

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

SUPLEMENTAÇÃO COM *YUCCA SCHIDIGERA* PARA MITIGAR A
INCIDÊNCIA DE TIMPANISMO ESPUMOSO EM BOVINOS DE CORTE
ALIMENTADOS COM DIETA DE ALTO GRÃO

BRUNA RETT

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-graduação em Zootecnia como
parte das exigências para obtenção do
título de Mestre em Zootecnia

BOTUCATU – SP

Julho/2021

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

SUPLEMENTAÇÃO COM *YUCCA SCHIDIGERA* PARA MITIGAR A
INCIDÊNCIA DE TIMPANISMO ESPUMOSO EM BOVINOS DE CORTE
ALIMENTADOS COM DIETA DE ALTO GRÃO

BRUNA RETT

Orientador: Prof. Dr. Reinaldo Fernandes Cooke

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-graduação em Zootecnia como parte
das exigências para obtenção do título de
Mestre em Zootecnia

BOTUCATU – SP

Julho/2021

R439s Rett, Bruna
Suplementação com *Yucca schidigera* para mitigar a incidência de timpanismo espumoso em bovinos de corte alimentados com dieta de alto grão / Bruna Rett. -- Botucatu, 2021
52 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu
Orientador: Reinaldo Fernandes Cooke

1. Novilhas de corte. 2. Timpanismo espumoso. 3. Rúmen. 4. Fisiologia. 5. Extrato de *Yucca schidigera*. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Biografia da autora

BRUNA RETT, nasceu em 18 de outubro de 1995 em Jaú – SP. Filha de Suzana Martim Rett e Antonio Celso Rett, tem como irmã Paula Juliana Rett. Em fevereiro de 2014, iniciou o curso de graduação de Zootecnia na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia pela Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Botucatu. Durante o período de graduação, realizou duas iniciações científicas na área de apicultura e reprodução de bovinos de corte. De fevereiro a julho de 2018, realizou estágio extracurricular de pesquisa e extensão em Oregon State University, localizado na cidade de Burns-OR. Em dezembro, graduou-se e obteve o título de Zootecnista. Neste mesmo ano, recebeu o prêmio de maior média final nos Estágios Supervisionados Obrigatórios realizado em Texas A&M University durante o período de julho a novembro de 2018. Em fevereiro de 2019, ingressou no curso de mestrado em Zootecnia também pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Botucatu, como bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), sob orientação do Prof. Dr. Reinaldo Fernandes Cooke. Realizou durante seu mestrado o período experimental na Texas A&M University, localizado na cidade College Station-TX.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Celso e Suzana, e à minha irmã Paula, que sempre me apoiaram e mostraram o caminho que trilhei para chegar até aqui.

Com carinho, dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus, que se faz presente diariamente conduzindo e abençoando meus caminhos.

Ao professor e orientador Dr. Reinaldo Fernandes Cooke, pelas oportunidades que me foram dadas, ensinamentos e por toda a confiança na realização deste trabalho.

À toda família Rett e Martim, aos meus tios, primos, mas em especial aos meus pais, Celso e Suzana, todo amor e carinho, por nunca desistirem de me proporcionar o melhor e principalmente na minha formação como pessoa justa, honesta, bondosa, sempre me apoiando e incentivando aos estudos e trabalhos.

Aos meus padrinhos, Liliam e João Rubens, que sempre estiveram presentes em toda a minha vida, me apoiando e torcendo pelas minhas vitórias.

À minha irmã Paula, que abriu as portas de sua casa em Botucatu durante todo o período que precisei, nunca me deixou desamparada perante a todos os problemas que apareceram, além de toda amizade, companheirismo, carinho e amor.

Ao meu companheiro Ricardo e toda sua família, com seu amor, companheirismo, cumplicidade, paciência e por se fazer presente mesmo com a distância em alguns momentos que passamos.

Ao professor Dr. Rodrigo da Silva Marques, por sua generosidade, amizade e por ter permitido meu período de estágio na OSU (lugar que iniciou toda minha trajetória) e por todos os ensinamentos envolvidos, desde a pesquisa até mesmo em me tornar uma pessoa melhor com seu exemplo de vida.

À Alice P. Brandão pela amizade e carinho, além de ser a primeira pessoa a acreditar em meu trabalho durante a graduação, por sempre confiar e ajudar em todos os caminhos, desde assuntos profissionais quanto pessoais.

