para valores inferiores a 6,0 causam inibição severa na degradação desse componente (MOULD; ØRSKOV; MANN, 1983). No presente estudo, os valores médios do pH ruminal foram de 6,36 e 6,02 para os animais dos tratamentos com 70 e 90% de concentrado, respectivamente. Ainda assim, as reduções na DE e na DP da FDN com o aumento no teor de concentrado das dietas foram da ordem de 46,7 e 51,5%, respectivamente.

Resultados semelhantes foram relatados por Mould e Ørskov (1983), que observaram redução parcial na degradação da celulose em ovinos quando o pH ruminal passou de 6,6 para 6,2. No entanto, quando o pH do rúmen foi reduzido para valores inferiores a 6,0, a degradação da fibra foi totalmente inibida. Diversos autores também observaram que a inclusão de carboidratos rapidamente fermentáveis em dietas de ruminantes promove redução na degradação ruminal da fibra tanto *in vitro* (MERTENS; LOFTEN, 1980; HILTNER; DEHORITY, 1983) quanto *in vivo* (VAN DER LINDEN; VAN GYLSWYK; SCHWARTZ, 1984; MILLER; MUNTIFERING, 1985).

Não houve efeito da inclusão de virginiamicina em dietas contendo salinomicina sobre a "fração a" e a DE da MS da silagem de cana-de-açúcar, mas houve interação (P = 0,02) entre nível de concentrado e nível de virginiamicina sobre a "fração b" e a DP da MS desse alimento (Tabela 3.4). A suplementação com virginiamicina aumentou a "fração b" (P = 0,04), com consequente aumento na DP (P = 0,03) da MS da silagem nos animais do tratamento com 70% de concentrado (Figura 3.1).

Contudo, apesar de a silagem de cana-de-açúcar conter 71,78% de FDN na MS, os mesmos resultados não foram observados para a degradabilidade ruminal da fração fibrosa desse alimento. Não houve efeito de virginiamicina sobre a "fração a", a "fração b", a taxa horária de degradação da fração potencialmente degradável ("taxa c") e a DP da FDN da silagem (Tabela 3.4). No entanto, a inclusão do antibiótico reduziu a DE (P = 0,03) da FDN desse alimento.

Como o aumento no teor de concentrado das dietas promoveu redução no degradabilidade ruminal da fibra, o que provavelmente ocorreu devido à redução na atividade celulolítica das bactérias decorrente da diminuição no pH ruminal, era

esperado que a inclusão de virginiamicina nas dietas promovesse aumento na degradação ruminal da fração fibrosa devido ao controle que exerce sobre a queda do pH do rúmen. Entretanto, no presente estudo, não foi observado efeito da suplementação com virginiamicina sobre o pH ruminal, com valores médios de 6,18 e 6,20 para os níveis de 0 e 15 ppm de virginiamicina, respectivamente. Sem os efeitos benéficos do aumento no pH ruminal, as alterações na população bacteriana ruminal decorrentes da suplementação com antibióticos, principalmente em animais não adaptados aos mesmos, podem promover inibição na atividade das bactérias celulolíticas (SIMPSON, 1978; POOS; HANSON; KLOPFENSTEIN, 1979).

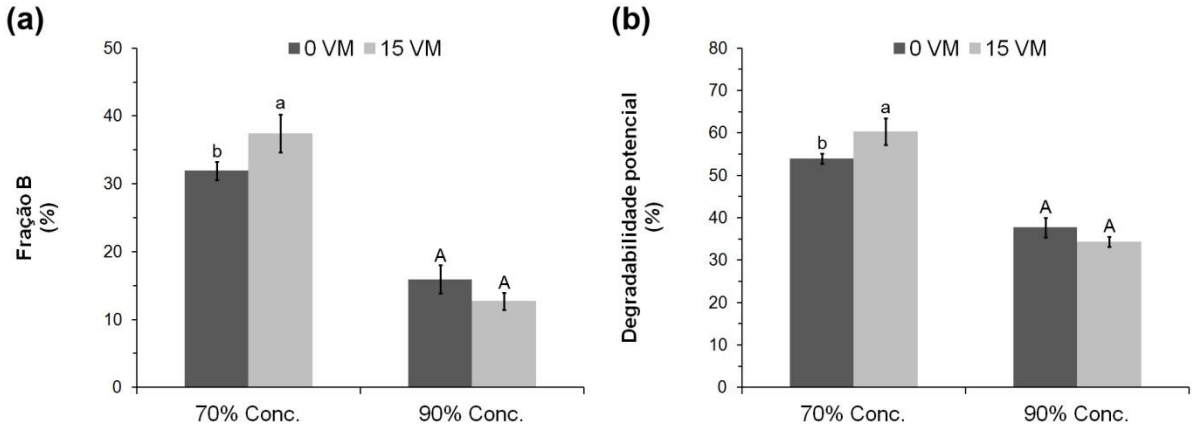

Figura 3.1 - Efeitos da interação nível de concentrado x nível de virginiamicina sobre as variáveis (a) "fração b" e (b) degradabilidade potencial da matéria seca da silagem de cana de açúcar.

[ab]Médias com letras minúsculas distintas dentro do mesmo nível de concentrado diferem entre si. [AB]Médias com letras maiúsculas distintas dentro do mesmo nível de concentrado diferem entre si. As barras de erros representam o erro padrão da média. 70% Conc. e 90% Conc. representam os níveis de 70 e 90% de concentrado, respectivamente. 0 VM e 15 VM representam os níveis de 0 e 15 ppm de virginiamicina, respectivamente.

Van Nevel e Demeyer (1992) observaram que a virginiamicina é um potente inibidor da degradação ruminal *in vitro* da porção fibrosa das dietas. De forma semelhante, Piva; Masoero e Prandini (1986) relataram que a virginimicina não alterou a degradabilidade da matéria orgânica, mas teve efeito negativo sobre a degradação ruminal da fibra bruta. Por outro lado, Salinas-Chavira et al. (2009) não observaram efeito da inclusão de 16 ou 22,5 ppm de virginiamicina sobre a degradabilidade ruminal da FDN de novilhos holandeses em relação ao grupo controle.

A "fração b", a "taxa c", a DE e a DP da MS do farelo de soja foram menores (P ≤ 0,03) para os animais tratados com 90% de concentrado em relação àqueles alimentados com 70% de grãos (Tabela 3.5). Por outro lado, a "fração a" da MS desse alimento foi maior (P = 0,02) para os animais que receberam a dieta com mais concentrado. Apesar de não ter sido observada diferença para as frações "a" e "b" e para a DP da PB do farelo de soja entre os níveis de concentrado, animais tratados com 90% de grãos apresentaram redução (P < 0,01) na "taxa c", com consequente diminuição (P < 0,01) na DE da PB do farelo de soja.

Tabela 3.5 - Efeitos dos níveis de concentrado e virginiamicina sobre degradabilidade da matéria seca e da proteína bruta do farelo de soja

Item[1]	Tratamento[2]				EPM[3]	Valor de P[4]		
	Nível Conc (%)		Nível VM (ppm)			Conc	VM	Conc x VM
	70	90	0	15				
			Degradabilidade da MS					
Fração a, *%*	27,11	28,57	27,62	28,07	0,35	0,02	0,46	0,06
Fração b, *%*	72,43	68,33	70,44	70,31	0,70	<0,01	0,90	0,21
Taxa c, *%/h*	8,51	6,97	8,05	7,44	0,36	0,03	0,36	0,41
DE, *%*	72,23	67,48	70,55	69,16	0,72	<0,01	0,23	0,64
DP, *%*	99,54	96,90	98,06	98,38	0,52	<0,01	0,69	0,88
			Degradabilidade da PB					
Fração a, *%*	6,09	7,27	6,50	6,86	0,43	0,16	0,66	0,40
Fração b, *%*	94,87	93,29	93,79	94,37	0,74	0,29	0,69	0,82
Taxa c, *%/h*	8,47	6,38	7,70	7,15	0,35	<0,01	0,33	0,15
DE, *%*	65,08	58,72	62,88	60,92	0,97	<0,01	0,19	0,19
DP, *%*	100,89	100,10	100,33	100,67	0,38	0,29	0,65	0,44

[1]Fração a = fração rapidamente solúvel; Fração b = fração potencialmente degradável; Taxa c = taxa horária de degradação da fração potencialmente degradável; DE = degradabilidade efetiva (considerando uma taxa de passagem de 5%/h); DP = degradabilidade potencial. [2]Nível Conc = nível de concentrado na MS; Nível VM = nível de virginiamicina na MS. [3]Erro padrão da média. [4]Conc = efeito do nível de concentrado; VM = efeito do nível de virginiamicina; Conc x VM = efeito da interação nível de concentrado x nível de virginiamicina.

O menor pH ruminal para novilhos alimentados com 90% de concentrado na dieta pode ser uma das causas da redução nas estimativas de degradabilidade ruminal da MS e da PB do farelo de soja para esse tratamento. A redução na

degradação ruminal da PB ocorre em virtude da diminuição nas atividades de proteólise e desaminação. Erfle et al. (1982) observou redução de 85% na atividade ruminal de proteólise *in vitro* quando o pH passou de 7,0 para 5,5. O processo de desaminação sofreu impacto ainda maior com o aumento da acidez no meio, uma vez que a redução no pH de 7,0 para 5,5 promoveu diminuição de 91% nesse processo. No entanto, a redução no pH ruminal pode não ser a única explicação para a diminuição na degradação proteica, que também pode ser influenciada pelo tipo de substrato fermentado ou pelas espécies de microrganismos predominantes no rúmen (BACH; CALSAMIGLIA; STERN, 2005).

Resultados semelhantes foram obtidos por Bürger et al. (2000a), que relataram comportamento linear decrescente para a "fração b" e para a DP da MS do farelo de soja com o aumento nos teores de concentrado das dietas. No entanto, esses autores não observaram efeito de nível de concentrado sobre as variáveis de degradação ruminal da PB do farelo de soja. Liu; Wang e Li (2005) também não observaram efeito de nível de concentrado sobre a degradabilidade efetiva da PB em ovinos, o que difere dos resultados obtidos no presente estudo.

Não houve efeito da inclusão de virginiamicina em dietas contendo o ionóforo salinomicina sobre nenhuma das variáveis de degradabilidade da MS e da PB do farelo de soja avaliadas (Tabela 3.5). A suplementação de dietas de ruminantes com aditivos antimicrobianos pode reduzir a degradação ruminal da proteína da dieta em virtude da redução nas atividades de proteólise e desaminação, com consequente aumento na quantidade de proteína de escape que chega ao intestino para ser digerida (BERGEN; BATES, 1984). No presente estudo, no entanto, esses efeitos não puderam ser observados.

