

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

EFEITO DO PREPARADO DE ANTICORPOS POLICLONAI S SOBRE O
CONSUMO ALIMENTAR, FERMENTAÇÃO RUMINAL E
DIGESTIBILIDADE *IN VIVO* DE BOVINOS SUPLEMENTADOS COM
TRÊS FONTES ENERGÉTICAS

CAROLINA TOBIAS MARINO

Tese apresentada ao Programa de Pós-
graduação - Área de concentração:
Nutrição e Produção Animal, como parte
das exigências para obtenção do Título
de Doutor.

BOTUCATU / SP
Junho / 2008

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

EFEITO DO PREPARADO DE ANTICORPOS POLICLONAIS SOBRE O
CONSUMO ALIMENTAR, FERMENTAÇÃO RUMINAL E
DIGESTIBILIDADE *IN VIVO* DE BOVINOS SUPLEMENTADOS COM
TRÊS FONTES ENERGÉTICAS

CAROLINA TOBIAS MARINO
Médica Veterinária

ORIENTADOR: Prof.Dr. MÁRIO DE BENI ARRIGONI
CO-ORIENTADOR: Prof.Dr. PAULO HENRIQUE MAZZA RODRIGUES

Tese apresentada ao Programa de Pós-
graduação - Área de concentração:
Nutrição e Produção Animal, como parte
das exigências para obtenção do Título
de Doutor.

BOTUCATU / SP
Junho / 2008

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

M339e Marino, Carolina Tobias, 1978-
Efeito do preparado de anticorpos policlonais sobre o consumo alimentar, fermentação ruminal e digestibilidade *in vivo* de bovinos suplementados com três fontes energéticas / Carolina Tobias Marino. - Botucatu : [s.n.], 2008.
xiii, 107 f. : gráfs., tabs.

Tese (Doutorado) -Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2008
Orientador: Mário de Beni Arrigoni
Co-orientador: Paulo Henrique Mazza Rodrigues
Inclui bibliografia.

1. Anticorpos policlonais. 2. Nutrição animal. 3. Fermentação no rume. 4. Bovino - Alimentação e rações. 5. Digestão. I. Arrigoni, Mário de Beni. II. Rodrigues, Paulo Henrique Mazza. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. IV. Título.

Ando devagar porque já tive pressa
e levo este sorriso porque já chorei demais.
Hoje me sinto mais forte, mais feliz quem sabe
só levo a certeza de que muito pouco eu sei,
eu nada sei.

Todo mundo ama um dia, todo mundo chora
um dia a gente chega, no outro vai embora
cada um de nós compõe a sua história
e cada ser em si, carrega o dom de ser capaz
e ser feliz.

É preciso amor para poder pulsar
é preciso paz para poder seguir
é preciso a chuva para florir.

Sinto que seguir a vida seja
simplesmente conhecer a marcha,
e ir tocando em frente
como um velho boiadeiro levando a boiada,
eu vou tocando os dias pela longa estrada eu vou,
de estrada eu sou.

Tocando em frente
Almir Sater e Renato Teixeira

Dedicatória

Aos meus pais LUIZ e WANDA, a base de tudo que sou.
Amo vocês !!!!!
Aos meus tios ÁLVARO e VERA pelo apoio em diversos aspectos da vida
e por compartilharem todos os momentos deste percurso.
E a minha avó MARINA (*in memoriam*) pelo eterno incentivo e amizade.
Seu amor está comigo todos os dias.

Agradecimentos

Com todo carinho agradeço:

Aos meus orientadores:

Prof. Dr. Mário de Beni Arrigoni, pelo grande exemplo como profissional e ser humano, por estar sempre aberto a ouvir e conversar, pela amizade e por ter acreditado e confiado em mim e no meu trabalho.

Prof. Dr. Paulo Henrique Mazza Rodrigues, pela orientação, incentivo, amizade, dedicação, confiança e participação com entusiasmo em todas as conquistas e dificuldades deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Alfredo DiCostanzo, pelo apoio na realização deste trabalho.

À Prof^a. Dr^a. Cyntia Ludovico Martins, pelo incentivo, amizade e ensinamentos durante as atividades didáticas no curso de Doutorado.

Aos professores do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal e Produção Animal – FMVZ (UNESP) por todo aprendizado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo auxílio financeiro ao projeto e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo.

À CAMAS Inc, pelo fornecimento do produto testado.

Ao amigo Walter G. Otero, por compartilhar todas as conquistas e dificuldades deste trabalho, com muita diversão sempre.

A Danilo Millen e Rodrigo Pacheco, pela ajuda e incentivo com a elaboração do projeto e outras etapas também.

A Gilmar E. Botteon, responsável pelo setor de fistulados do VNP (FMVZ-USP), pelo carinho com os alunos e com os animais, pela disposição a sempre nos ensinar e pelos bons momentos compartilhados.

Aos funcionários do Confinamento de Bovinos Superprecoces (FMVZ-UNESP), Sydney e Dinho, pela ajuda com o carregamento e transporte da silagem de grão úmido de milho.

Aos funcionários do Laboratório de Bromatologia do VNP (FMVZ-USP), Ari Luiz de Castro, Everson J. Lázaro, Gilson L.A. de Godoy, Simi L.D.A. Robassini e Isabel G. Ramos, pela paciência, disponibilidade para ensinar e participar de todas as etapas das análises deste projeto.

À Fernanda Altieri Ferreira (Xeila) e Flávio Alves (Tenébrio), por todo apoio e ajuda durante o experimento e depois dele, pela amizade e boas risadas.

À funcionária da Seção de Pós-graduação (FMVZ-UNESP), Carmen S.O. Pólo, por todo carinho e ajuda.

À secretária de graduação e pós-graduação do VNP (FMVZ-USP), Alessandra C.T. da Silva e Cristiane R.B. Lopes, por todo carinho e apoio.

A André Bordinhon, Andrezza (Daim), Camila Ítavo, Diego Peres Netto, Gabriel Garrido, Gil Ignácio Canizares, Igo Guimarães, Lisbeth Rosales, Luciana Rodrigues, Luiz Felipe (Felipão), Marleide da Costa, Rodrigo Morgado, Samuel (Gaúcho) e Taís A. dos Santos pela amizade e bons momentos compartilhados dentro e fora da FMVZ (UNESP – Botucatu) e FMVZ (USP – Pirassununga).

Às vacas fistuladas 255, 261, 247, 323, 334, 266, 259, 339, 325 e Diana que agüentaram firme e colaboraram muito durante todo experimento.

Aos meus pais, Luiz Carlos Marino e Wanda Tobias Marino, pelo amor e apoio incondicionais.

Aos meus tios, Álvaro Alves e Vera Tobias, grandes amigos, pelo apoio e incentivo sempre.

Ao meu irmão, César Marino Neto e cunhada, Luciana, e primas (minha irmãs) Luciana Marino, Marina e Fernanda Tobias, grandes companheiros desta vida.

À Sandra, Du e Dudinha por todo carinho.

Aos tios-avós Haroldo e Helena, pelo carinho e torcida sempre.

Aos amigos queridos Alexandre A. Regina, Ana Flávia Santana, Cristina Dib, Fábio Kaneto, Fernanda Gazzola, Guilherme Chaves, Juliana Trindade, Mariana Benetti Gomes, Renata Paixão, Reshma Sharma, Samantha B. Gomes e Rodrigo Gomes por todos momentos vividos e histórias para contar, independentemente da distância.

Aos amigos queridos Carlinhos, Graziela, Garcia, Mané, Paulinho Furquim, Solange Spin e amigos da Chácara Flora pelas boas risadas, apoio e incentivo sempre.

À Cida, Maria, Celma, Élvio e Zélia, por todo carinho e ajuda !!!!!!!

A minha escolha profissional, que me possibilita traçar caminhos de grandes descobertas profissionais e pessoais.

Muito obrigada !!!!!!!

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1: CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	1
CAPÍTULO 2: REVISÃO DA LITERATURA.....	5
2.1 INTRODUÇÃO - FERMENTAÇÃO RUMINAL.....	5
2.1.1 Caracterização do ambiente ruminal.....	5
2.1.2 Agentes responsáveis pela fermentação.....	6
2.1.3 Substratos da fermentação.....	7
2.1.4 Produtos da fermentação.....	7
2.2 FATORES QUE INFLUENCIAM A FERMENTAÇÃO.....	8
2.2.1 Dieta.....	8
2.2.1.1 Fontes energéticas na fermentação ruminal.....	9
2.2.1.1.1 Açúcares solúveis.....	9
2.2.1.1.2 Amido.....	9
2.2.1.1.3 Pectina.....	10
2.2.2 pH.....	11
2.1.3 Taxa de passagem.....	11
2.1.4 Tamponamento.....	12
2.3 MANIPULAÇÃO DA FERMENTAÇÃO RUMINAL.....	12
2.3.1 Modificadores da fermentação ruminal.....	13
2.3.1.1 Ionóforos.....	13
2.3.1.1.1 Ionóforos no consumo alimentar.....	14
2.3.1.1.2 Ionóforos na digestibilidade <i>in vivo</i>	15
2.3.1.2 Enzimas.....	19

2.3.1.3 Pesquisa de novos aditivos	19
2.3.1.3.1 Extrato de plantas	19
2.3.1.3.2 Extrato de própolis.....	20
2.3.1.3.3 Preparado de anticorpos policlonais.....	21
Referências Bibliográficas	26

CAPÍTULO 3: Efeito do preparado de anticorpos policlonais sobre o consumo alimentar e fermentação ruminal em bovinos suplementados com três fontes energéticas

Resumo.....	40
Abstract	41
Introdução.....	42
Material e Métodos	43
Resultados e Discussão	51
Conclusões	75
Literatura Citada	76

CAPÍTULO 4: Efeito do preparado de anticorpos policlonais sobre a digestibilidade *in vivo* de bovinos suplementados com três fontes energéticas

Resumo.....	85
Abstract	86
Introdução.....	87
Material e Métodos	89
Resultados e Discussão	96

Conclusões	102
Literatura Citada	103
Apêndice.....	106

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 3

- Tabela 1 Composição bromatológica dos ingredientes das dietas experimentais, com base na matéria seca.....45
- Tabela 2 Proporções de ingredientes e composição bromatológica das dietas experimentais, com base na matéria seca.....46
- Tabela 3 Esquema da análise de variância para delineamento em quadrado latino triplicado, adicionado do fator de medidas repetidas no tempo, com arranjo fatorial de tratamentos.....50
- Tabela 4 Valores de consumo de matéria seca (CMS), consumo de matéria seca em relação ao peso vivo (CPV), consumo de matéria seca em relação ao peso metabólico (CPM) e parâmetros de fermentação ruminal obtidos com os tratamentos compostos por diferentes modificadores ruminais e fontes energéticas.....53

CAPÍTULO 4

- Tabela 1 Composição bromatológica dos ingredientes das dietas experimentais, com base na matéria seca.....91
- Tabela 2 Proporções de ingredientes e composição bromatológica das dietas experimentais, com base na matéria seca.....92
- Tabela 3 Esquema da análise de variância para delineamento em quadrado latino triplicado, com arranjo fatorial de tratamentos.....96
- Tabela 4 Valores dos coeficientes de digestibilidade da matéria seca e suas frações e valores médios de nutrientes digestíveis totais (NDT) obtidos com os tratamentos compostos por diferentes modificadores ruminais e fontes energéticas.....98

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 3

- Figura 1 Esquema do delineamento experimental em quadrado latino 3X3 triplicado, com arranjo fatorial de tratamentos 3X3.....44
- Figura 2 Valores de pH ruminal obtidos com os tratamentos compostos por modificadores ruminais (CON - controle, MON - monensina, PAP - preparado de anticorpos policlonais) (a.) e fontes energéticas (MS- milho seco e moído, MU - silagem de grão úmido de milho, PC - polpa cítrica) (b.)59
- Figura 3 Valores de pH ruminal às 4 h após a alimentação, com a adição de modificadores ruminais e fontes energéticas.....60
- Figura 4 Valores da concentração total de ácidos graxos de cadeia curta (mM) com os tratamentos compostos por modificadores ruminais (a.) (CON - controle, MON - monensina, PAP - preparado de anticorpos policlonais) e fontes energéticas (b.) (MS- milho seco e moído, MU - silagem de grão úmido de milho, PC - polpa cítrica).....63
- Figura 5 Valores da proporção molar (% molar) de acetato (a.), propionato (b.), butirato (c.) e relação acetato:propionato (d.) com os tratamentos compostos por modificadores ruminais médios (CON - controle, MON - monensina, PAP - preparado de anticorpos policlonais).....67
- Figura 6 Valores da proporção molar (% molar) de acetato (a.), propionato (b.), butirato (c.) e relação acetato:propionato (d.) com os tratamentos compostos diferentes fontes energéticas (MS- milho seco e moído, MU - silagem de grão úmido de milho, PC - polpa cítrica).....70
- Figura 7 Concentração de lactato total (mM) com a adição de modificadores ruminais (CON - controle, MON - monensina, PAP - preparado de anticorpos policlonais) na dieta suplementada com silagem de grão úmido de milho.....72
- Figura 8 Valores da concentração ruminal de nitrogênio amoniacal (mg/dL) com a médios do efeito da adição de fontes energéticas (MS- milho seco e moído, MU - silagem de grão úmido de milho, PC - polpa cítrica)74

CAPÍTULO 4

Figura 1 Esquema do delineamento experimental em quadrado latino 3X3 triplicado, com arranjo fatorial de tratamentos 3X3.....90

APÊNDICE

Figura 1 Gráficos de leiura da proporção molar entre os ácidos graxos de cadeia curta em líquido ruminal por cromatografia gasosa, (a.) amostra padrão, (b. e c.) amostra do presente experimento.....107

CAPÍTULO 1.
CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Nas últimas décadas vem sendo notável o crescimento da produção brasileira de carne bovina, em termos quantitativos como qualitativos.

No primeiro semestre de 2007, o Brasil exportou 1,36 milhão de toneladas de carne bovina, aumento em 27 % em volume e 31 % em receita adquirida para o país em relação ao mesmo período de 2006. A Rússia mantém o posto de maior importadora de carne brasileira *in natura* seguida pelo Egito. Já os Estados Unidos lideram a importação de carne industrializada e logo após, o Reino Unido (MURAKAWA, 2007).

No ano de 2004, foram abatidas no Brasil 41,4 milhões de cabeças de bovinos e em 2007, este número passou para 45 milhões de cabeças (PITOMBO, 2008). Nestes abates, a indústria vem identificando constante melhora na qualidade dos animais, e conseqüentemente, no produto final produzido. Este avanço deve-se ao esforço conjunto de todos os setores da cadeia produtora, no intuito de desenvolver e implementar tecnologias que aumentem a eficiência de produção, desde a fazenda até a mesa do consumidor.

Na área de manejo nutricional, a utilização de ionóforos como aditivos alimentares para bovinos se tornou imprescindível na manipulação da fermentação ruminal, aumentando a eficiência no aproveitamento das dietas empregadas. Em 2006, estima-se que foram confinados 2,13 milhões de bovinos no Brasil. Para o ano de 2007 eram esperadas um total de 2,53 milhões de animais (TONINI et al., 2007). Só o estado de Goiás confinou 875.962 animais, no ano de 2007. Dados revelados no 1º Censo de Confinadores de Goiás (ALBUQUERQUE, 2008). Nestes confinamentos, é

observado um aumento na utilização de dietas com alta proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis, com intuito de obter maior ganho de peso diário. Com isso, há diminuição dos dias necessários para a terminação dos animais. Neste caso, a inclusão de ionóforos garante a saúde animal por controlar microorganismos relacionados com quadros de acidose. Porém, há questões sanitárias e de segurança alimentar relacionadas ao seu uso que vem sendo discutidas mundialmente há alguns anos. O Brasil, como importante produtor e exportador de alimentos de origem animal, deve estar atento à nova realidade do mercado mundial.

A Comunidade Européia, através do Regulamento (EC) N° 1831/2003 (EUROPA, 2003), determinou a proibição da utilização de antibióticos e coccidiostáticos como aditivos alimentares para bovinos. Alguns princípios farmacêuticos já não se encontram em comercialização; outros, porém, estão sendo retirados de forma gradual. Apesar de não haver comprovação científica, esta medida foi adotada como prevenção a uma possível relação entre o aumento da incidência de microorganismos resistentes aos antibióticos, observado na medicina humana, e o uso destas substâncias nas rações animais. Além disso, há uma solicitação crescente do mercado consumidor por alimentos de origem vegetal e animal saudáveis e naturais, que provêm de criações conduzidas com a menor utilização de substâncias sintéticas, quanto possível.

Desta forma, surge a oportunidade de pesquisa e desenvolvimento de novos aditivos que desempenhem funções semelhantes aos antibióticos e ionóforos e que sejam seguros à saúde humana (NEWBOLD, 2007).

Alguns autores (HARDY, 2002; BERGHMAN & WAGHELA, 2004) tem citado a utilização do conceito de imunidade como potencial ferramenta na manipulação da fermentação ruminal. Anticorpos de origem aviária contra bactérias específicas seriam adicionados à alimentação animal, aumentando a eficiência produtiva através da imunidade passiva. No caso dos bovinos, os anticorpos seriam contra os microorganismos *Streptococcus bovis* e

Fusobacterium necrophorum relacionados com a ocorrência de acidose ruminal e abscessos hepáticos, respectivamente.

O interesse em compreender os efeitos da utilização de um preparado de anticorpos policlonais contra bactérias ruminais específicas como aditivo alimentar levou a realização desta pesquisa. O tema foi tratado em dois capítulos, 3 e 4 da presente tese:

O Capítulo 3, denominado efeito do preparado de anticorpos policlonais no consumo de matéria seca e fermentação ruminal de bovinos suplementados com três fontes energéticas, apresenta-se de acordo com as normas para publicação na revista *Journal of Animal Science*. O objetivo deste trabalho foi avaliar o consumo alimentar e os parâmetros de fermentação ruminal, pH, concentração dos ácidos graxos de cadeia curta: acético, propiônico, butírico e láctico e nitrogênio amoniacal em fêmeas bovinas fistuladas no rúmen, alimentadas com dietas de relação volumoso:concentrado igual a 30:70, adicionadas de dois modificadores ruminais mais o grupo controle (CON) e três fontes energéticas. Os modificadores ruminais foram representados pela monensina sódica (MON) ou preparado de anticorpos policlonais (PAP) e as fontes energéticas pelo milho seco moído (MSM), silagem grão úmido de milho (SGUM) e polpa cítrica (PC).

O Capítulo 4, denominado efeito do preparado de anticorpos policlonais na digestibilidade *in vivo* de bovinos suplementados com três fontes energéticas, também apresenta-se de acordo com as normas para publicação no periódico *Journal of Animal Science*. Nesta parte da tese, há a descrição e discussão dos dados referentes à digestibilidade *in vivo* das dietas suplementadas com dois modificadores ruminais mais o grupo controle e três fontes energéticas.

CAPÍTULO 2.
REVISÃO DA LITERATURA

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 INTRODUÇÃO – FERMENTAÇÃO RUMINAL

O processo digestivo das espécies ruminantes compreende uma das relações simbióticas entre seres vivos mais bem sucedidas na natureza. O principal órgão digestório dos ruminantes, o rúmen, é considerado uma câmara de fermentação que apresenta condições ambientais adequadas para a multiplicação e desenvolvimento de microorganismos unicelulares. Estes por sua vez, degradam e fermentam os alimentos ingeridos pelo hospedeiro obtendo como produtos, nutrientes necessários para sua sobrevivência e ácidos graxos de cadeia curta que não são utilizados pelos microorganismos, mas sim pelos ruminantes, como fonte de energia para os diversos processos metabólicos.

2.1.1 Caracterização do ambiente ruminal

No interior do rúmen há condições ambientais ideais para o desenvolvimento de microorganismos como bactérias, protozoários e fungos que compõem a flora microbiana. Estas condições são temperatura entre 38-41°C, pH entre 5,5-7,2, umidade entre 85-90%, osmolaridade entre 260-340 mOsm e ambiente anaeróbico. Além disso, há presença constante de substratos para fermentação oriundos da alimentação, um padrão de motilidade ruminal que permite a mistura do conteúdo e remoção periódica dos subprodutos de fermentação não utilizados pela flora microbiana através de absorção pelo epitélio ruminal (CARVALHO et al., 2003).

O objetivo do ruminante é manter as condições ruminais descritas acima para assegurar que o metabolismo dos microorganismos mantenha-se ativo para fermentar os nutrientes da dieta. A não manutenção destas condições poderá acarretar distúrbios metabólicos, como acidose ruminal.

O principal diferencial entre ruminantes e outras espécies de mamíferos é que através da relação simbiótica com os microorganismos é possível o aproveitamento dos nutrientes contidos nos carboidratos estruturais e nos compostos nitrogenados não-protéicos. Isto deve-se, a presença de enzimas no metabolismo dos microorganismos que permitem degradar estes compostos (VALADARES FILHO & PINA, 2006).

2.1.2 Agentes responsáveis pela fermentação

Os agentes responsáveis pela fermentação ruminal são microorganismos unicelulares representados por bactérias, protozoários e fungos. Em termos quantitativos, 60-90% da massa microbiana ruminal é composta por bactérias, 10-40% por protozoários ciliados e o restante 5-10% por fungos (VAN SOEST, 1994).

Na dependência da dieta fornecida, ou seja, do tipo de substrato que chega ao rúmen haverá determinada colonização resultando em diferentes produtos de fermentação.

No rúmen, os microorganismos estão distribuídos espacialmente no líquido ruminal, aderidos à fração sólida da digesta ou ligados à parede ruminal (ARCURI, LOPES & CARNEIRO, 2006).

As bactérias ruminais estão agrupadas em função do substrato que fermentam e podem ser classificadas em fermentadoras de carboidratos estruturais, não-estruturais, proteolíticas, metanogênicas, lácticas e lipolíticas. Os protozoários auxiliam a fermentação por ingerir partículas insolúveis e solúveis (grânulos de amido) no fluido ruminal, porém o processo digestivo é mais lento que o das bactérias. Possuem ainda atividade hemicelulolítica e celulolítica. Já os fungos colonizam as fibras presentes no rúmen com produção

de grandes quantidades de celulasas e xilanasas de alta atividade (KOZLOSKI et al. 2002).

2.1.3 Substratos da fermentação

Os principais substratos da fermentação ruminal são os carboidratos presentes nos ingredientes vegetais das dietas (BERGMAN, 1990).

Os carboidratos podem ser classificados de acordo com as características nutricionais em fibrosos ou não-fibrosos. Os carboidratos fibrosos são representados pela hemicelulose e celulose. São frações que compõem a parede celular das plantas, de degradação ruminal lenta realizada por bactérias hemicelulolíticas e celulolíticas. Os carboidratos não-fibrosos são representados por açúcares, amido e pectina. Os açúcares e o amido são constituintes do conteúdo celular, já a pectina faz parte da parede celular. São frações de degradação rápida realizada por bactérias sacarolíticas, amilolíticas, dextrinolíticas e pectinolíticas (MERTENS, 1992).

A degradação da proteína bruta dos alimentos pela microbiota ruminal complementa a fermentação dos carboidratos. A fração nitrogenada do alimento que é em parte ou totalmente degradada no rúmen fornece peptídeos, aminoácidos e amônia para síntese de proteína microbiana permitindo a multiplicação celular. A proteína microbiana e a fração protéica que escapa da degradação ruminal são digeridas e absorvidas no restante do trato gastrointestinal do animal e representam a fonte de aminoácidos para atender as exigências protéicas do metabolismo do ruminante (TEIXEIRA, 1998).

2.1.4 Produtos da fermentação

O tipo de substrato fermentado é determinante do tipo de ácido graxo de cadeia curta (AGCC) produzido (MURPHY et al., 1982), entretanto, fatores como nível de ingestão, taxa de fermentação e de passagem dos alimentos pode influenciar a proporção dos ácidos graxos produzidos (VALADARES FILHO

& PINA, 2006). Os principais ácidos graxos de cadeia curta formados são acético, propiônico e butírico, correspondendo a 95 % dos ácidos produzidos no rúmen (CARVALHO et al., 2003) e podem suprir de 60 a 80 % do requerimento energético dos ruminantes.

Após produzidos, os ácidos graxos de cadeia curta são absorvidos através do epitélio ruminal e a partir da corrente sanguínea, seguem para os diversos tecidos para serem metabolizados (TEIXEIRA, 1998).

2.2 FATORES QUE INFLUENCIAM A FERMENTAÇÃO RUMINAL

Depois de caracterizado o processo de fermentação ruminal, vale comentar a respeito de alguns fatores que interferem nestas reações metabólicas, alterando sua eficiência ou os produtos obtidos.

2.2.1 Dieta

A composição da dieta é fator determinante na fermentação ruminal, já que representa os substratos que estarão disponíveis para degradação pelos microorganismos. Por sua vez, os diferentes substratos determinarão as comunidades de microorganismos que os fermentarão alterando a proporção molar entre os ácidos graxos de cadeia curta (BERGMAN, 1990).

A quantidade e frequência com que estes nutrientes chegam ao rúmen também são fatores que devem ser levados em consideração.

De forma geral, em dietas à base de forragens, as proporções entre os ácidos graxos de cadeia curta no rúmen mantêm-se em torno de 65:25:10 moles de acetato:propionato e butirato. Já para dietas concentradas esta relação encontra-se ao redor de 50:40:10 (CARVALHO et al., 2003). Reduções da concentração molar de acetato estão relacionadas com o aumento da proporção de concentrado da dieta (SUTTON et al., 2003).

2.2.1.1 Fontes energéticas na fermentação ruminal

Os carboidratos energéticos não-estruturais mais abundantes na dieta de ruminantes são os açúcares solúveis, amido e a pectina. Cada um deles exerce uma influência no perfil de fermentação ruminal.

2.2.1.1.1 Açúcares solúveis

Açúcares são moléculas solúveis em água, rápida e completamente digeridas pelos microorganismos ruminais.

O efeito benéfico de sua inclusão na dieta de ruminantes reside no aumento do nível de energia prontamente disponível que melhora a eficiência de utilização das formas de nitrogênio solúvel ou não-proteico, e resulta em aumento do crescimento microbiano. Já o efeito negativo está relacionado com a redução do pH ruminal pela alta disponibilidade de energia prontamente disponível e aumento na produção de ácido lático (NUSSIO, CAMPOS & LIMA, 2006).

2.2.1.1.2 Amido

O milho é o principal cereal utilizado na alimentação animal no Brasil. É composto basicamente por amido (70 % da MS). No rúmen, a molécula de amido é degradada em maltose e glucose pelas bactérias amilolíticas. Logo após, as bactérias sacarolíticas fermentam estes compostos em piruvato. O piruvato é o intermediário comum para a fermentação dos carboidratos em ácidos graxos de cadeia curta, CO₂ e metano. Dietas ricas em grãos de cereais tendem a produzir maior proporção molar de propionato em relação a dietas à base de forragens (CARVALHO et al., 2003).