À Dr. Kelsey M. Schubach Harvey e seu marido Dr. Lorin Harvey, por toda a amizade e aprendizado durante o período em que estive no Texas e por sempre acreditar que eu seria capaz, me apoiando e ajudando em todos os momentos que precisei.

À Jennifer MacMillan, pela amizade, ajuda, paciência e companheirismo durante o período de convívio em que estive no Texas, estando presente nos melhores momentos.

Aos amigos de pós graduação Osvaldo e Eduardo, pela ajuda em todo o processo, na formação acadêmica, companheirismo e com muita disposição em auxiliar no que eu precisasse.

Aos estagiários Ana Clara, Vitor (Kiça) e Giovanna, pelo companheirismo, comprometimento, paciência e todo auxílio, pois sem eles este trabalho não seria possível.

Aos professores Dr. Ky G. Pohler e Dr. Luis Orlindo Tedeschi e seus alunos, Gessica, Gabriela, Sidney, Rodrigo, Ramiro, Lohana, Fernando, Gienevieve, Maddy, Aron pelos ensinamentos, ajuda e amizade durante o período que estive no Texas.

Aos colegas da pós-graduação da FMVZ, pela convivência, confraternizações e pelos aprendizados compartilhados.

Aos funcionários da Texas A&M University pela contribuição durante o período que estive realizando este trabalho.

Ao Programa de Pós Graduação em Zootecnia e a todos seus funcionários, principalmente à Cláudia por toda a atenção, carinho e paciência. Aos professores pela boa vontade em servir, ajudar, ensinar e acrescentar na minha formação.

À Faculdades de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu – SP, pelo lar que criei durante os anos de graduação e pós-graduação, possibilitando o meu aprimoramento, tanto pessoal quanto profissional.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Muito obrigada!

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 1

- Figura 1.** Estrutura básica de saponinas: (a) Triterpenoide e (b) **10**
Esteróide

CAPÍTULO 2

- Figura 2.** Escore de timpanismo em novilhas canuladas recebendo **36**
uma dieta para indução de timpanismo e suplementadas ou
não com diferentes níveis de extrato de *Yucca schidigera* sob
desafio de timpanismo
- Figura 3.** Parâmetros de pH ruminal, contagem de protozoários **37**
ruminais e viscosidade do fluido ruminal
- Figura 4.** Efeitos de dia e hora para as respostas de AGV **38**
- Figura 5.** Efeitos de dia e hora para as respostas das concentrações **39**
plasmáticas de cortisol, haptoglobina, NUP, proteína total e
concentrações de cortisol no pelo

LISTA DE TABELAS**CAPÍTULO 2**

Tabela 1.	
Perfil nutricional (com base na matéria seca) dos ingredientes da dieta oferecidos às novilhas	28
Tabela 2.	
Composição e perfil nutricional de dietas para indução de timpanismo oferecidas a novilhas durante um período experimental de 28 dias	29
Tabela 3.	
Escore de timpanismo em novilhas canuladas recebendo uma dieta para indução de timpanismo e suplementadas ou não com diferentes níveis do extrato de <i>Yucca schidigera</i> sob desafio de timpanismo	38
Tabela 4.	
Parâmetros ruminiais de novilhas canuladas recebendo dieta para indução de timpanismo e suplementadas ou não com diferentes níveis do extrato de <i>Yucca schidigera</i> sob desafio de timpanismo	39
Tabela 5.	
Respostas fisiológicas de novilhas canuladas recebendo uma dieta para indução de timpanismo e suplementadas ou não com diferentes níveis do extrato de <i>Yucca schidigera</i> sob desafio de timpanismo	41
Tabela 6.	
Parâmetros de desempenho de novilhas canuladas recebendo uma dieta para indução de timpanismo e suplementadas ou não com diferentes níveis do extrato de <i>Yucca schidigera</i> sob desafio de timpanismo	43

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

µg	Micrograma
AGCC	Ácidos graxos de cadeia curta
AGV	Ácidos graxos voláteis
AOL	Área de olho de lombo
CA	Conversão alimentar
CH ₄	Metano
CO ₂	Dióxido de carbono
CV	Coeficientes de variação
DDG	Grãos secos de destilaria
EA	Eficiência alimentar
ED	Energia digestível
ELg	Energia líquida de ganho
ELm	Energia líquida de manutenção
EM	Energia metabolizável
GMD	Ganho médio diário
Hb	Hemoglobina
Hp	Haptoglobina
NDT	Nutrientes digestíveis totais
NUP	Nitrogênio Uréico Plasmático
PC	Peso corporal
PFA	Proteína de fase aguda
RFA	Reposta de fase aguda