De forma similar, Salinas-Chavira et al. (2009) não observaram diferenças na degradabilidade ruminal dos compostos nitrogenados ao suplementarem novilhos holandeses com 0, 16 ou 22,5 ppm de virginiamicina. Por outro lado, Mogentale et al. (2010) relataram aumento na "fração b" e na DP da PB do farelo de soja em vacas suplementadas com o antibiótico flavomicina em relação ao grupo controle, resultados que diferem dos observados no presente estudo.

Não houve efeito de nível de concentrado sobre a "fração a", a "taxa c" e a DE da MS do milho, no entanto, animais tratados com 90% de concentrado apresentaram menores valores ($P < 0,01$) da "fração b" e da DP da MS desse alimento em relação ao tratamento com 70% de concentrado (Tabela 3.6).

No presente trabalho, não foi possível determinar as variáveis de degradabilidade do amido do milho, mas como esse alimento continha mais de 61% de amido na MS (Tabela 3.2), a determinação da degradabilidade da MS pode representar bem a degradabilidade do amido para esse alimento. De acordo com Hoover e Stokes (1991), a redução no pH ruminal apresenta efeitos negativos sobre a degradabilidade da proteína e da fibra, mas pouco efeito sobre a degradação do amido. Assim, é possível que a redução na DP do amido com o aumento no teor de concentrado esteja relacionada com a menor capacidade de aproveitamento de grandes quantidades desse nutriente por animais de raças zebuínas. Ao avaliarem o aproveitamento do amido por animais *Bos indicus* ou *Bos taurus* por meio da perda desse carboidrato nas fezes, Olbrich Jr (1996) observou que zebuínos apresentam menor habilidade para digerir o amido do que animais de raças taurinas.

Tabela 3.6 - Efeitos dos níveis de concentrado e virginiamicina sobre degradabilidade da matéria seca do milho

Item[1]	Tratamento[2]				EPM[3]	Valor de P[4]		
	Nível Conc (%)		Nível VM (ppm)			Conc	VM	Conc x VM
	70	90	0	15				
Fração a, *%*	26,26	26,73	26,63	26,36	0,51	0,23	0,48	0,88
Fração b, *%*	74,86	71,57	73,33	73,09	0,64	<0,01	0,74	0,25
Taxa c, *%/h*	5,30	5,81	5,60	5,51	0,21	0,50	0,83	0,27
DE, *%*	64,99	64,60	64,88	64,71	0,56	0,63	0,84	0,26
DP, *%*	101,12	98,30	99,96	99,45	0,49	<0,01	0,50	0,27

[1]Fração a = fração rapidamente solúvel; Fração b = fração potencialmente degradável; Taxa c = taxa horária de degradação da fração potencialmente degradável; DE = degradabilidade efetiva (considerando uma taxa de passagem de 5%/h); DP = degradabilidade potencial. [2]Nível Conc = nível de concentrado na MS; Nível VM = nível de virginiamicina na MS. [3]Erro padrão da média. [4]Conc = efeito do nível de concentrado; VM = efeito do nível de virginiamicina; Conc x VM = efeito da interação nível de concentrado x nível de virginiamicina.

Não houve efeito de nível de virginiamicina sobre as variáveis de degradabilidade ruminal da MS do milho (Tabela 3.6). Resultados semelhantes foram obtidos por Salinas-Chavira et al. (2009), que não observaram diferenças na degradabilidade ruminal do amido para novilhos holandeses suplementados com níveis crescentes de virginiamicina na dieta (0, 16 e 22,5 ppm). De forma similar, Mogentale et al. (2010) não relataram efeitos da inclusão de flavomicina na dieta de

vacas cruzadas sobre as frações "a" e "b", a "taxa c", a DE e a DP do amido do milho, o que está de acordo com os resultados obtidos no presente estudo.

3.3.3 Digestibilidade aparente e características fecais

Animais tratados com dieta contendo 90% de concentrado apresentaram maior (P < 0,01) digestibilidade aparente da MS em relação àqueles alimentados com 70% de concentrado (Tabela 3.7), o que ocorreu devido ao aumento (P < 0,01) na digestibilidade aparente da PB, bem como ao aumento na quantidade de amido (mais digestível) e à redução na quantidade de FDN (menos digestível) na dieta com mais grãos (Tabela 3.1). No entanto, as digestibilidades aparentes da FDN e do amido não diferiram entre os tratamentos.

Tabela 3.7 - Efeitos dos níveis de concentrado e virginiamicina sobre as variáveis de digestibilidade aparente e características fecais

Item[1]	Tratamento[2]				EPM[3]	Valor de P[4]		
	Nível Conc (%)		Nível VM (ppm)			Conc	VM	Conc x VM
	70	90	0	15				
DMS, %	66,21	73,70	70,22	69,69	0,94	<0,01	0,58	0,78
DPB, %	71,23	77,35	74,06	74,51	0,83	<0,01	0,60	0,91
DFDN, %	42,90	42,32	42,72	42,50	1,19	0,78	0,92	0,98
DAmido, %	90,07	89,82	90,90	88,98	0,78	0,79	0,05	0,55
MS fecal, %	16,97	19,79	18,23	18,53	0,29	<0,01	0,11	0,84
pH fecal	5,87	5,72	5,75	5,83	0,06	0,02	0,19	0,31

[1]DMS = digestibilidade aparente da matéria seca; DPB = digestibilidade aparente da proteína bruta; DFDN = digestibilidade aparente da fibra insolúvel em detergente neutro; DAmido = digestibilidade aparente do amido; MS fecal = matéria seca fecal. [2]Nível Conc = nível de concentrado na MS; Nível VM = nível de virginiamicina na MS. [3]Erro padrão da média. [4]Conc = efeito do nível de concentrado; VM = efeito do nível de virginiamicina; Conc x VM = efeito da interação nível de concentrado x nível de virginiamicina.

A redução na degradabilidade ruminal da PB para os animais tratados com 90% de concentrado pode explicar o aumento na digestibilidade aparente desse nutriente. Com a redução na degradação ruminal da PB, maior quantidade de proteína de escape chega ao intestino para a digestão, fato que pode aumentar a digestibilidade aparente da fração proteica dos alimentos, uma vez que a proteína da

dieta que não sofre degradação ruminal é, geralmente, mais digestível que a proteína microbiana (VAN SOEST, 1994). Dessa forma, a redução na degradação ruminal da proteína pode ser interessante para aumentar a digestibilidade desse nutriente no trato digestório total, especialmente em dietas com altos teores de proteína verdadeira.

De forma similar, Hironaka et al. (1994) observaram aumentos na digestibilidade aparente da MS e da PB conforme o nível de concentrado nas dietas foi aumentado. Ao avaliarem os efeitos da inclusão de quatro níveis de concentrado na dieta (20, 40, 60 e 80%) de novilhos Brangus e Nelore, Putrino et al. (2007) também reportaram aumentos lineares nas digestibilidades aparentes da MS e PB com o aumento no teor de grãos. Por outro lado, Agle et al. (2010) não observaram diferenças na digestibilidade aparente da PB entre dois níveis de concentrado (52 e 72%) na dieta de vacas de leite.

Apesar da menor degradabilidade ruminal da FDN da silagem de cana-de-açúcar para animais tratados com 90% de concentrado, não houve diferença na digestibilidade aparente desse nutriente no trato digestório total entre os níveis de concentrado, fato que demonstra que houve aumento na digestão pós-ruminal da fração fibrosa da dieta para os animais do tratamento com maior teor de concentrado na dieta. Da mesma forma, a menor degradabilidade ruminal da MS do milho para o tratamento com 90% de grãos associada à ausência de diferença na digestibilidade aparente do amido entre os níveis de concentrado indicam que houve aumento na digestão pós-ruminal do amido.

Essa afirmação é suportada pelos valores de pH fecal observados para os diferentes níveis de concentrado nas dietas. Houve redução ($P = 0,02$) no pH fecal de animais tratados com 90% de concentrado em relação ao tratamento com 70% de grãos (Tabela 3.7). De acordo com Channon; Rowe e Herd (2004), o pH fecal pode ser utilizado como indicador da quantidade de amido fermentada no intestino grosso, com menores valores sendo decorrentes da maior quantidade de ácidos resultantes da fermentação (DeGREGORIO et al., 1982). Dessa forma, o menor pH fecal observado para o tratamento com 90% de concentrado indica uma maior quantidade de amido sendo digerida no intestino grosso dos animais desse tratamento.

O teor de MS das fezes foi maior ($P < 0,01$) para o tratamento com 90% de concentrado (Tabela 3.7), o que não era esperado. Animais recebendo elevados

teores de concentrado apresentam maior tendência de desenvolvimento de acidose ruminal, sendo que a ocorrência de diarreia é um dos sintomas desse distúrbio (OWENS et al., 1998). Portanto, o alto teor de MS das fezes indica que os animais não apresentaram um quadro de acidose em decorrência da elevada proporção de concentrado na dieta.

Não houve efeito da inclusão de virginiamicina em dietas contendo salinomicina sobre as variáveis de digestibilidade aparente e características fecais avaliadas, exceto para a digestibilidade aparente do amido, que foi menor (P = 0,05) para os animais que receberam o antibiótico (Tabela 3.7). Como não houve efeito de nível de virginiamicina sobre a degradabilidade ruminal da MS do milho, é possível que tenha havido redução na digestão pós-ruminal do amido para novilhos suplementados com o antibiótico. No entanto, como a ausência de diferença no pH fecal entre os níveis de virginiamicina não indica redução na digestão intestinal desse carboidrato, uma avaliação mais detalhada da degradabilidade ruminal do amido se torna necessária para explicar esses resultados.

De forma semelhante, Salinas-Chavira et al. (2009) não observaram efeito da inclusão de 0, 16 ou 22,5 ppm de virginiamicina sobre a digestibilidade aparente da matéria orgânica, FDN e compostos nitrogenados. No entanto, esses autores também não observaram efeito da suplementação com virginiamicina sobre a digestibilidade aparente do amido, o que difere dos resultados obtidos no presente estudo.

3.3.4 Fermentação ruminal

Animais tratados com 90% de concentrado apresentaram menor concentração ruminal de acetato (P = 0,01) e maiores concentrações de isovalerato, valerato e AGCC totais (P ≤ 0,01) em relação àqueles alimentados com 70% de concentrado (Tabela 3.8). Não foi observado efeito de nível de concentrado sobre as concentrações ruminais de isobutirato.