Um dos principais fatores que influenciam a taxa e extensão de digestão do amido do milho é o tipo de processamento. A moagem fina (fubá) e grossa são dois processamentos usualmente utilizados, onde a quebra do grão, facilita

o acesso dos microorganismos ao endosperma para digestão dos grânulos de amido. A ensilagem do grão úmido de milho e os tratamentos térmicos floculação e extrusão também podem ser utilizados com a finalidade de obter o máximo aproveitamento dos nutrientes presentes nos grãos de cereais (FRANCO, 2008).

COOPER et al. (2002) observaram que, em dietas compostas por milho úmido ou milho floculado, a digestibilidade aparente total do amido foi mais elevada, quando comparada ao milho laminado a seco. Resultados semelhantes foram descritos por GALYEAN et al. (1996), em relação à digestibilidade do amido. Já HUNTINGTON (1997) observou que a digestibilidade do amido foi mais elevada para o milho floculado, em relação ao milho laminado a seco, e o grão úmido de milho obteve valores intermediários.

2.2.1.1.3 Pectina

A pectina é um carboidrato constituído por polímeros de ácido galacturônico e que faz parte da estrutura da parede celular dos vegetais. É quase totalmente (90-100 %) degradável no rúmen (VAN SOEST, 1994).

A polpa cítrica é um subproduto agroindustrial utilizado na alimentação de ruminantes no Brasil, em que o carboidrato principal presente em sua composição é a pectina.

É um alimento comumente classificado como concentrado energético, por possuir valor energético semelhante ao milho (NRC, 1996), mas também possui propriedades de volumoso, devido à alta proporção de fibra digestível. Apresenta em sua composição um balanço entre fibra em detergente neutro (25 % da MS), carboidratos solúveis (30 % da MS) e fibra solúvel em detergente neutro, basicamente pectina (25 % da MS) (CARVALHO, 1998). Isso acarreta alterações no padrão de fermentação ruminal, prevalecendo a fermentação acética.

VIJCHULATA et al. (1980) e BEN-GHEDALIA et al. (1989) observaram aumento na relação acetato:propionato nas dietas à base de polpa cítrica em

comparação ao milho seco para novilhos e ovinos, respectivamente. Resultados semelhantes *in vitro* foram verificados por ARIZA et al. (2001).

Já ROJAS-BOURILLÓN et al. (2001) não observaram incrementos na proporção molar de acetato com a inclusão de até 40% na MS de polpa cítrica na dieta de vacas em lactação.

2.2.2 pH

As variações do pH ruminal têm forte impacto nas comunidades microbianas e conseqüentemente nos produtos de fermentação, além de influência nas funções fisiológicas como motilidade e absorção ruminal (NAGARAJA & TITGEMEYER, 2007).

Estudos *in vitro* demonstraram que quando o pH do meio passou de 7,0 para 5,5 foi observada diminuição na proporção molar de acetato e butirato e concentração de nitrogênio amoniacal e aumento na proporção molar de propionato com conseqüente diminuição da relação acetato:propionato. Isto ocorre porque as bactérias celulolíticas produtoras de acetato e butirato são sensíveis ao baixo pH, diferente das bactérias amilolíticas, produtoras de propionato (LANA et al., 1998; CALSAMIGLIA et al. 2002; YANG et al. 2002).

Por sua vez, o nível de consumo alimentar, os ingredientes da dieta, o tempo após a alimentação e a salivacão têm efeito direto sobre o pH ruminal (QUEIROZ et al. 1998).

2.2.3 Taxa de passagem

Junto com o pH, a taxa de passagem é um dos principais fatores que determina as alterações na fermentação ruminal. Esta por sua vez é influenciada pelo nível de consumo, tamanho das partículas, qualidade nutricional dos ingredientes e relação volumoso:concentrado da dieta (HOOVER & STOKES, 1991). Além disso, a taxa de passagem também é afetada pela ruminação das partículas fibrosas dos alimentos, taxa de

passagem das partículas finas e microorganismos ruminais, bem como a retirada de líquidos do rúmen, sendo esta última influenciada pela pressão osmótica (VAN SOEST, 1994).

2.2.4 Tamponamento

A saliva é um tamponante natural do rúmen produzida principalmente pela glândula parótida com o estímulo da mastigação. É uma solução alcalina (pH 8,1), constituída basicamente de água (99-99,5%). O restante é composto por material inorgânico como bicarbonato de sódio (NaHCO_3) e potássio (NaHPO_4^{2-}) e orgânico como proteína, mucina e uréia (FURLAN, MACARI & FARIA FILHO, 2006). Sua principal função está relacionada à capacidade de neutralizar os ácidos produzidos no rúmen, mantendo o pH ruminal dentro dos limites para que os processos fermentativos permaneçam ativos (5,5 – 7,2) (TEIXEIRA, 1998).

A quantidade de saliva secretada depende da composição física e química do alimento; os ricos em fibras com tamanho de partícula grande induzem secreções de maiores quantidades de saliva (FURLAN, MACARI & FARIA FILHO, 2006).

2.3 MANIPULAÇÃO DA FERMENTAÇÃO RUMINAL

No final do século XVIII, TAPPEINER (1884) (citado por BERGMAN, 1990) demonstrou que os microrganismos presentes no rúmen fermentavam celulose e como produtos obtinham ácidos graxos de cadeia curta, metano e dióxido de carbono. Desde esta época, a comunidade científica busca entender os processos metabólicos que ocorrem neste órgão e suas interações e procura estratégias de manipulação da fermentação ruminal com intuito de melhorar a eficiência energética destas reações. Esta energia disponível pode ser utilizada para incremento dos fins produtivos do animal, como ganho de peso ou produção leiteira.

2.3.1 Modificadores da fermentação ruminal

2.3.1.1 Ionóforos

Os ionóforos são substâncias produzidas por microorganismos como o *Streptococcus cinnamonensis* (HANEY & HOEHN, 1967) e agem sobre a permeabilidade da membrana celular, alterando o fluxo iônico celular, que resulta na redução ou inibição do crescimento de alguns microorganismos (RUSSELL & STROBEL, 1989). Por apresentar a característica de alterar a composição da microbiota ruminal, os ionóforos monesina e lasalocida sódica têm sido amplamente utilizados como aditivos alimentares para bovinos com o intuito de melhorar a eficiência alimentar.

Suas principais funções foram bem descritas por diversos autores no início dos anos 80 e até hoje são confirmadas em experimentos onde a monesina é utilizada. Estas funções estão relacionadas com aumento na eficiência alimentar pela diminuição no consumo alimentar sem alterar o ganho de peso (SCHELLING, 1984), diminuição da degradação protéica em amônia (DINIUS et al., 1976), diminuição da produção de metano (THORNTON & OWENS, 1981) e aumento na produção de ácido propiônico em relação ao acético (RICHARDSON et al., 1976).

Uma das principais vantagens da utilização dos ionóforos é a influência na população microbiana do rúmen, favorecendo as bactérias gram-negativas. Uma das principais bactérias gram-positivas sensível à ação dos ionóforos é a *Streptococcus bovis*, relacionada com a ocorrência da acidose ruminal.

A acidose ruminal é uma doença metabólica relacionada com alto consumo de alimentos fermentescíveis, onde ocorrem mudanças da microbiota ruminal com predominância de bactérias gram-positivas, produtoras de ácido láctico. A presença de altas quantidades de ácido láctico no rúmen determina a queda do pH e morte dos demais microorganismos, principalmente os fermentadores de carboidratos estruturais. Também ocorre diminuição da motilidade ruminal e o aumento da pressão osmótica neste órgão resulta em

afluxo de água da corrente sanguínea, levando a um quadro de desidratação. Há também a passagem de ácido lático para a corrente sanguínea, resultando em acidose sistêmica e conseqüente morte do animal. Quando o animal se recupera, algumas seqüelas comuns são ruminite, laminite ou abscessos hepáticos (BRANDINI, 1996).

Desta forma, a utilização dos ionóforos tornou-se essencial na alimentação de ruminantes em prevenção à ocorrência de acidose, principalmente para animais confinados que recebem altas concentrações de alimentos de rápida fermentação. Porém, a preocupação com a saúde humana em relação ao risco do uso de antibióticos e substâncias similares nas rações animais e o surgimento de resistência microbiana estimulou a pesquisa de novos aditivos alimentares. Apesar de não haver consenso entre a comunidade científica neste assunto, alguns trabalhos demonstram que a utilização de antibióticos na alimentação animal aumenta a possibilidade do aparecimento de microorganismos resistentes aos antibióticos normalmente prescritos na medicina humana. Além disso, há uma solicitação crescente do mercado consumidor por alimentos de origem vegetal e animal saudáveis e naturais, que provêm de criações conduzidas com a menor utilização de substâncias sintéticas, quanto possível.

Neste contexto, novas pesquisas têm sido realizadas no intuito de analisar os efeitos de diversas substâncias e princípios ativos como aditivo alimentar para bovinos.

2.3.1.1.1 Ionóforos no consumo alimentar

É comumente descrita na literatura diminuição no consumo alimentar com a utilização de monensina em dietas de alto concentrado (SCHELLING, 1984), porém sem alterar o ganho de peso, melhorando a eficiência de utilização dos alimentos pelos ruminantes (GOODRICH et al., 1984).

ABE et al. (1994), ao utilizarem vacas leiteiras, RESTLE et al. (2001), ao trabalharem com novilhas e vacas de corte em confinamento, e MAAS et al. (2001), com ovinos em regime de pasto, também observaram diminuição no consumo de matéria seca com a administração de monensina. OLIVEIRA et al. (2005) observaram que a adição de 28 mg de monensina/Kg de MS consumida para novilhos holandeses fistulados no rúmen reduziu o consumo de matéria seca. Acredita-se que a redução do consumo observada com a suplementação de monensina esteja relacionada com um provável aumento no aporte de energia promovido pelo ionóforo. O maior aporte de energia, devido ao aumento do propionato disponível, resultante das mudanças na população microbiana ruminal provocada pelo ionóforo, pode contribuir para uma diminuição no consumo alimentar (OLIVEIRA et al., 2007).

2.3.1.1.2 Ionóforos na digestibilidade *in vivo*

Os estudos de digestibilidade fornecem dados importantes a respeito da estimativa do desempenho animal, sob diferentes regimes de alimentação. Porém, diversos fatores ligados à composição e processamento dos alimentos da dieta, densidade energética da ração, idade, sexo e estágio fisiológico do animal, consumo voluntário, preenchimento ruminal e taxa de passagem influenciam os resultados de digestibilidade (KOZLOSKI, 2002).

Em relação aos efeitos da administração de ionóforos, mais especificamente à monensina, sobre a digestibilidade aparente em ruminantes, os resultados são bem variados. Em novilhos alimentados com dietas de alto concentrado, foi observado melhora na digestibilidade da MS com a suplementação de monensina (WEDEGAERTNER & JOHNSON, 1983). Com o aumento da suplementação de monensina (0-1,2 mg/Kg de PV) para bezerros em crescimento, em sistema de confinamento, SALLES & LUCCI (2000) relataram aumento linear para os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca. BEEDE et al. (1986) descreveram aumento da digestibilidade da MS, em dietas de baixa inclusão de proteína para novilhos (8,7% na MS), com

suplementação de monensina. Em dietas com baixo ou alto teor de fibra fornecidas a novilhos mestiços Holandês X Brahman, a suplementação com monensina promoveu aumento da digestibilidade da MS (ARAÚJO-FEBRES et al., 1991).

Em relação à digestibilidade da PB com a utilização de monensina, BEEDE et al. (1986) e SALLES & LUCCI (2000) observaram melhora neste coeficiente de digestibilidade com a administração do ionóforo. Corroborando com estes achados, RODRIGUES et al. (2001) verificaram que a utilização de monensina aumentou a digestibilidade total da proteína bruta, independentemente do nível de concentrado (25, 50 ou 75% da dieta) utilizado para ovinos. Vacas em lactação mantidas em pastagem tiveram melhora na digestibilidade aparente do N, quando suplementadas com monensina (RUIZ et al., 2001). Resultados semelhantes foram observados por ARAÚJO-FEBRES et al. (1991), ao trabalharem com novilhos mestiços Holandês X Brahman, alimentados com dietas de baixo ou alto teor de fibra, suplementadas com monensina. Acredita-se que a melhora da digestibilidade da PB com a utilização de ionóforos esteja relacionada com sua capacidade de reduzir a deaminação (RUSSELL et al., 1988). Já que os peptídeos e aminoácidos não sofrerão deaminação podem ser convertidos em proteína microbiana por cepas resistentes aos ionóforos (YANG & RUSSELL, 1993), melhorando o aproveitamento da proteína disponível (RODRIGUES et al. 2001).

Os coeficientes de digestibilidade aparente das frações fibrosas foram aumentados com a suplementação de monensina em novilhos alimentados com dietas de alto concentrado (WEDEGAERTNER & JOHNSON, 1983) e em bezerros em crescimento em sistema de confinamento (SALLES & LUCCI, 2000). Em dietas contendo baixo ou alto teor de fibra, fornecidas a novilhos mestiços Holandês X Brahman, a suplementação com monensina promoveu aumento da digestibilidade da FDN (ARAÚJO-FEBRES et al., 1991). Este aumento na digestibilidade da fibra com a suplementação de monensina foi relacionado com um maior tempo de retenção ruminal do alimento, promovido

pelo ionóforo, permitindo, assim, mais tempo para a digestão microbiana (SPEARS, 1990).

SPEARS (1990), em revisão bibliográfica a respeito dos efeitos da utilização de ionóforos sobre a digestibilidade aparente da energia, citou que na média de 17 experimentos houve melhora na digestibilidade em 2 pontos percentuais com suplementação de monensina, em relação ao grupo controle, com uma variação de -0,9 a 9,2 %.

A suplementação com monensina melhorou o coeficiente da energia digestível em novilhos alimentados com dietas de alto concentrado (WEDEGAERTNER & JOHNSON, 1983) e da EB em bezerros (SALLES & LUCCI, 2000).

Acredita-se que a melhora na digestibilidade com a utilização de ionóforos esteja relacionada com sua afinidade em transportar cátions monovalentes através das membranas, aumentando a concentração intracelular de cátions. Este incremento estimularia a atividade da bomba sódio-potássio e afetaria a taxa de absorção do trato gastrointestinal, já que a absorção de diversos nutrientes é dependente do transporte de sódio e da energia proveniente da bomba Na^+/K^+ -ATPase (SPEARS, 1990).

Por outro lado, SOODEN-KARAMATH & YOUSSEF (1999), estudando os efeitos da suplementação com monensina em uma dieta à base de feno de arroz tratada com uréia mais concentrado e capim, para ovinos ou caprinos, observaram que não houve efeito do aditivo sobre a digestibilidade da MS e suas frações. Resultados semelhantes foram observados por OLIVEIRA et al. (2007), ao trabalharem com ovinos que recebiam dietas com um dos dois níveis de proteína bruta, 11,4 ou 16,0% na MS. Ainda, corroborando para estes achados, RICKE et al. (1984) observaram que a administração de monensina não influenciou a digestibilidade da MS para cordeiros. No tratamento que a monensina foi suplementada sozinha ou em combinação com levedura (*Saccharomyces cerevisiae*), o aditivo não afetou a digestibilidade da MS, em dietas com relação volumoso:concentrado de 50:50 para ovinos (GARCÍA et al., 2000).

THORNTON & OWENS (1981), ao avaliarem os efeitos da monensina sobre a digestibilidade aparente do N, em dietas com diferentes proporções de forragem, não observaram efeito do aditivo em nenhuma delas. Em vacas leiteiras em lactação ou secas, a utilização de monensina em dietas com alto nível de forragem não alterou os coeficientes de digestibilidade da PB (HAÏMOUD et al. 1995; HAÏMOUD et al. 1996).

BEEDE et al. (1986) observaram que a suplementação com monensina não influenciou a digestibilidade da FDN e FDA em dietas de baixa inclusão de proteína para novilhos (8,7% na MS). GARCÍA et al. (2000) e ARAÚJO et al. (2007), em experimentos com ovinos, não observaram efeitos da suplementação com monensina sobre a digestibilidade da FDN, FDA e hemicelulose. Corroborando com estes achados, DINIUS et al. (1976) não observaram efeito do fornecimento de monensina em dietas de alta forragem para novilhos sobre a digestibilidade da hemicelulose e celulose. SPEARS (1990) cita que a digestibilidade da fibra em resposta à suplementação com monensina é influenciada pela fonte de fibra na dieta, além de suas características físicas e químicas.

Em dietas com diferentes proporções de forragem, THORNTON & OWENS (1981) não observaram efeitos da suplementação com monensina sobre a digestibilidade aparente de frações de carboidratos. Resultados semelhantes foram observados por HAÏMOUD et al. (1995) e HAÏMOUD et al. (1996), onde a digestibilidade do amido não foi alterada com a suplementação de monensina em dietas com alto nível de forragem para vacas leiteiras em lactação ou secas. Ainda, corroborando com estes resultados, EIFERT et al. (2005) não verificaram efeitos da suplementação com monensina sobre a digestibilidade de carboidratos não-fibrosos e totais em dietas para vacas em lactação.

PLAIZIER et al. (2000) investigaram os efeitos da suplementação com monensina para vacas leiteiras ao longo do período pré e pós-parto. Foi observado aumento da digestibilidade da FDN e FDA apenas no pré-parto, aumento da digestibilidade do N apenas no pós-parto e aumento da digestibilidade da energia no pré e pós-parto.

2.3.1.2 Enzimas

Enzimas que usualmente são utilizadas na alimentação de espécies monogástricas com intuito de melhorar o valor nutritivo dos alimentos, possuem potencial para uso na dieta de ruminantes.

Em alguns estudos foi demonstrado que com a adição de enzimas fibrolíticas na dieta houve aumento na atividade enzimática ruminal em geral com resultante melhora da digestibilidade total. AVALLANEDA-CEVALLOS et al. (2004) observaram que, a adição de enzimas fibrolíticas em dieta à base de capim para cordeiros foi eficiente, em aumentar a degradação ruminal da fibra em detergente ácido e a digestibilidade intestinal da hemicelulose. Isso pode ocorrer devido a efeitos sinérgicos entre enzimas exógenas adicionadas na dieta e hidrolases dos microorganismos ruminais. E por aumento da adesão bacteriana, já que a enzima altera a estrutura do alimento, deixando-o mais vulnerável à ação microbiana (BEAUCHEMIN et al. 2004, EUN & BEAUCHEMIN, 2005).

2.3.1.3 Pesquisa de novos aditivos

2.3.1.3.1 Extratos de plantas

O estudo das propriedades terapêuticas das plantas vem de longa data, no século V a.C. Hipócrates mencionou centenas delas (COWAN, 1999). Atualmente, esta ciência trabalha em conjunto com a farmacêutica sintética tradicional na procura de novos princípios ativos para tratamento das mais diversas enfermidades.

As plantas produzem metabólitos secundários que muitas vezes servem como mecanismos de defesa contra microorganismos, insetos e herbívoros. Estes compostos são classificados em categorias de acordo com sua estrutura e propriedades químicas em fenóis e ácidos fenólicos, quinonas, flavonóides, taninos, alcalóides, polipeptídeos, terpenóides e óleos essenciais. Estes

metabólitos têm demonstrado atividade antimicrobiana *in vitro* e pesquisas vem sendo realizadas na Medicina Humana e Veterinária para comprovar sua eficácia *in vivo* (COWAN, 1999).

CARDOZO et al. (2005) testaram a fermentação microbiana *in vitro* em pH 7,0 e 5,5 de seis extratos de plantas naturais e três metabólitos secundários vegetais em cinco doses (0; 0,3; 3; 30 e 300 mg/L) em líquido ruminal de novilhas alimentadas com dietas de alto concentrado. Os efeitos dos extratos e metabólitos foram pH-dependente. Em pH 5,5 a concentração total de ácidos graxos de cadeia curta não alterou ou aumentou e a relação acetato:propionato diminuiu o que não ocorreu quando o pH do meio foi 7,0.

DEVANT et al. (2007) avaliaram uma mistura de extratos de plantas no desempenho e fermentação ruminal de touros Holstein, alimentados com dietas de terminação de alto concentrado. Tanto a suplementação com monensina como com extratos de plantas não afetou o consumo e a eficiência alimentar. Aos 63 dias de experimento, o pH ruminal foi menor para os tratamentos monensina (6,08) e extrato de plantas (6,12) quando comparado ao grupo controle (6,52). A suplementação com monensina e com extrato de plantas aumentou a proporção molar de propionato, quando comparados ao controle.

2.3.1.3.2 Extrato de própolis

Uma outra fonte de estudos como potencial substância manipuladora da fermentação ruminal por suas propriedades antimicrobianas e antiinflamatórias é o extrato de própolis.

A própolis é uma substância formada por ceras e resinas coletadas pelas abelhas de diversas partes das plantas próximas a colméia. As abelhas modificam a composição desta resina misturando-a com as secreções das glândulas hipofaríngeas. Este material é utilizado como vedação da colméia mantendo assim a temperatura interna e impedindo a entrada de patógenos (CONAP, 2007).

Em estudos *in vitro*, OLIVEIRA et al. (2004) observaram que tanto o extrato de própolis como a monensina foram capazes de inibir a produção de amônia, a partir de diferentes fontes de nitrogênio no líquido ruminal de animais alimentados à base de forragem. STRADIOTTI JR. et al. (2004) observaram que a adição da própolis na dieta de novilhos holandeses com relação volumoso:concentrado (65:35), não alterou o consumo de matéria seca, pH, concentração de amônia ruminal e produção de proteína microbiana em comparação ao grupo controle. Ainda, não afetou a proporção dos ácidos acético, propiônico e butírico, porém aumentou a concentração total de ácidos graxos de cadeia curta.

2.3.1.3.3 Preparado de anticorpos policlonais

Alguns pesquisadores têm demonstrado a eficácia da imunização ativa na prevenção da acidose. SHU et al. (1999) observaram que a imunização de novilhos contra bactérias produtoras de ácido láctico *Streptococcus bovis* e *Lactobacillus* foi eficaz em manter o consumo alimentar, diminuir a concentração ruminal de lactato e contagem de *S. bovis* e *Lactobacillus* após desafio, com dieta composta por 90% de concentrado.

GILL et al. (2000) observaram resultados semelhantes quando ovinos alimentados à base de forragem foram imunizados contra *Streptococcus bovis* Sb-5. Os animais foram desafiados com a introdução súbita de alta proporção de grãos na dieta. Os ovinos vacinados mantiveram o consumo alimentar e o pH ruminal, bem como tiveram menores concentrações ruminiais de lactato e menores escores de diarreia severa quando comparados aos animais controles. Ainda, SHU et al. (2000) observaram que ovinos imunizados contra *S. bovis*, mantiveram o consumo alimentar e o pH ruminal, com menores escores de diarreia severa, quando comparados aos animais controle (não-vacinados).

Em relação à imunização passiva, SHERMAN et al. (1983) observaram que a administração oral de anticorpos monoclonais de origem aviária contra o antígeno K99 da bactéria enterotoxinogênica *Escherichia coli*, foi eficaz em

atenuar a severidade da enfermidade e o grau de desidratação dos animais acometidos por quadros de diarréia, reduzindo a taxa de mortalidade. Resultados semelhantes foram encontrados por YOKOYAMA et al. (1992) onde a imunização passiva em leitões neonatos contra a bactéria enterotoxigênica *Escherichia coli* foi alcançada com a administração oral de anticorpos de origem aviária fornecidos logo após a exposição induzida aos antígenos. Em bezerros neonatos, IKEMORI et al. (1992) observaram que a administração de anticorpos monoclonais de origem aviária contra a bactéria enterotoxigênica *Escherichia coli* foi capaz de proteger os animais contra o principal sintoma da infecção por este agente, a diarréia severa e conseqüente morte. Já no grupo controle, a taxa de mortalidade foi 100%.

IKEMORI et al. (1997) avaliaram a eficácia da imunização passiva contra coronavírus bovino, utilizando gema de ovo ou colostro em pó preparados a partir de galinhas ou vacas vacinadas com o vírus inativado de coronavírus bovino. Os bezerros foram desafiados 24 a 36 h após o nascimento com uma cepa virulenta do vírus. A administração da gema de ovo ou colostro em pó por via oral iniciou 6 h após o desafio e estendeu-se por mais 7 dias. Os animais do grupo controle apresentaram diarréia severa e todos morreram 6 dias após a infecção. Já nos tratamentos com gema de ovo título de 1:2560 e colostro título de 1:10240, todos os animais sobreviveram e ganharam peso. O pó de gema de ovo foi mais eficaz que o colostro, pois foi necessária menor concentração de título de anticorpo para promover a proteção contra os antígenos.

Estes trabalhos de pesquisa mostram que o princípio da imunização tem potencial para originar novos aditivos alimentares. Dentro deste princípio, foram desenvolvidos os preparados de anticorpos policlonais (PAPs), específicos para as bactérias alvo presentes no ambiente ruminal e que podem ser adicionados à dieta animal.

Para a produção de anticorpos policlonais, galinhas são imunizadas via intramuscular contra antígenos inativados. Para cada antígeno, há um calendário de reforços. O sistema imune da ave reage, produzindo anticorpos

específicos (IgY) para cada antígeno. Quando o ovo ainda está no ovário, a galinha transfere suas imunoglobulinas séricas Y para a gema do ovo. À medida que o ovo passa pelo oviduto, os anticorpos IgM e IgA são adicionados a albumina (SCHADE et al., 2001). Assim, as imunoglobulinas podem ser extraídas da gema do ovo por diversas técnicas, sendo que uma das mais utilizadas envolve a precipitação protéica com sulfato de amônia.

Este método de produção de anticorpos foi avaliado pelo Centro Europeu de Validação de Métodos Alternativos (SCHADE et al., 1996), órgão que promove a aceitação científica e regulamenta métodos laboratoriais alternativos, com fins de reduzir ou substituir a utilização de animais de laboratório. O uso desta técnica foi incentivado, pois reduz a necessidade de animais de laboratório, já que uma galinha produz em média 5 - 7 ovos por semana. Além disso, causa menor estresse aos animais por não haver sangria após a imunização.

As imunoglobulinas Y, produzidas de ovos de galinhas, possuem características fundamentais para atuação no ambiente ruminal, como resistência a pH até 4,5, temperatura de 120°C, à proteólise e, mesmo após sua quebra, não perdem o sítio de ligação (Alfredo di Constanzo, comunicação pessoal). Acredita-se que esta resistência à proteólise esteja relacionada a presença de ligações dissulfeto na composição das imunoglobulinas, mais difíceis de serem rompidas pelas enzimas proteolíticas (SANTOS, 2006).

Quando vacas leiteiras foram alimentadas com PAP contra bactérias proteolíticas ruminais *Clostridium stricklandi*, *Clostridium aminophilum* e *Peptostreptococcus anaerobius*, a produção leiteira dos animais em início (<140 dias) ou estágio avançado (>140 dias) de lactação não foi afetada pela utilização do anticorpo. Ainda, a concentração de gordura e proteína no leite, bem como a contagem de células somáticas e a quantidade de uréia no leite, não foram alteradas pela utilização deste aditivo. Já a concentração de sólidos no leite foi reduzida. Quanto aos parâmetros de fermentação ruminal, não foi observada interferência no pH, concentração de amônia ou de ácidos graxos de cadeia curta (DAHLEN et al., 2003).