CAPÍTULO 1	XVI
Revisão de Literatura	XVI
Considerações iniciais	1
Revisão de literatura	3
1. Características dos animais ruminantes	3
1.1 Microbiota ruminal	3
2. Timpanismo em bovinos de corte.....	5
2.1. Estratégias e tratamentos para mitigar a incidência de timpanismo.....	7
1. Saponinas	9
3.1. Propriedades farmacêuticas e imunológicas das saponinas.....	12
4. Utilização de imunomodulares na nutrição	12
Objetivo e Hipótese	13
Referências	14
CAPÍTULO 2	21
Suplementação com <i>Yucca schidigera</i> para mitigar a incidência de timpanismo espumoso em bovinos de corte alimentados com dieta de alto grão	21
Resumo	22
Abstract	24
1. Introdução	26
2. Material e métodos	27
2.1. Animais e tratamentos	27
2.2. Amostragem	31
2.2.1. Análises laboratoriais	32
2.3. Análises estatística	33
3. Resultados	34
4. Discussão	42
5. Referências	48

CAPÍTULO 1
Revisão de Literatura

Considerações iniciais

Pesquisas realizadas pelas Nações Unidas estimaram que 9,7 bilhões de pessoas habitarão a Terra no ano de 2050. Crescimento de aproximadamente 30% comparado ao ano de 2015, quando a população mundial era de 7,3 bilhões (FAO, 2018). Este crescimento populacional será acompanhado pela demanda de alimentos, especialmente as proteínas de origem animal, devido ao seu alto valor econômico e biológico (FAO, 2018).

A produção de bovinos de corte ocupa lugar de destaque na indústria da proteína animal. A carne bovina é a terceira fonte de carne mais consumida no mundo, atrás apenas de carne suína e frango (USDA, 2020). Sendo assim, estratégias para aumentar a eficiência e produtividade na indústria da carne bovina são necessárias.

O sistema de terminação de bovinos de corte em confinamentos tem se tornado uma das estratégias para aliviar a carga de pastagens, reduzindo o tempo necessário para o abate e, otimizando o desempenho como maior ganho médio diário (**GMD**), eficiência alimentar (**EA**), deposição de gordura nas carcaças destes animais, e conseqüentemente, aumentando a produtividade por área (Pinto e Millen, 2018).

No entanto, a fase de entrada no confinamento inclui vários desafios e eventos estressantes como transporte, mistura de grupos sociais e exposição a novas dietas (Cooke, 2017). Em alguns casos, estes animais ficam com os mecanismos de defesa comprometidos, por estimular respostas neuroendócrinas e inflamatórias que prejudicam a imunocompetência e produtividade, aumentando a incidência de doenças (Duff e Galyean, 2007).

Dentre os desafios do período de entrada no confinamento, a adaptação nutricional é de crucial importância, já que os benefícios produtivos associados à criação de bovinos de corte em confinamento dependem da adequada ingestão, digestão e absorção presentes na dieta formulada e oferecida aos animais. Sendo assim, a mudança da dieta na entrada do confinamento é marcada pela substituição/transição de uma dieta à base de forragem para uma dieta com maior proporção de ingredientes concentrados de rápida fermentação ruminal. Considerando a hipótese dos animais não serem adaptados de forma adequada, isto pode ocasionar problemas metabólicos e digestivos tais como acidose e timpanismo, e isso pode trazer impactos nos parâmetros de desempenho destes animais, como por exemplo o aumento nas flutuações de ingestão de matéria seca (**IMS**), diminuição

na capacidade absorptiva, motilidade ruminal, menor GMD e EA, refletindo negativamente ao retorno econômico da operação (Owens et al., 1998; Cheng et al., 1998, Vasconcelos e Galvanean, 2008; Wang et al., 2012; Meyer e Bryant, 2017).

Dentre os transtornos citados anteriormente, o timpanismo é um distúrbio metabólico não infeccioso comum em ruminantes e, caracterizado pela distensão anormal do rúmen em função do acúmulo de gases que são incapazes de serem eliminados, resultantes dos processos fermentativos do rúmen, afetando negativamente o desempenho animal. Com isso, algumas estratégias podem ser adotadas para evitar e/ou minimizar a incidência de timpanismo, como adaptação gradual à dieta, maior frequência de fornecimento da ração, controle de qualidade dos ingredientes e uso de aditivos alimentares (Cheng et al., 1998; Nagaraja e Titgemeyer, 2007; Millen et al., 2009; Wang, et al., 2012; Meyer e Bryant, 2017; Estevam, et al., 2020).