Em geral, o aumento no teor de concentrado das dietas promove redução nas concentrações ruminais de ácido acético e aumento nas concentrações de ácido propiônico. Isso ocorre principalmente pela tendência das bactérias fibrolíticas em produzir acetato e das amilolíticas em produzir propionato (BLAXTER, 1962). Como o aumento nos teores de concentrado em dietas de bovinos geralmente promove redução na população de bactérias que degradam fibra e aumento na população

bacteriana responsável pela degradação do amido (DEHORITY, 2003), a redução ocorrida na relação acetato propionato era esperada.

Tabela 3.8 - Efeitos dos níveis de concentrado e virginiamicina sobre as variáveis de fermentação ruminal

Item	Tratamento[1]				EPM[2]	Valor de P[3]		
	Nível Conc (%)		Nível VM (ppm)			Conc	VM	Conc x VM
	70	90	0	15				
Acetato, *mM*	68,02	63,78	68,60	63,21	1,36	0,01	<0,01	0,06
Propionato, *mM*	21,68	37,66	27,94	31,40	1,12	<0,01	<0,01	0,01
Isobutirato, *mM*	1,01	1,06	1,06	1,02	0,02	0,33	0,11	0,77
Butirato, *mM*	12,81	15,28	15,69	12,40	0,49	<0,01	<0,01	<0,01
Isovalerato, *mM*	1,89	2,21	2,14	1,96	0,05	0,01	0,02	0,09
Valerato, *mM*	1,55	2,45	2,10	1,90	0,06	<0,01	0,05	0,92
Total, *mM*	107,00	122,55	117,71	111,84	2,54	<0,01	0,02	0,35
A/P,[4]	3,32	1,86	2,77	2,40	0,08	<0,01	<0,01	<0,01
Lactato, *mM*	0,537	0,860	0,672	0,726	0,027	<0,01	0,16	0,50
pH ruminal,	6,36	6,02	6,18	6,20	0,04	<0,01	0,58	0,79
$N\text{-}NH_3$,[5] *mg/dL*	16,37	12,76	13,69	15,44	0,53	<0,01	0,03	0,93

[1]Nível Conc = nível de concentrado na MS; Nível VM = nível de virginiamicina na MS [2]Erro padrão da média. [3]Conc = efeito do nível de concentrado; VM = efeito do nível de virginiamicina; Conc x VM = efeito da interação nível de concentrado x nível de virginiamicina. [4]A/P = relação acetato propionato. [5]$N\text{-}NH_3$ = nitrogênio amoniacal.

Resultados semelhantes foram obtidos por Vargas et al. (2001), que observaram reduções lineares nas concentrações ruminais de acetato, enquanto as concentrações de isovalerato aumentaram linearmente com o aumento no teor de concentrado nas dietas de bovinos mestiços. No entanto, esses autores também relataram aumentos lineares nas concentrações ruminais de isobutirato com o aumento nos níveis de concentrado, o que difere dos resultados deste experimento. Cantalapiedra-Hijar et al. (2009) também observaram redução nas concentrações ruminais de acetato com o aumento na proporção de concentrado em dietas de caprinos, mas não relataram diferenças nas concentrações de isobutirato, isovalerato e valerato entre os níveis de concentrado.

Animais tratados com 90% de concentrado apresentaram maiores (P < 0,01) concentrações ruminais de lactato e menores (P < 0,01) valores de pH do rúmen em relação aos animais que receberam a dieta com menos grãos (Tabela 3.8), o que era esperado. Com o aumento na quantidade de carboidratos rapidamente fermentáveis na dieta, ocorre aumento na concentração ruminal de ácido lático em razão do crescimento na população de *Streptococcus bovis*, uma vez que esses microrganismos fermentam açúcares a lactato ao invés de outros ácidos orgânicos. O ácido lático, devido ao seu baixo pKa, promove rápida redução no pH do meio, criando um nicho para o desenvolvimento de *Lactobacillus*, que irão produzir ainda mais lactato (RUSSEL; HINO, 1985).

Mesmo com os altos teores de concentrado utilizados, os animais de nenhum dos tratamentos mostraram evidências da ocorrência de acidose ruminal. Valores de pH entre 5,0 e 5,6 caracterizam a acidose subclínica, enquanto valores de pH abaixo de 5,0 caracterizam a ocorrência de acidose clínica (KRAUSE; OETZEL, 2006). No presente estudo, no entanto, as médias de pH ruminal permaneceram acima de 6,0, enquanto as concentrações médias de ácido lático permaneceram abaixo de 1 mM para ambos os tratamentos, fato que demonstra a boa adaptação dos animais aos alto níveis de concentrado nas dietas.

Animais do tratamento com 90% de concentrado apresentaram redução (P < 0,01) na concentração ruminal de nitrogênio amoniacal em relação aos animais do tratamento com 70% de grãos (Tabela 3.8), o que está de acordo com a menor degradabilidade ruminal da PB para o tratamento com maior teor de concentrado. A degradação ruminal da proteína dietética ocorre por meio das atividades de proteólise e desaminação, sendo essa última caracterizada pela liberação do grupo amina dos aminoácidos na forma de amônia (KOZLOSKI, 2011). Dessa forma, a redução na degradação ruminal da PB promove menor acúmulo de nitrogênio amoniacal no meio.

Resultados semelhantes foram obtidos por Carvalho et al. (1997), que observaram reduções lineares na concentração de nitrogênio amoniacal do rúmen com o aumento nos níveis de concentrado nas dietas de zebuínos. Por outro lado, Vargas et al. (2001) reportaram reduções lineares na concentração ruminal de nitrogênio amoniacal conforme os níveis de concentrado nas dietas aumentaram de 0 para 75%. Da mesma forma, Cantalapiedra-Hijar et al. (2009) observaram efeito de nível de concentrado sobre a concentração de nitrogênio amoniacal no rúmen de

caprinos, com maiores valores observados para os animais que receberam dieta com maior proporção de grãos, o que difere dos resultados obtidos no presente estudo.

A inclusão de virginiamicina em dietas contendo salinomicina reduziu as concentrações ruminais de acetato ($P < 0,01$), isovalerato ($P = 0,02$), valerato ($P = 0,05$) e AGCC totais ($P = 0,02$) (Tabela 3.8). Além disso, houve interação ($P \leq 0,01$) entre nível de concentrado e virginiamicina sobre as concentrações ruminais de propionato, butirato e para a relação acetato propionato. Houve aumento ($P < 0,01$) na concentração ruminal de propionato (Figura 3.2a) e redução ($P < 0,01$) na concentração de butirato (Figura 3.2b) e na relação acetato propionato (Figura 3.2c) para animais suplementados com virginiamicina e salinomicina dentro do grupo de animais que receberam dieta com 90% de concentrado.

Estudos *in vitro* reportaram aumento nas concentrações de ácido propiônico na presença de virginiamicina (HEDDE et al., 1980; NAGARAJA et al., 1987), o que promove aumento na energia das dietas para os animais. As eficiências de fermentação de hexose a acetato, propionato e butirato são de 62, 109 e 78%, respectivamente, o que ocorre devido às diferenças na incorporação de hidrogênio metabólico. Assim, o aumento na produção de propionato em relação ao acetato e ao butirato pode promover aumento na quantidade de energia recuperada nos produtos finais da fermentação (CHALUPA, 1977). No presente estudo, esse aumento na concentração de propionato com a adição de virginiamicina ocorreu apenas dentro do grupo de animais tratados com 90% de grãos, o que sugere que os efeitos benéficos da inclusão do antibiótico sobre a fermentação ruminal podem ser mais evidentes em dietas com maior proporção de concentrado.

Resultados similares foram obtidos por Nagaraja et al. (1995b), que ao avaliarem os efeitos da virginiamicina sobre a fermentação ruminal em ovinos alimentados com dietas à base de grãos de cevada, observaram aumento na concentração ruminal de propionato e redução nas concentrações de acetato, butirato e valerato para animais que receberam o antibiótico. De forma semelhante, Nagaraja et al. (1995a) observaram maior concentração ruminal de propionato às 6, 9, 12 e 24 h após o fornecimento de dieta à base de grãos de cevada para ovinos tratados com virginiamicina em relação ao controle. Além disso, esses autores observaram redução na concentração ruminal de acetato às 3 e 9 h e na

concentração de butirato às 6, 9 e 12 h após a alimentação para os animais tratados com o antibiótico.