DAHLEN et al. (2004) avaliaram os efeitos da adição do preparado de anticorpos policlonais (PAP) contra *Streptococcus bovis* (PAPSb) ou *Fusobacterium necrophorum* (PAPFn), no desempenho e características de carcaça de novilhos confinados, alimentados com dietas de altas concentrações de grãos. A dieta básica era composta por grão úmido de milho e grão moído de milho, 50:50 na base de MS, silagem de milho e suplemento. Os PAPs foram adicionados à alimentação no momento do fornecimento, sendo pulverizados na casca de soja. Os 226 animais foram distribuídos em 4 diferentes tratamentos formados pelo controle, PAPSb, PAPFn e PAPSb + PAPFn. Os pesquisadores observaram que novilhos que receberam PAPSb ou PAPFn tiveram maiores pesos finais ao abate. Os animais alimentados com a dieta PAPSb obtiveram melhor eficiência alimentar do que os alimentados com as dietas controle ou PAPSb + PAPFn. As carcaças dos novilhos com a dieta PAPSb foram mais pesadas, com maior camada de gordura subcutânea e melhores classificações ao abate, quando comparadas às carcaças dos animais recebendo as dietas com ambos PAPs (Sb e Fn) ou controle.

DI LORENZO et al. (2006) testaram se a adição de preparados de anticorpos policlonais (PAP) contra *S. bovis* (PAPSb) ou *F. necrophorum* (PAPFn) ou aditivos alimentares (300 mg monensina/cab/dia e 100 mg tilosina/cab/dia) seriam eficazes na redução das concentrações ruminiais das bactérias alvo. A dieta básica dos animais era composta por 85% de milho grão, 15% de silagem de milho e suplemento. Foram quantificadas nas amostras de líquido ruminal as bactérias *Streptococcus bovis*, *Fusobacterium necrophorum* e o total de bactérias anaeróbias. Foi observado que a utilização de doses crescentes de PAPSb reduziram as concentrações ruminiais de *S. bovis* em resposta cúbica. O número de *F. necrophorum* foi reduzido com o emprego de PAPFn ou monensina + tilosina. Esta redução foi mais significativa na dieta contendo apenas monensina + tilosina. A concentração de *F. necrophorum* não foi alterada pelo uso de PAPSb e a concentração de *S. bovis* não se alterou pela utilização de PAPFn, demonstrando a alta especificidade

dos PAPs. O total de bactérias anaeróbias não foi modificado com o emprego de PAPSb ou PAPFn.

A eficácia de adição de um preparado de anticorpos policlonais contra *S. bovis* (PAPSb) foi avaliada em 12 novilhas cruzadas em um protocolo de indução de acidose. O protocolo consistiu de 3 períodos: 3 meses de dieta com 100% forragem *ad libitum*, mais 10 dias de adaptação ao PAP com dieta 100% forragem (d 1-10 do experimento) e 12 dias de dieta desafio. O desafio foi aumentar o consumo do concentrado (16% PB) de 2,5 kg MS/dia para 12,5 kg/dia em 5 dias mais o oferecimento de forragem *ad libitum*. O quadro de acidose era declarado quando o pH atingia 5,5 ou quando o consumo do concentrado era 50 % inferior ao dia anterior. As coletas de líquido ruminal foram realizadas às 0 e 6 h após a alimentação para determinação do pH, concentração total de ácidos graxos de cadeia curta e nitrogênio amoniacal. No grupo que recebia o PAPSb observaram-se maiores concentrações de acetato às 6 h (90,3 mM) em comparação ao grupo controle (81,8 mM). Ainda, foram observadas maiores concentrações totais de ácidos graxos de cadeia curta (147,1 mM) do que o grupo controle (132,9 mM) (BLANCH et al., 2006).

Recentemente, MILLEN et al. (2007) observaram que bovinos jovens em confinamento alimentados com dieta de alto concentrado recebendo um PAP contra *S. bovis*, *F. necrophorum* e várias cepas de bactérias proteolíticas tiveram ganho de peso médio diário, consumo de matéria seca e conversão alimentar similares aos animais suplementados com monensina. Em porcentagem do peso vivo, o consumo de matéria seca foi superior nos animais do grupo PAP. Ainda, foi observado que os animais suplementados com anticorpos apresentaram menor incidência de paraqueratose ruminal quando comparado, aos animais suplementados com monensina.

Estes resultados demonstram o potencial dos PAPs como alternativa eficaz como aditivo alimentar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, N.; LEAN, I.J.; RABIEE, A.; PORTER, J.; GRAHAM, E.C. Effects of sodium monensin on reproductive performance of dairy cattle. II. Effects on metabolites in plasma, resumption of ovarian cyclicity and oestrus in lactating cows. *Australian Veterinary Journal*, v.71, n.4, p.277-282, 1994.

ALBUQUERQUE, A. Resultado do 1º Censo de Confinadores de Goiás revela o potencial da pecuária intensiva no estado. ASSOCON. Disponível em <<http://www.assocon.com.br>>, Acesso em 28 jun. 2008, 2008.

ARAÚJO-FEBRES, O.; FERNÁNDEZ, M.D.C.; DEL, C.F.M. Efecto en novillos del monensin y el nivel de fibra de la dieta sobre el consumo y la digestibilidad de la materia seca. *Revista de La Facultad de Agronomía*, v.8, n.2, p.143-153, 1991.

ARIZA, P.; BACH, A.; STERN, M.D.; HALL, M.B. Effects of carbohydrates from citrus pulp and hominy feed on microbial fermentation in continuous culture. *Journal of Animal Science*, v.79, n.10, p.2713-2718, 2001.

AVELLANEDA-CEVALLOS, J.H.; GONZÁLEZ, S.S.; PINOS-RODRÍGUEZ, J.M.; HERNÁNDEZ, A.; BÁRCENA-GAMA, R.; COBOS, M.; HERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, D. Effect of an exogenous fibrolytic enzyme on intake and ruminal variables in lambs fed Guines grass (*Panicum maximum* var. Mombassa) hay. *Journal of Animal Science*, v.82 (Supl.1), p.45, 2004.

ARCURI, P.B., LOPES, F.C.F., CARNEIRO, J.C., 2006. Microbiologia do rúmen. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Ed.) *Nutrição de Ruminantes*. 1. ed. Jaboticabal: Funep. p.151-179.

BEAUCHEMIN, K.A.; COLOMBATTO, D.; MORGAVI, D.P.; AZNG, W.Z.; RODE, L.M. Mode of action of exogenous cell wall degrading enzymes for ruminants. *Canadian Journal of Animal Science*, v.84, n.1, p.13-22, 2004.

BEEDE, D.K.; SCHELLING, G.T.; MITCHELL, G.E.; TUCKER JR., R.E.; GILL, W.W.; KOENIG, S.E.; LINDSEY, T.O. Nitrogen utilization and digestibility by growing steers and goats of diets that contain monensin and low crude protein. *Journal of Animal Science*, v.62, n.3, p.857-863, 1986.

BEN-GHEDALIA, D.; YOSEF, E.; MIRON, J.; EST, Y. The effects of starch- and pectin-rich diets on quantitative aspects of digestion in sheep. *Animal Feed Science Technology*, v.24, n.3-4, p.289-298, 1989.

BERGMAN, E.N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiological Reviews*, v.70, n.2, p.567-590, 1990.

BERGHMAN, L.R.; WAGHELA, S.D. Antibodies: an alternative for antibiotics? *Journal of Animal Science*, v.82 (Supl. 1), p.82, 2004.

BLANCH, M.; CALSAMIGLIA, S.; DILORENZO, N.; DICONSTANZO, A. Effects of feeding a polyclonal antibody preparation against *Streptococcus bovis* on rumen fermentation of heifers switched from a high forage to a high concentrate diet. *Journal of Animal Science*, v.84, (Supl.1), p.128, 2006.

BRANDINI, J.C. Doenças em bovinos confinados. Embrapa: Campo Grande, MS. Documento 65, 1996.

CALSAMIGLIA, S.; FERRET, A.; DEVANT, M. Effects of pH and pH fluctuations on microbial fermentation and nutrient flow from a dual-flow continuous culture system. *Journal of Dairy Science*, v.85, n.3, p. 574-579, 2002.

CARDOZO, P.W.; CALSAMIGLIA, S.; FERRET, A.; KAMEL, C. Screening for the effects of natural plant extracts at different pH on *in vitro* rumen microbial fermentation of a high-concentrate diet for beef cattle. *Journal of Animal Science*, v.83, n.11, p.2572-2579, 2005.

CARVALHO, F.A.N.; BARBOSA, F.A.; MCDOWELL, L.R. *Nutrição de Bovinos a Pasto*. CARVALHO, F.A.N.; BARBOSA, F.A. (Ed.). 2. ed. Belo Horizonte: Papelform, 2003. 428p.

CARVALHO, M.P. Substituição do milho por subprodutos energéticos em dietas de bovinos à base de bagaço de cana tratado à pressão e vapor: digestibilidade e parâmetros ruminais. Piracicaba, 1998. 101 p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

CONAP (Cooperativa Nacional de Apicultura). Poderoso antibiótico natural tem vários efeitos terapêuticos. Disponível em: <<http://www.conapis.com.br>>, Acesso em 28 ago. 2007, 2007.

COOPER, R.J.; MILTON, C.T.; KLPFENSTEIN, T.J.; SCOTT, T.L.; WILSON, C.B.; MASS, R.A. Effect of corn processing on starch digestion and bacterial crude protein flow in finishing cattle. *Journal of Animal Science*, v.80, n.3, p.797-804, 2002.

COWAN, M.M. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, v.12, n.4, p.564-582, 1999.

DAHLEN, C.R.; DILORENZO, N.; DICONSTANZO, A.; LAMB, G.C.; SMITH, L.J. Effects of feeding a polyclonal antibody preparation against *Streptococcus bovis* or *Fusobacterium necrophorum* on performance and carcass

characteristics of feedlot steers. *Journal of Animal Science*, v.82 (Supl.1), p.270, 2004.

DAHLEN, C.R.; DICONSTANZO, A.; MITTENESS, B.M.; NASH, P.; LARSON, J.E.; DILORENZO, N.; MARX, G.D. Influence of a polyclonal antibody preparation against rumen proteolytic bacteria on rumen fermentation and yield of milk and milk components. *Journal of Animal Science*, v.81 (Supl.1), p.58, 2003.

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

DILORENZO, N.; DIEZ-GONZALEZ, F.; DI CONSTANZO, A. Effects of feeding polyclonal antibody preparations on ruminal bacterial populations and ruminal pH of steers fed high-grain diets. *Journal of Animal Science*, v.84, n.8, p.2178-2185, 2006.

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*, v.42, n.1, p.229-234, 1976.

EIFERT, E.C.; LANA, R.P.; LEÃO, M.I.; ARCURI, P.B.; VALADARES FILHO, S.C.; LEOPOLDINO, W.M.; OLIVEIRA, J.S.; SAMPAIO, C.B. Efeito da combinação de óleo de soja e monensina na dieta sobre o consumo de matéria seca e a digestão em vacas lactantes. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.34, n.1, p.297-308, 2005.

EUN, J.A.; BEAUCHEMIN, K.A. Effects of a proteolytic feed enzyme on intake, digestion, ruminal fermentation, and milk production. *Journal of Dairy Science*, v.88, n.6, p.2140-2153, 2005.

EUROPA. Regulation EC N° 1831/2003 of the European Parliament and Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. Disponível em: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/en/oj/2003/l_268/l_26820031018en00290043.pdf>. Acesso em 05 fev. 2006, 2003.

FRANCO, M. Milho, protagonista de peso. DBO Rural, v.27, n.332, p.54-62, 2008.

FURLAN, R.L.; MACARI, M.; FARIA FILHO, D.E., 2006. Anatomia e fisiologia do trato gastrintestinal. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Ed.) Nutrição de Ruminantes. 1. ed. Jaboticabal: Funep. p.151-179.

GARCÍA, C.C.G.; MENDOZA, M.G.D.; GONZÁLEZ, M.S; COBOS, P.M.; ORTEGA, C.M.E.; RAMIREZ, L.R. Effect of a yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) and monensin on ruminal fermentation and digestion in sheep. Animal Feed Science Technology, v.83, n.2, p.165-170, 2000.

GALYEAN, M.L.; WAGNER, D.G.; JOHNSON, R.R. Site and extent of starch digestion in steers fed processed corn rations. Journal of Animal Science, v.43, n.5, p.1088-1094, 1976.

GILL, H.S.; SHU, Q.; LENG, A. Immunization with *Streptococcus bovis* protects against lactic acidosis in sheep. Vaccine, v.18, n.23, p.2541-2558, 2000.

GOODRICH, R.D.; GARRETT, J.E.; GAST, D.R.; KIRICK, M.A.; LARSON, D.A.; MEISKE, J.C. Influence of monensin on the performance of cattle. Journal of Animal Science, v.58, n.6, p.1484-1498, 1984.

HAÏMOUD, D.A.; BAYOURTHE, C.; MONCOULON, R.; VERNAY, M. Avoparcin and monensin effects on digestive function in cows fed a high forage diet.

Journal of the Science of Food and Agriculture, v.70, n.2, p.181-189, 1996.

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*, v.75, n.2, p.379-385, 1995.

HARDY, B. The issue of antibiotic use in the livestock industry: What have we learned? *Animal Biotechnology*, v.13, n.1, p.129-147, 2002.

HANEY JR., M.E.; HOEHN, M.M. Monensin, a new biologically active compound. I. Discovery and isolation. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, v.7, p.349-352, 1967.

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

HUNTINGTON, G.B. Starch utilization by ruminants: From basics to the bunk. *Journal of Animal Science*, v.75, n.3, p.852-867, 1997.

IKEMORI, Y.; OHITA, M.; UMEDA, K.; ICATLO JR., F.C.; KUROKI, M.; YOKOYAMA, H.; KODAMA, Y. Passive preparation of neonatal calves against bovine coronavirus-induced diarrhea by administration of egg yolk or colostrum antibody powder. *Veterinary Microbiology*, v.58, n.2-4, p.105-110, 1997.

IKEMORI, Y.; KUROKI, M.; PERALTA, R.C.; YOKOYAMA, H.; KODAMA, Y. Protection of neonatal calves against fatal enteric colibacillosis by administration of egg yolk powder from hens immunized with K99-piliated enterotoxigenic *Escherichia coli*. *American Journal of Veterinary Research*, v.53, n.11, p.2005-2008, 1992.

KOZLOSKI, G.V. Bioquímica dos ruminantes. 1.ed. Santa Maria:UFSM. 2002. 140p.

LANA, R.P.; RUSSELL, J.B.; VAN AMBURGH, M.E. The role of pH in regulating ruminal methane and ammonia production. *Journal of Animal Science*, v.76, n.8, p.2190-2196, 1998.

MAAS, J.A.; WILSON, G.F., MCCUTCHEON, S.N.; LYNCH, G.A.; BURNHAM, D.L.; FRANCE, E.J. The effect of season and monensin sodium on the digestive characteristics of autumn and spring pasture fed to sheep. *Journal of Animal Science*, v.79, n.4, p.1052-1058, 2001.

MERTENS, D. Nonstructural and structural carbohydrates. In: VAN HORN, H.H.; C.J. WILCOX (Eds.). *Large Dairy Herd Management*. Am.Dairy Sci. Assoc., Champaign, IL. 1992. p.219-235.

MILLEN, D.D.; PACHECO, R.D.L.; ARRIGONI, M.D.B.; PARRILI, M.; MATSUHARA, S.A.; MARIANI, T.M. Desempenho e incidência de paraqueratose ruminal em bovinos jovens confinados suplementados com monensina sódica ou anticorpos aviários. REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 44., 2007, Jaboticabal. Anais... Jaboticabal, 2007, CD-ROM.

MURAKAWA, F. Exportação de carne bovina do Brasil cresce 26,6 % no semestre. Reuters, São Paulo, 11 jul. 2007. Disponível em: <<http://br.today.reuters.com>>. Acesso em 19 jul. 2007.

MURPHY, M.R.; BALDWIN, R.L.; KOONG, L.J. Estimation of stoichiometric parameters for rumen fermentation of roughage and concentrate diets. *Journal of Animal Science*, v.55, n.2, p.411-421, 1982.

NAGARAJA, T.G.; TITGEMEYER, E.C. Ruminant acidosis in beef cattle: the current microbiological and nutritional outlook. *Journal of Dairy Science*, v.90 (Supl. E), p.17-38, 2007.

NEWBOLD, C.J. New products for rumen manipulation. *British Journal of Nutrition*, v.98, n.1, p.15-16, 2007.

NRC. 1996. *Nutrient Requirements of Beef Cattle*. 7 ed. National Academic Press, Washington, D.C.

NUSSIO, L.G.; CAMPOS, F.P.; LIMA, M.L.M., 2006. Metabolismo de carboidratos estruturais. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Ed.) *Nutrição de Ruminantes*. 1. ed. Jaboticabal: Funep. p.151-179.

OLIVEIRA, M.V.M.; LANA, R.P.; EIFERT, E.C.; LUZ, D.F.; PEREIRA, J.C.; PÉREZ, J.R.O.; VARGAS JR., F.M. Influência da monensina sódica no consumo e na digestibilidade de dietas com diferentes teores de proteína para ovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.36, n.3, p.643-651, 2007.

OLIVEIRA, M.V.M.; LANA, R.P.; JHAM, G.N.; PEREIRA, J.C.; PÉREZ, R.O.; VALADARES FILHO, S.C. Influência da monensina no consumo e na fermentação ruminal em bovinos recebendo dietas com teores baixo e alto de proteína. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.34, n.5, p.1763-1774, 2005.

OLIVEIRA, J.S.; LANA, R.P.; BORGES, A.C.; QUEIROZ, A.C.; ALMEIDA, I.C.C. Efeito da monensina e extrato de própolis sobre a produção de amônia e degradabilidade *in vitro* da proteína bruta de diferentes fontes de nitrogênio. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.33, n.2, p.504-510, 2004.

PITOMBO, L.H. Abate deve crescer menos ou recuar. ANÚARIO DBO 2008. *Publicação Anual da DBO Editores Ltda*. n. 327, p.10, 2008.

PLAIZIER, J.C.; MARTIN, A.; DUFFIELD, T.; BAGG, R.; DICK, P.; MCBRIDE, B.W. Effect of a prepartum administration of monensin in a controlled-release capsule on apparent digestibilities and nitrogen utilization in transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.83, n.12, p.2918-2925, 2000.

QUEIROZ, A.C.; BARBOSA, M.A.; RESENDE, F.D.; PEREIRA, J.C.; DUTRA, A.R. Suplementação da palhada de milho na alimentação de bovinos. 2. Concentração de amônia ruminal e pH ruminal. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.27, n.2, p.390-396, 1998.

RESTLE, J.; NEUMANN, M.; ALVES FILHO, D.C.; PASCOAL, L.L.; ROSA, J.R.P.; MENEZES, L.F.G.; PELLEGRINI, L.G. Terminação em confinamento de vacas e novilhas sob dietas com ou sem monensina sódica. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.30, n.6, p.1801-1812, 2001.

RICHARDSON, L.F.; RAUN, A.P.; POTTER, E.L.; COOLEY, C.O.; RATHMACHER, R.P. Effect of monensine on rumen fermentation *in vitro* and *in vivo*. *Journal of Animal Science*, v.43, n.3, p.657-664, 1976.

RICKE, S.C.; BERGER, L.L.; VAN DER AAR, P.J.; FAHEY JR., G.C. Effects of lasalocid and monensin on nutrient digestion, metabolism and rumen characteristics of sheep. *Journal of Animal Science*, v.58, n.1, p.194-202, 1984.

RODRIGUES, P.H.M.; MATTOS, W.R.S.; MELOTTI, L.; RODRIGUES, R.R. Monensina e digestibilidade aparente em ovinos alimentados com proporções de volumoso/concentrado. *Scientia Agrícola*, v.58, n.3, p.449-455, 2001.

ROJAS-BOURRILLÓN, A.; GAMBOA, L.; VILLAREAL, M.; VIQUEZ, E.; CASTRO, R.; POORE, M. La sustitución de maíz por pulpa de cítricos deshidratada sobre

la producción y composición láctea de vacas encastadas holstein en el trópico húmedo de Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, V.25, n.1, p.45-52, 2001.

RUIZ, R.; ALBRECHT, G.L.; TEDESCHI, L.O.; JARVIS, G.; RUSSELL, J.B.; FOX, D.G. Effect of monensin on the performance and nitrogen utilization of lactating dairy cows consuming fresh forage. *Journal of Dairy Science*, v.84, n.7, p.1717-1727, 2001.

RUSSELL, J.B.; STROBEL, H.J.; CHEN, G. The enrichment and isolation of a ruminal bacterium with a very high specific activity of ammonia production. *Applied and Environmental Microbiology*, v.54, n.4, p.872-877, 1988.

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

SALLES, M.S.V.; LUCCI, C.S. Monensina para bezerros ruminantes em crescimento acelerado. 2. Digestibilidade e parâmetros ruminais. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.29, n.2, p.582-588, 2000.

SANTOS, F.A.P., 2006. Metabolismo de proteínas. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Ed.) *Nutrição de Ruminantes*. 1. ed. Jaboticabal: Funep. p.151-179.

SCHADE, R.; BEHN, I.; ERHARD, M. Chicken egg yolk antibodies production and application IgY-Technology. 1.ed. Springer:Alemanha, 2001. 255p.

SCHADE, R.; STAAK, C.; HENDRIKSEN, C.; ERHARD, M.; HUGI, H.; KOCH, G.; LARSSON, A.; POLLMANN, W.; REGENMORTEL, M.V.; RIJKI, E.; SPIELMANN, H.; STEINBUSCH, H.; STRAUGHAN, D. The production of avian (Egg Yolk) antibodies: IgY. Disponível em:

<http://altweb.jhsph.edu/publications/ECVAM/ecvam.21.htm> Acesso 05 fev. 2006. 1996.

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

SHERMAN, D.M.; ACRES, S.D.; SADOWSKI, P.L.; SPRINGER, J.A.; BRAY, B.; RAYBOULD, T.J.G.; MUSCOPLAT, C.C. Protection of calves against fatal enteric colibacillosis by orally administered *Escherichia coli* K99-specific monoclonal antibody. *Infection and Immunity*, v.42, n.2, p.653-658, 1983.

SHU, Q.; GILL, H.S.; LENG, R.A.; ROWE, B. Immunisation with a *Streptococcus bovis* vaccine administered by different routes against lactic acidosis in sheep. *The Veterinary Journal*, v.159, n.3, p.262-269, 2000.

SHU, Q.; GILL, H.S.; HENNESSY, D.W.; LENG, R.A.; BIRD, S.H.; ROWE, J.B. Immunisation against lactic acidosis in cattle. *Research in Veterinary Science*, v.67, n.1, p.65-71, 1999.

SOODEN-KARAMATH, S.; YOUSSEF, F.G. Effect of monensin, avoparcin and grass supplementation on utilization of urea-treated rice straw by sheep and goats. *Small Ruminant Research*, v.33, n.3, p.201-211, 1999.

SPEARS, J.W. Ionophores and nutrient digestion and absorption in ruminants. *Journal of Nutrition*, v.120, n.6, p.632-638, 1990.

STRADIOTTI JR, D.; QUEIROZ, A.C.; LANA, R.P.; PACHECO, C.G.; EIFERT, E.C.; NUNES, P.M.M. Ação da própolis sobre a desaminação de aminoácidos e a fermentação ruminal. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.33, n.4, p.1086-1092, 2004.

SUTTON, J.D.; DHANOA, M.S.; MORANT, S.V.; FRANCE, J.; NAPPER, D.J. ; SCHULLER, E. Rates of production of acetate, propionate, and butyrate in the rumen of lactating dairy cows given normal and low-roughage diets. *Journal of Dairy Science*, v.86, n.11, p.3620-3633, 2003.

TEIXEIRA, J.C. Metabolismo dos compostos nitrogenados nos ruminantes. *Nutrição de Ruminantes – Lavras:UFLA/FAEPE. Curso de Pós-Graduação "Lato Sensu"(Especialização) a Distância: Produção de Ruminantes. 1998.*

THORNTON, J.H.; OWENS, F.N. Monensin supplementation and *in vivo* methane production by steers. *Journal of Animal Science*, v.52, n.3, p.628-634, 1981.

TONINI, M.G.O.; ROSA, F.R.T.; TORRES JR. A.M. Cresce o confinamento. *Revista Agroanalysis*, v.27, n.8, p.27, 2007.

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

VALADARES FILHO, S.C.; PINA, D.S., 2006. Fermentação ruminal. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Ed.) *Nutrição de Ruminantes*. 1. ed. Jaboticabal: Funep. p.151-179.

VIJCHULATA, P.; HENRY, P.R.; AMMERMAN, C.B.; POTTER, S.G.; PALMER, A.Z.; BECKER, H.N. Effect of dried citrus pulp and cage layer manure in combination with monensin on performance and tissue mineral composition in finishing steers. *Journal of Animal Science*, v.50, n.6, p.1022-1030, 1980.

YANG, C.M.J; RUSSELL, J.B. The effect of monensin supplementation on ruminal ammonia accumulation *in vivo* and the numbers of aminoacid-

fermenting bacteria. *Journal of Animal Science*, v.71, n.12, p.3470-3476, 1993.

YANG, W.Z.; BEAUCHEMIN, K.A.; VEDRES, D.D. Effects of pH and fibrolytic enzymes on digestibility, bacterial protein synthesis, and fermentation in continuous culture. *Animal Feed Science and Technology*, v.102, n.1, p.137-150, 2002.

YOKOYAMA, H.; PERALTA, R.C.; DIAZ, R.; SENDO, S.; IKEMORI, Y.; KODAMA, Y. Passive protective effect of chicken egg yolk immunoglobulins against experimental enterotoxigenic *Escherichia coli* infection in neonatal piglets. *Infection and Immunity*, v.60, n.3, p.998-1007, 1992.

WEDEGAERTNER, T.C.; JOHNSON, D.E. Monensin effects on digestibility, methanogenesis and heat increment of a cracked corn-silage diet fed to steers. *Journal of Animal Science*, v.57, n.1, p.168-177, 1983.