Além das estratégias supracitadas, recentemente estudos mostraram benefícios com a utilização de aditivos para reduzir a incidência de timpanismo, melhorando assim a saúde dos bovinos (Meyer e Bryant, 2017), utilizando extratos naturais de plantas que melhoram a imunidade e a função ruminal, como por exemplo o extrato purificado da planta *Yucca schidigera* (Cheeke, 2000; McMurphy et al., 2014a). Um dos produtos comerciais popularizado pelo nome Micro-Aid (MA; DPI Global; Porterville, CA) contém aproximadamente 18% de saponina (Base na matéria seca; Singer al., 2008) e possui características como detergentes naturais, contendo componentes solúveis em água e gordura, dando-lhes uma ampla variedade de usos (Cheeke, 2000).

Entretanto, ainda é escassa a literatura disponível sobre os efeitos da suplementação do extrato de *Y. schidigera* na incidência de timpanismo espumoso em bovinos, fazendo-se necessárias mais pesquisas e trabalhos sobre a viabilidade da inclusão deste aditivo como estratégia para diminuir a incidência desta doença.

Revisão de literatura

1. Características dos animais ruminantes

Os ruminantes são animais herbívoros, naturalmente consumidores de gramíneas (Owens e Basalan, 2016) e apresentam pré-estômagos, que formam um habitat com condições favoráveis à sobrevivência e crescimento dos microrganismos, estabelecendo uma relação simbiótica, onde o hospedeiro fornece o substrato e proporciona um ambiente adequado, com temperatura e pH favorável para o crescimento e manutenção destes microrganismos, que conseqüentemente suprem o animal com ácidos graxos de cadeia curta (**AGCC**), resultantes da fermentação microbiana, que são considerados a principal fonte de energia, contribuindo com 50% a 70% da energia utilizada para o hospedeiro (Furlan, 2011; Kozloski, 2011; Alves et al., 2016; Nagaraja, 2016). Um dos objetivos a serem alcançados em sistemas produtivos com animais ruminantes é a manipulação deste ambiente ruminal, permitindo melhorias em relação à alimentação para melhorar a eficiência produtiva e desempenho dos animais.

1.1 Microbiota ruminal

Os principais microrganismos que habitam o rúmen são bactérias, protozoários e fungos, onde sobrevivem em condições de anaerobiose devido a mínima concentração de oxigênio no rúmen e temperatura relativamente constante (37 – 40°C, Furlan, 2011; Kozloski, 2011; Membrive, 2016). Segundo Van Soest (1994), no rúmen a faixa de pH ideal varia entre 6,8 e 5,8, pois os protozoários e bactérias celulolíticas necessitam do pH 6,2 (ou mais alto), enquanto que bactérias aminolíticas são ativas em condições mais ácidas com pH em torno de 5,8 (Berchielli, et al., 2006; Kozloski, 2011).

O pH é regulado por diversos fatores, como motilidade ruminal, nível da fibra fisicamente efetiva na dieta, consumo de matéria seca, tamanho de partícula, qualidade e proporção do volumoso, fluxo de saliva com capacidade de tamponamento no rúmen e produção e absorção dos AGCC. Além disso, possui a habilidade de modular a população de microrganismos que podem estar associadas na quantidade e/ou tipo de ácidos produzidos (Rumsey et al. 1970; Nagaraja e Titgemeyer, 2007; Kozloski, 2011).

A população de bactérias no rúmen é densa, com números que variam de 10^8 a 10^{11} por g de conteúdo ruminal, com tamanho de 1 a 5 μm (Nagaraja, 2016),

constituindo a maior parte da biomassa microbiana no rúmen (60 a 90%, Kozloski, 2011; Membrive, 2016;). Para que a produtividade e a saúde dos ruminantes sejam mantidas, as bactérias ruminais são indispensáveis, pois estes microrganismos são importantes qualitativamente devido sua alta atividade enzimática, e quantitativamente, pela amplitude nos produtos que eles fornecem (Nagaraja e Titgemeyer, 2007; Alves, et al., 2016).

Os fatores que podem influenciar a composição das bactérias estão relacionados com a dieta que o animal recebe e são divididas pelas características fermentativas (Furlan, 2011; Kozloski, 2011; Nagaraja, 2016). Com base na distribuição das bactérias no rúmen, elas podem ser categorizadas em bactérias que flutuam livremente no fluido ruminal e bactérias que aderem a partículas (alimentos, células de protozoários, a esporângios fúngicos ou células epiteliais, Nagaraja, 2016).