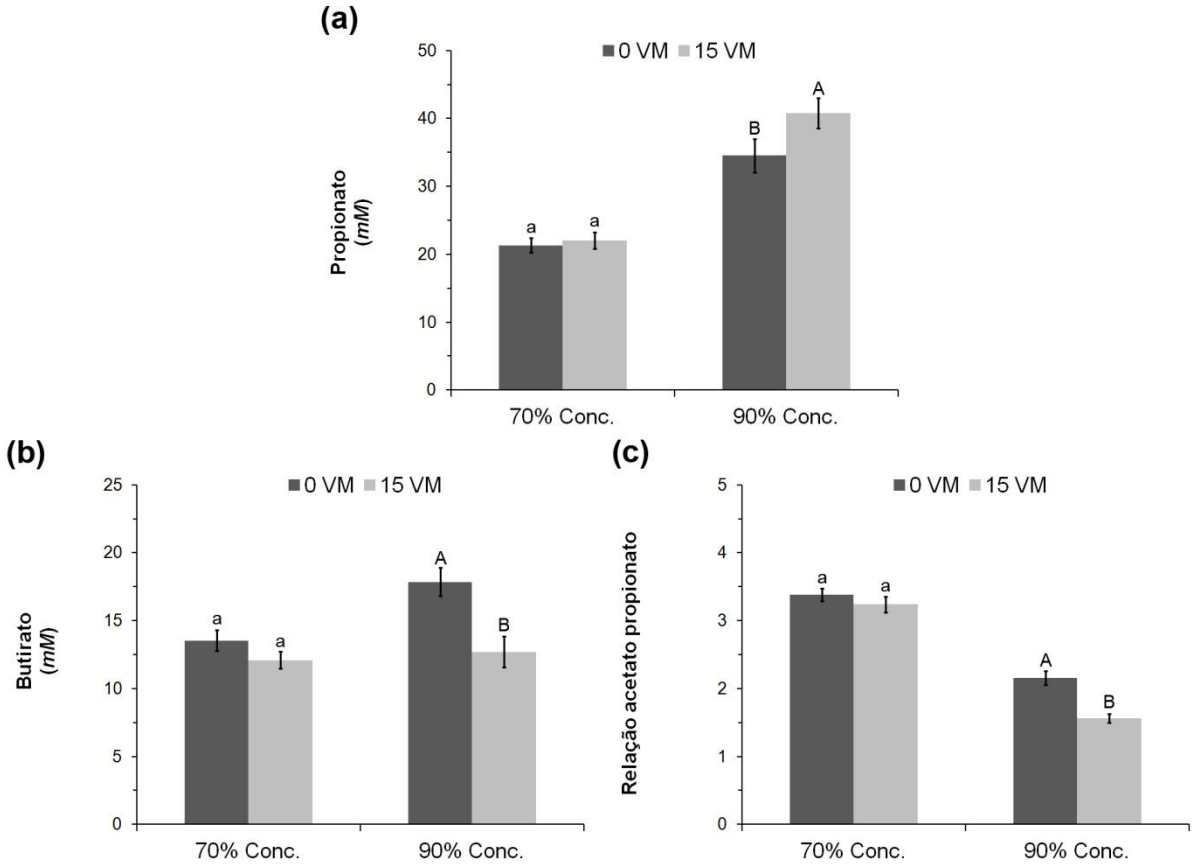

Figura 3.2 - Efeitos da interação nível de concentrado x nível de virginiamicina sobre as variáveis (a) concentração ruminal de propionato, (b) concentração ruminal de butirato e (c) relação acetato propionato.
[ab]Médias com letras minúsculas distintas dentro do mesmo nível de concentrado diferem entre si. [AB]Médias com letras maiúsculas distintas dentro do mesmo nível de concentrado diferem entre si. As barras de erros representam o erro padrão da média. 70% Conc. e 90% Conc. representam os níveis de 70 e 90% de concentrado, respectivamente. 0 VM e 15 VM representam os níveis de 0 e 15 ppm de virginiamicina, respectivamente.

Em oposição aos resultados obtidos no presente estudo, ao avaliarem os efeitos da virginiamicina e da combinação monensina/tilosina sobre a fermentação ruminal de bovinos, Coe et al. (1999) não observaram diferenças nas concentrações ruminais de AGCC entre os animais tratados com os aditivos e o tratamento controle. Clayton et al. (1999) também não observaram efeitos da suplementação com virginiamicina para vacas holandesas em lactação sobre as concentrações ruminais de acetato, propionato, butirato, isobutirato, isovalerato e isovalerato.

Não houve efeito de nível de virginiamicina sobre a concentração de lactato e o pH do rúmen (Tabela 3.8). Tem sido sugerido que a virginiamicina apresenta maior controle sobre a produção de lactato do que os ionóforos (COE et al., 1999; LANNA; MEDEIROS, 2007), mas de acordo com Bergen e Bates (1984), um dos efeitos da suplementação com ionóforos é a redução na ocorrência de desordens metabólicas em virtude da redução na produção de ácido lático. No presente estudo, como os animais tratados com ambos os níveis de virginiamicina também receberam salinomicina, é possível que o ionóforo tenha atuado sobre a produção do lactato, reduzindo os efeitos da virginiamicina sobre esse composto e sobre o pH ruminal.

Além disso, os altos valores de pH e as baixas concentrações ruminais de lactato observados para os animais do presente estudo indicam que não houve ocorrência de acidose ruminal para nenhum dos níveis de virginiamicina. Coe et al., (1999), ao induzirem a ocorrência desse distúrbio metabólico em bovinos por meio da infusão de solução de grãos e amido de milho diretamente no rúmen, relataram concentrações de lactato da ordem de 19,4 e 15,8 mM para animais do grupo controle e tratados com a combinação de monensina/tilosina, respectivamente. Para animais tratados com virginiamicina, as concentrações de ácido lático foram inferiores a 2 mM. No presente estudo, as concentrações de lactato foram inferiores a 0,8 mM, enquanto o pH permaneceu ao redor de 6,20 para ambos os níveis de virginiamicina. Portanto, também é possível que a não ocorrência de acidose ruminal tenha reduzido a magnitude dos efeitos da virginiamicina sobre o pH e a concentração de lactato do rúmen nos animais deste experimento.

Animais tratados com virginiamicina em combinação com o ionóforo salinomicina apresentaram maiores (P = 0,03) concentrações de nitrogênio amoniacal (Tabela 3.8). No entanto, no presente estudo, não foram observados efeitos de nível de virginiamicina sobre a degradação ruminal da PB, o que sugere que o antibiótico não alterou as atividades de proteólise e desaminação de aminoácidos no rúmen. Assim, as razões pelas quais houve maior acúmulo de nitrogênio amoniacal para animais tratados com a combinação virginiamicina e salinomicina são incertas.

Além dos efeitos de nível de concentrado e virginiamicina, foram observados efeitos de tempo de coleta sobre as variáveis de fermentação ruminal. As concentrações ruminais de acetato (Figura 3.3a), propionato (Figura 3.3b) e butirato

(Figura 3.3d) aumentaram (P < 0,01), enquanto as concentrações de isobutirato (Figura 3.3c) foram reduzidas (P < 0,01) com o aumento no tempo de coleta.

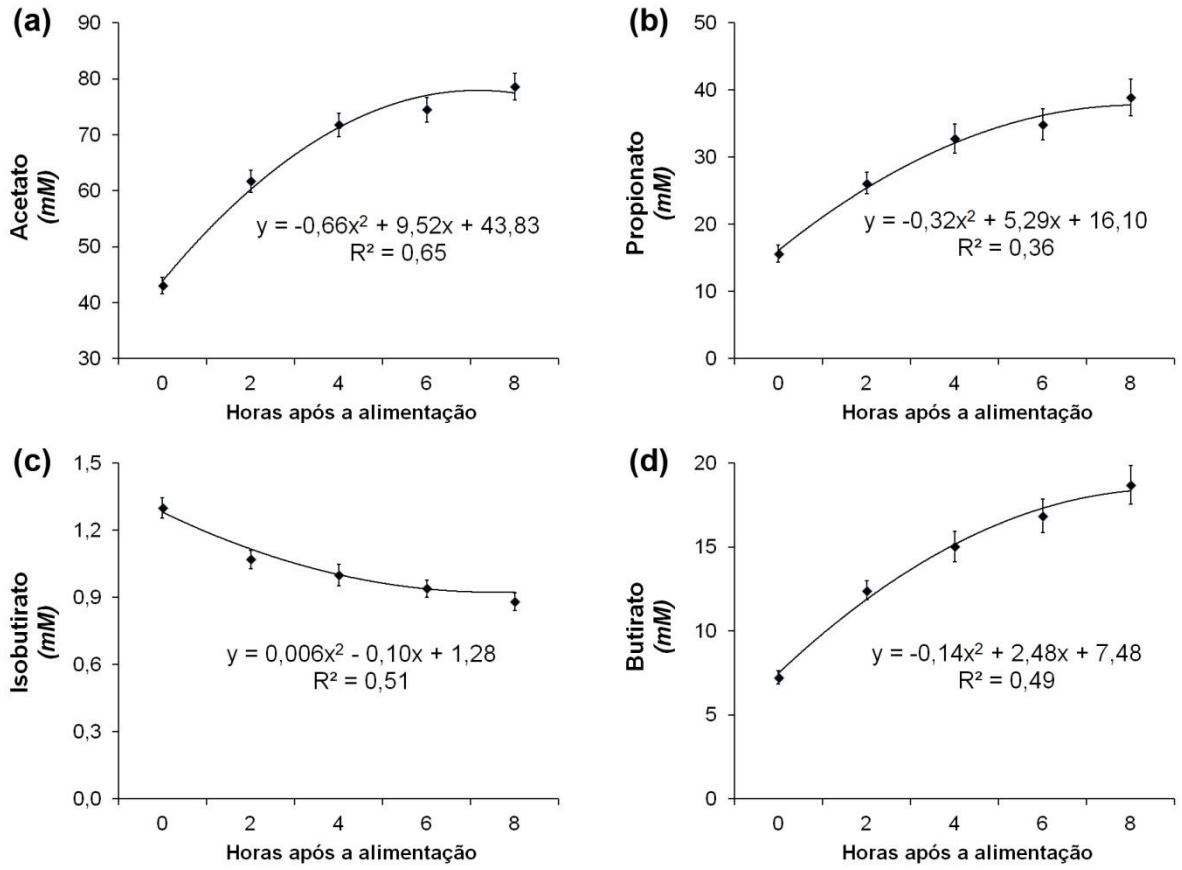

Figura 3.3 - Relações entre tempo de coleta e concentrações ruminais de (a) acetato, (b) propionato, (c) isobutirato e (d) butirato.
As barras de erros representam o erro padrão da média.

De forma semelhante, houve redução (P < 0,01) nas concentrações ruminais de isovalerato (Figura 3.4a) e na relação acetato propionato (Figura 3.4d), bem como aumento (P < 0,01) nas concentrações de valerato (Figura 3.4b) e lactato (Figura 3.4c) conforme o tempo de coleta foi aumentado.