CAPÍTULO 3.
EFEITO DO PREPARADO DE ANTICORPOS
POLICLONAI S SOBRE O CONSUMO ALIMENTAR E
FERMENTAÇÃO RUMINAL DE BOVINOS
SUPLEMENTADOS COM TRÊS FONTES ENERGÉTICAS

Efeito do preparado de anticorpos policlonais sobre o consumo alimentar e fermentação ruminal de bovinos suplementados com três fontes energéticas

RESUMO - Nove fêmeas bovinas canuladas no rúmen foram utilizadas para avaliar um preparado de anticorpos policlonais (PAP) de origem aviária contra as bactérias ruminais *Streptococcus bovis*, *Fusobacterium necrophorum*, *Clostridium aminophilum*, *Peptostreptococcus anaerobius* e *Clostridium sticklandii*. O delineamento experimental foi o quadrado latino 3 X 3 replicado 3 vezes, em arranjo fatorial de tratamentos 3 X 3 referente a 2 modificadores ruminais, monensina (MON) e PAP mais o grupo controle (CON) e 3 fontes energéticas, milho seco moído (MSM), silagem de grão úmido de milho (SGUM) e polpa cítrica (PC). Cada subperíodo experimental foi composto de 21 dias, onde a coleta de líquido ruminal foi realizada às 0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 h após a alimentação no último dia do período. Foram avaliados o consumo de matéria seca e os parâmetros de fermentação ruminal pH, concentração total de ácidos graxos de cadeia curta (AGCt), lactato total e nitrogênio amoniacal (N-NH₃). O PAP mostrou-se tão eficaz como a monensina em elevar o pH ruminal de bovinos alimentados com dietas ricas em concentrados, às 4 h após a alimentação, sem contudo, alterar (P>0,05) o consumo de matéria seca, a concentração total de ácidos graxos de cadeia curta, a proporção molar de acetato ou as concentrações de lactato total e nitrogênio amoniacal. Foi observada diminuição (P<0,05) na proporção molar de propionato com a utilização do PAP em relação a monensina, porém não em relação ao controle.

Palavras-chaves: ácidos graxos de cadeia curta, aditivo, PAP, pH, ruminante

Effect of feeding a polyclonal antibody preparation on feed intake and ruminal fermentation in cattle supplemented with three energetic sources

ABSTRACT - Nine ruminally cannulated cows were used to test an avian-derived polyclonal antibody preparation (PAP) against the specific ruminal bacterias *Streptococcus bovis*, *Fusobacterium necrophorum*, *Clostridium aminophilum*, *Peptostreptococcus anaerobius* and *Clostridium sticklandii*. The experimental design was a 3 X 3 latin square replicated 3 times with a factorial arrangement of treatments 3 X 3 regarding 2 rumen modifiers (monensin (MON) and PAP) plus control group (CON) and 3 energetic sources. The energetic sources utilized were dry-grounded corn grain (CG), high moisture corn silage (HMCS) and citrus pulp (CP). Each trial had 21 days; the ruminal fluid sampling was carried out on the last day of the period at 0, 2, 4, 6, 8, 10 and 12 h after morning meal. Dry matter intake and rumen fermentation parameters such as pH, total short chain fatty acids (tSCFA), lactic acid and ammoniacal nitrogen (NH₃-N) concentration were analyzed in this trial. PAP was as effective as monensin in increasing ruminal pH of cattle fed high concentrate diets, 4 h after feeding, without interfering (P>0.05) on dry matter intake, total short chain fatty acids concentration, molar proportion of acetate, lactic acid and ammoniacal nitrogen (NH₃-N) concentration. A decrease (P<0.05) in molar proportion of propionate was observed with PAP utilization compared to monensin but not in relation to control.

Key words: additive, PAP, pH, ruminant, short chain fatty acids

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, o uso de ionóforos como aditivos alimentares para bovinos tornou-se imprescindível na manipulação da fermentação ruminal, aumentando, a eficiência no aproveitamento das dietas empregadas. Porém, há questões sanitárias e de segurança alimentar relacionadas ao seu uso, que vem sendo discutidas mundialmente há alguns anos.

A Comunidade Européia, através do Regulamento (EC) Nº 1831/2003 (EUROPA, 2003), proibiu o uso de antibióticos e coccidiostáticos como aditivos para bovinos. Esta medida foi adotada como prevenção a possível relação entre o aumento da incidência de microorganismos resistentes aos antibióticos, observado na medicina humana, e o uso destas substâncias nas rações animais. Desta forma, surge a oportunidade de pesquisa e desenvolvimento de novos aditivos, que desempenhem funções semelhantes aos antibióticos e ionóforos e que sejam seguros à saúde humana (Newbold, 2007).

O conceito de imunidade foi citado por Berghman e Waghela (2004) como potencial ferramenta na manipulação da fermentação ruminal. Gill et al. (2000) observaram que, quando novilhos foram imunizados com vacina para *S. bovis*, via intramuscular, e logo após desafiados com a introdução de alta proporção de grãos na dieta, estes mantiveram o consumo alimentar e tiveram menor concentração ruminal de lactato, quando comparados ao grupo controle.

Di Lorenzo et al. (2006) observaram que a utilização do preparado de anticorpos policlonais contra *S. bovis* e *F. necrophorum* foi eficaz em reduzir a população destas bactérias ruminais específicas em dietas de alto grão.

Recentemente, Millen et al. (2007) observaram que bovinos jovens em confinamento, alimentados com dieta de alto concentrado e que recebiam um preparado de anticorpos policlonais (PAP) contra *S. bovis*, *F. necrophorum* e várias cepas de bactérias proteolíticas, tiveram desempenho semelhante aos animais suplementados com monensina em relação a ganho de peso médio diário, consumo de matéria seca e conversão alimentar.

Com o intuito de aprofundar os conhecimentos acerca de um potencial aditivo alimentar, o objetivo deste trabalho de pesquisa foi avaliar a adição do preparado de anticorpos policlonais no consumo de matéria seca e fermentação ruminal de fêmeas bovinas fistuladas no rúmen e alimentadas com três fontes energéticas.

MATERIAL E MÉTODOS

O protocolo de pesquisa descrito a seguir (nº 14/2006-CEEA) foi aprovado pela Câmara de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia FMVZ-UNESP, Campus de Botucatu. Este estudo foi conduzido na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (USP), Campus de Pirassununga – São Paulo. Foram utilizadas 9 fêmeas bovinas mestiças holandês X zebu, não gestantes e não lactantes, com peso vivo médio de 690 ± 44 kg e portadoras de cânula ruminal com 10 cm de diâmetro e 7,5 cm de espessura. Os animais foram mantidos em galpão coberto, em baias individuais com cochos de cimento e bebedouros automáticos comuns a cada dois animais. O estábulo possuía ventiladores suspensos no teto que eram ligados nas horas mais quentes do dia, para amenizar os efeitos da temperatura ambiente.

Os alimentos foram oferecidos duas vezes ao dia, às 8 e 16 h, na forma de ração completa, *ad libitum*. As dietas possuíam relação volumoso:concentrado de 30:70, nas quais a fonte de volumoso empregada foi a cana-de-açúcar fresca e picada com tamanho teórico médio de partícula de 1,8 cm, sendo este determinado pela Penn State Particle Size Separator, conforme metodologia proposta por Lammers et al. (1996).

O delineamento experimental foi o quadrado latino 3 X 3 replicado 3 vezes com arranjo fatorial de tratamentos 3 X 3 referente a 2 modificadores ruminais representados pela monensina sódica (MON) ou preparado de anticorpos policlonais (PAP) e o grupo controle (CON) e 3 fontes energéticas

suplementadas na dieta, representadas pelo milho seco moído (MSM), silagem de grão úmido de milho (SGUM) e polpa cítrica (PC), conforme Figura 1.

Figura 1 Esquema do delineamento experimental em quadrado latino 3 X 3 triplicado, com arranjo fatorial de tratamentos 3 X 3

ANIMAL	FONTES DE ENERGIA								
	MILHO SECO			MILHO ÚMIDO			POLPA CÍTRICA		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
PERÍODO I	C	M	P	C	M	P	C	M	P
PERÍODO II	M	P	C	M	P	C	M	P	C
PERÍODO III	P	C	M	P	C	M	P	C	M

Modificadores: C: controle, M: monensina, P: PAP.

As proporções dos diversos ingredientes nas dietas e a composição bromatológica das mesmas estão descritas na Tabela 1. O teor de carboidratos não-fibrosos foi estimado pela fórmula $CNF\% = 100\% - (PB\% + FDN\% + EE\% + cinzas\%)$, segundo Hall (2001). O teor de proteína degradável e não-degradável no rúmen (% PB), fibra em detergente neutro efetiva (% FDN), nutrientes digestíveis totais (NDT), energia metabolizável, energia líquida de manutenção e lactação (Mcal/kg MS) foram estimados pelo programa Cornell Net Carbohydrate and Protein System CNCPS versão 5.0.40 (Fox et al., 1992). As dietas foram formuladas para serem isonitrogenadas, segundo o NRC (1996), e avaliadas no programa CNCPS versão 5.0.40 nível 2 (simulação ruminal) (Fox et al., 1992).

As análises bromatológicas de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), energia bruta (EB), cálcio e fósforo foram realizadas segundo AOAC (1990) e as de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e pectina, conforme Van Soest et al. (1991). Para a análise de FDN foi omitido o sulfito de sódio, mas adicionada a α -amilase e uréia. A concentração de amido foi avaliada segundo Pereira e

Rossi Jr. (1995), fazendo prévia extração dos carboidratos segundo Hendrix (1993).

Tabela 1 Composição bromatológica dos ingredientes das dietas experimentais, com base na matéria seca

Ingredientes	MS	MM	PB	FDN	FDA	EE	AMI	PEC	Ca	P
Cana-de-açúcar fresca picada	95,7	1,58	2,3	51,9	33,4	0,81	4,04	0,32	0,18	0,03
Milho seco e moído	93,9	0,97	9,0	12,8	5,85	3,86	72,0	0,41	0,06	0,27
Silagem de grão úmido de milho	95,3	1,01	8,9	10,4	4,37	4,38	65,5	0,32	0,02	0,27
Polpa cítrica	96,0	6,87	6,0	27,6	18,8	2,53	4,60	21,0	2,20	0,09
Farelo de soja	96,1	6,26	46,6	15,1	22,1	0,79	2,46	1,32	0,35	0,61
Concentrado 1 (Dieta MSM)	88,9	3,23	15,7	13,3	8,98	3,72	69,1	0,33	0,56	0,36
Concentrado 2 (Dieta SGUM)	89,3	8,54	26,3	10,6	8,35	3,18	57,6	0,41	2,30	0,55
Concentrado 3 (Dieta PC)	89,0	6,93	36,6	11,0	9,32	2,86	45,5	0,70	1,16	1,03

Dietas: MSM: milho seco, SGUM: milho úmido, PC: polpa cítrica.

Tabela 2 Proporções de ingredientes e composição bromatológica das dietas experimentais, com base na matéria seca

Ingredientes (%)	Dietas experimentais		
	Milho seco (MSM)	Milho úmido (SGUM)	Polpa cítrica (PC)
Cana-de-açúcar fresca picada	30,4	30,2	30,4
Milho seco e moído	64,2	15,7	11,2
Silagem de grão úmido de milho	-	48,1	-
Polpa cítrica	-	-	50,0
Farelo de soja	3,10	3,73	6,73
Uréia	0,74	0,65	0,65
Suplemento mineral e vitamínico ¹	0,74	0,75	0,56
Calcário calcítico	0,83	0,84	-
Fosfato bicálcico	-	-	0,47
Composição química			
Matéria seca (%)	59,0	53,5	61,1
Matéria mineral (% MS)	2,77	2,91	5,39
Proteína bruta (% MS)	11,7	10,8	10,8
Proteína degradável no rúmen (% PB) ²	73,0	73,0	71,0
Proteína não-degradável no rúmen (% PB) ²	27,0	27,0	29,0
Extrato etéreo (% MS)	2,84	3,00	2,09
Fibra em detergente neutro (% MS)	24,9	23,2	31,4
Fibra em detergente neutro efetiva (% FDN) ²	12,0	13,0	14,0
Fibra em detergente ácido (% MS)	16,3	14,3	21,3
Carboidratos não fibrosos (% MS)	57,6	60,1	50,3
Amido (% MS)	49,8	46,7	12,2
Pectina (% MS)	0,33	0,34	11,2
NDT (% MS) ²	78,0	79,0	73,0
Energia bruta (Mcal/kg MS)	4,30	4,23	4,03
Energia metabolizável (Mcal/kg MS) ²	2,84	2,85	2,64
E _{liq} manutenção (Mcal/kg MS) ²	1,90	1,91	1,72
E _{liq} lactação (Mcal/kg MS) ²	1,83	1,84	1,70
Cálcio (% MS)	0,49	0,57	1,41
Fósforo (% MS)	0,30	0,26	0,25

¹ Mistura mineral e vitamínica em cada Kg: 230 g de cálcio, 90 g de fósforo, 15 g de enxofre, 20 g de magnésio, 48 g de sódio, 100 mg de cobalto, 700 mg de cobre, 2.000 mg de ferro, 80 mg de iodo, 1.250 mg de manganês, 20 mg de selênio, 2.700 mg de zinco e 900 mg de flúor (máximo), 200.000 UI de vitamina A, 60.000 UI de vitamina D3, 60 UI de vitamina E.

² Valores estimados pelo programa CNCPS versão 5.0.40 nível 2.

A silagem de grão úmido de milho foi confeccionada no Setor de Bovinos Superprecoce da FMVZ-UNESP (Campus Lageado). O milho foi colhido na fase de maturação fisiológica, caracterizada pela ocorrência da camada preta na

base do grão, com teor de umidade médio de 30%. Os grãos foram triturados e armazenados em silos do tipo trincheira por 90 dias. Após abertura dos silos, a silagem foi novamente ensilada em tambores plásticos de 200 L e transportada até a FMVZ-USP (Campus de Pirassununga). A polpa cítrica utilizada possuía pellets de 1,5 cm de comprimento em média, e 1 cm de diâmetro. O tamanho de partícula médio dos alimentos utilizados no experimento foi 0,70 mm para o grão de milho seco e moído, 2,26 mm para a silagem de grão úmido de milho, 0,74 mm para ração concentrada da dieta milho seco, 0,72 mm para ração concentrada da dieta milho úmido e 0,83 mm para dieta polpa cítrica. O tamanho de partícula médio foi determinado por granulometria de vibração (Marconi[®]), com peneiras de diâmetro de furo variando de 0,25 a 2,36 mm (Bertel[®]). Após a vibração das amostras por 15 min, as peneiras foram pesadas e o tamanho de partícula médio determinado.

A adição dos modificadores foi realizada duas vezes ao dia através da fístula ruminal, antes de cada refeição. A monensina foi administrada na dose 300 mg/animal/dia, o que corresponde a 3 g/animal/dia do produto comercial Rumensin - Elanco[®]. Já o preparado de anticorpos policlonais (CAMAS Inc[®]) foi administrado na dose de 10 mL/animal/dia.

O PAP de origem aviária utilizado foi preparado para agir contra as bactérias ruminais específicas *S. bovis*, *F. necrophorum* e cepas de bactérias proteolíticas *Clostridium aminophilum*, *Peptostreptococcus anaerobius* e *Clostridium sticklandii*.

Como o preparado de anticorpos policlonais é fabricado sob patente e possui direitos particulares de produção, apenas alguns passos deste processo foram descritos a seguir. Imunógenos foram extraídos de culturas bacterianas modelo, cultivadas sob condições especiais para expressar os antígenos de superfície que o organismo utiliza para aderir às células. Além dos organismos modelos, foram utilizadas bactérias específicas coletadas diretamente do rúmen de animais saudáveis. Os antígenos foram então purificados da cultura e imunógenos isolados foram produzidos para administração em galinhas poedeiras sem adjuvante. Mais de 600 galinhas foram imunizadas para cada

imunógeno. Seus ovos foram analisados semanalmente por teste de ELISA específico para monitorar a ligação dos anticorpos. Aproximadamente 200 galinhas imunizadas foram selecionadas aleatoriamente para a coleta de ovos. Os ovos foram coletados por três dias e o PAP produzido a partir da mistura destas coletas. No produto, aproximadamente 26% dos anticorpos agiam contra *S. bovis*, 12% contra *F. necrophorum* e 48% contra as bactérias proteolíticas *Clostridium aminophilum*, *Peptostreptococcus anaerobius* e *Clostridium sticklandii*. O restante dos anticorpos (14%) agiam contra *E.coli* O157:H7, *Eimeria* e *Salmonella*. Os preparados continham imunoglobulina Y, imunoglobulina M e imunoglobulina A.

O PAP contava ainda, em sua composição, uma mistura de proteína de ovo pasteurizada, melão, óleo de soja e solução tampão salina fosfato (PBS) com pH 7,4. Devido ao fato de que os ovos normalmente consumidos possuem anticorpos contra diversas bactérias, ovos comercialmente a venda foram testados para anticorpos contra os microorganismos específicos utilizando os mesmos protocolos para avaliação dos PAPs. Embora houvesse pequenas quantidades de anticorpos nestes ovos contra bactérias específicas, como *Streptococcus* spp. ou *Escherichia coli*, eles não se ligaram aos microorganismos específicos. Ainda, os títulos por ELISA não indicaram ligação aos fatores de adesão específicos, ou seja, houve falta de atividade dos anticorpos presentes nos ovos destinados ao consumo. O produto era apresentado na forma líquida, sendo mantido durante todo seu período de utilização sob refrigeração (4,4 - 10 °C).

Cada subperíodo experimental foi constituído de 21 dias. Para avaliação do consumo de matéria seca, as dietas fornecidas e as sobras foram coletadas e pesadas entre o 17º e 21º de cada período.

As amostras de líquido ruminal foram colhidas via fístula, por intermédio de uma bomba de vácuo, às 0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 h após a refeição matinal do 21º d. Em cada horário, foram coletados aproximadamente 500 mL de conteúdo ruminal, em diferentes pontos do rúmen. A amostra referente a 0 h foi realizada logo antes da alimentação das 8:00 h. Imediatamente após a coleta,

100 mL de fluido ruminal foram usados para a determinação do pH em potenciômetro digital portátil (HANNA instruments HI8424), calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0.

Logo em seguida, as amostras foram preparadas para a posterior determinação da concentração total e proporção molar dos ácidos graxos de cadeia curta e nitrogênio amoniacal (N-NH₃). As análises laboratoriais foram processadas no Laboratório de Nutrição Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (VNP/FMVZ/USP).

Para a determinação dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), uma fração de aproximadamente 100 mL de conteúdo ruminal foi centrifugada a 3500 rpm por 15 minutos; 2 mL do sobrenadante foi colocado em tubo de ensaio arrolhado, sendo acondicionado com 0,4 mL de ácido fórmico e mantido em congelador (-20 °C) até o momento da análise, realizada através de cromatografia gasosa, segundo método descrito por Erwin et al. (1961). Para esta avaliação foi utilizado um cromatógrafo a gás (Finnigan[®], modelo 9001) equipado com coluna Megabore da Ohio Valley, modelo OV-351 de 1 Micron, possuindo 30 m de comprimento e 0,53 mm de diâmetro. O número de leituras por amostra foi aquele necessário para que a diferença entre leituras fosse inferior a 5 %.

Para determinação da concentração de nitrogênio amoniacal, frações de 2 mL de líquido ruminal foram colocadas em tubos de ensaio contendo 1 mL de solução de ácido sulfúrico 1N e armazenadas sob refrigeração até a realização das análises por colorimetria, segundo método descrito por Kulasek (1972) e adaptado por Foldager (1977).

A concentração de ácido láctico total foi mensurada pela técnica colorimétrica, segundo Pryce (1969).

Os dados do tempo em que o pH ruminal permaneceu abaixo de 6,0 foram obtidos no gráfico do pH ruminal em função do tempo. O cálculo foi realizado pela subtração do segundo tempo (minutos) que o pH ruminal estava abaixo de 6,0 pelo primeiro tempo (minutos) em que o pH estava acima de 6,0.

Os dados foram analisados pelo programa Statistical Analysis System (SAS Institute Inc., 1989). Os dados de consumo e do tempo em que o pH ruminal permaneceu abaixo de 6,0 foram submetidos à análise de variância, que separou como causas de variação efeito de modificador, efeito de fonte energética e efeito de interação entre modificador e fonte energética, bem como efeito de período, efeito de animal dentro de quadrado e efeito de quadrado. Os efeitos dos fatores principais (efeito de modificador e efeito de fonte energética) foram separados através do teste de Duncan. Para as variáveis pH, concentração total e proporção molar dos AGCC, lactato total e nitrogênio amoniacal foi adicionado ao modelo, o fator medidas repetidas no tempo, referente às diferentes horas de amostragem, analisadas pelo PROC MIXED do SAS. A análise por tempo somente foi realizada quando as interações entre efeito de tempo e efeito de tratamentos foram significativas (Tabela 2). Adotou-se o nível de significância de 5%.

Tabela 3 Esquema da análise de variância para delineamento em quadrado latino triplicado, adicionado do fator de medidas repetidas no tempo, com arranjo fatorial de tratamentos

Causas de variação	Graus de Liberdade
Tratamentos	8
Modificador (M)	[2]
Fonte de energia (E)	[2]
Interação M X E	[4]
Período	2
Animal dentro de quadrado	6
Resíduo A	10
Parcelas	26
Tempo	6
Tempo X Tratamento	48
Tempo X Período	12
Tempo X Animal dentro de quadrado	36
Tempo X Quadrado	12
Resíduo B	48
Sub-parcelas	188

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de consumo de matéria seca (CMS), consumo de matéria seca em relação ao peso vivo (CPV) e consumo de matéria seca em relação ao peso metabólico (CPM) estão apresentados na Tabela 3.

De forma geral, o consumo de matéria seca, que em média foi de 1,29% do peso vivo, independentemente do tratamento, apresentou-se um pouco abaixo do esperado para esta categoria animal. Isto pode ter ocorrido em função da alta densidade energética da dieta. Segundo a teoria quimiostática (NRC, 1989), um aumento da concentração sanguínea de metabólitos oriundos da dieta estimularia receptores químicos que ativariam o centro da saciedade, determinando a diminuição da ingestão de alimentos. Outro fator que pode ter contribuído para o baixo consumo de matéria seca é relacionado com a qualidade da fibra da cana-de-açúcar. Esta por possuir fibra de baixa qualidade, indisponível à degradação ruminal, resulta em efeito de repleção ruminal (Detmann et al., 2003). Um último fator que pode ter contribuído para o baixo consumo de matéria seca diz respeito à alta condição corporal dos animais ao início do experimento.

Como a quantidade de volumoso na dieta total é baixa, os valores de consumo de matéria seca observados estão relacionados, provavelmente, com a alta densidade energética da dieta e condição corporal dos animais.

Foi observada interação entre modificador ruminal e fonte energética para o consumo de matéria seca. No grupo controle, o CMS foi mais elevado no grupo SGUM quando comparado à PC, sem diferença entre os dois grupos para MSM. Em relação ao consumo de matéria seca em função do peso vivo (CPV) e peso metabólico (CPM) não foi observada interação entre modificador ruminal e fonte energética. Não foi observado efeito de modificador ruminal para o consumo de matéria seca, consumo de matéria seca em função do peso vivo e peso metabólico. Porém, foi observado efeito de fonte energética, sendo o consumo de matéria seca e consumo de matéria seca em função do peso metabólico mais elevados no grupo SGUM em relação ao MSM e PC, que

por sua vez, não diferiram entre si. O consumo de matéria seca em função do peso vivo foi mais elevado no grupo SGUM quando comparado à PC. O grupo MSM obteve valores intermediários, sem diferir do grupo SGUM e PC.

Tabela 4 Valores de consumo de matéria seca (CMS), consumo de matéria seca em relação ao peso vivo (CPV), consumo de matéria seca em relação ao peso metabólico (CPM) e parâmetros de fermentação ruminal obtidos com os tratamentos compostos por diferentes modificadores ruminais e fontes energéticas

Variável	Modificador ¹				Fonte ²				Probabilidade ⁴			
	CON	MON	PAP	MSM	SGUM	PC	Média	EPM ³	M	F	M*F	TR*TE
CMS, kg/animal/dia	9,08	9,10	8,87	8,32 ^B	11,04 ^A	7,60 ^B	9,01	0,54	0,7785	0,0026	0,0471	-
CPV, % PV	1,30	1,27	1,28	1,22 ^{AB}	1,48 ^A	1,15 ^B	1,29	0,07	0,7803	0,0368	0,0640	-
CPM, g/kg de PV ^{0,75}	66,80	65,82	65,65	62,27 ^B	77,29 ^A	58,31 ^B	66,10	3,58	0,7780	0,0183	0,0582	-
pH	6,03	6,27	6,16	6,00	6,23	6,20	6,15	0,03	0,1144	0,0572	0,3168	0,0001
pH abaixo 6, min	395 ^a	125 ^b	249 ^{ab}	418 ^A	238 ^{AB}	145 ^B	261	50,0	0,0814	0,0205	0,1335	-
AGCC total, mM	111,30	96,90	106,06	96,88	96,69	120,20	104,68	1,66	0,0819	0,0022	0,3572	0,0001
Acetato, % Molar	62,47	62,47	65,06	61,82	60,00	68,09	63,34	0,45	0,2848	0,0026	0,0712	0,0216
Propionato, % Molar	23,85 ^{ab}	27,12 ^a	21,21 ^b	27,23 ^A	25,80 ^A	19,22 ^B	24,06	0,47	0,0261	0,0031	0,0430	0,0859
Butirato, % Molar	13,68	10,41	13,72	10,94	14,20	12,68	12,59	0,31	0,0167	0,0344	0,1151	0,0001
Relação Ac:Pr	2,87	2,50	3,24	2,39	2,61	3,60	2,87	0,07	0,0551	0,0024	0,1260	0,0155
Lactato, mM	0,45	0,49	0,43	0,40	0,38	0,59	0,46	0,03	0,8902	0,2922	0,5861	0,0216
N-NH ₃ , mg/dL	4,81	3,61	3,75	4,83	3,30	4,16	4,07	0,38	0,5593	0,3990	0,6172	0,0904

^{abc} Letras minúsculas dentro de modificador diferem estatisticamente pelo teste de Duncan (P<0,05). ^{ABC} Letras maiúsculas dentro de fontes diferem estatisticamente pelo teste de Duncan (P<0,05). ¹ Modificador: CON: controle, MON: monensina, PAP: preparado de anticorpos policlonais. ² Fonte: MSM: milho grão seco; SGUM: silagem de grão úmido de milho, PC: polpa cítrica. ³ EPM: erro padrão da média. ⁴ Probabilidades estatísticas para efeito de modificador (M), fonte energética (F), interação entre modificador ruminal e fonte energética (M*F) e interação entre tratamento e tempo (TR*TE).

No presente ensaio experimental, a utilização de monensina não influenciou o consumo alimentar. Resultados semelhantes foram obtidos por Zinn et al. (1994) e Oliveira et al. (2005b), que não observaram diferenças significativas no consumo alimentar, independentemente do nível de monensina.

Não foi observado efeito da adição do PAP no consumo de matéria seca. Millen et al. (2007) observaram consumo de matéria seca similar à monensina quando bovinos jovens em confinamento foram suplementados com PAP. Porém, em relação ao consumo em função do peso vivo, estes autores observaram que esta variável foi mais elevada no grupo PAP.

Quanto ao efeito de fonte energética, os animais alimentados com silagem de grão úmido de milho tiveram consumo de matéria seca e consumo de matéria seca em função do peso metabólico mais elevado, em relação aos alimentados à base de milho seco moído e polpa cítrica.