Durante a fermentação, os microrganismos convertem componentes dietéticos em AGCC, proteína microbiana, dióxido de carbono (**CO₂**), amônia nitrato (**NH₃**), metano (**CH₄**), entre outros. Dentre estes AGCC, os mais conhecidos são ácido acético, propiônico e butírico que apresentam proporções molares de acordo com os componentes da dieta (variando entre 45 a 75% de ácido acético, 15 a 45% de ácido propiônico e 11 a 13% de ácido butírico; Berchielli, et al., 2006; Kozloski, 2011; Rodrigues, 2016).

Assim como as bactérias, os protozoários ruminais são microrganismos unicelulares, anaeróbicos, com diferença em suas estruturas por serem organismos eucariontes (bactérias são procariontes) e encontrados na concentração aproximada de $10^5 - 10^6$ protozoários/mL (Nagaraja, 2016). Os protozoários foram os primeiros microrganismos ruminais a serem identificados (com tamanho celular de 20 a 200 μ M de comprimento, ou seja, cerca de dez a 20 vezes maior que as bactérias), além disso com alta mobilidade, permitindo que pesquisadores os observassem sob microscópios simples há mais de 150 anos (Gruby e Delafond, 1843).

Os protozoários são classificados em flagelados e ciliados, dependendo da estrutura morfológica a qual possuem (Nagaraja, 2016). Protozoários flagelados possuem de 3 a 12 μ M em seu tamanho, contendo de 10^2 a 10^3 por ml no fluido ruminal e utilizam apenas nutrientes solúveis (Nagaraja, 2016). Os protozoários ciliados constituem a maioria dos protozoários no rúmen, variando em tamanho (10×20 a $120 \times 200 \mu$ M; Nagaraja, 2016).

Williams (1986), reportou que a dieta é um dos fatores mais importantes para a concentração e a distribuição de protozoários existentes no rúmen. Em dietas à base de forragem, as bactérias constituem sítios de aderência e dificultam o engolfamento pelos protozoários; já em dietas ricas em concentrado, os protozoários ao engolfar os grânulos de amido, os estocam na forma de amilopectina ou amido, degradando mais lentamente em comparação com as bactérias (Williams e Coleman, 1997; Kozloski, 2011). Além disso, os protozoários ingerem as partículas de amido simultaneamente com às bactérias aderentes, tornando esta uma possível causa da origem do aumento da população bacteriana amilolíticas, após eliminação dos protozoários em um processo chamado defaunação (Williams e Coleman, 1997; Newbold et al., 2015; Nagaraja, 2016; Noschang et al., 2019).

Embora uma dieta rica em carboidratos solúveis possua benefícios para a criação de bovinos de corte devido ao maior aporte energético para o ganho de peso, é comprovado que a ingestão de alimentos rapidamente fermentáveis pode causar alterações na população de microrganismos no rúmen, diminuição do pH e gerando flutuação nas concentrações dos produtos finais da fermentação, resultando em vários distúrbios metabólicos (Owens et al., 1998; Goularte, et al., 2008).

Segundo Vasconcelos e Galyean (2008), os distúrbios metabólicos mais comuns em confinamentos são acidose, timpanismo, diarreia, abscessos hepáticos e laminite, causando impactos negativos aos animais. Desta forma, os animais durante o início do confinamento necessitam de mais cuidados, pois vieram de uma dieta à base de pastagem e torna-se necessário realizar o fornecimento da dieta concentrada de forma gradativa, para evitar os riscos relacionados a saúde ruminal (Meyer e Bryant, 2017).

Com base no apresentado, bovinos de corte são mais suscetíveis a passarem por uma drástica mudança nutricional, (de uma dieta à base de forragem para à base de concentrado) na entrada do confinamento e podem aumentar os riscos de distúrbios metabólicos nesta fase, como o timpanismo ruminal (Vasconcelos e Galyean, 2008; Meyer e Bryant, 2017)

2. Timpanismo em bovinos de corte

Também conhecido como “meteorismo ruminal”, o timpanismo pode ocorrer com frequência em bovinos e ser causado devido à produção exacerbada de gases

durante a fermentação ruminal, somado a fatores que dificultam a sua eliminação (Santos, 2011.; Neto et al., 2014).