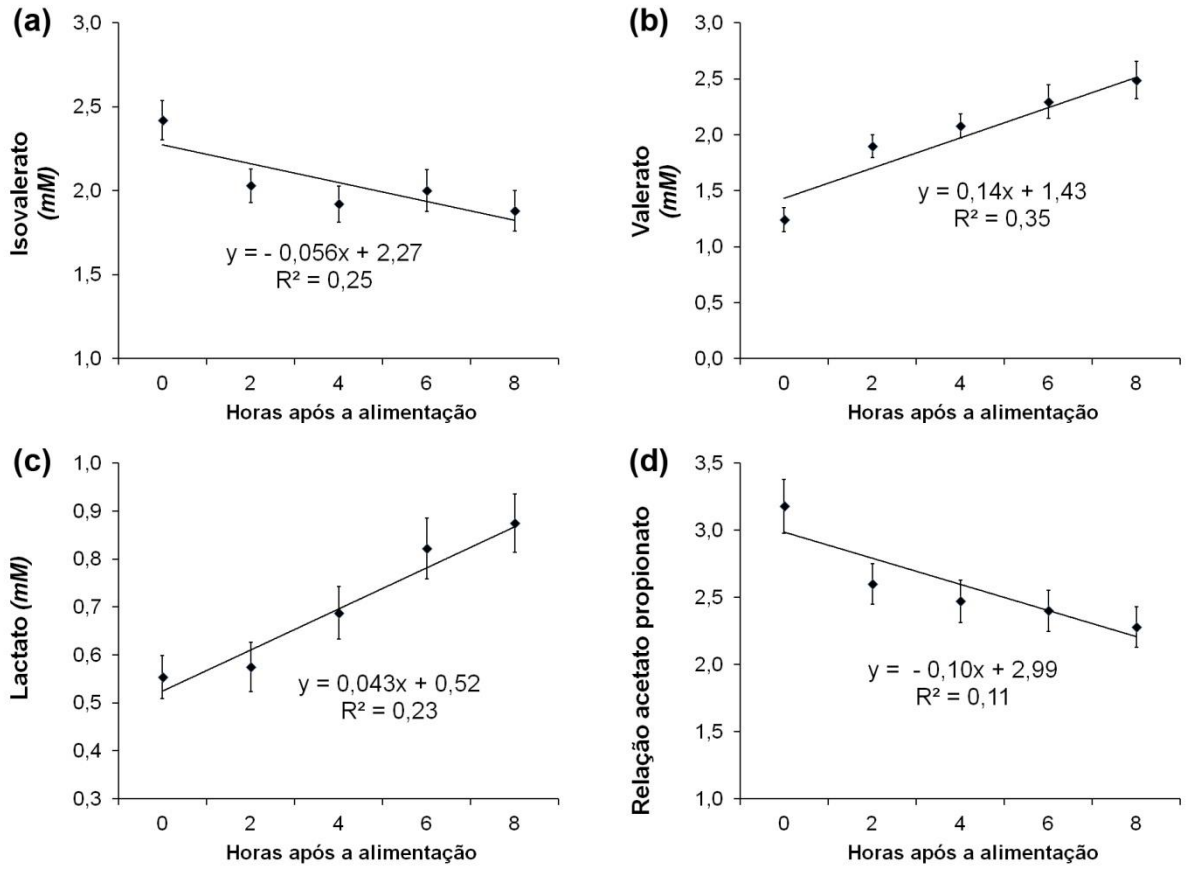

Figura 3.4 - Relações entre tempo de coleta e concentrações ruminais de (a) isovalerato, (b) valerato, (c) lactato e (d) relação acetato propionato. As barras de erros representam o erro padrão da média.

Por fim, foi observada interação entre nível de concentrado e tempo de coleta sobre as variáveis concentração ruminal de AGCC totais (P = 0,02), pH ruminal (P = 0,03) e concentração de nitrogênio amoniacal no rúmen (P < 0,01) (Tabela 3.9). As concentrações de AGCC totais foram maiores (P < 0,01) para os animais do tratamento com 90% de concentrado às 4, 6 e 8 h após alimentação, enquanto o pH ruminal foi maior (P < 0,01) para os animais do tratamento com 70% de concentrado às 2, 4, 6 e 8 h após o fornecimento das dietas. Já as concentrações ruminais de nitrogênio amoniacal foram menores (P ≤ 0,01) para os animais do tratamento com mais grãos às 2, 4 e 6 h após a alimentação.

Tabela 3.9 - Efeitos da interação nível de concentrado x tempo de coleta sobre as variáveis concentração total de ácidos graxos de cadeia curta, concentração de nitrogênio amoniacal e pH do rúmen

Item	Nível Conc[1]		EPM[2]	Valor de P
	70%	90%		Conc[3]
AGCC totais[4], *mM*				
0 h	67,82	73,88	2,55	0,29
2 h	103,23	107,25	2,93	0,48
4 h	116,36	133,02	3,52	<0,01
6 h	119,31	143,62	4,00	<0,01
8 h	128,28	154,99	4,62	<0,01
pH ruminal				
0 h	6,87	6,76	0,03	0,18
2 h	6,48	6,16	0,04	<0,01
4 h	6,25	5,91	0,06	<0,01
6 h	6,06	5,67	0,06	<0,01
8 h	6,11	5,60	0,07	<0,01
$N\text{-}NH_3$[5], *mg/dL*				
0 h	13,04	15,33	0,62	0,20
2 h	26,42	16,39	1,29	<0,01
4 h	16,49	8,63	1,15	<0,01
6 h	12,43	9,57	0,81	0,01
8 h	13,48	13,88	1,08	0,75

[1]Nível Conc = nível de concentrado na MS. [2]EPM = erro padrão da média. [3]Conc = efeito do nível de concentrado. [4]AGCC totais = ácidos graxos de cadeia curta totais. [5]$N\text{-}NH_3$ = nitrogênio amoniacal.

3.3.5 Comportamento ingestivo

Animais do tratamento com 70% de concentrado passaram 126,2 min/dia a mais em atividade de ruminação (P < 0,01) em relação aos animais do tratamento com 90% de concentrado (Tabela 3.10). Como consequência, esses animais também gastaram 162,5 min/dia a mais em atividade de mastigação (P < 0,01) e 162,5 min/dia a menos em ócio (P <0,01) em relação aos animais alimentados com maior proporção de grãos na dieta. As variáveis NER, TRE, NEM e TME também apresentaram maiores médias (P ≤ 0,02) para os animais do tratamento com 70% de concentrado.

Animais tratados com 90% de concentrado apresentaram maiores (P = 0,01) TI_{MS} e TIE_{MS} em àqueles alimentados com 70% de grãos (Tabela 3.10). Esses resultados demonstram que o aumento no teor de concentrado das dietas promove aumento na velocidade com que os animais ingerem os alimentos. No entanto, a TIE_{FDN} foi maior (P = 0,01) para os animais do tratamento com 70% de concentrado, o que ocorreu devido ao maior teor de FDN na dieta com menos grãos.

Tabela 3.10 - Efeitos dos níveis de concentrado e virginiamicina sobre as variáveis de comportamento ingestivo

Item[1]	Tratamento[2]				EPM[3]	Valor de P[4]		
	Nível Conc (%)		Nível VM (ppm)			Conc	VM	Conc x VM
	70	90	0	15				
TTA, *min/dia*	215,9	179,7	197,2	198,4	8,1	0,02	0,93	0,02
NEA, *eventos/dia*	12,2	10,5	11,3	11,4	0,6	0,11	0,73	0,74
TAE, *min/evento*	18,8	17,9	18,4	18,3	1,0	0,46	0,78	0,02
TTR, *min/dia*	427,8	301,6	350,3	379,1	18,5	<0,01	0,26	0,60
NER, *eventos/dia*	15,5	12,7	13,2	15,0	0,7	0,01	0,10	0,86
TRE, *min/evento*	28,5	24,1	27,1	25,5	1,0	<0,01	0,31	0,75
TTM, *min/dia*	643,8	481,3	547,5	577,5	23,1	<0,01	0,34	0,13
NEM, *eventos/dia*	27,7	23,2	24,4	26,4	1,0	0,01	0,21	0,94
TME, *min/evento*	23,6	21,0	22,5	22,1	0,6	0,02	0,74	0,08
TTO, *min/dia*	796,3	958,8	892,5	862,5	23,1	<0,01	0,34	0,13
TI_{MS}, *g/min*	35,7	44,3	41,5	38,5	1,6	0,01	0,29	0,43
TIE_{MS}, *g/evento*	661,3	817,7	744,2	734,8	35,8	0,01	0,87	0,40
TI_{FDN}, *g/min*	10,6	9,2	9,9	10,0	0,4	0,05	0,87	0,04
TIE_{FDN}, *g/evento*	196,9	155,2	175,1	177,1	8,8	0,01	0,88	0,39
TR_{MS}, *min/kg*	56,9	36,7	45,0	48,6	2,4	<0,01	0,27	0,97
TR_{FDN}, *min/kg*	190,2	192,2	184,3	198,1	5,9	0,86	0,25	0,83
TM_{MS}, *min/kg*	85,7	59,1	70,5	74,2	3,2	<0,01	0,35	0,33
TM_{FDN}, *min/kg*	286,9	309,4	293,2	303,2	7,7	0,13	0,49	0,36

[1]TTA = tempo total de alimentação; NEA = número diário de eventos de alimentação; TAE = tempo médio de alimentação por evento; TTR = tempo total de ruminação; NER = número diário de eventos de ruminação; TRE = tempo médio de ruminação por evento; TTM = tempo total de mastigação; NEM = número diário de eventos de mastigação; TME = tempo médio de mastigação por evento; TTO = tempo total em ócio; TI_{MS} = taxa de ingestão da MS; TIE_{MS} = taxa de ingestão da MS por evento; TI_{FDN} = taxa de ingestão da FDN; TIE_{FDN} = taxa de ingestão da FDN por evento; TR_{MS} = taxa de ruminação da MS; TR_{FDN} = taxa de ruminação da FDN; TM_{MS} = taxa de mastigação da MS; TM_{FDN} = taxa de mastigação da FDN. [2]Nível Conc = nível de concentrado na MS; Nível VM = nível de virginiamicina na MS. [3]Erro padrão da média. [4]Conc = efeito do nível de concentrado; VM = efeito do nível de virginiamicina; Conc x VM = efeito da interação nível de concentrado x nível de virginiamicina.

Adicionalmente, novilhos tratados com 70% de concentrado apresentaram maiores ($P < 0,01$) TR_{MS} e TM_{MS}, em min/kg, em relação aos animais do tratamento com 90% de concentrado (Tabela 3.10). No entanto, quando as taxas de ruminação e mastigação foram corrigidas para o mesmo teor de FDN (TR_{FDN} e TM_{FDN}), não foram observadas diferenças entre os níveis de concentrado, o que sugere que, dentre os nutrientes avaliados, a FDN é aquele que melhor explica as alterações no comportamento ingestivo dos animais.

O aumento no teor de fibra em dietas de ruminantes estimula a atividade de mastigação e reduz a produção de ácidos que podem levar o animal à condição de acidose ruminal. A sequência de eventos que leva o animal a apresentar queda de desempenho quando pouca quantidade de fibra é incluída na dieta começa com a redução na atividade de mastigação, fato que diminui a produção salivar, resultando em menores valores de pH ruminal e em alterações nos padrões de fermentação (MERTENS, 1994). A FDN mede as características químicas da fibra, mas não as características físicas como tamanho de partículas e densidade. Nesse sentido, a FDN fisicamente efetiva (FDN_{fe}) é o parâmetro mais eficiente para explicar a atividade de mastigação de ruminantes (MERTENS, 1994). No entanto, como no presente estudo foi utilizada a mesma fonte de fibra (silagem de cana-de-açúcar), bem como o mesmo tipo de processamento dessa fonte de fibra para ambas as dietas, a maior quantidade de FDN também representa maior quantidade de FDN_{fe}. Dessa forma, o teor de FDN nas dietas foi um excelente parâmetro para explicar as alterações no comportamento ingestivo dos animais.