Henrique et al. (2007) trabalharam com tourinhos em terminação e constataram consumo de matéria seca similar entre os animais alimentados com grão de milho seco ou úmido. Porém, o grão úmido de milho foi superior quanto à eficiência alimentar. Já Luz e Silva et al. (2007) observaram que o tipo de grão de milho (seco ou úmido), em dietas para novilhos Nelore em confinamento, não influenciou o ganho médio diário, porém a ingestão de matéria seca em quilos e em % do peso vivo foi inferior no grupo alimentado com milho úmido. Resultados semelhantes foram observados por Ladely et al. (1995), onde novilhos e novilhas em terminação, alimentados com dietas à base de grão úmido de milho, tiveram redução na ingestão de matéria seca sem alteração no ganho de peso diário, melhorando assim a eficiência alimentar dos animais. Cooper et al. (2002) observaram consumo de matéria seca mais elevado nos animais alimentados com dietas à base de silagem de grão úmido de milho, quando comparado ao milho seco ou floculado.

A palatabilidade e boa aceitação deste ingrediente pelos animais pode ter contribuído para o aumento observado. Como o objetivo do estudo não foi

avaliar o desempenho dos animais em relação à diferentes fontes energéticas na dieta, não há dados neste sentido para comparação.

Os valores de pH ruminal estão demonstrados na Tabela 3. Foi observada interação entre tratamento e tempo para esta variável. Dentro dos tempos, não se observou interação entre modificador e fonte energética. Desta forma, os dados estão apresentados em função dos efeitos principais (Figura 2a e b).

Às 4 h, os pHs dos grupos MON (5,99) e PAP (5,95) foram mais elevados quando comparados ao CON (5,62). Às 6 h, o pH no grupo MON (6,09) foi mais elevado em relação ao CON (5,82), sem diferença entre estes dois grupos para PAP (6,03).

O pH ruminal está estreitamente relacionado com a dieta, podendo variar de 4,5 a 7,0 dependendo da mesma. Altos níveis de alimentos prontamente fermentescíveis promovem aumento na taxa de fermentação, podendo diminuir o pH, o que favorece o desenvolvimento de bactérias produtoras de ácido lático. O acúmulo de ácido lático contribui ainda mais para a queda de pH, fator determinante na ocorrência de distúrbios metabólicos, como a acidose ruminal (Hungate, 1966). É esperado que esta queda de pH atinja seu ápice entre 3-4 h após a alimentação, período correspondente ao pico de fermentação da última refeição. Esta observação foi constatada neste experimento, onde os menores valores de pH foram observados às 4 h após a alimentação.

No presente experimento, a monensina foi eficaz em manter o pH ruminal no pico de fermentação, após a alimentação. Experimentos *in vitro* (Schelling, 1984) e *in vivo* (Nagaraja et al. 1982) demonstraram que a monensina foi eficaz em manter ou restaurar o pH nos períodos críticos após a alimentação. Com o aumento dos níveis de monensina (0; 0,4; 0,8 e 1,2 mg/Kg de PV) foi observado aumento linear no pH ruminal de bezerras que recebiam ração peletizada (Salles e Lucci, 2000). Oliveira et al. (2005a) observaram que, em bovinos alimentados com dietas com baixo ou alto teores de proteína, a suplementação com monensina elevou o pH ruminal.

Já Shell et al. (1983), trabalhando com novilhos que recebiam dietas de alto concentrado, observaram que a monensina não foi efetiva na elevação dos valores de pH. Não foi constatada alteração de pH em dietas de alta proporção de forragem, onde a monensina foi administrada para vacas em lactação (Haimoud et al., 1995), vacas secas (Haimoud et al., 1996), novilhas (Oliveira et al., 2005b), ovinos (García et al., 2000), bem como em cordeiros alimentados com duas diferentes fontes protéicas (Poos et al., 1979).

O preparado de anticorpos policlonais foi eficaz em manter o pH durante o pico da fermentação após a alimentação.

No ensaio realizado por DiLorenzo et al. (2006), onde novilhos receberam PAP contra *S. bovis* (PAPSb) em dieta de alto concentrado, o pH ruminal às 5,5 h após a alimentação foi mais elevado no grupo PAP (6,08) quando comparado ao controle (5,67). Além disso, a contagem de *S. bovis* foi menor no grupo suplementado com PAPSb. Blanch et al. (2006) observaram que o pH ruminal de novilhas que recebiam PAPSb foi maior quando comparado ao grupo controle nos dias 16 (6,70 vs. 6,11), 18 (6,54 vs. 5,95) e 19 (7,26 vs. 6,59) do período experimental. DiLorenzo et al. (2007) observaram que um PAP contra bactérias proteolíticas, amilolíticas e Gram negativas foi eficaz em modular o pH em vacas leiteiras em início de lactação. O pH médio diário (6,07 vs. 5,75) e o pH máximo diário (6,82 vs. 6,36) foram mais elevados nos animais suplementados com PAP quando comparados ao controle. Quando realizaram um ensaio *in vitro* com fluido ruminal de vacas leiteiras em início de lactação suplementadas com o mesmo PAP, foram observados maiores valores de pH ruminal às 4,5 h (6,04 vs. 5,85) e 6 h (5,20 vs. 5,08) neste grupo, quando comparado ao controle. Quando vacas em lactação foram alimentadas com PAP contra bactérias proteolíticas ruminais, não foi observada diferença no pH, quando comparado aos animais controle (Dahlen et al., 2003).

Em relação às fontes energéticas, às 4 h, o pH foi menor no grupo MSM (5,70) e SGUM (5,72) em relação à PC (6,10). Às 6 h, o pH do grupo MSM (5,83) foi menor que o PC (6,14). O grupo SGUM (5,94) não diferiu dos

outros dois. Às 8 h, o pH do grupo MSM (5,93) foi menor que o grupo SGUM (6,17) e PC (6,21), que por sua vez, não diferiram entre si. Às 0, 10 e 12 h o pH do grupo SGUM foi maior, quando comparado ao MSM e PC (Figura 2b).

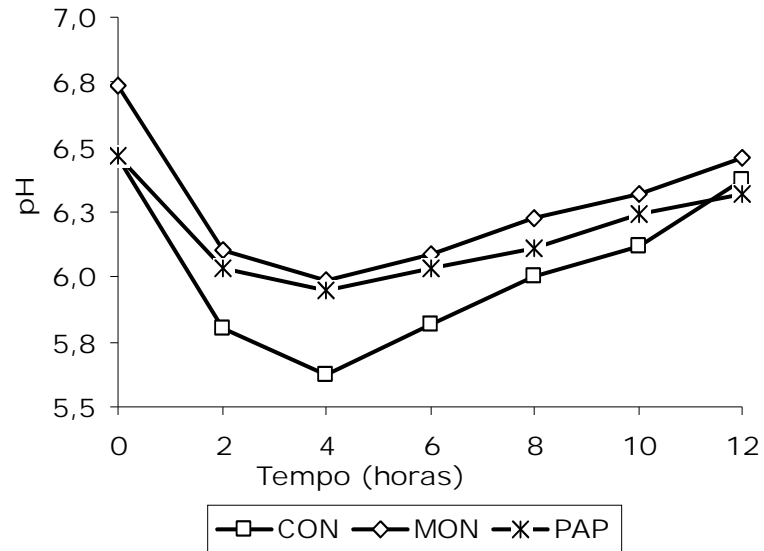
De forma geral, como visualizado na Figura 2b, as curvas de pH dos grupos alimentados com MSM e SGUM comportaram-se de forma semelhante, nos tempos após a alimentação. Os menores valores de pH foram observados ao redor das 4 h após a alimentação e retornaram para valores próximos a normalidade por volta das 8 h. No grupo SGUM o pH caiu mais bruscamente, mas recuperou-se mais rapidamente que o grupo MSM. Já no grupo PC, o pH se manteve estável ao longo de todos os tempos de mensuração.

Horton et al. (1980) observaram que o pH ruminal de ovinos e bovinos decresceu linearmente com aumentos na proporção de cevada na dieta (0; 30; 50 e 70%MS). Mendoza et al. (1999) também observaram diminuição linear do pH com quantidades crescentes de grão úmido de milho na dieta de ovinos. Provavelmente, este fato foi observado devido à rápida taxa de degradação ruminal dos alimentos utilizados nestes experimentos.

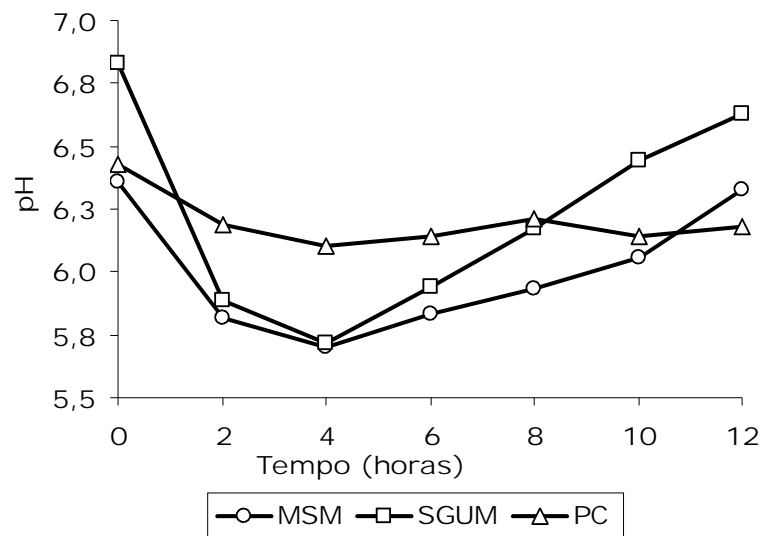
Já Schaibly e Wing (1974) observaram que a substituição da silagem de milho por proporções crescentes de polpa cítrica, na dieta de novilhos, não provocou alteração no pH ruminal. Por outro lado, o pH foi mais elevado em dietas à base de pectina em comparação à dietas à base de amido (Ben-Ghedalia et al., 1989).

Os valores de pH descritos neste experimento ao longo dos tempos de mensuração, para as diferentes fontes energéticas utilizadas, estão de acordo com a taxa e velocidade de degradação destes alimentos. A silagem de grão úmido de milho é um alimento de alta e rápida degradação ruminal (Galyean et al. 1976), com elevada disponibilidade de amido pela prévia fermentação do alimento no silo (Simas, 1997). Além disso, a colheita do milho para ensilagem com alto teor de umidade pode ter efeito benéfico sobre a digestibilidade ruminal do amido. Isto devido à redução da influência da matriz protéica do endosperma sobre a hidrólise do amido, já que, nesta época, ainda não estão completamente formadas (Hale, 1973). Já o grão seco

de milho moído é uma fonte de alta degradação ruminal, porém de degradação mais lenta que o milho úmido pela menor disponibilidade do amido, uma vez que este alimento passa apenas pelo processamento físico da moagem. Por sua vez, a polpa cítrica é um alimento cuja maior parte dos carboidratos totais de sua composição se originam da fração solúvel em detergente neutro representada principalmente pela pectina, como também, α -glucanas, frutose, arabinose e galactose (Miron et al., 2001). A pectina representa em torno de 25% da MS da polpa cítrica e é constituída por ácido galacturônico, compondo parte da estrutura da parede celular dos vegetais. É um carboidrato de alta (90-100%) e rápida degradação ruminal, pois não está ligada à porção lignificada da parede celular (Van Soest, 1994). Contudo, alguns dos microorganismos responsáveis por sua degradação e fermentação, como *Ruminococci* e *Bacteroides ruminicola*, não produzem lactato (Strobel e Russell, 1986), mantendo os valores de pH próximos à normalidade. Ainda, vale lembrar que tanto a dieta à base de silagem de grão úmido de milho como à base de polpa cítrica possuíam uma fração de milho seco moído em sua composição. Fontes de carboidratos de diferentes velocidades de degradabilidade ruminal podem ter propiciado um ambiente ruminal mais estável, evitando uma queda de pH acentuada no pico de fermentação, conforme citado por Bock et al. (1991).



a.



b.

Figura 2 Valores de pH ruminal obtidos com os tratamentos compostos por modificadores ruminais (CON – controle, MON – monensina e PAP – preparado de anticorpos policlonais) (a.) e fontes energéticas (MSM – milho seco moído, SGUM – silagem de grão úmido de milho e PC – polpa cítrica) (b.)

A falta de interação entre modificador ruminal e fonte energética indica que os efeitos de monensina ou PAP são aditivos à inclusão da polpa cítrica, o

que pode ser demonstrado na Figura 3. Nela, observa-se que o pH ruminal dos animais suplementados com milho seco sofre um aumento de 0,26 unidades de pH (4,7%) com a utilização da monensina (5,84), em relação ao grupo controle (5,58). Quando avalia-se os grupos de animais tratados sem aditivos, observa-se que a adição da polpa cítrica (5,89) acarreta aumento de 0,31 unidades de pH (5,6%), quando comparado ao grupo suplementado com milho seco (5,58). Quando se compara o grupo suplementado com polpa cítrica e monensina (6,27) com o grupo milho seco sem monensina (5,58), observa-se que a diferença entre esses dois grupos é igual à 0,69 unidades de pH. Esta diferença é compatível com os aumentos isolados de pH causados pela polpa cítrica e pela monensina ($0,31 + 0,26 = 0,57$). O mesmo raciocínio é válido para o PAP, indicando que os modificadores PAP e MON apresentaram efeito aditivo à inclusão da polpa cítrica em elevar o pH ruminal.

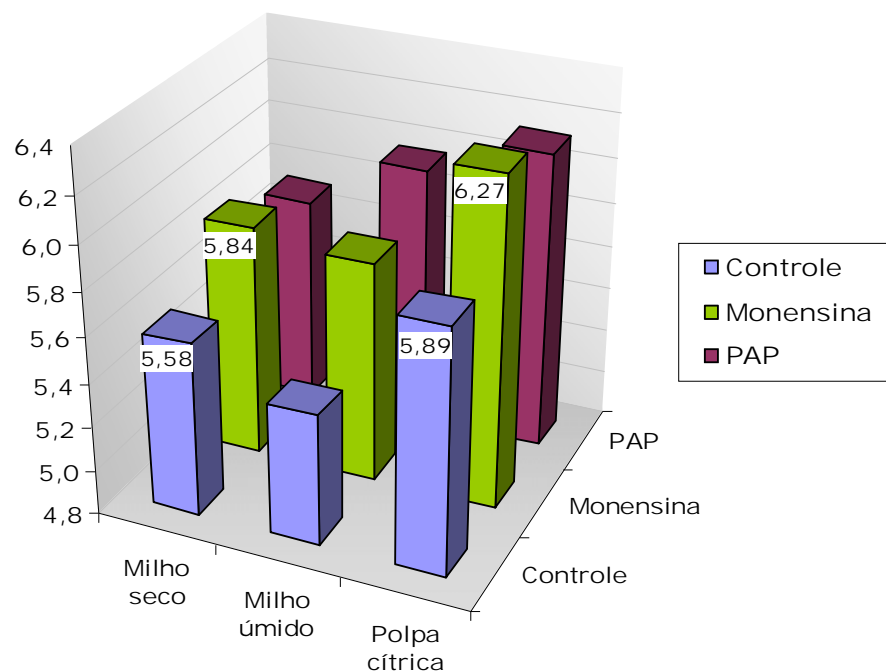


Figura 3 Valores de pH ruminal às 4 h após alimentação, com a adição de modificadores ruminiais e fontes energéticas

Os dados referentes a variável tempo que o pH permaneceu abaixo de 6,0 encontram-se na Tabela 3. Não foi observada interação entre modificador ruminal e fonte energética para esta variável.

Foi observado efeito de modificador ruminal, onde o tempo em que o pH ruminal permaneceu abaixo de 6,0 foi mais elevado no grupo controle, em comparação ao grupo monensina.

Em relação às fontes energéticas, esta variável foi mais elevada no grupo suplementado com milho seco moído em comparação à polpa cítrica. O grupo suplementado com silagem de grão úmido obteve valores intermediários sem diferir dos outros dois grupos.

Os valores da concentração total de ácidos graxos de cadeia curta estão demonstrados na Tabela 3. Foi observada interação entre tratamento e tempo. Porém, dentro dos tempos não se observou interação entre modificador ruminal e fonte energética. Efeito de modificador foi observado às 2 e 4 h, onde a concentração total de AGCC foi menor no grupo MON (102,28 e 108,07 mM), em relação ao CON (123,68 e 129,62 mM). Nestes tempos, os valores observados no grupo PAP foram intermediários (110,61 e 117,90 mM) sem diferir do CON ou MON (Figura 4a). Em média, no presente experimento, o maior valor de concentração total de AGCC foi observado no grupo controle, seguido do PAP e monensina.

Outros experimentos demonstraram que a suplementação com monensina não influenciou a concentração total de ácidos graxos de cadeia curta em vacas lactantes fistuladas no rúmen (Eifert et al., 2005). Resultados semelhantes foram observados em novilhos alimentados com dietas de alto volumoso (Dinius, 1976; Rogers e Davis, 1982) e também em novilhos que recebiam dietas de alto concentrado (Muntifering et al., 1980).

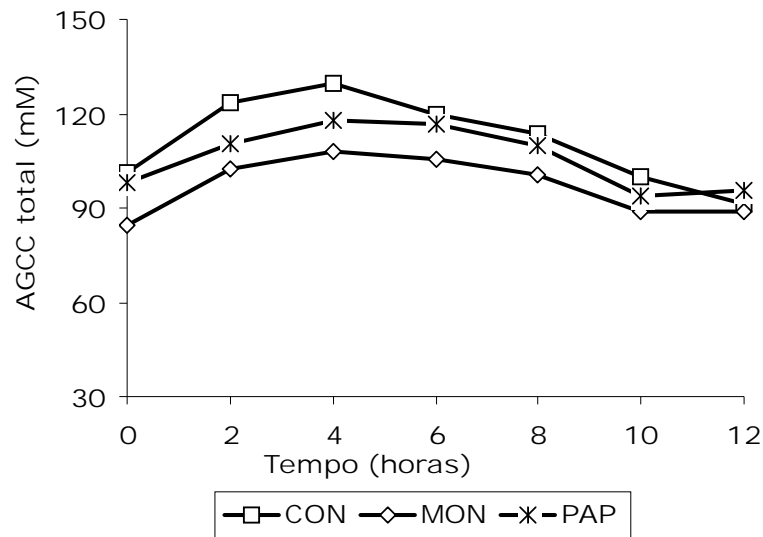
Blanch et al. (2006) observaram maior concentração total de AGCC para o grupo PAPSb (147,1 mM), quando comparado ao CON (132,9 mM), 6 h após a alimentação de novilhas com dietas de alto concentrado. Já Dahlen et al. (2003) não observaram diferença na concentração total de AGCC em

vacas lactantes suplementadas com PAP contra bactérias proteolíticas ruminais.

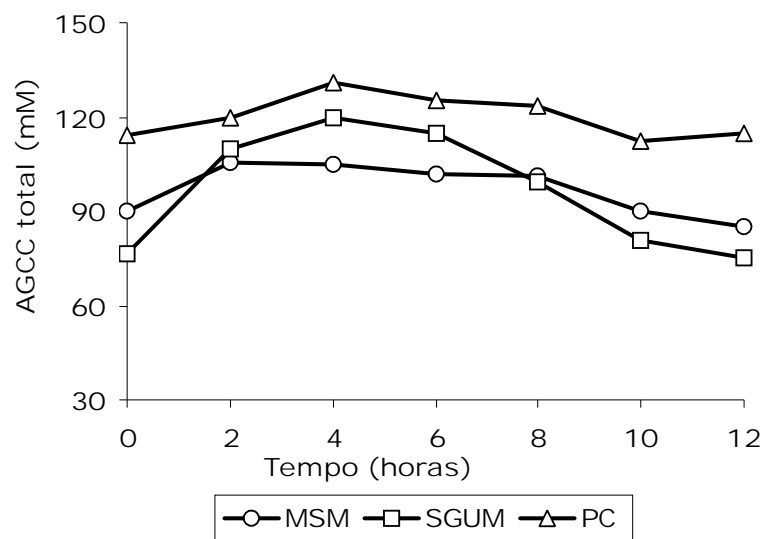
No presente estudo, foi observado efeito de fonte energética em praticamente todos os tempos. Exceto às 2 h, a concentração total de AGCC foi maior para o grupo PC quando comparado aos grupos MSM e SGUM. Às 4 e 6 h, a concentração foi maior para o grupo PC em comparação ao MSM. O grupo suplementado com SGUM não diferiu dos outros dois (Figura 4b).

A taxa de absorção dos ácidos graxos de cadeia curta é influenciada pela taxa de dissociação dos ácidos, que por sua vez, é determinada pelo pH ruminal. Em pH alcalino, a forma dissociada dos ácidos é predominante, diminuindo a taxa de absorção. Isto pode explicar porque no grupo PC, onde os valores de pH ruminal se mantiveram estáveis ao longo do dia, em média 6,20, a concentração total de AGCC foi superior em relação aos demais (Valadares Filho e Pina, 2006).

Mendoza et al. (1999) não verificaram diferença na concentração total de ácidos graxos de cadeia curta comparando dietas à base de grão seco de milho ou grão úmido de milho. Corroborando para estes achados, Rocha Filho et al. (1999) observaram que, em dietas onde polpa cítrica ou milho triturado substituíram a silagem de milho em diferentes proporções, não foi observada diferença entre os tratamentos para a concentração total de AGCC. Porém, nos tratamentos onde a polpa cítrica estava presente, associada ou não ao milho, a quantidade total de AGCC foi numericamente maior. Os autores citam a possibilidade deste ingrediente ter propiciado ambiente ruminal mais favorável à fermentação ruminal. No presente estudo, no grupo de animais onde a PC foi utilizada, o pH esteve próximo a valores de normalidade durante todos os tempos de amostragem (média 6,20), uma observação que favorece esta afirmação.



a.



b.

Figura 4 Valores da concentração total de ácidos graxos de cadeia curta (mM) com os tratamentos compostos por modificadores ruminiais (CON – controle, MON – monensina e PAP – preparado de anticorpos policlonais) (a.) e fontes energéticas (MSM – milho seco moído, SGUM – silagem de grão úmido de milho e PC – polpa cítrica) (b.)

Os valores da proporção molar de acetato, propionato, butirato e relação acetato:propionato com a utilização de modificadores ruminiais e

fontes energéticas estão apresentados na Tabela 3. Foi observado efeito de interação entre tratamento e tempo para todas as variáveis, exceto para a proporção molar de propionato.

Para a determinação da proporção molar de acetato foi observada interação entre modificador ruminal e fonte energética às 0 hs. Também foi observada interação às 2 hs. Porém, neste último tempo, o teste de médias utilizado (Duncan) não detectou diferenças entre os efeitos estudados. Não foi observado efeito de modificador em nenhum dos outros tempos de mensuração (Figura 5a).

Houve efeito de modificador para os valores médios, independentemente do tempo de amostragem, para a proporção molar de propionato, onde estes valores foram mais elevados no grupo MON (27,12%) quando comparados ao PAP (21,21%). O grupo CON apresentou valores intermediários (23,85%), sem diferir dos demais.

Para a proporção molar de butirato, não foi observada interação entre modificador ruminal e fonte energética. Porém, foi observado efeito de modificador em todos os tempos de coleta. Às 0 e 2 h, a proporção molar de butirato foi mais elevada para o grupo PAP comparado ao grupo MON. Não houve diferença dos dois grupos para o CON. Às 4, 8, 10 e 12 h, a proporção molar de butirato foi mais elevada para o grupo PAP e CON, que não diferiram entre si, em relação a MON. Às 6 h, a proporção foi mais elevada para o grupo CON em relação a MON, sendo que o grupo PAP não diferiu dos demais (Figura 5c).

Não foi observada interação entre modificador ruminal e fonte energética para a relação acetato:propionato. Efeito de modificador foi observado às 6, 8 e 10 h, onde a relação acetato:propionato foi mais elevada no grupo recebendo PAP em relação a MON, sem diferença dos dois grupos em relação ao CON (Figura 5d).

Como demonstrado, os modificadores ruminais PAP e monensina não influenciaram a proporção molar de acetato, em relação ao controle. Com a utilização do preparado de anticorpos policlonais foi observada diminuição da

proporção molar de propionato em relação à monensina, mas não em relação ao controle. Conseqüentemente, há um aumento na relação acetato:propionato com sua utilização, em comparação ao inonóforo. Foi observada diminuição na proporção molar de butirato com a utilização da monensina, em relação ao PAP, porém não em relação ao grupo controle.

Um efeito característico da utilização de ionóforos, como a monensina, é a alteração da proporção molar dos ácidos graxos produzidos durante a fermentação ruminal. De forma geral, há aumento na proporção molar de propionato, com conseqüente diminuição da relação acetato:propionato (Bergen e Bates, 1984; Schelling, 1984). Muntifering et al. (1980), Rogers e Davis (1982) e Beede et al. (1986), ao trabalharem com novilhos que recebiam dietas com baixa ou alta proporção de volumoso, observaram diminuição na relação acetato:propionato, com suplementação de monensina.

Ramanzin et al. (1997) observaram que a proporção molar dos ácidos graxos de cadeia curta foi alterada com a utilização da monensina em novilhos alimentados com dietas tanto com alta como baixa proporção de forragem, havendo diminuição da proporção molar de acetato e da relação acetato:propionato. Resultados semelhantes foram encontrados por García et al. (2000) ao trabalharem com ovinos alimentados com alta proporção de volumoso. Ruiz et al. (2001) e Oliveira et al. (2005b) verificaram que, em vacas e novilhas leiteiras alimentadas com dietas com alta proporção de volumoso, foi observada diminuição da relação acetato:propionato com a suplementação com monensina. O aumento da proporção molar de propionato está relacionado com mudanças na população microbiana, devido ao mecanismo de ação do ionóforo, que seleciona as bactérias gram-negativas. Estas são as principais produtoras de succinato, que é o precursor do propionato (Russell e Wallace, 1997).

Por outro lado, Haïmoud et al. (1995) e Haïmoud et al. (1996) observaram que, em vacas leiteiras lactantes ou secas, a utilização de monensina em dietas com alto nível de forragem, não alterou a relação acetato:propionato. Resultados semelhantes foram constatados neste

experimento, onde a monensina elevou a proporção molar de propionato em relação ao grupo PAP, porém, não em comparação ao grupo controle.

Em relação ao preparado de anticorpos policlonais, Blanch et al. (2006) observaram aumento da proporção molar de acetato 6 h após a alimentação de novilhas com dietas de alto concentrado, com utilização de PAP contra *S. bovis*, em relação ao grupo controle. Já no presente estudo, o PAP não alterou a proporção molar dos ácidos graxos de cadeia curta em relação ao grupo controle. É possível que, a retirada de microorganismos específicos do ambiente ruminal com a administração do PAP não interfira marcadamente nos processos fermentativos, a ponto de alterar a proporção molar dos AGCC. DiLorenzo et al. (2006) observaram que, em dietas onde o preparado de anticorpos policlonais contra *S. bovis* (PAPSb) ou *F. necrophorum* (PAPFn) foi utilizado, houve redução nas concentrações ruminais dos microorganismos específicos para os quais o produto foi desenvolvido. A concentração de *F. necrophorum* não foi alterada pelo uso de PAP contra *S. bovis* e a concentração de *S. bovis* não foi alterada pela utilização de um PAP contra *F. necrophorum*, comprovando a especificidade do produto. Sugerem-se novos estudos com intuito de caracterizar e quantificar a microbiota ruminal, além de estimar a atividade metabólica sob utilização do preparado de anticorpos policlonais, a fim de, melhor compreender seu efeito nos processos de fermentação ruminal.