Este distúrbio metabólico pode estar associado com a ingestão de algumas leguminosas, como alfafa (*Medicago Sativa*) e trevos (*Trifolium sp.*) que contém proteína altamente digestível e/ou pode estar associado com ingestão de dietas com alta inclusão de carboidratos de rápida fermentação (Cheng et al., 1998; Pagani, 2008; Santos, 2011; Wang et al., 2012).

O timpanismo pode ser dividido em duas formas. São elas: timpanismo primário, também chamado timpanismo espumoso e timpanismo secundário, conhecido por timpanismo gasoso (Cheng et al., 1998). No timpanismo espumoso, apesar dos movimentos contínuos no rúmen, as bolhas constituídas pelos gases da fermentação ficam presas por longos períodos, ocorrendo assim a formação de espumas que não se desfaz, impedindo a eliminação destes gases (Cheng et al., 1998). O timpanismo gasoso é menos comum, encontrado apenas em 10% dos casos de timpanismo, ocorrendo quando há dificuldade física e/ou funcional que interfere na eructação devido a ingestão irregular de alimentos, ocorrendo obstrução esofágica aguda que não passam pelo rúmen, como batatas, cenouras e frutas inteiras, ou pode ocorrer inibição dos nervos que controlam as contrações das paredes do rúmen (Majak et al., 2003; Wang et al., 2012).

Independentemente do tipo de timpanismo, ambos apresentam acentuado aumento na pressão intra-abdominal e conseqüentemente desenvolvem alterações nos movimentos ruminais, dificuldade respiratória, circulatória, possíveis asfixia e morte (Cheng et al., 1998; Nagaraja, 1998; Millen, et al. 2016). Seu diagnóstico é simples, porém o animal pode entrar em morte súbita em razão à insuficiência respiratória causada por um quadro intenso de timpanismo ruminal hiperagudo (Cheng et al., 1998).

Cole et al., (1943) foram um dos primeiros autores que verificaram a incidência do timpanismo em bovinos. Seu método foi avaliado após induzir o timpanismo em pastagem de alfafa (*Medicago Sativa*) e trevos (*Trifolium sp.*), conseguindo controlar após incluir pastejo com capim Sudão no período noturno, antes dos animais terem acesso às áreas contendo alfafa, se tornando assim uma maneira para a prevenção da doença. Em seguida, Knapp et al., (1943) identificaram o timpanismo como um problema em confinamento de bovinos de corte, mas sem conhecimento da causa.

Posteriormente, Cole et al., (1945) verificaram que a falta de alimento volumoso na dieta seria a provável causa do timpanismo.

A ocorrência de timpanismo em confinamento de bovinos de corte geralmente ocorre nos primeiros 14 dias após o início do fornecimento da nova dieta contendo grãos aos animais (Wang et al., 2012). Herrera et al., (2009) propuseram que estes regimes alimentares em ruminantes podem levar à proliferação de *Streptococcus bovis* no rúmen, resultando na produção de altos níveis de lactato e polissacarídeo capsular que auxiliam para a formação de espumas dos animais com o quadro de timpanismo espumoso. Esses mucopolissacarídeos podem afetar a viscosidade do fluido ruminal, tornando-o mais viscoso e fazendo com que a separação do gás ocorra lentamente, impedindo sua eliminação (Santos, 2011).

Durante a mastigação, em animais em pastejo, algumas células de determinadas plantas se rompem com facilidade, isto é, ocorrendo o timpanismo espumoso, pois a ruptura mecânica destas folhas de leguminosas podem contribuir com as bactérias ruminais um acesso mais rápido ao conteúdo celular, resultando em maior produção de gases, formação de bolhas e espumas, contribuindo para maior viscosidade no fluido ruiminal (Cheng et al., 1998; Santos, 2011).

2.1. Estratégias e tratamentos para mitigar a incidência de timpanismo

Uma recomendação para reduzir o risco de incidência de timpanismo é utilizar um manejo de adaptação nutricional adequado (Neto, 2014; Estevam et al., 2020). Estevam et al., (2020) avaliaram os efeitos dos períodos de 6, 9, 14 e 21 dias de um programa de adaptação utilizado em escadas para bovinos confinados com seguintes níveis de concentrado: 70%, 75%, 80,5% e 86% da matéria seca na dieta ao longo de períodos de adaptação e encontraram resultados superiores em animais adaptados com 14 dias em relação ao GMD, PC final e EA, bem como peso de carcaça quente e área de olho de lombo (**AOL**), onde proporcionou aos animais adaptados com 14 dias melhor desenvolvimento do epitélio ruminal, pois apresentaram maior largura de papilas e área de superfície absorptiva, demonstrando que estavam melhor adaptados e diminuíram os índices de problemas metabólicos, possibilitando aos animais serem mais eficientes. Vale ressaltar que as papilas, para se adaptarem ao novo ambiente de fermentação proporcionado pela dieta de alto teor de concentrado, demoram de 5 a 7 dias para se desenvolverem (Brown e Millen, 2009).