Resultados semelhantes foram obtidos por Bürger et al. (2000b), que ao avaliarem o comportamento ingestivo de bezerros holandeses tratados com cinco níveis de concentrado na dieta (30, 45, 60, 75 ou 90%), observaram que os tempos despendidos em alimentação e ruminação diminuíram linearmente, enquanto o TTO aumentou linearmente com o aumento na proporção de grãos. Missio et al. (2010), em trabalho avaliando o comportamento ingestivo de tourinhos alimentados com quatro níveis de concentrado na dieta (22, 40, 59 ou 79%), também observaram comportamento linear negativo para o TTA e o TTR, bem como comportamento linear positivo para o TTO conforme a inclusão de grãos foi aumentada.

Não houve efeito da inclusão de virginiamicina em dietas contendo salinomicina sobre as variáveis de comportamento ingestivo avaliadas, mas houve interação ($P \leq 0,04$) entre nível de concentrado e virginiamicina sobre o TTA, o TAE

e a TI_{FDN} (Tabela 3.10). No entanto, as médias dessas variáveis não diferiram em razão da inclusão do antibiótico dentro de nenhum dos níveis de concentrado (Figura 3.5). Esses resultados indicam que as variações no teor de concentrado das dietas apresentam maior efeito sobre a atividade de mastigação dos animais do que a suplementação com virginiamicina em combinação com salinomicina.

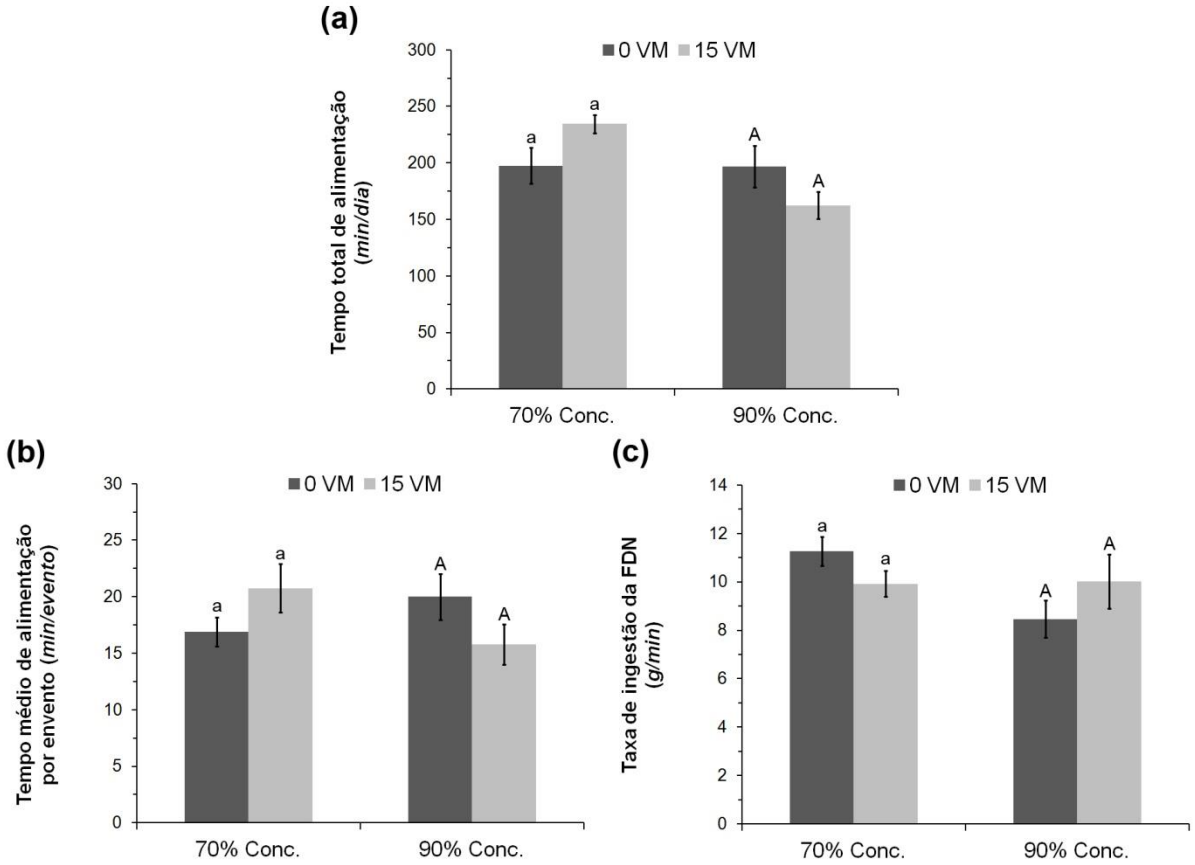

Figura 3.5 - Efeitos da interação nível de concentrado x nível de virginiamicina sobre as variáveis (a) tempo total de alimentação, (b) tempo médio de alimentação por evento e (c) taxa de ingestão da FDN.
[ab]Médias com letras minúsculas distintas dentro do mesmo nível de concentrado diferem entre si. [AB]Médias com letras maiúsculas distintas dentro do mesmo nível de concentrado diferem entre si. As barras de erros representam o erro padrão da média. 70% Conc. e 90% Conc. representam os níveis de 70 e 90% de concentrado, respectivamente. 0 VM e 15 VM representam os níveis de 0 e 15 ppm de virginiamicina, respectivamente.

3.3.6 Protozoários ciliados ruminais

As populações de protozoários dos gêneros *Diplodinium*, *Isotricha*, *Dasytricha*, *Eudiplodinium*, *Ostracodinium* e *Epidinium* foram identificadas em poucas amostras, e em quantidades muito baixas. Dessa forma, a condução de análises estatísticas para comparação das médias se tornou inviável para esses

gêneros, e portanto, apenas as médias brutas por tratamento são apresentadas (Tabela 3.11). Houve redução (P < 0,01) nas populações de protozoários do gênero *Entodinium* e protozoários ciliados totais com o aumento no teor de concentrado das dietas. Em geral, animais alimentados com dietas contendo entre 40 e 60% de concentrado apresentam quantidades máximas de protozoários ciliados no rúmen (TOWNE; NAGARAJA; KEMP, 1988). O aumento no teor de concentrado nas dietas promove reduções na população de protozoários ciliados no rúmen, o que ocorre devido à redução no pH ruminal e ao aumento na taxa de passagem (FRANZOLIN; DEHORITY, 1996).

Tabela 3.11 - Efeitos dos níveis de concentrado e virginiamicina sobre a contagem de protozoários ciliados ruminais

Item	Tratamento[1]				EPM[2]	Valor de P[3]		
	Nível Conc (%)		Nível VM (ppm)			Conc	VM	Conc x VM
	70	90	0	15				
Entodinium, $x\ 10^4$*/mL*	18,12	6,55	12,22	12,46	1,06	<0,01	0,82	0,10
Diplodinium, $x\ 10^4$*/mL*	0,178	0,107	0,111	0,174	0,031	-	-	-
Isotricha, $x\ 10^4$*/mL*	0,608	0,003	0,286	0,325	0,059	-	-	-
Dasytricha, $x\ 10^4$*/mL*	0,008	0,000	0,000	0,008	0,003	-	-	-
Eudiplodinium, $x\ 10^4$*/mL*	0,232	0,013	0,143	0,101	0,030	-	-	-
Ostracodinium, $x\ 10^4$*/mL*	0,003	0,067	0,003	0,067	0,030	-	-	-
Epidinium, $x\ 10^4$*/mL*	0,006	0,010	0,013	0,003	0,004	-	-	-
Total, $x\ 10^4$*/mL*	19,15	6,74	12,76	13,14	1,13	<0,01	0,88	0,12

[1]Nível Conc = nível de concentrado na MS; Nível VM = nível de virginiamicina na MS. [2]Erro padrão da média. [3]Conc = efeito do nível de concentrado; VM = efeito do nível de virginiamicina; Conc x VM = efeito da interação nível de concentrado x nível de virginiamicina.

Vance et al. (1972) observaram que os protozoários ruminais desapareceram após duas a três semanas do fornecimento de uma dieta com 100% de concentrado, reaparecendo apenas após 140 dias. Kreikemeier et al. (1990) observou redução na população de protozoários ruminais com o aumento no nível de consumo pelos animais. Como no presente estudo os animais tratados com 90% de concentrado apresentaram maior CMS, fato que aumenta a velocidade com a qual os alimentos deixam o rúmen, as reduções na população de protozoários ciliados devem ter

ocorrido tanto em virtude do menor pH ruminal como da maior taxa de passagem ocasionados pelo aumento no teor de concentrado das dietas.

Não houve efeito de nível de virginiamicina sobre a contagem de protozoários do gênero *Entodinium* e sobre o total de protozoários ciliados ruminais (Tabela 3.11), o que difere dos resultados usualmente observados na literatura, já que diversos trabalhos relataram reduções nas populações de protozoários ciliados em ruminantes (GODFREY et al., 1995; MURRAY et al., 1992). No presente estudo, no entanto, o efeito acentuado de nível de concentrado sobre esses microrganismos pode ter feito com que os efeitos da inclusão de virginiamicina se tornassem menos discerníveis.

Houve interação (P = 0,01) entre nível de concentrado e tempo de coleta para as contagens de protozoários do gênero *Entodinium* e protozoários ciliados totais (Tabela 3.12). No entanto, para ambos os casos, as populações foram maiores (P < 0,01) para animais tratados com 70% de concentrado tanto na coleta realizada antes da alimentação (0 h) como na coleta efetuada 4 h após o fornecimento das rações.

Tabela 3.12 - Efeitos da interação nível de concentrado x tempo de coleta sobre a contagem de protozoários ciliados ruminais

Item	Nível Conc[1]		EPM[2]	Valor de P
	70%	90%		Conc[3]
Entodinium, *x 10^4/mL*				
0 h	22,12	5,94	1,77	<0,01
4 h	14,13	7,16	1,12	<0,01
Total, *x 10^4/mL*				
0 h	23,24	6,11	1,88	<0,01
4 h	15,06	7,38	1,20	<0,01

[1]Nível Conc = nível de concentrado na MS. [2]EPM = erro padrão da média. [3]Conc = efeito do nível de concentrado.