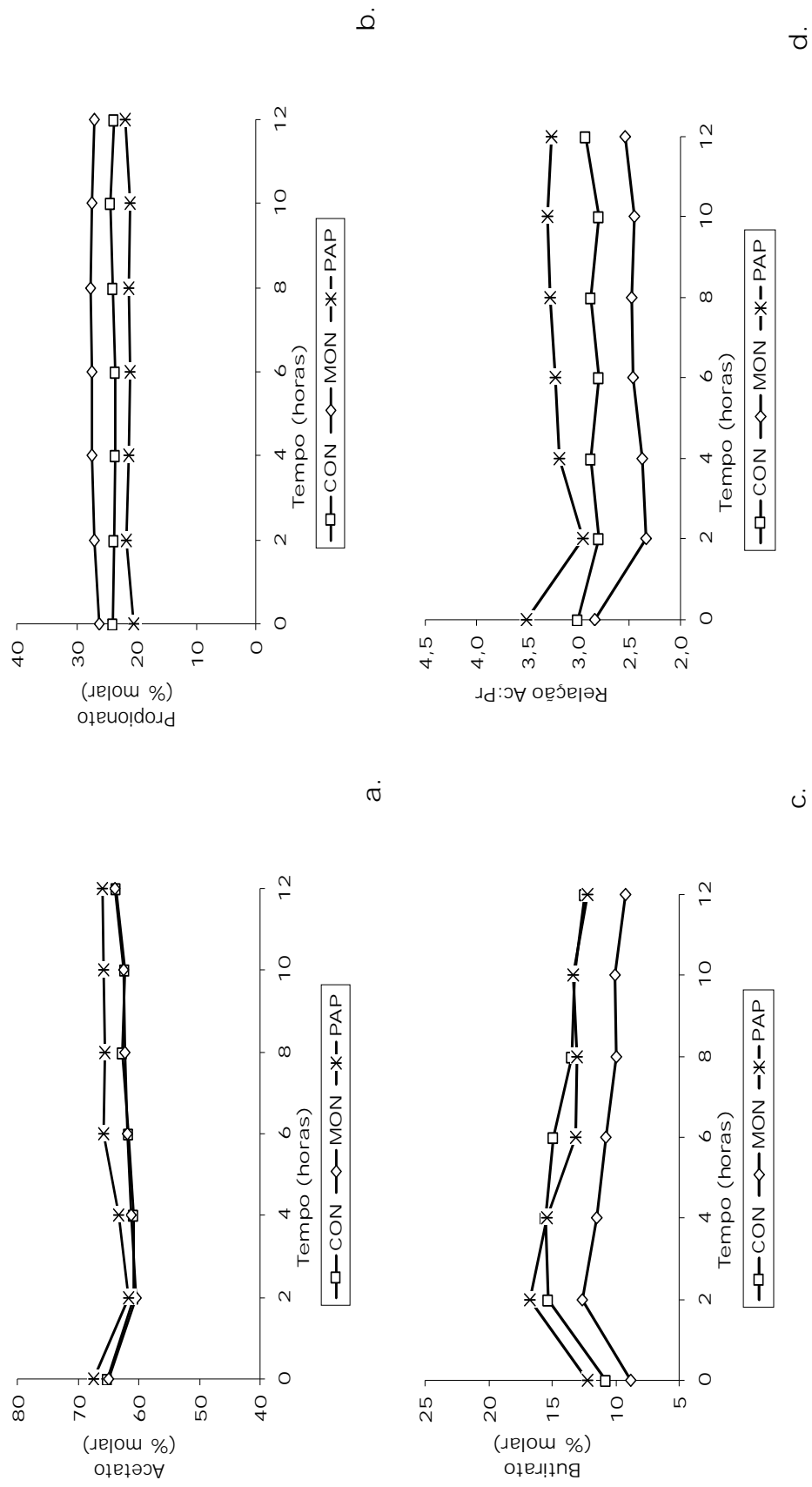


Figura 5 Valores da proporção molar (% molar) de acetato (a.), propionato (b.), butirato (c.) e relação Ac:Pr (d.) com os tratamentos compostos por modificadores ruminais (CON – controle, MON – monensina e PAP – preparado de anticorpos policlonais)

Para a proporção molar do acetato foi observada interação entre modificador ruminal e fonte energética às 0 hs. Neste tempo, dentro do grupo controle, a proporção molar de acetato foi mais elevada no grupo suplementado com PC (71,74%), em relação ao MSM (58,35%). Não foi observada diferença entre estes dois grupos para SGUM (65,73%). Neste mesmo tempo, no grupo onde a monensina foi administrada, a proporção molar de acetato foi mais elevada no grupo suplementado com PC (71,47%), quando comparado ao SGUM (58,51%). O grupo suplementado com MSM obteve valores intermediários (65,18%), sem diferir dos demais. No grupo suplementado com PAP, a proporção molar de acetato foi mais elevada no grupo que recebia PC (71,95%), em relação ao MSM (62,74%) e SGUM (62,67%), que por sua vez, não diferiram entre si. Interação entre modificador ruminal e fonte energética também foi observada às 2 hs. Porém o teste de médias utilizado (Duncan) não detectou diferença entre os efeitos estudados. Foi observado efeito de fonte energética, em todos os tempos de coleta, para a proporção molar de acetato, onde o grupo suplementado com PC apresentou valores mais elevados em relação ao MSM e SGUM, que por sua vez, não diferiram entre si (Figura 6a).

Efeito de fonte energética também foi observado para as médias da proporção molar de propionato, independentemente de tempo de amostragem. Os valores descritos foram mais elevados no grupo MSM (27,23%) e SGUM (25,80%), quando comparados à PC (19,22%).

Para a proporção molar de butirato, também foi observado efeito de fonte energética em todos os tempos de amostragem, exceto às 0 e 10 h. Às 2 e 4 h, a proporção de butirato foi mais elevada no grupo suplementado com SGUM em relação a MSM e PC, que por sua vez, não diferiram entre si. Às 6 e 8 h, a proporção de butirato foi mais elevado no grupo SGUM, em relação ao MSM. Não foi observada diferença dos dois grupos para a PC. Às 12 h, o grupo suplementado com PC obteve os maiores valores em relação ao MSM, sem diferença dos dois grupos em relação ao SGUM (Figura 6c).

Foi observado efeito de fonte energética sobre a relação acetato:propionato em todos os tempos de coleta. Às 0, 2, 6, 8, 10 e 12 h a relação Ac:Pr foi mais elevada no grupo suplementado com PC, em relação ao MSM e SGUM, quer por sua vez, não diferiram entre si. Às 4 h, a relação Ac:Pr foi mais elevada no grupo suplementado com PC, em relação ao MSM, sem diferença dos dois grupos para SGUM (Figura 6d).

Os resultados obtidos no presente experimento, em relação à proporção molar dos ácidos graxos de cadeia curta, estão condizentes com o tipo de substrato disponível para fermentação ruminal em cada dieta. De forma geral, na dieta à base de PC, a proporção molar de acetato foi mais elevada quando comparada às dietas à base de MSM e SGUM. Já a proporção molar de propionato foi mais elevada no grupo MSM e SGUM. Conseqüentemente, a maior relação acetato:propionato foi observada no grupo PC. Desta forma, os dados estão condizentes de se esperar que a fermentação do amido, carboidrato mais abundante nas dietas à base de milho seco moído e silagem de grão úmido, produza principalmente ácido propiônico. Já nas dietas à base de polpa cítrica, espera-se que a fermentação da pectina gere principalmente uma maior proporção de ácido acético (Van Soest, 1994).

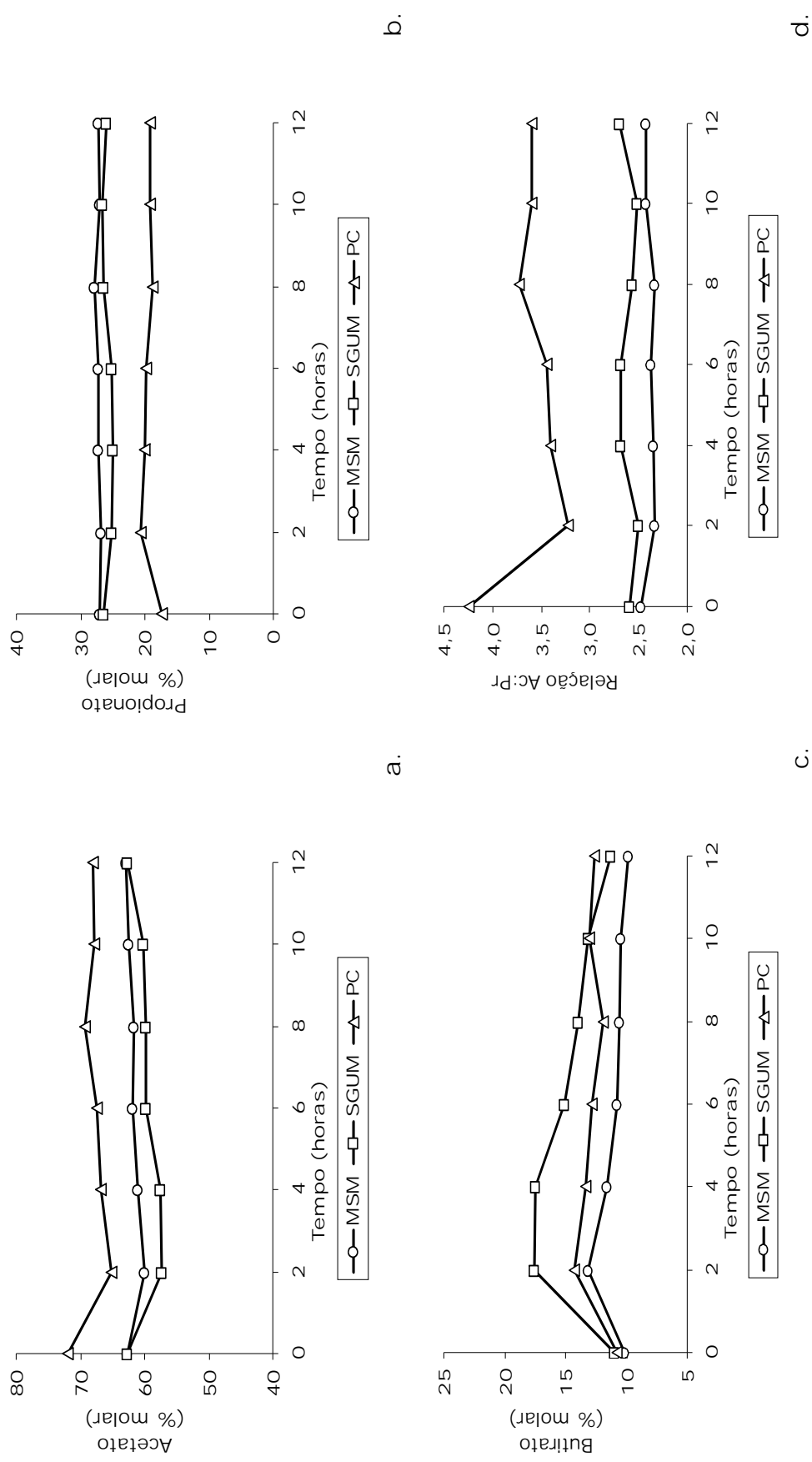


Figura 6 Valores da proporção molar (% molar) de acetato (a.), propionato (b.), butirato (c.) e relação Ac:Pr (d.) com os tratamentos compostos por diferentes fontes energéticas (MSM – milho seco moído, SGUM – silagem de grão úmido de milho e PC – polpa cítrica)

Para a concentração de lactato total, foi observado efeito de interação entre tratamento e tempo. Além disso, foi observado efeito de interação entre modificador e fonte, às 2 h. Somente no grupo alimentado com silagem de grão úmido de milho, a maior concentração de lactato foi observada no grupo CON (0,91 mM), em relação à MON (0,25 mM) e PAP (0,16 mM) (Figura 7). Não foi observado efeito de modificador ruminal, nem tampouco efeito da adição de fonte energética.

Os valores da concentração de lactato total, observados no presente ensaio, encontram-se bem abaixo dos descritos na literatura. Provavelmente, estes valores estão relacionados ao pH médio (6,15) descritos neste ensaio, independentemente do tratamento. Em pH 5,6, o lactato é produzido, porém não se acumula no meio, porque as bactérias fermentadoras de lactato estão ativas e o metabolizam a ácidos graxos de cadeia curta. Em pH próximo ou abaixo de 5,0, os microorganismos fermentadores de lactato são inibidos e o lactato começa a acumular (Nagaraja e Titgemeyer, 2007). Resultados de concentração de lactato total semelhantes, em média 0,27 mM, independentemente do tratamento, foram observados por Mendoza et al. (1998). Semelhantemente ao presente ensaio, o valor médio de pH observado por Mendoza et al. (1998) foi 6,2, independentemente do tratamento.

Já Maruta e Ortolani (2002) observaram concentrações de lactato total bem mais elevadas (116 mMol/L), quando comparados a este estudo. Contudo, o pH mais baixo observado, no experimento dos pesquisadores acima citados, foi de 4,2 às 14 h após a alimentação. Em modelos de indução de acidose revisados por Nagaraja e Titgemeyer (2007), quando o pH estava em torno de 5,5-5,7, as mensurações da concentração de lactato no líquido ruminal foram baixas (<5-22 mM). No entanto, quando os modelos utilizados conseguiram atingir valores de pH entre 4,0-4,8, as concentrações de lactato foram bem mais elevadas e variaram entre 58-140 mM.

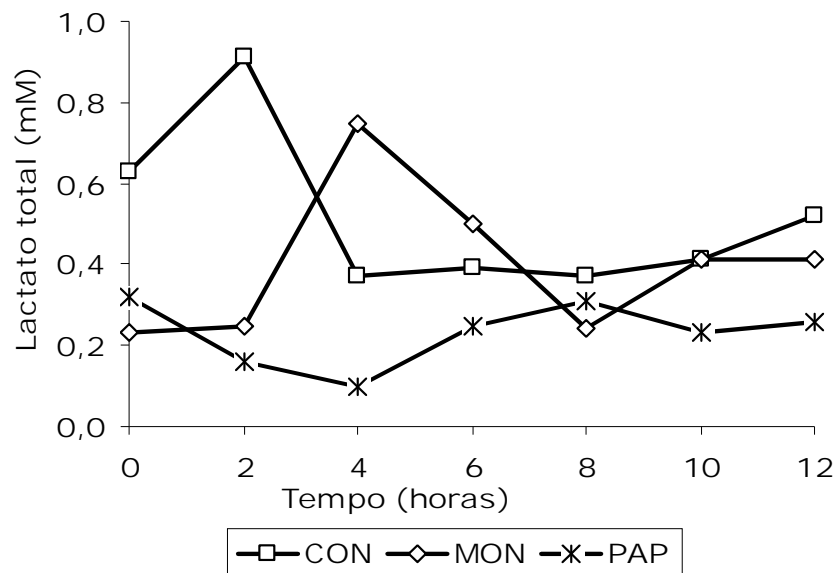


Figura 7 Concentração de lactato total (mM) com a adição de modificadores ruminais (CON – controle, MON – monensina e PAP – preparado de anticorpos policlonais) na dieta suplementada com silagem de grão úmido de milho

Não foram observados efeitos de interação entre tratamento e tempo, interação entre modificador ruminal e fonte energética, nem tampouco, efeito de inclusão de modificador ou de fonte energética sobre a concentração ruminal de nitrogênio amoniacal ($N-NH_3$).

Corroborando para os achados deste estudo, Ramanzin et al. (1997) observaram que a suplementação com monensina não influenciou a concentração ruminal de nitrogênio amoniacal em vacas lactantes alimentadas com dietas de relação volumoso:concentrado de 70:30 ou 50:50. Campbell et al. (1997) não observaram diferença na concentração ruminal de nitrogênio amoniacal em novilhos alimentados com alta proporção de grãos, com ou sem fornecimento de monensina.

Já Yang e Russell (1993) observaram diminuição da concentração ruminal de nitrogênio amoniacal com suplementação de monensina. Resultados semelhantes foram descritos em ovinos (Poos et al., 1979), em

vacas em lactação (Haimoud et al., 1995; Ruiz et al., 2001) e em vacas secas (Haimoud et al., 1996).

Em relação à utilização do preparado de anticorpos policlonais, Dahlen et al. (2003) não observaram efeito na concentração ruminal de nitrogênio amoniacal em vacas lactantes.

A Figura 8 demonstra os valores médios do efeito da suplementação com três diferentes fontes energéticas sobre a concentração de nitrogênio amoniacal. A concentração média de nitrogênio amoniacal ruminal foi de 4,07 mg/dL e o valor mínimo observado de 0,55 mg/dL. Este valor médio observado está próximo à concentração mínima (5,0 mg/dL), descrita por Satter e Slyter (1974), para a produção máxima de proteína microbiana. Porém, em bovinos de corte alimentados com dietas de alto concentrado, esta concentração de nitrogênio amoniacal pode estar abaixo da mínima concentração necessária para otimizar o crescimento microbiano (Ludden e Cecava, 1995; Devant et al., 2000). As baixas concentrações de nitrogênio amoniacal observadas neste ensaio, provavelmente, estão relacionadas com a alta proporção de carboidratos prontamente fermentescíveis presente nas dietas. O acúmulo de nitrogênio amoniacal no rúmen apresenta relação inversa com o nível de amido na dieta. Acredita-se que o amido como fonte de energia para os microorganismos facilite a assimilação de amônia para seu crescimento (Annison, 1956).

O pico da concentração ocorreu às 2 h após a alimentação, com valor médio de 12,48 mg/dL, possivelmente observado neste momento, devido à solubilidade ruminal da uréia, utilizada como uma das fontes protéicas nas dietas (Santos, 2006). Picos de concentração de nitrogênio amoniacal aproximadamente 2 h após a refeição também foram relatados por Owens e Zinn (1988) e Porcionato et al. (2004).

Com relação às fontes energéticas, Passini et al. (2002) não observaram diferença para a concentração de nitrogênio amoniacal, quando compararam dietas à base de silagem de grão úmido de milho com silagem

de grão úmido de sorgo ou uma mistura de partes iguais das duas fontes energéticas.

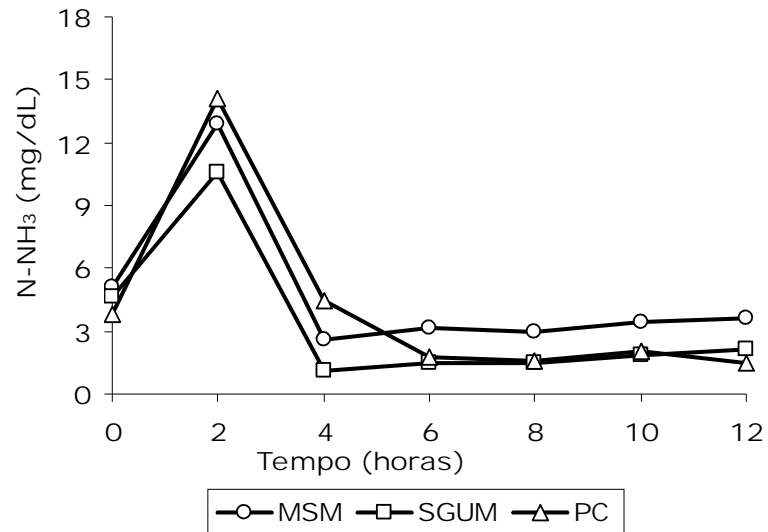


Figura 8 Valores da concentração ruminal de nitrogênio amoniacal (mg/dL) com a adição de fontes energéticas (MSM – milho seco moído, SGUM – silagem de grão úmido de milho e PC – polpa cítrica)

CONCLUSÕES

Os modificadores ruminais, monensina e preparado de anticorpos policlonais, não alteraram o consumo de matéria seca, as concentrações de ácidos graxos de cadeia curta totais, lactato total e nitrogênio amoniacal no conteúdo ruminal.

O PAP mostrou-se tão eficaz como a monensina em manter o pH ruminal de bovinos alimentados com dietas ricas em concentrados, no pico da fermentação, após a alimentação. Porém, não se mostrou eficaz em reduzir o tempo em que o pH ruminal permaneceu abaixo de 6,0, como a monensina. A utilização de polpa cítrica na dieta é capaz de manter o pH ruminal no pico da fermentação, após a alimentação. A adoção das duas estratégias, inclusão do aditivo e da polpa cítrica apresenta efeito aditivo. A monensina evita a queda do pH, com conseqüente mudança no perfil de fermentação (aumento da proporção molar de propionato em relação ao PAP), enquanto que o PAP evita a queda do pH sem melhorar o perfil de ácidos graxos de cadeia curta. Já a polpa cítrica mantém o pH ruminal, porém diminui a proporção molar de propionato.

Em relação às fontes energéticas, foi observada diminuição do pH com a utilização de milho seco moído e silagem de grão úmido de milho nos períodos de pico da fermentação. O pH na dieta à base de polpa cítrica se manteve estável ao longo de todo o dia.

A proporção molar de ácidos graxos de cadeia curta foi alterada com a utilização das diferentes fontes energéticas, com maior proporção molar de propionato nas dietas à base de grão seco de milho e grão úmido de milho quando comparada à dieta à base de polpa cítrica.

LITERATURA CITADA

- Annison, E.F. 1956. Nitrogen metabolism in the sheep. *Biochem. J.* 64:705-714.
- AOAC. 1990. Official methods of analyses. 15.ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington, V.A.
- Beede, D.K., G.T. Schelling, G.E. Mitchell, R.E. Tucker Jr., W.W. Gill, S.E. Koenig, e T.O Lindsey. 1986. Nitrogen utilization and digestibility by growing steers and goats of diets that contain monensin and low crude protein. *J. Anim. Sci.* 62:857-863.
- Ben-Ghedalia, D., E. Yosef, J. Miron, e Y. Est. 1989. The effects of starch- and pectin-rich diets on quantitative aspects of digestion in sheep. *Anim. Feed Sci. Tech.* 24:289-298.
- Bergen, W.G., e D.B. Bates. 1984. Ionophores: their effect on production efficiency and mode of action. *J. Anim. Sci.* 58:1465-1483.
- Berghman, L.R., e S.D. Waghele. 2004. Antibodies: an alternative for antibiotics? *J. Anim. Sci.* 82 (Supl. 1):82 (Res.).
- Blanch, M., S. Calsamiglia, N. DiLorenzo, e A. DiCostanzo. 2006. Effects of feeding a polyclonal antibody preparation against *Streptococcus bovis* on rumen fermentation of heifers switched from a high forage to a high concentrate diet. *J. Anim. Sci.* 84 (Supl. 1):128 (Res.).
- Bock, B.J., R.T. Brandt, D.L. Harmon, S.J. Anderson, J.K. Elliott, e T.B. Avery. 1991. Mixtures of wheat and high-moisture corn in finishing diets: feedlot performance and *in situ* rate of starch digestion in steers. *J. Anim. Sci.* 69:2703-2710.
- Campbell, C.G., E.C. Titgemeyer, R.C. Cochran, T.G. Nagaraja, e R.T. Brabdt, Jr. 1997. Free amino acid supplementation to steers: effects on ruminal fermentation and performance. *J. Anim. Sci.* 75:1167-1178.
- Cooper, R.J., C.T. Milton, T.J. Klpfenstein, T.L. Scott, C.B. Wilson, e R.A. Mass. 2002. Effect of corn processing on starch digestion and bacterial crude protein flow in finishing cattle. *J. Anim. Sci.* 80:797-804.

- Dahlen, C.R., A. DiConstanzo, B.M. Mitteness, P. Nash, J.E. Larson, N. DiLorenzo, e G.D. Marx. 2003. Influence of a polyclonal antibody preparation against rumen proteolytic bacteria on rumen fermentation and yield of milk and milk components. *J. Anim. Sci.* 81 (Supl.1):58 (Res.).
- Detmann, E., A.C. Queiroz, P.R. Cecon, S.C. Valadares Filho, L.S. Cabral, e R.P. Lana. 2003. Consumo de fibra em detergente neutro por bovinos em confinamento. *R. Bras. Zootec.* 32 (Supl.1):1763-1777.
- Devant, M., A. Ferret, J. Gasa, S. Calsamiglia, e R. Casals. 2000. Effects of protein concentration and degradability on performance, ruminal fermentation, and nitrogen metabolism in rapidly growing heifers fed high-concentrate diets from to 100 to 230 kg body weight. *J. Anim. Sci.* 78:1667-1676.
- DiLorenzo, N., F. Diez-Gonzalez, e A. DiCostanzo. 2006. Effects of feeding polyclonal antibody preparations on ruminal bacterial populations and ruminal pH of steers fed high-grain diets. *J. Anim. Sci.* 84:2178-2185.
- DiLorenzo, N., C.R. Dahlen, J.E. Larson, R.K. Gill, e A. DiCostanzo. 2007. Effects of feeding a polyclonal antibody preparation against selected rumen bacteria on rumen pH of lactating dairy cows. *J. Anim. Sci.* 85 (Supl.2):135 (Res.).
- Dinius, D.A., M.E. Simpson, e P.B. Marsh. 1976. Effect of monensin fed with forage on digestion and the ruminal ecosystem of steers. *J. Anim. Sci.* 42:229-234.
- Eifert, E.C., R.P. Lana, M.I. Leão, P.B. Arcuri, S.C. Valadares Filho, W.M. Leopoldino, J.S. Oliveira, e C.B. Sampaio. 2005. Efeito da combinação de óleo de soja e monensina na dieta sobre o consumo de matéria seca e a digestão em vacas lactantes. *R. Bras. Zootec.* 34:297-308.
- Erwin, E.S., G.J. Marco, e E.M. Emery. 1961. Volatile fatty acids analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. *J. Dairy Sci.* 44:1768-1771.
- EUROPA. 2003. Regulation (EC) N° 1831/2003. Disponível em:
http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/en/oj/2003/l_268/l_26820031018en00290043.pdf

Acesso em 05 fev. 2006.