Outra estratégia é incluir níveis de volumosos (feno ou silagem) nas dietas de confinamento, pois além de aumentar o tamanho das partículas podem auxiliar a diminuir a taxa geral de fermentação, além de estimular a produção salivar através da ruminação (Wang et al., 2012; Meyer e Bryant, 2017). A saliva pode ser um fator para reduzir a ocorrência do timpanismo ruminal por tamponar o rúmen, através do bicarbonato salivar e neutralizar os ácidos ruminais que conseguem aumentar o pH ruminal, resultando em um importante fator para reduzir a estabilidade da espuma (Clarke e Reid, 1974; Owens et al., 1998; Santos, 2011; Alves et al., 2016).

A utilização de ionóforos, como por exemplo monensina sódica é outra alternativa para mitigar a incidência de timpanismo e seu uso é muito difundido, além disso alguns produtos já foram testados para controle do timpanismo (Nagaraja et al., 1997; Wang et al., 2012). O uso de ionóforos pode alterar as populações microbianas do rúmen, diminuindo a IMS e como consequência a redução da produção de gases no rúmen (Nagaraja et al., 1997; Santos, 2011).

As abordagens de tratamento dependem do tipo em que o timpanismo apresenta (espumoso ou gasoso), além de observar a fatalidade que o animal se encontra, pois em condições avançadas torna-se necessário o uso de medidas de emergência. Com isso, em casos extremos existe a necessidade de se fazer uma rumenotomia de emergência ou então o uso de trocarer para evacuação do gás, porém não é efetivo nos casos de timpanismo gasoso. Neste caso é recomendado a passagem de sonda nasogástrica, em animais jovens, ou sonda esofagiana, em animais adultos, para que se elimine a maior parte do gás preso no rúmen (Majak et al., 2003; Coutinho et al., 2009; Santos, 2011).

O timpanismo espumoso também pode ser tratado utilizando óleos vegetais ou minerais (300 a 500 mL) para 450 kg de peso vivo animal, administrado em uma dose, como forma de diminuir a estabilidade da espuma e facilitar a eliminação da ingesta (Majak et al., 2003). Estes produtos reduzem a tensão superficial do líquido onde contém as bolhas da espuma, por possuírem características surfactante que facilitam a coalescência das bolhas e seus movimentos para a região da cárdia (Santos, 2011). Min et al. (2007) adicionaram óleo de milho e conseguiram reduzir a severidade do timpanismo, principalmente por meio da redução da produção e da resistência da espuma no rúmen. Outra alternativa envolvendo produtos é com a utilização de

saponinas derivada da planta *Yucca schidigera*, pois também podem possuir estas mesmas características surfactantes (Cheeke, 2000; Shi et al., 2004).

1. Saponinas

Recentemente, houve um aumento no interesse em explorar compostos fitoquímicos bioativos como aditivos naturais na nutrição animal, incluindo como saponinas, taninos ou óleos essenciais a fim de melhorar o metabolismo ruminal, aumentando a eficiência da produção em ruminantes (Patra e Saxena, 2009a).

Dentre estes aditivos citados, as saponinas são compostos glicosídicos que possuem uma molécula de açúcar (glicose, galactose, ácido glicurônico, xilose, ramnose ou metilpentose) com característica hidrofílicas, ligados a uma aglicona (também denominada sapogenina) que podem ser triterpenoide ou esteroide com propriedade hidrofóbica (Figura 1, Cheeke, 2000; Patra e Saxena, 2009b). Suas características são semelhantes a detergentes naturais com componentes solúveis em água e gordura devido a presença de ambos os grupos polar (açúcar) e apolar (esteroide ou triterpenoide, Cheeke, 2000). O nome “saponina” é devido ao aspecto de espuma, similar com a palavra sabão em inglês “soap” (Wina, et al., 2005), por isso, apresentam propriedades de reduzir a tensão superficial da água, desempenhando as ações detergentes e emulsificantes, fornecendo assim uma ampla variedade de usos e efeitos biológicos benéficos (Shi et al., 2004; Cheeke, 2000).