3.3.7 Características sanguíneas

Houve efeito de nível de concentrado (P < 0,01) sobre o pH e a concentração de HCO_3^- do sangue, sendo que as menores médias foram observadas para os animais tratados com 90% de concentrado (Tabela 3.13). Já as concentrações de lactato no sangue não diferiram entre os níveis de concentrado, assim como não houve efeito de virginiamicina sobre as características sanguíneas avaliadas.

Tabela 3.13 - Efeitos dos níveis de concentrado e virginiamicina sobre as características sanguíneas

Item[1]	Tratamento[2]				EPM[3]	Valor de P[4]		
	Nível Conc (%)		Nível VM (ppm)			Conc	VM	Conc x VM
	70	90	0	15				
pH	7,434	7,391	7,417	7,409	0,007	<0,01	0,49	0,31
Lactato, *mmol/L*	1,067	1,258	1,028	1,298	0,157	0,48	0,81	0,68
HCO_3, *mmol/L*	28,18	26,43	27,35	27,26	0,32	<0,01	0,83	0,45

[1]pH = pH sanguíneo; Lactato = concentração sanguínea de lactato; HCO_3^- = concentração sanguínea de bicarbonato. [2]Nível Conc = nível de concentrado na MS; Nível VM = nível de virginiamicina na MS. [3]Erro padrão da média. [4]Conc = efeito do nível de concentrado; VM = efeito do nível de virginiamicina; Conc x VM = efeito da interação nível de concentrado x nível de virginiamicina.

As diminuições no pH e na concentração de HCO_3^- do sangue são sintomas associados à ocorrência de acidose (NAGARAJA et al., 1981). No entanto, os valores observados para essas variáveis neste estudo não caracterizam a ocorrência desse distúrbio metabólico. Segundo Radostits et al. (2002), a acidose metabólica pode ser classificada de acordo com o pH sanguíneo em moderada (pH 7,25 a 7,20), severa (pH 7,25 a 7,20) e grave (pH 7,10 a 7,0). No presente experimento, os valores de pH sanguíneo estiveram bem acima da faixa que caracteriza a ocorrência de acidose metabólica moderada, o que indica que esse distúrbio não foi um problema.

3.4 Conclusões

Apesar de bovinos de raças zebuínas apresentarem menor habilidade para utilizar dietas contendo quantidades elevadas de carboidratos rapidamente fermentáveis, os resultados obtidos no presente estudo demonstram o uso seguro de dietas de alto concentrado por novilhos Nelore. Ainda assim, a inclusão de virginiamicina em dietas contendo o ionóforo salinomicina apresentou efeitos positivos sobre a fermentação ruminal, especialmente quando a dieta com maior proporção de concentrado foi utilizada. No entanto, os efeitos benéficos do uso combinado de salinomicina e virginiamicina sobre as demais características avaliadas no presente estudo não foram demonstrados.

Referências

AGLE, M.; HRISTOV, A.N.; ZAMAN, S.; SCHNEIDER, C.; NDEGWA, P.M.; VADDELLA, V.K. Effect of dietary concentrate on rumen fermentation, digestibility, and nitrogen losses in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.93, n.9, p.4211-4222, 2010.

AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL. **Energy and protein requirements of ruminants.** Wallingford: CAB International, 1993. 159 p.

ALMEIDA, R.; LANNA, D.P.D. Influence of breed on performance and dry matter intake by feedlot bull calves in Brazil. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.81, suppl. 1, p.111, 2003. Abstract.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis.** 15th ed. Arlington: 1990. 1117 p.

BACH, A.; CALSAMIGLIA, S.; STERN, M.D. Nitrogen metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.88, suppl., p.E9-E21, 2005.

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

BLAXTER, K.L. **The energy metabolism of ruminants.** Springfield, IL: Charles C. Thomas, 1962. 329 p.

BRAWNER, W.R.; HENTGES, J.F.; MOORE, J.E.; NEA, F.C.; HIMES, J.A. Naturally induced bovine lactic acidosis. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.28, suppl., p.126, 1969. Abstract.

BÜRGER, P.J.; PEREIRA, J.C.; COELHO DA SILVA, J.F.; VALADARES FILHO, S.D.C.; CECON, P.R.; JORDÃO, C.P.; BRAZ, S.P. Taxas de passagem e cinética da degradação ruminal em bezerros holandeses alimentados com dietas contendo diferentes níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.29, n.1, p.225-235, 2000a.

BÜRGER, P.J.; PEREIRA, J.C.; QUEIROZ, A.C.D.; SILVA, J.F.C.; VALADARES FILHO, S.C.; CECON, P.R.; CASALI, A.D.P. Comportamento ingestivo em bezerros holandeses alimentados com dietas contendo diferentes níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.29, n.1, p.236-242, 2000b.

CANTALAPIEDRA-HIJAR, G.; YÁÑEZ-RUIZ, D.R.; MARTÍN-GARCÍA, A.I.; MOLINA-ALCAIDE, E. Effects of forage:concentrate ratio and forage type on apparent digestibility, ruminal fermentation, and microbial growth in goats. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.87, n.2, p.622-631, 2009.

CARVALHO, A.U.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, J.F.C.; CECON, P.R.; VALADARES, R.F.D.; GOUVEIA, R.C.C.O. Níveis de concentrados em dietas de zebuínos. 4. Concentrações ruminais de amônia e pH, taxa de passagem da digesta ruminal e degradação *in situ* dos alimentos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.26, n.5, p.1016-1024, 1997.

CHALUPA, W. Manipulating rumen fermentation. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.45, n.3, p.585-599, 1977.

CHANNON, A.F.; ROWE, J.B.; HERD, R.M. Genetic variation in starch digestion in feedlot cattle and its association with residual feed intake. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Melbourne, v.44, n 5., p.469-474, 2004.

CLAYTON, E.H.; LEAN, I.J.; ROWE, J.B.; COX, J.W. Effects of feeding virginiamycin and sodium bicarbonate to grazing lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.82, n.7, p.1545-1554, 1999.

COE, M.L.; NAGARAJA, T.G.; SUN, Y.D.; WALLACE, N.; TOWNE, E.G.; KEMP, K.E.; HUTCHENSON, J.P. Effect of virginiamycin on ruminal fermentation in cattle during adaptation to a high concentrate diet and during an induced acidosis. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.77, n.8, p.2259-2268, 1999.

DeGREGORIO, R.M.; TUCKER, R.E.; MITCHELL JR, G.E.; GILL, W.W. Carbohydrate fermentation in the large intestine of lambs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.54, n.4, p.855-862, 1982.

DEHORITY, B.A. **Rumen microbiology.** 1 ed. Nottingham: Nottingham University Press, 2003. 372 p.

ELAM, C.J. Acidosis in feedlot cattle: practical observations. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.43, n.4, p.898-901, 1976.

ERFLE, J.D.; BOILA, R.J.; TEATHER, R.M.; MAHADEVAN, S.; SAUER, F.D. Effect of pH on fermentation characteristics and protein degradation by rumen microorganisms in vitro. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.65, n.8, p.1457-1464, 1982.

FRANZOLIN, R.; DEHORITY, B.A. Effect of prolonged high-concentrate feeding on ruminal protozoa concentrations. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.74, n.11, p.2803-2809, 1996.

GODFREY, S.I.; NAGARAJA, T.G.; WINSLOW, S.W.; ROWE, J.B. Rumen microbial adaptation to long-term feeding of virginiamycin in sheep fed barley and virginiamycin as a supplement. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v.46, n.6, p.1149-1158, 1995.

HEDDE, R.D.; ARMSTRONG, D.G.; PARISH, R.C.; QUACH, R. Virginiamycin effect on rumen fermentation in cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.51, suppl. 1, p.366-367, 1980. Abstract.

HILTNER, P.; DEHORITY, B.A. Effect of soluble carbohydrates on digestion of cellulose by pure cultures of rumen bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.46, n.3, p.642-648, 1983.

HIRONAKA, R.; FREEZE, B.; KOZUB, G.C.; BEAUCHEMIN, K.A. Influence of barley silage:concentrate ratio on rate and efficiency of liveweight gain, diet digestibility and carcass characteristics of beef steers. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v.74, n.3, p.495-501, 1994.

HOOVER, W.H. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.69, n.10, p.2755-2766, 1986.

HOOVER, W.H.; STOKES, S.R. Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.74, n.10, p.3630-3644, 1991.

KNUDSEN, K.E.B. Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdã, v.67, n.4, p.319-338, 1997.

KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes.** 3 ed. Santa Maria: Editora UFSM, 2011. 216 p.

KRAUSE, K.M.; OETZEL, G.R. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: a review. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdã, v.126, n.3, p.215-236, 2006.

KREIKEMEIER, K.K.; HARMON, D.L.; BRANDT JR, R.T.; NAGARAJA, T.G.; COCHRAN, R.C. Steam-rolled wheat diets for finishing cattle: effects of dietary roughage and feed intake on finishing steer performance and ruminal metabolism. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.68, n.7, p.2130-2141, 1990.

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, capítulo 15, p.297-324.

LANNA, D.P.D.;ALMEIDA, R.;NEPOMUCENO, N.H.C.;BARIONI, L.G.;CAIXETA FILHO, J.V.;HOFFMANN, B.M.;CALEGARE, L.N.P. **RLM 3.2 - Ração de Lucro Máximo,** 2010. Disponível em: <http://www.integrasoftware.com.br>. Acesso em: 15-5-2012.

LEME, P.R.; SILVA, S.L.; PEREIRA, A.S.C.; PUTRINO, S.M.; LANNA, D.P.D.; NOGUEIRA FILHO, J.C.M. Utilização do bagaço de cana-de-açúcar em dietas com

elevada proporção de concentrados para novilhos Nelore em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.32, n.6, p.1786-1791, 2003.

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T.M.; VAN SOEST, P.J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdã, v.57, n.4, p.347-358, 1996.

LIU, X.; WANG, Z.; LEE, F. Influence of concentrate level on dry matter intake, N balance, nutrient digestibility, ruminal outflow rate, and nutrient degradability in sheep. **Small Ruminant Research**, Amsterdã, v.58, n.1, p.55-62, 2005.

MAEKAWA, M.; BEAUCHEMIN, K.A.; CHRISTENSEN, D.A. Chewing activity, saliva production, and ruminal pH of primiparous and multiparous lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.85, n.5, p.1176-1182, 2002.