- Foldager, J. 1977. Protein requirement and non protein nitrogen for high producing cow in early lactation. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Michigan State University, East Lasing, MI.
- Fox, D.G., C.J. Sniffen, J.D. O'Connor, J.B. Russell, e P.J. Van Soest. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. III. Cattle requirements and diets adequacy. *J. Anim. Sci.* 70:3578-3596.
- García, C.C.G., M.G.D. Mendoza, M.S González, P.M. Cobos, C.M.E. Ortega, e L.R. Ramirez. 2000. Effect of a yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) and monensin on ruminal fermentation and digestion in sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 83:165-170.
- Galyean, M.L., D.G. Wagner, e R.R. Johnson. 1976. Site and extent of starch digestion in steers fed processed corn rations. *J. Anim. Sci.* 43:1088-1094.
- Gill, H.S., Q. Shu, e A. Leng. 2000. Immunization with *Streptococcus bovis* protects against lactic acidosis in sheep. *Vaccine.* 18:2541-2558.
- Haïmoud, D.A., M. Vernay, C. Bayourthe, e R. Moncoulon. 1995. Avoparcin and monensin effects on the digestion of nutrients in dairy cows fed a mixed diet. *Can. J. Anim. Sci.* 75:379-385.
- Haïmoud, D.A., C. Bayourthe, R. Moncoulon, e M. Vernay. 1996. Avoparcin and monensin effects on digestive function in cows fed a high forage diet. *J. Sci. Food Agric.* 70:181-189.
- Hall, M.B. 2001. Recent advanced in non-NDF carbohydrates for the nutrition of lactating cows. In: Simpósio Internacional em Bovinos de Leite, Lavras, Brasil:139-148.
- Hale, W.H. 1973. Influence of processing on the utilization of grain (starch) by ruminants. *J. Anim. Sci.* 37:1075-1081.
- Hendrix, D.L. 1993. Rapid extraction and analyses of nonstructural carbohydrates in plant tissues. *Crop Sci.* 33:1306-1311.
- Henrique. W., J.A.B. Filho, P.R. Leme, D.P.D. Lanna, G.F. Alleoni, J.L.V.C. Filho, e A.A.M. Sampaio. 2007. Avaliação da silagem de grãos de milho

- úmido com diferentes volumosos para tourinhos em terminação. Desempenho e características de carcaça. R. Bras. Zootec. 36:183-190.
- Horton, G.M.J., K.A. Bassendowski, e E.H. Keeler, 1980. Digestion and metabolism in lambs and steers fed monensin with different levels of barley. J. Anim. Sci. 50:997-1008.
- Hungate, R.E. 1966. The rumen and its microbes. Academic Press Inc., New York, NY.
- Kulasek, G.A. 1972. A micromethod for determination of urea in plasma, whole blood cells using urease and phenol reagent. Pol. Arch. Weter. 15:801-810.
- Ladely, S.R., R.A. Stock, F.K. Goedecken, e R.P. Huffman. 1995. Effect of corn hybrid and grain processing method on rate of starch disappearance and performance of finishing cattle. J. Anim. Sci. 73:360-364.
- Lammers, B.P., D.R. Buckmaster, e A.J. Heinrichs. 1996. A simple method for the analysis of particle sizes of forage and total mixed rations. J. Dairy Sci. 79:922-928.
- Ludden, P.A., e M.J. Cecava. 1995. Supplemental protein sources for steers fed corn-based diets: I. Ruminal characteristics and intestinal amino acid flows. J. Anim. Sci. 73:1466-1475.
- Luz e Silva, S., P.R. Leme, S.M. Putrino, A.C. Valinote, J.C.M. Nogueira Filho, e D.P.D. Lanna. 2007. Milho grão seco ou úmido com sais de cálcio de ácidos graxos para novilhos Nelore em confinamento. R. Bras. Zootec. 36:1426-1434.
- Maruta, C.A., e E.L. Ortolani. 2002. Susceptibilidade de bovinos das raças Jersey e Gir à acidose láctica ruminal: I- variáveis ruminais e fecais. Ciênc. Rural. 32:55-59.
- Mendoza, G.D., R.A. Britton, e R.A. Stock. 1998. Ruminal fermentation and *in situ* starch digestion with high moisture corn, dry rolled grain sorghum or a mixture of these grains. Anim. Feed Sci. Tech. 74:329-335.

- Mendoza, G.D., R.A. Britton, e R.A. Stock. 1999. Effect of feeding mixtures of high moisture corn and dry-rolled grain sorghum on ruminal fermentation and starch digestion. *Small Rumin. Res.* 32:113-118.
- Millen, D.D., R.D.L. Pacheco, M.D.B. Arrigoni, M. Parrili, S.A. Matsuhara, e T.M. Mariani. 2007. Desempenho e incidência de paraqueratose ruminal em bovinos jovens confinados suplementados com monensina sódica ou anticorpos aviários. *Reun. Anu. Soc. Bras. Zootec.* 44, Anais...CD-ROM., Jaboticabal, Brasil.
- Miron, J., E. Yosef, e D. Ben-Ghedalia. 2001. Composition and *in vitro* digestibility of monosaccharide constituents of selected by product feed. *J. Agric. Food Chem.* 49:2322-2326.
- Muntifering, R.B., B. Theurer, R.S. Swingle, e W.H. Hale. 1980. Effect of monensin on nitrogen utilization and digestibility of concentrate diets by steers. *J. Anim. Sci.* 50:930-936.
- Nagaraja, T.G., T.B. Avey, e E.E. Bartley. 1982. Effect of lasalocid, monensin or thiopectin on lactic acidosis in cattle. *J. Anim. Sci.* 54:649-658.
- Nagaraja, T.G., e E.C. Titgemeyer. 2007. Ruminal acidosis in beef cattle: the current microbiological and nutritional outlook. *J. Dairy Sci.* 90 (Supl. E):E17-E38.
- Newbold, C.J. 2007. New products for rumen manipulation. *Br. J. Nutr.* 98:15-16.
- NRC. 1989. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 6 ed. National Academic Press, Washington, D.C.
- NRC. 1996. *Nutrient Requirements of Beef Cattle*. 7 ed. National Academic Press, Washington, D.C.
- Oliveira, M.V.M., R.P. Lana, G.N. Jham, J.C. Pereira, R.O. Pérez, e S.C. Valadares Filho. 2005a. Influência da monensina no consumo e na fermentação ruminal em bovinos recebendo dietas com teores baixo e alto de proteína. *R. Bras. Zootec.* 34:1763-1774.
- Oliveira, M.V.M., R.P. Lana, A.W.P. Freitas, E.C. Eifert, J.C. Pereira, S.C. Valadares Filho, e R.O. Pérez. 2005b. Parâmetros ruminal, sanguíneo, e

- urinário e digestibilidade de nutrientes em novilhas leiteiras recebendo diferentes níveis de monensina. R. Bras. Zootec. 34:2143-2154.
- Owens, F.N., e R. Zinn. 1988. P. 255-281 em *El ruminante: fisiología disgestiva e nutrición*. Zaragoza, Acribia.
- Passini, R., A.C. Silveira, E.A.L. Titto, P.H.M. Rodríguez, M.B. Arrigoni, C. Costa, e L.A. Loyola. 2002. Silagem de grãos úmidos de milho e de sorgo e níveis protéicos sobre desempenho e características da carcaça de novilhos superprecoces. *Acta Scient.* 24:1133-1140.
- Pereira, J.R.A., e P. Rossi JR. 1995. *Manual prático de avaliação nutricional de alimentos*. 1.ed. FEALQ., Piracicaba, SP.
- Poos, M.I., T.L. Hanson, e T.J. Klopfenstein. 1979. Monensin effects on diet digestibility, ruminal protein bypass and microbial protein synthesis. *J. Anim. Sci.* 48:1516-1524.
- Porcionato, M.A.F., T.T. Berchielli, G.L. Franco, P. Andrade, R.N. Silveira, e W.V.B. Soares. 2004. Digestibilidade, degradabilidade e concentração amoniacal no rúmen de bovinos alimentados com polpa cítrica peletizada normal ou queimada. R. Bras. Zootec. 33:258-266.
- Pryce, J.D. 1969. Modification of the Barker-Summerson method for the determination of lactic acid. *Analyst.* 94:1151-1152.
- Ramanzin, M., L. Bailoni, S. Schuiavon, e G. Bittante. 1997. Effect of monensin on milk production and efficiency of dairy cows fed two diets differing in forage to concentrate ratios. *J. Dairy Sci.* 80:1136-1142.
- Rocha Filho, R.R., P.F. Machado, R.D. D'Arce, e J.C. Francisco Jr. 1999. Polpa de citros e de milho e a produção de ácidos graxos de cadeia curta no rúmen. *Sci. Agric.* 56:471-477.
- Rogers, J.A., e C.L. Davis. 1982. Rumen volatile fatty acid production and nutrient utilization in steers fed a diet supplemented with sodium bicarbonate and monensin. *J. Dairy Sci.* 65:944-952.
- Ruiz, R., G.L. Albrecht, L.O. Tedeschi, G. Jarvis, J.B. Russell, e D.G. Fox. 2001. Effect of monensin on the performance and nitrogen utilization of lactating dairy cows consuming fresh forage. *J. Dairy Sci.* 84:1717-1727.

- Russell, J.B., e R.J. Wallace. 1997. The rumen microbial ecosystem. 2nd. ed. Blackie Academic & Professional, London, UK.
- SAS User's Guide. Statistics. Version 5 Edition. 1989. SAS Inst., Inc., Cary NC.
- Salles, M.S.V., e C.S. Lucci. 2000. Monensina para bezerros ruminantes em crescimento acelerado. 2. Digestibilidade e parâmetros ruminais. R. Bras. Zootec. 29:582-588.
- Santos, F.A.P., 2006. Metabolismo de proteínas. In: Berchielli, T.T.; Pires, A.V.; Oliveira, S.G. (Ed.) Nutrição de Ruminantes. 1. ed. Jaboticabal: Funep. p.151-179.
- Satter, L.D., e L.L. Slyter. 1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production *in vitro*. Br. J. Nutr. 32:199-208.
- Schaibly, G.E., e J.M. Wing. 1974. Effect of roughage concentrate ratio on digestibility and rumen fermentation of corn silage-citrus pulp rations. J. Anim. Sci. 38:697-701.
- Schelling, G.T. 1984. Monensin mode of action in the rumen. J. Anim. Sci. 58:1518-1527.
- Shell, L.A., W.H. Hale, B. Theurer, e R.S. Swingle. 1983. Effect of monensin on total volatile fatty acid production by steers fed a high grain diet. J. Anim. Sci. 57:178-185.
- Simas, J.M. 1997. Processamento de grãos para rações de vacas leiteiras. P. 23-34 em Simpósio sobre Produção Animal. Piracicaba, SP.
- Strobel, H.J., e J.B. Russell. 1986. Effect of pH and energy spilling on bacterial protein synthesis by carbohydrate-limited cultures of mixed rumen bacteria. J. Dairy Sci. 69:2941-2947.
- Valadares Filho, S.C., e Pina, D.S. 2006. Fermentação ruminal. In: Berchielli, T.T.; Pires, A.V.; Oliveira, S.G. (Ed.) Nutrição de Ruminantes. 1. ed. Jaboticabal: Funep. p.151-179.
- Van Soest, P.J., J.B. Robertson, e B.A. Lewis. 1991. Symposium: Carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and

- nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74:3583-3597.
- Van Soest, P.J. 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant. 2nd ed. Cornell Univ. Press, Ithaca, NY.
- Yang, C.J., e J.B. Russell. 1993. The effect of monensin supplementation on ruminal ammonia accumulation *in vivo* and the numbers of amino acid-fermenting bacteria. J. Anim. Sci. 71:3470-3476.
- Zinn, R.A., A. Plascencia, e R. Barajas. 1994. Interaction of forage level and monensin in diets for feedlot cattle on growth performance and digestive function. J. Anim. Sci. 72:2209-2215.

CAPÍTULO 4.
EFEITO DO PREPARADO DE ANTICORPOS
POLICLONAI S SOBRE A DIGESTIBILIDADE *IN VIVO* DE
BOVINOS SUPLEMENTADOS COM TRÊS FONTES
ENERGÉTICAS

Efeito do preparado de anticorpos policlonais sobre a digestibilidade *in vivo* de bovinos suplementados com três fontes energéticas

RESUMO - Nove fêmeas bovinas canuladas no rúmen foram utilizadas para avaliar um preparado de anticorpos policlonais (PAP) de origem aviária contra as bactérias ruminais *Streptococcus bovis*, *Fusobacterium necrophorum*, *Clostridium aminophilum*, *Peptostreptococcus anaerobius* e *Clostridium sticklandii*. O delineamento experimental foi o quadrado latino 3 X 3 replicado 3 vezes com arranjo fatorial de tratamentos 3 X 3 referente a 2 modificadores ruminais representados pela monensina (MON) e PAP mais o grupo controle (CON) e 3 fontes energéticas representadas pelo milho seco moído (MSM), silagem de milho grão úmido (SGUM) e polpa cítrica (PC). A digestibilidade *in vivo* da MS e suas frações foram estimadas por intermédio do indicador óxido crômico. Cada subperíodo experimental foi constituído de 21 dias, onde o ensaio de digestibilidade teve duas fases, compreendidas entre os dias 11 e 21, sendo uma fase de adaptação ao indicador e outra de coleta de fezes, com duração de cinco dias cada. Não houve interação entre modificador ruminal e fonte energética ($P > 0,05$) para nenhum dos coeficientes de digestibilidade estudados. No grupo PAP, a digestibilidade da FDN, FDA e o NDT foi menor ($P < 0,05$) em relação ao CON, sem diferença destes dois grupos para MON. A digestibilidade do ENN e amido foi menor ($P < 0,05$) no grupo PAP quando comparada aos grupos CON e MON, que por sua vez não diferiram entre si. Ambos modificadores ruminais, monensina e PAP, não alteraram os coeficientes de digestibilidade da MS, MO, PB, EE, EB e pectina, independentemente da fonte energética utilizada. Em relação às fontes energéticas, a digestibilidade da FDN, FDA e pectina foi mais elevada ($P < 0,05$) no grupo suplementado com PC. Para o ENN, a digestibilidade foi mais elevada ($P < 0,05$) no grupo SGUM e PC. A digestibilidade do amido foi semelhante ($P > 0,05$) no grupo MSM e SGUM.

Palavras-chaves: aditivo, digestão, monensina, PAP, ruminante

Effect of a polyclonal antibody preparation on *in vivo* digestibility in cattle supplemented with three energetic sources

ABSTRACT - Nine ruminally cannulated cows were used to test an avian-derived polyclonal antibody preparation (PAP) against the specific ruminal bacteria *Streptococcus bovis*, *Fusobacterium necrophorum*, *Clostridium aminophilum*, *Peptostreptococcus anaerobius* and *Clostridium sticklandii*. The experimental design was a 3 X 3 latin square replicated 3 times with a factorial arrangement of treatments 3 X 3 regarding 2 rumen modifiers (monensin (MON) and PAP) plus control group (CON) and 3 energetic sources. The energetic sources utilized were dry-grounded corn grain (CG), high moisture corn silage (HMCS) and citrus pulp (CiPu). Total dry matter apparent digestibility and its fractions were estimated by the external marker chromic oxide (Cr_2O_3). Each experimental trial had 21 days, where the digestibility essay was divided in two phases with 5 days each, between day 11 and day 21. One phase was designed for marker adaptation and the other for feces collection. There was no interaction between ruminal modifier and energetic source ($P>0.05$) for any of the digestibility coefficients analyzed. In relation to PAP, NDF and ADF digestibility and TDN was lower ($P<0.05$) in this group compared to CON, without difference of these two groups to MON. Starch and NFE digestibility was lower ($P<0.05$) for PAP when compared to CON and MON. Both modifiers, monensin and PAP, did not alter digestibility coefficients of DM, OM, CP, EE, GE and pectin, independently from energetic source in diet. In relation to energetic sources, NDF, ADF and pectin digestibility was higher ($P<0.05$) at CiPu group. For NFE, its digestibility was higher ($P<0.05$) at HMCG and CiPu group. Starch digestibility was similar ($P>0.05$) at CG and HMCG group.

Key words: additive, digestion, monensin, PAP, ruminant

INTRODUÇÃO

Desde o final do século XVIII, estudos relatavam que os microorganismos presentes no rúmen fermentavam celulose e obtinham como produtos ácidos graxos de cadeia curta, metano e dióxido de carbono (Bergman, 1990). Desde então, a comunidade científica busca entender os processos metabólicos que ocorrem no ambiente ruminal, além de procurar estratégias para a manipulação da fermentação ruminal com intuito de melhorar a eficiência de utilização das dietas empregadas.

Neste contexto, a descoberta de que o ionóforo monesina, primeiramente utilizado como coccidiostático para aves (Russell e Strobel, 1989), possuía características vantajosas na manipulação da fermentação ruminal, como melhora na eficiência do metabolismo energético e diminuição de distúrbios digestivos (Bergen e Bates, 1984), representou um grande avanço na nutrição de ruminantes.

Porém, há questões sanitárias e de segurança alimentar relacionadas ao seu uso que vem sendo discutidas mundialmente há alguns anos. A Comunidade Européia, através do Regulamento (EC) N° 1831/2003 (EUROPA, 2003), determinou a proibição da utilização de antibióticos e coccidiostáticos como aditivos alimentares para bovinos. Esta medida foi adotada como prevenção a possível relação entre o aumento da incidência de microorganismos resistentes aos antibióticos, observado na medicina humana, e o uso destas substâncias nas rações animais. Desta forma, surge a oportunidade de pesquisa e desenvolvimento de novos aditivos que desempenhem funções semelhantes aos antibióticos e ionóforos e que sejam seguros à saúde humana (Newbold, 2007).

Alguns autores (Hardy, 2002; Berghman e Waghela, 2004) tem citado a utilização do conceito de imunidade como potencial ferramenta na manipulação da fermentação ruminal. Anticorpos de origem aviária contra bactérias específicas seriam adicionados à alimentação animal, aumentando a eficiência produtiva através da imunidade passiva. No caso dos bovinos, os

anticorpos seriam contra os microorganismos *Streptococcus bovis* e *Fusobacterium necrophorum*, relacionados com a ocorrência de acidose e abscessos hepáticos, respectivamente.

Quando vacas leiteiras em dois estádios de lactação foram alimentadas com PAP contra as bactérias proteolíticas ruminais *Clostridium stricklandi*, *Clostridium aminophilum* e *Peptostreptococcus anaerobius*, a produção leiteira, a concentração de gordura e proteína no leite, a contagem de células somáticas e a quantidade de uréia no leite não foram alteradas pela utilização deste aditivo. Já a concentração de sólidos no leite foi reduzida. Quanto aos parâmetros ruminais, não houve interferência no pH, concentração de nitrogênio amoniacal ou ácidos graxos de cadeia curta (Dahlen et al., 2003).

Di Lorenzo et al. (2006) observaram que a utilização do preparado de anticorpos policlonais contra *S. bovis* e *F. necrophorum* foi eficaz em reduzir a população destas bactérias ruminais específicas, em dietas de alto grão.

Recentemente, Millen et al. (2007) observaram que bovinos jovens em confinamento, alimentados com dieta de alto concentrado e um PAP contra *S. bovis*, *F. necrophorum* e várias cepas de bactérias proteolíticas, tiveram ganho de peso médio diário, consumo de matéria seca e conversão alimentar similares aos animais suplementados com monensina. Em porcentagem do peso vivo, a ingestão de matéria seca foi superior nos animais do grupo PAP.

Os ensaios de digestibilidade são uma importante ferramenta de avaliação do aproveitamento de dietas pelo animal. Com relação ao preparado de anticorpos policlonais, não há dados na literatura a respeito de seu efeito na digestibilidade *in vivo*.

Com o intuito de aprofundar os conhecimentos acerca de um potencial aditivo alimentar, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da adição do preparado de anticorpos policlonais na digestibilidade *in vivo* de fêmeas bovinas alimentadas com diferentes fontes energéticas.

MATERIAL E MÉTODOS

O protocolo de pesquisa descrito a seguir (nº 14/2006-CEEA) foi aprovado pela Câmara de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia FMVZ-UNESP, Campus de Botucatu. Este estudo foi conduzido na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (USP), Campus de Pirassununga – São Paulo. Foram utilizadas 9 fêmeas bovinas mestiças holandês X zebu, não gestantes e não lactantes, com peso vivo médio de 690 ± 44 kg e portadoras de cânula ruminal com 10 cm de diâmetro e 7,5 cm de espessura. Os animais foram mantidos em galpão coberto, em baias individuais com cochos de cimento e bebedouros automáticos comuns a cada dois animais. O estábulo possuía ventiladores suspensos no teto que eram ligados nas horas mais quentes do dia, para amenizar os efeitos da temperatura ambiente.

Os alimentos foram oferecidos duas vezes ao dia, às 8 e 16 h, na forma de ração completa *ad libitum*. As dietas possuíam relação volumoso:concentrado de 30:70, nas quais a fonte de volumoso empregada foi a cana-de-açúcar fresca e picada com tamanho teórico médio de partícula de 1,8 cm, sendo este determinado pela Penn State Particle Size Separator, conforme metodologia proposta por Lammers et al. (1996).

O delineamento experimental foi o quadrado latino 3 X 3 replicado 3 vezes com um arranjo fatorial de tratamentos 3 X 3 referente a 2 modificadores ruminais representados pela monensina sódica (MON) ou preparado de anticorpos policlonais (PAP) e o grupo controle (CON) e 3 fontes energéticas suplementadas na dieta, representadas pelo milho seco moído (MSM), silagem de grão úmido de milho (SGUM) e polpa cítrica (PC), conforme Figura 1.

Figura 1 Esquema do delineamento experimental em quadrado latino 3 X 3 triplicado, com arranjo fatorial de tratamentos 3 X 3

<i>FONTES DE ENERGIA</i>										
	ANIMAL	<i>MILHO SECO</i>			<i>MILHO ÚMIDO</i>			<i>POLPA CÍTRICA</i>		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
PERÍODO I		C	M	P	C	M	P	C	M	P
PERÍODO II		M	P	C	M	P	C	M	P	C
PERÍODO III		P	C	M	P	C	M	P	C	M

Modificadores: C: controle, M: monensina, P: PAP.

As proporções dos diversos ingredientes nas dietas e a composição bromatológica das mesmas estão descritas na Tabela 1. O teor de carboidratos não-fibrosos foi estimado pela fórmula $CNF\% = 100\% - (PB\% + FDN\% + EE\% + cinzas\%)$, segundo Hall (2001). O teor de proteína degradável e não-degradável no rúmen (% PB), fibra em detergente neutro efetiva (% FDN), nutrientes digestíveis totais (NDT), energia metabolizável, energia líquida de manutenção e lactação (Mcal/Kg MS) foram estimados pelo programa Cornell Net Carbohydrate and Protein System CNCPS versão 5.0.40 (Fox et al., 1992). As dietas foram formuladas para serem isonitrogenadas, segundo o NRC (1996), e avaliadas no programa CNCPS versão 5.0.40 (Fox et al., 1992).

As análises bromatológicas de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), energia bruta (EB), cálcio e fósforo foram realizadas segundo AOAC (1990) e as de fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e pectina (PEC), conforme Van Soest et al. (1991). Para a análise de FDN foi omitido o sulfito de sódio, mas adicionada a α -amilase e uréia. A concentração de amido (AMI) foi avaliada segundo Pereira e Rossi Jr. (1995), fazendo prévia extração dos carboidratos segundo Hendrix (1993).

Tabela 1 Composição bromatológica dos ingredientes das dietas experimentais, com base na matéria seca

Ingredientes	MS	MM	PB	FDN	FDA	EE	AMI	PEC	Ca	P
Cana-de-açúcar fresca picada	95,7	1,58	2,3	51,9	33,4	0,81	4,04	0,32	0,18	0,03
Milho seco e moído	93,9	0,97	9,0	12,8	5,85	3,86	72,0	0,41	0,06	0,27
Silagem de grão úmido de milho	95,3	1,01	8,9	10,4	4,37	4,38	65,5	0,32	0,02	0,27
Polpa cítrica	96,0	6,87	6,0	27,6	18,8	2,53	4,60	21,0	2,20	0,09
Farelo de soja	96,1	6,26	46,6	15,1	22,1	0,79	2,46	1,32	0,35	0,61
Concentrado 1 (Dieta MSM)	88,9	3,23	15,7	13,3	8,98	3,72	69,1	0,33	0,56	0,36
Concentrado 2 (Dieta SGUM)	89,3	8,54	26,3	10,6	8,35	3,18	57,6	0,41	2,30	0,55
Concentrado 3 (Dieta PC)	89,0	6,93	36,6	11,0	9,32	2,86	45,5	0,70	1,16	1,03

Dietas: MSM: milho seco, SGUM: milho úmido, PC: polpa cítrica.

Tabela 2 Proporções de ingredientes e composição bromatológica das dietas experimentais, com base na matéria seca

Ingredientes (%)	Dietas experimentais		
	Milho seco (MSM)	Milho úmido (SGUM)	Polpa cítrica (PC)
Cana-de-açúcar fresca picada	30,4	30,2	30,4
Milho seco e moído	64,2	15,7	11,2
Silagem de grão úmido de milho	-	48,1	-
Polpa cítrica	-	-	50,0
Farelo de soja	3,10	3,73	6,73
Uréia	0,74	0,65	0,65
Suplemento mineral e vitamínico ¹	0,74	0,75	0,56
Calcário calcítico	0,83	0,84	-
Fosfato bicálcico	-	-	0,47
Composição química			
Matéria seca (%)	59,0	53,5	61,1
Matéria mineral (% MS)	2,77	2,91	5,39
Proteína bruta (% MS)	11,7	10,8	10,8
Proteína degradável no rúmen (% PB) ²	73,0	73,0	71,0
Proteína não-degradável no rúmen (% PB) ²	27,0	27,0	29,0
Extrato etéreo (% MS)	2,84	3,00	2,09
Fibra em detergente neutro (% MS)	24,9	23,2	31,4
Fibra em detergente neutro efetiva (% FDN) ²	12,0	13,0	14,0
Fibra em detergente ácido (% MS)	16,3	14,3	21,3
Carboidratos não fibrosos (% MS)	57,6	60,1	50,3
Amido (% MS)	49,8	46,7	12,2
Pectina (% MS)	0,33	0,34	11,2
NDT (% MS) ²	78,0	79,0	73,0
Energia bruta (Mcal/kg MS)	4,30	4,23	4,03
Energia metabolizável (Mcal/kg MS) ²	2,84	2,85	2,64
E _{liq} manutenção (Mcal/kg MS) ²	1,90	1,91	1,72
E _{liq} lactação (Mcal/kg MS) ²	1,83	1,84	1,70
Cálcio (% MS)	0,49	0,57	1,41
Fósforo (% MS)	0,30	0,26	0,25

¹ Mistura mineral e vitamínica em cada Kg: 230 g de cálcio, 90 g de fósforo, 15 g de enxofre, 20 g de magnésio, 48 g de sódio, 100 mg de cobalto, 700 mg de cobre, 2.000 mg de ferro, 80 mg de iodo, 1.250 mg de manganês, 20 mg de selênio, 2.700 mg de zinco e 900 mg de flúor (máximo), 200.000 UI de vitamina A, 60.000 UI de vitamina D3, 60 UI de vitamina E.

² Valores estimados pelo programa CNCPS versão 5.0.40 nível 2.