McCLURE, W.H.; FONTENOT, J.P.; WEBB, K.E.; LUCAS, D.M. Feedlot performance of cattle fed different salinomycin levels. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.51, suppl.1, p.380, 1980. Abstract.

MEHRES, A.Z.; ØRSKOV, E.R. A study of artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. **Journal of Agriculture Science**, Cambridge, v.88, n.3, p.645-650, 1977.

MERCHEN, N.R.; BERGER, L.L. Effect of salinomycin level on nutrient digestibility and ruminal characteristics of sheep and feedlot performance of cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.60, n.5, p.1338-1346, 1985.

MERTENS, D.R. Regulation of forage intake. In: FAHEY, G. C.;COLLINS, M.;MERTENS, D. R.;MOSER, L. E. **Forage Quality, Evaluation, and Utilization**. Madison, WI: American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, And Soil Science Society of America, 1994, p.450-493.

MERTENS, D.R.; LOFTEN, J.R. The effect of starch on forage fiber digestion kinetics in vitro. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.63, n.9, p.1437-1446, 1980.

MILLEN, D.D.; PACHECO, R.D.L.; ARRIGONI, M.D.B.; GALYEAN, M.L.; VASCONCELOS, J.T. A snapshot of management practices and nutritional recommendations used by feedlot nutritionists in Brazil. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.87, n.10, p.3427-3439, 2009.

MILLEN, D.D.; PACHECO, R.D.L.; MEYER, P.M.; RODRIGUES, P.H.M.; DE BENI ARRIGONI, M. Current outlook and future perspectives of beef production in Brazil. **Animal Frontiers**, Champaign, v.1, n.2, p.46-52, 2011.

MILLER, B.G.; MUNTIFERING, R.B. Effect of forage: concentrate on kinetics of forage fiber digestion in vivo. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.68, n.1, p.40-44, 1985.

MISSIO, R.L.; BRONDANI, I.L.; ALVES FILHO, D.C.; SILVEIRA, M.F.; FREITAS, L.S.; RESTLE, J. Comportamento ingestivo de tourinhos terminados em confinamento, alimentados com diferentes níveis de concentrado na dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.39, n.7, p.1571-1578, 2010.

MOGENTALE, S.M.; SILVA, E.J.A.; MEYER, P.M.; MARINO, C.T.; SUCUPIRA, M.C.A.; DEMARCHI, J.J.A.A.; RODRIGUES, P.H.M. Effects of flavomycin on ruminal fermentation, in situ degradability and in vivo digestibility in bovine fed sugarcane diets. **American Journal of Animal and Veterinary Sciences**, Nova York, v.5, n.2, p.76-85, 2010.

MOULD, F.L.; ØRSKOV, E.R. Manipulation of rumen fluid pH and its influence on cellulolysis in sacco, dry matter degradation and the rumen microflora of sheep offered either hay or concentrate. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdã, v.10, n.1, p.1-14, 1983.

MOULD, F.L.; ØRSKOV, E.R.; MANN, S.O. Associative effects of mixed feeds. I. effects of type and level of supplementation and the influence of the rumen fluid pH on cellulolysis in vivo and dry matter digestion of various roughages. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdã, v.10, n.1, p.15-30, 1983.

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 Experimental Agriculture**, Melbourne, v.32, n.8, p.1037-1043, 1992.

NAGARAJA, T.G.; TAYLOR, M.B. Susceptibility and resistance of ruminal bacteria to antimicrobial feed additives. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.53, n.7, p.1620-1625, 1987.

NAGARAJA, T.G.; GODFREY, S.I.; WINSLOW, S.W.; 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, n.6, p.1137-1147, 1995a.

NAGARAJA, T.G.; TAYLOR, M.B.; HARMON, D.L.; BOYER, J.E. In vitro lactic acid inhibition and alterations in volatile fatty acid production by antimicrobial feed additives. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.65, n.4, p.1064-1076, 1987.

NAGARAJA, T.G.; AVERY, T.B.; BARTLEY, E.E.; GALITZER, S.J.; DAYTON, A.D. Prevention of lactic acidosis in cattle by lasalocid or monensin. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.53, n.1, p.206-216, 1981.

NAGARAJA, T.G.; GODFREY, S.I.; WINSLOW, S.W.; ROWE, J.B.; KEMP, K.E. Effect of virginiamycin on ruminal fermentation in faunated or ciliate-free sheep overfed with barley grain. **Small Ruminant Research** , Amsterdã, v.17, n.1, p.1-8, 1995b.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of beef cattle.** 7th ed. Washington, D.C.: National Academic Press, 1996. 242 p.

NUÑEZ, A.J.C. **Uso combinado de ionóforo e virginiamicina em novilhos Nelore confinados com dietas de alto concentrado.** 2008. 67p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo , Piracicaba, 2008.

OLBRICH JR, J.F. **The effect of corn particle size and corn silage level on the performance of Angus (*Bos taurus*) and Brahman (*Bos indicus*) steers.** 1996. 181p. Thesis (PhD - Animal Science) - University of Florida, Gainesville, 1996.

ØRSKOV, E.R.; MCDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v.92, n.2, p.499-503, 1979.

ØRSKOV, E.R.; HOVEL, F.D.D.; MOULD, F. The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. **Tropical Animal Production**, Santo Domingo, v.5, n.3, p.195-213, 1980.

OWENS, F.N.; SECRIST, D.S.; HILL, W.J.; GILL, D.R. Acidosis in cattle: a review. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.76, n.1, p.275-286, 1998.

PIVA, G.; MASOERO, F.; PRANDINI, A. Effects of virginiamycin on ruminal fermentation: in vitro and in vivo trials. **Zootecnica e Nutrizione Animale**, Bolonha, v.12, n.6, p.453-458, 1986.

POOS, M.I.; HANSON, T.L.; KLOPFENSTEIN, T.J. Monensin effects on diet digestibility, ruminal protein bypass and microbial protein synthesis. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.48, n.6, p.1516-1524, 1979.

PUTRINO, S.M.; LEME, P.R.; SILVA, S.; MANELLA, M.Q.; NOGUEIRA FILHO, J.C.; LIMA, C.G.; ALLEONI, G.F. Digestibilidade aparente de dietas com níveis crescentes de concentrado em novilhos Brangus e Nelore. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.59, n.2, p.406-413, 2007.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. **Clínica veterinária. Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüínos.** 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737 p.

REFFETT-STABEL, J.; SPEARS, J.W.; HARVEY, R.W.; LUCAS, D.M. Salinomycin and lasalocid effects on growth rate, mineral metabolism and ruminal fermentation in steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, n.10, v.67, p.2735-2742, 1989.

ROGERS, J.A.; BRANINE, M.E.; MILLER, C.R.; WRAY, M.I.; BARTLE, S.J.; PRESTON, R.L.; GILL, D.R.; PRITCHARD, R.H.; STILBORN, R.P.; BECHTOL, D.T.

Effects of dietary virginiamycin on performance and liver abscess incidence in feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.73, n.1, p.9-20, 1995.

RUSSELL, J.B.; HINO, T. Regulation of lactate production in *Streptococcus bovis*: a spiralling effect that contributes to rumen acidosis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.68, n.7, p.1712-1721, 1985.

SALINAS-CHAVIRA, J.; LENIN, J.; PONCE, E.; SANCHEZ, U.; TORRENTERA, N.; ZINN, R.A. Comparative effects of virginiamycin supplementation on characteristics of growth-performance, dietary energetics, and digestion of calf-fed Holstein steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.87, n.12, p.4101-4108, 2009.

SILVA, F.F.; VALADARES FILHO, S.C.; ÍTAVO, L.C.V.; VELOSO, C.M.; PAULINO, M.F.; VALADARES, R.F.D.; CECON, P.R.; SILVA, P.A.; GALVÃO, R.M. Consumo, desempenho, características de carcaça e biometria do trato gastrintestinal e dos órgãos internos de novilhos Nelore recebendo dietas com diferentes níveis de concentrado e proteína. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.31, n.4, p.1849-1864, 2002.

SILVA, S.L.; ALMEIDA, R.; SCHWAHOFER, D.; LEME, P.R.; LANNA, D.P.D. Effects of salinomycin and virginiamycin on performance and carcass traits of feedlot steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.82, suppl. 1, p.41-42, 2004. Abstract.

SIMPSON, M.E. Effects of certain antibiotics in vitro cellulose digestibility and volatile fatty acid (VFA) production by ruminal microorganisms. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.47, Suppl. 1, p.429, 1978. Abstract.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **SAS/STAT.**: Guide of personal computers. Version 9.0. Cary, 2002. 1 v.

TOWNE, G.; NAGARAJA, T.G.; KEMP, K.K. Ruminal ciliated protozoa in bison. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington v.54, n.11, p.2733-2736, 1988.

VAN DER LINDEN, Y.; VAN GYLSWYK, N.O.; SCHWARTZ, H.M. Influence of supplementation of corn stover with corn grain on the fibrolytic bacteria in the rumen of sheep and their relation to the intake and digestion of fiber. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.59, n.3, p.772-783, 1984.

VAN NEVEL, C.J.; DEMEYER, D.I. Influence of antibiotics and a deaminase inhibitor on volatile fatty acids and methane production from detergent washed hay and soluble starch by rumen microbes in vitro. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdã, v.37, n.1-2, p.21-31, 1992.

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

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.

VANCE, R.D.; PRESTON, R.L.; KLOSTERMAN, E.W.; CAHILL, V.R. Utilization of whole shelled and crimped corn grain with varying proportions of corn silage by growing-finishing steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.35, n.3, p.598-605, 1972.

VARGAS, L.H.; LANA, R.P.; MÂNCIO, A.B.; CAMPOS, J.M.S. Influência de rumensin®, óleo de soja e níveis de concentrado sobre o consumo e os parâmetros fermentativos ruminais em bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.30, n.5, p.1650-1658, 2001.

VÉRAS, A.S.C.; VALADARES FILHO, S.C.; COELHO DA SILVA, J.F.; PAULINO, M.F.; CECON, P.R.; VALADARES, R.F.D.; FERREIRA, M.A.; CABRAL, L.S. Consumo e digestibilidade aparente em bovinos Nelore, não-castrados, alimentados com rações contendo diferentes níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.29, n.6, p.2367-2378, 2000.

WEISS, W.P.; CONRAD, H.R.; ST PIERRE, N.R. A theoretically-based model for predicting total digestible nutrient values of forages and concentrates. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdã, v.39, n 1-2, p.95-110, 1992.