A silagem de grão úmido de milho foi confeccionada no Setor de Bovinos Superprecoces da FMVZ-UNESP (Campus Lageado). O milho foi

colhido na fase de maturação fisiológica, caracterizada pela ocorrência da camada preta na base do grão, com teor de umidade médio de 30%. Os grãos foram triturados e armazenados em silos do tipo trincheira por 90 dias. Após abertura dos silos, a silagem foi novamente ensilada em tambores plásticos de 200 L e transportada até a FMVZ-USP (Campus de Pirassununga). A polpa cítrica utilizada possuía pellets de 1,5 cm de comprimento em média e 1 cm de diâmetro. O tamanho de partícula médio dos alimentos utilizados no experimento foi 0,70 mm para o milho grão seco e moído, 2,26 mm para a silagem de milho grão úmido, 0,74 mm para ração concentrada da dieta milho seco, 0,72 mm para ração concentrada da dieta milho úmido e 0,83 mm para dieta polpa cítrica. O tamanho de partícula médio foi determinado por granulometria de vibração (Marconi[®]), com peneiras de diâmetro de furo variando de 0,25 a 2,36 mm (Bertel[®]). Após a vibração das amostras por 15 min, as peneiras foram pesadas e o tamanho de partícula médio determinado.

A adição dos modificadores foi realizada duas vezes ao dia através da fístula ruminal, antes de cada refeição. A monensina foi administrada na dose 300 mg/animal/dia, o que corresponde a 3,0 g/animal/dia do produto comercial Rumensin - Elanco[®]. Já o preparado de anticorpos policlonais (CAMAS Inc[®]) foi administrado na dose de 10 mL/animal/dia.

O PAP de origem aviária utilizado foi preparado para agir contra as bactérias ruminais específicas *S. bovis*, *F. necrophorum* e cepas de bactérias proteolíticas *Clostridium aminophilum*, *Peptostreptococcus anacrobis* e *Clostridium sticklandii*.

Como o preparado de anticorpos policlonais é fabricado sob patente e possui direitos particulares de produção, apenas alguns passos deste processo foram descritos a seguir. Imunógenos foram extraídos de culturas bacterianas modelo cultivadas sob condições especiais para expressar os antígenos de superfície que o organismo utiliza para se aderir às células. Além dos organismos modelos, foram utilizadas bactérias específicas coletadas diretamente do rúmen de animais saudáveis. Os antígenos foram então

purificados da cultura e imunógenos isolados foram produzidos para administração em galinhas poedeiras sem adjuvante. Mais de 600 galinhas foram imunizadas para cada imunógeno. Seus ovos foram analisados semanalmente por teste de ELISA específico para monitorar a ligação dos anticorpos. Aproximadamente 200 galinhas imunizadas foram selecionadas aleatoriamente para a coleta de ovos. Os ovos foram coletados por três dias e o PAP produzido a partir da mistura destas coletas. No produto, aproximadamente 26% dos anticorpos agiam contra *S. bovis*, 12% contra *F. necrophorum* e 48% contra as bactérias proteolíticas *Clostridium aminophilum*, *Peptostreptococcus anaerobius* e *Clostridium sticklandii*. O restante dos anticorpos (14%) agiam contra *E.coli* O157:H7, Eimeria e *Salmonella*. Os preparados continham imunoglobulina Y, imunoglobulina M e imunoglobulina A.

O PAP contava ainda, em sua composição, uma mistura de proteína de ovo pasteurizada, melão, óleo de soja e solução tampão salina fosfato (PBS) com pH 7,4. Devido ao fato de que os ovos normalmente consumidos possuem anticorpos contra diversas bactérias, ovos comercialmente a venda foram testados para anticorpos contra os microorganismos específicos utilizando os mesmos protocolos para avaliação dos PAPs. Embora houvesse pequenas quantidades de anticorpos nestes ovos contra bactérias específicas, como *Streptococcus* spp. ou *Escherichia coli*, eles não se ligaram aos microorganismos específicos. Ainda, os títulos por ELISA não indicaram ligação aos fatores de adesão específicos, ou seja, falta de atividade dos anticorpos presentes nos ovos destinados ao consumo. O produto era apresentado na forma líquida, sendo mantido durante todo seu período de utilização sob refrigeração (4,4 - 10 °C).

A digestibilidade *in vivo* da MS e suas frações foram estimadas por intermédio do indicador óxido crômico - Cr₂O₃ (Vetec[®]) (Bateman, 1970). Os animais receberam o óxido crômico, via cânula ruminal, na dosagem de 15,0 g por animal e por dia, sendo as administrações realizadas duas vezes ao dia

(7,5 g de indicador/dose), no momento das refeições, e através de envelopes confeccionados em papel absorvente.

Cada subperíodo experimental foi constituído de 21 dias, onde o ensaio de digestibilidade teve duas fases. Uma fase de adaptador ao indicador, compreendida entre os dias 11 e 21, para assegurar a excreção homogênea do óxido crômico. E outra fase de coleta de fezes, compreendida entre os dias 17 e 21.

Para a composição das amostras de fezes, foram coletadas aproximadamente 200 g por animal, duas vezes ao dia, próximo às refeições. As amostras foram coletadas diretamente do reto, armazenadas em sacos plásticos, identificados para cada animal e mantidas em congelador (-20 °C) até o momento do processamento e análise. Para isso, as amostras foram colocadas em bandejas de alumínio e secas em estufa à 55 °C, por aproximadamente 72 horas. Após a secagem, foram moídas em moinho equipado com peneira de furo de 1mm e homogeneizadas.

Para a composição das amostras dos alimentos, foram coletadas aproximadamente 200 g de cada ingrediente da dieta, duas vezes ao dia, armazenadas em sacos plásticos identificados para cada período e mantidas em congelador (-20 °C) até o momento do processamento e análise. As amostras de polpa cítrica foram processadas no moedor macro em peneira com furo de 2 mm e os demais alimentos no micromoedor em peneira com furo de 1 mm.

A concentração do óxido crômico foi determinada por colorimetria através de sua reação com s-difenilcarbazida, segundo Graner (1972). As análises bromatológicas dos alimentos e fezes foram realizadas conforme metodologia descrita previamente nesta seção. O extrativo não-nitrogenado (ENN) dos alimentos e dietas foi calculados pela fórmula $\%ENN = 100 - (\%PB + \%EE + \%FDN + \%MM)$ e o teor de nutrientes digestíveis totais pela fórmula $NDT = PBD + FDND + ENND + (2,25 \times EED)$, adaptado de Sniffen et al. (1992), em que, PBD = proteína bruta digestível, FDND = fibra em

detergente neutro digestível, ENND = extrato não-nitrogenado digestível e EED = extrato etéreo digestível.

Os dados foram analisados pelo programa Statistical Analysis System (SAS Institute Inc., 1989). Estes foram submetidos à análise de variância que separou como causas de variação efeito de modificador, efeito de fonte energética e efeito de interação entre modificador e fonte energética, bem como efeito de período, efeito de animal dentro de quadrado e efeito de quadrado (Tabela 2). Os efeitos dos fatores principais (efeito de modificador e efeito de fonte) foram separados através do teste de Duncan. Adotou-se o nível de significância de 5%.

Tabela 3 Esquema da análise de variância para delineamento em quadrado latino triplicado, com arranjo fatorial de tratamentos

Causas de variação	Graus de Liberdade
Tratamentos	8
Modificador (M)	[2]
Fonte de energia (E)	[2]
Interação M X E	[4]
Período	2
Animal dentro de quadrado	6
Quadrado	2
Resíduo	8
Total	26

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 3 visualizam-se os coeficientes de digestibilidade da matéria seca e suas frações, bem como os nutrientes digestíveis totais, para os efeitos principais de modificador ruminal e fonte energética, já que não foram observadas interações entre modificador ruminal e fonte energética para nenhuma das variáveis estudadas.

Foi observado efeito de modificador ruminal para os coeficientes de digestibilidade da FDN, FDA, ENN e amido (AMI), assim como para o NDT. No grupo PAP, as digestibilidades da FDN e FDA, bem como o NDT foram

menores em relação ao CON, sem diferença destes dois grupos para MON. As digestibilidades do ENN e AMI foram menores no grupo PAP, quando comparada aos grupos CON e MON, que por sua vez, não diferiram entre si.

Tabela 4 Valores dos coeficientes de digestibilidade da matéria seca e suas frações e valores médios de nutrientes digestíveis totais (NDT) obtidos com os tratamentos compostos por diferentes modificadores ruminais e fontes energéticas

Nutrientes ¹	Modificador ²				Fonte ³				Probabilidades ⁵			
	CON	MON	PAP	MSM	SGUM	PC	Média	EPM ⁴	M	F	M*F	
MS	76,5	75,2	71,8	75,2	74,0	74,6	74,6	0,84	0,1506	0,6406	0,1978	
MO	78,6	77,3	74,0	77,0	75,6	77,5	76,7	0,79	0,0945	0,4332	0,1515	
PB	70,6	70,2	65,4	70,5	69,6	66,7	68,8	1,20	0,3007	0,2877	0,3457	
EE	83,4	82,1	82,2	82,2	85,5	80,1	82,6	0,96	0,9320	0,1157	0,6749	
FDN	52,1 ^a	47,4 ^{ab}	42,5 ^b	51,2 ^A	34,0 ^B	58,1 ^A	47,5	2,84	0,0708	0,0005	0,1042	
FDA	57,2 ^a	53,6 ^{ab}	48,3 ^b	55,7 ^B	37,7 ^C	66,8 ^A	53,2	2,97	0,0883	0,0001	0,2004	
ENN	91,7 ^a	92,5 ^a	89,5 ^b	89,2 ^B	92,3 ^A	91,8 ^A	91,3	0,62	0,0833	0,0794	0,1286	
AMI	96,8 ^a	97,6 ^a	95,1 ^b	96,6 ^{AB}	97,3 ^A	95,7 ^B	96,5	0,36	0,0324	0,0752	0,9426	
PEC	62,1	66,8	53,3	36,8 ^B	43,2 ^B	96,9 ^A	60,8	6,24	0,4266	0,0001	0,8069	
EB	75,9	74,7	71,1	74,7	72,9	74,4	74,0	0,87	0,1412	0,4943	0,1769	
NDT	78,4 ^a	77,1 ^{ab}	71,4 ^b	74,6	76,6	75,4	75,6	1,19	0,0699	0,9165	0,4597	

^{abc} Letras minúsculas dentro de modificadores ruminais diferem estatisticamente pelo teste de Duncan (P<0,05).

^{ABC} Letras maiúsculas dentro de fontes energéticas diferem estatisticamente pelo teste de Duncan (P<0,05).

¹ Nutrientes: MS: matéria seca, MO: matéria orgânica, PB: proteína bruta, EE: extrato etéreo, FDN: fibra em detergente neutro, FDA: fibra em detergente ácido, ENN: extrato não-nitrogenado, AMI: amido, PEC: pectina, EB: energia bruta, NDT: nutrientes digestíveis totais.

² Modificador: CON: controle, MON: monensina, PAP: preparado de anticorpos policlonais.

³ Fonte: MSM: milho seco moído, SGUM: silagem milho grão úmido, PC: polpa cítrica.

⁴ EPM: erro padrão da média.

⁵ Probabilidade para o feito de modificador (M), de fonte energética (F) e interação entre modificador e fonte energética (M*F).

No presente estudo, não foi observada melhora na digestibilidade da MS ou qualquer de suas frações com a utilização de monensina, em relação ao grupo controle. Dados semelhantes foram observados por Zinn e Borques (1993) e Zinn et al. (1994). Todos estes ensaios trabalharam com novilhos que recebiam dietas de alto concentrado.

Foi observada diminuição da digestibilidade da FDN, FDA, ENN, AMI e NDT com a utilização do PAP, em relação ao controle. Destes resultados, foi observado apenas diminuição da digestibilidade do ENN e AMI com a utilização do PAP em relação à monensina. Não foram encontrados dados na literatura à respeito dos efeitos da administração de anticorpos policlonais sobre a digestibilidade *in vivo*.

Uma hipótese para a diminuição na digestibilidade das frações fibrosas da dieta com a utilização do preparado de anticorpos policlonais seria sua atuação contra as bactérias proteolíticas. Sabe-se que as bactérias celulolíticas necessitam de amônia para degradar a fibra e uma interferência na disponibilidade de amônia poderia estar relacionada com a diminuição da digestibilidade destas frações. Como o PAP possui anticorpos contra cepas de bactérias proteolíticas, a retirada destes microorganismos do ambiente ruminal poderia interferir na disponibilidade de amônia e conseqüentemente na digestibilidade da FDN. Di Lorenzo et al. (2006) observaram diminuição na contagem de *S. bovis* e *F. necrophorum* com a utilização do PAP específico para estas bactérias. No presente estudo, porém, não foram realizados ensaios para a contagem dos microorganismos específicos, aos quais este produto é direcionado. Ainda, a falta de efeito de modificador ruminal sobre a concentração de nitrogênio amoniacal, observada no estudo anterior (Marino, 2008), não sustenta a hipótese acima citada.

Não foi observado efeito de fonte energética sobre a digestibilidade da MS, matéria orgânica (MO), PB, EE, EB. Resultados semelhantes foram observados por Wing (1982), onde a inclusão de polpa cítrica (0, 10, 20, 30 ou 40% na MS), em substituição ao milho grão moído, não afetou a

digestibilidade da MS. Porém, foi observado efeito de fonte energética para a digestibilidade da FDN, FDA, ENN, AMI e pectina (PECT).

A digestibilidade da FDN foi mais elevada no grupo suplementado com milho seco moído (MSM) e polpa cítrica (PC), quando comparado à silagem de grão úmido de milho (SGUM). A menor digestibilidade da FDN observada no grupo SGUM, em relação às outras duas fontes, poderia estar relacionada com diferenças de pH ruminal entre as diferentes dietas utilizadas. As variações na digestão da fibra têm sido atribuídas a quedas no pH ruminal, em função do acúmulo de ácidos graxos de cadeia curta oriundos da fermentação de fontes rapidamente degradáveis (Russell e Wilson, 1996). No estudo anterior, os valores de pH observados no grupo suplementado com silagem de grão úmido de milho foram menores que os observados no grupo polpa cítrica, porém não o foram quando comparados ao grupo que recebia milho seco moído (Marino, 2008). Desta forma, é pouco provável que o pH ruminal explique a menor digestibilidade da FDN observada na dieta à base de silagem de grão úmido de milho.

Uma outra hipótese possível seria o efeito inibitório que os carboidratos prontamente fermentescíveis possam causar nas bactérias ruminais celulóticas e conseqüentemente, na digestão da fibra. Este efeito é provavelmente relacionado com uma preferência de espécies bacterianas como a *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Fibrobacter succinogenes* e *Prevotella ruminicola* pela utilização dos carboidratos disponíveis, ao invés de investir energia para produção de fatores de adesão e celulasas para a digestão da fibra (Miron et al. 1996). Além disso, uma possível taxa de passagem mais rápida pelo retículo-rúmen no grupo suplementado com silagem de grão úmido de milho pode ter contribuído para a diminuição da digestibilidade da fibra, já que o consumo de matéria seca mais elevado foi observado neste grupo (Marino, 2008).

A digestibilidade da FDA foi maior no grupo PC, seguido do MSM e SGUM. Porcionato et al. (2004) observaram que a inclusão de polpa cítrica na dieta de bovinos fistulados no rúmen aumentou a digestibilidade da FDN e

FDA, quando comparada com a dieta controle, que continha 92% de silagem de milho. Bhattacharya e Harb (1973) também observaram aumento na digestibilidade da fibra com a substituição de 40% do milho grão por polpa cítrica. No presente estudo, a melhora na digestibilidade da FDN e FDA na dieta composta por polpa cítrica pode estar relacionada à manutenção do pH em valores próximos a 6,0 ao longo do dia (Marino, 2008), o que favorece a atuação das bactérias celulolíticas responsáveis pela degradação das frações fibrosas dos alimentos (Russell e Wilson, 1996). Ainda, esta observação pode estar relacionada com a composição da fração fibrosa da polpa cítrica, pois apesar do teor de FDA ser por volta de 23,0% neste subproduto, tem baixo teor de lignina (1%), facilitando a digestão (Orskov, 1987).

Para o ENN, a digestibilidade foi mais elevada no grupo SGUM e PC que MSM. A digestibilidade do amido foi mais elevada no grupo SGUM, quando comparado a PC, sem diferença entre estes dois grupos para MSM.

Um dos fatores que contribui para esta melhora na digestibilidade do amido é o processamento do grão. No caso do grão úmido de milho, o teor de umidade, aliado à moagem do grão antes da ensilagem, facilita sua fermentação dentro do silo e o rompimento da matriz protéica, disponibilizando maiores proporções de amido que será aproveitado pelos microorganismos ruminais e o animal (Simas, 1997). Esperava-se que a digestibilidade total do amido da silagem de grão úmido de milho fosse superior a do milho seco e moído, o que não foi observado no presente estudo.

A digestibilidade da pectina foi mais elevada no grupo PC, quando comparado à MSM e SGUM. Esta observação faz sentido pela composição bromatológica do ingrediente polpa cítrica, onde a fração de carboidratos deste alimento é composta em grande parte por pectina. A polpa cítrica utilizada neste experimento possuía 21,04% de pectina na matéria seca, enquanto que, o grão de milho seco moído e o grão úmido de milho possuíam proporções insignificantes deste componente.

CONCLUSÕES

Nas condições experimentais do presente estudo, foi observada diminuição da digestibilidade da fibra em detergente neutro e ácido, em comparação ao grupo controle, e diminuição da digestibilidade do extrativo não-nitrogenado e amido, em comparação ao controle e monensina, com a utilização do preparado de anticorpos policlonais, independentemente da fonte energética utilizada.

Ambos modificadores ruminais, monensina e preparado de anticorpos policlonais, não alteraram os coeficientes de digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, extrato etéreo, pectina e energia bruta, independentemente da fonte energética utilizada.

Em relação às fontes energéticas, a digestibilidade do amido foi semelhante nas dietas à base de milho seco moído e silagem de grão úmido de milho, independentemente do modificador ruminal. Enquanto que a dieta à base de polpa cítrica resultou em melhora na digestibilidade da fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido e extrativo não-nitrogenado, quando comparada às dietas à base de milho seco moído e silagem de grão úmido de milho, independentemente do modificador ruminal.

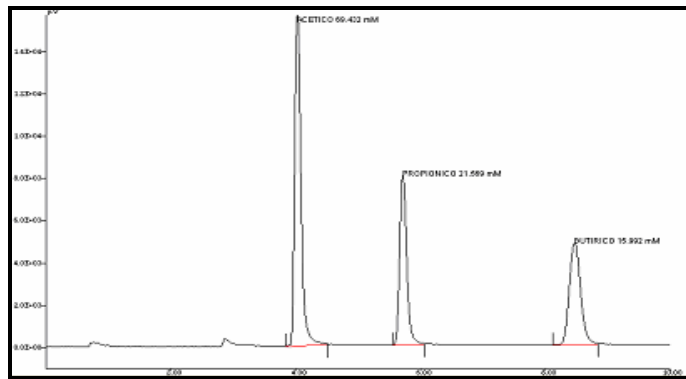
LITERATURA CITADA

- AOAC. 1990. Official methods of analyses. 15.ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington, V.A.
- Bateman, J. 1970. Nutricion Animal – Manual de Métodos Analíticos. Herrero Hermanos., México.
- Bhattacharya, A.N., e M. Harb. 1973. Dried citrus pulp as a grain replacement for awasi lambs. J. Anim. Sci. 36:1175-1180.
- Bergen, W.G., e D.B. Bates. 1984. Ionophores: their effect on production efficiency and mode of action. J. Anim. Sci. 58:1465-1483.
- Berghman, L.R., e S.D. Waghela. 2004. Antibodies: an alternative for antibiotics? J. Anim. Sci. 82 (Supl. 1):82 (Res.).
- Bergman, E.N. 1990. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. Physiol. Rev. 70:567-590.
- Dahlen, C.R., A. DiConstanzo, B.M. Mitteness, P. Nash, J.E. Larson, N. DiLorenzo, e G.D. Marx. 2003. Influence of a polyclonal antibody preparation against rumen proteolytic bacteria on rumen fermentation and yield of milk and milk components. J. Anim. Sci. 81 (Supl.1):58 (Res.).
- DiLorenzo, N., F. Diez-Gonzalez, e A. DiCostanzo. 2006. Effects of feeding polyclonal antibody preparations on ruminal bacterial populations and ruminal pH of steers fed high-grain diets. J. Anim. Sci. 84:2178-2185.
- EUROPA. 2003. Regulation (EC) N° 1831/2003. Disponível em:
http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/en/oj/2003/l_268/l_26820031018en00290043.pdf
Acesso em 05 fev. 2006.
- Fox, D.G., C.J. Sniffen, J.D. O'Connor, J.B. Russell, e P.J. Van Soest. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. III. Cattle requirements and diets adequacy. J. Anim. Sci. 70:3578-3596.
- Graner, C.A.F. 1972. Determinação do crômio pelo método colorimétrico da s-difenil-carbazida. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade Estadual Paulista., Botucatu, SP.

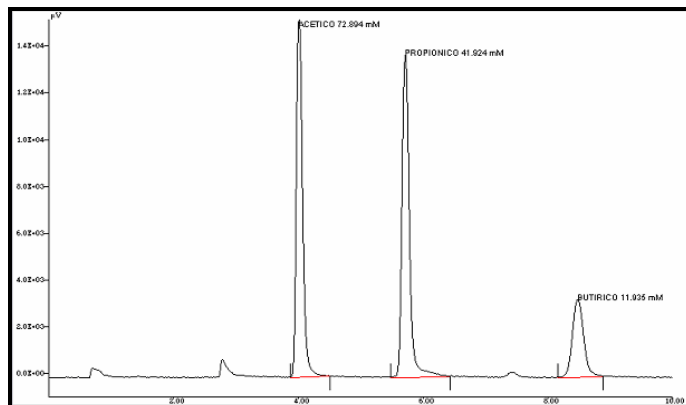
- Hall, M.B. 2001. Recent advanced in non-NDF carbohydrates for the nutrition of lactating cows. In: Simpósio Internacional em Bovinos de Leite, Lavras, Brasil: 139-148.
- Hardy, B. 2002. The issue of antibiotic use in the livestock industry: What have we learned? *Anim. Biotech.* 13:129-147.
- Hendrix, D.L. 1993. Rapid extraction and analyses of nonstructural carbohydrates in plant tissues. *Crop Sci.* 33:1306-1311.
- Lammers, B.P., D.R. Buckmaster, e A.J. Heinrichs. 1996. A simple method for the analysis of particle sizes of forage and total mixed rations. *J. Dairy Sci.* 79:922-928.
- Marino, C.T. 2008. Efeito do preparado de anticorpos policlonais sobre o consumo alimentar, fermentação ruminal e digestibilidade in vivo de bovinos suplementados com três fontes energéticas. Tese (Doutorado em Zootecnia). Universidade Estadual Paulista., Botucatu, SP.
- Millen, D.D., R.D.L. Pacheco, M.D.B. Arrigoni, M. Parrili, S.A. Matsuhara, e T.M. Mariani. 2007. Desempenho e incidência de paraqueratose ruminal em bovinos jovens confinados suplementados com monensina sódica ou anticorpos aviários. *Reun. Anu. Soc. Bras. Zootec.* 44, Anais...CD-ROM., Jaboticabal, Brasil.
- Miron, J., R. Solomon, I. Bruckental, e D. Ben-Ghedalia. 1996. Effect of changing the proportion, wheat:shorgum in dairy cow rations on carbohydrate digestibility and NAN flor to intestine. *Anim. Feed Sci. Tech.* 57:75-86.
- Newbold, C.J. 2007. New products for rumen manipulation. *Br. J. Nutr.* 98:15-16.
- NRC. 1996. *Nutrient Requirements of Beef Cattle.* 7 ed. National Academic Press, Washington, D.C.
- Orskov, E.R. 1987. *The feeding of ruminants: principles and practice.* Rowett Research Institute, Chalcombe, UK.
- Pereira, J.R.A., e P. Rossi Jr.1995. *Manual prático de avaliação nutricional de alimentos.* 1.ed. FEALQ., Piracicaba, SP.

- Porcionato, M.A.F., T.T. Berchielli, G.L. Franco, P. Andrade, R.N. Silveira, e W.V.B. Soares. 2004. Digestibilidade, degradabilidade e concentração amoniacal no rúmen de bovinos alimentados com polpa cítrica peletizada normal ou queimada. R. Bras. Zootec. 33:258-266.
- Russell, J.B., e H.J. Strobel. 1989. Effect of ionophores on ruminal fermentation. Appl. Environ. Microbiol. 55:1-6.
- Russell, J.B., e D.B. Wilson. 1996. Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at low pH ? J. Dairy Sci. 79:1503-1509.
- SAS User's Guide. Statistics. Version 5 Edition. 1989. SAS Inst., Inc., Cary NC.
- Simas, J.M. 1997. Processamento de grãos para rações de vacas leiteiras. P. 23-34 in Simpósio sobre Produção Animal. Piracicaba, SP.
- Sniffen, C.J., J.D. O'Connor, P.J. Van Soest, D.G. Fox, e J.B. Russell. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. J. Anim. Sci. 70:3562-3577.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., e B.A. Lewis. 1991. Symposium: Carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74:3583-3597.
- Wing, J.M. 1982. Citrus feedstuffs for dairy cattle. Gainesville: University of Florida, Agricultural Experiment Stations.
- Zinn, R.A., e J.L. Borques. 1993. Influence of sodium bicarbonate and monensin on utilization of a fat-supplemented, high-energy growing-finishing diet by feedlot steers. J. Anim. Sci. 71:18-25.
- Zinn, R.A., A. Plascencia, e R. Barajas. 1994. Interaction of forage level and monensin in diets for feedlot cattle on growth performance and digestive function. J. Anim. Sci. 72:2209-2215.

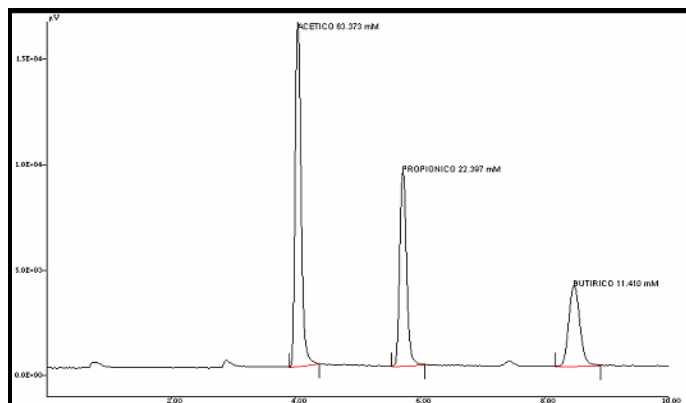
APÊNDICE



a.



b.



c.

Figura 1 Gráficos de leitura da proporção molar entre os ácidos graxos de cadeia curta em líquido ruminal por cromatografia gasosa, (a.) amostra padrão, (b. e c.) amostras do presente experimento