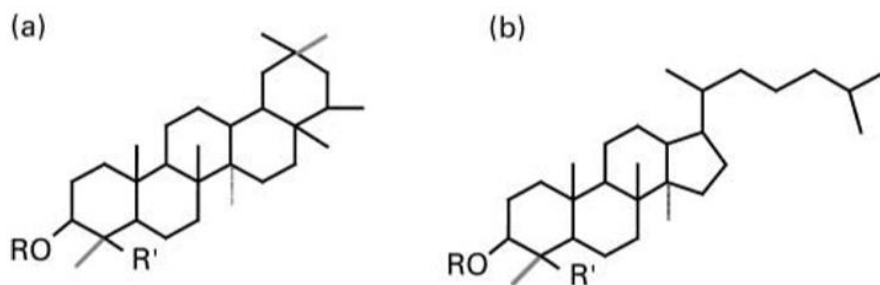


Figura 1: Estrutura básica de saponinas: (a) Triterpenoide e (b) Esteroide (Patra e Saxena, 2009b)

As saponinas ocorrem naturalmente em uma grande variedade de plantas, onde são substâncias derivadas do metabolismo secundário relacionado principalmente com função no sistema de defesa destas plantas (Cheeke, 2000). São encontradas em diferentes partes, como raiz, tubérculo, casca, folhas, sementes,

frutos (Wina et al., 2005) e normalmente nos tecidos que são mais vulneráveis ao ataque fúngico, bacteriano ou predatório de insetos. Normalmente, as próprias plantas não são usadas como ração animal; uma vez que, as saponinas são extraídas de partes das plantas e usadas como aditivos alimentares (Wina et al., 2005). Existem diferentes efeitos biológicos das saponinas proveniente de diferentes fontes e deve considerar diferentes dietas ou níveis para o seu uso na alimentação (Cheek et al., 2014; Eryavuz e Dehority, 2004).

As plantas mais comuns e de principais fontes comerciais contendo saponinas são *Yucca schidigera* e *Quillaja saponária*. *Yucca schidigera* é da família Agavaceae e são plantas nativas dos desertos dos Estados Unidos/México (Piacente et al., 2005). *Quillaja saponaria* é da família Rosaceae e são encontradas em zonas áridas do Chile. As saponinas de *Yucca schidigera* possuem um núcleo esteroidal, enquanto as saponinas de *Quillaja saponária* são triterpenóides (Cheeke, 2000; Wang et al., 2000; Wina et al., 2005).

As diferenças nos efeitos das saponinas podem estar relacionadas com a diferença nas dietas oferecidas aos animais ou aos dois métodos de extração (Cheeke, 2000). Um destes métodos as plantas são maceradas mecanicamente, secas e moídas para produzir 100% de pó de yucca, ou o material macerado é submetido à prensagem mecânica, produzindo o “suco de yucca”, onde é concentrado por evaporação, denominado “extrato de yucca” (Cheeke, 2000; Piacente et al., 2005). Este termo “extrato de yucca” é ligeiramente enganador, pois o suco da planta é removido por meios mecânicos, ao contrário de extração utilizando solvente (Cheeke, 2000).

Dados *in vitro* mostraram que as saponinas derivadas de *Yucca schidigera* alteram favoravelmente os padrões na fermentação ruminal do grão de cevada, mas diminuem a fermentação ruminal do feno de alfafa, no entanto, a proporção acetato: propionato foi reduzida em maior extensão com alfafa em comparação com o grão de cevada (Wang et al., 2000). A taxa de passagem de partículas também foi afetada pela suplementação de saponina, pois uma taxa de passagem mais lenta foi observada mesmo quando a IMS foi semelhante (McMurphy et al., 2014a). Isso pode ser devido às características de formação de espuma das saponinas e subsequente mudança na saída do fluido ruminal (Cheeke, 2000; Wang et al., 2000).

Outra propriedade das saponinas é a capacidade de interagir com esteróis, presentes na membrana plasmática das células. Ela causa mudança de conformação na estrutura e aumento da permeabilidade dessa membrana, o que permite a entrada de íons e água para o interior da célula, resultando em sua ruptura (Francis, 2002).

McMurphy et al., (2014b), após utilizar a suplementação com *Yucca schidigera* em animais consumindo uma dieta a base de forragem a um nível de 1 ou 2 g/animal/dia, observaram que houve aumento na síntese de proteína microbiana, possivelmente devido ao aumento do tempo de retenção no rúmen, bem como uma redução nos protozoários, resultando em uma diminuição na predação de bactérias. O efeito antiprotozoário das saponinas pode depender da natureza estrutural da aglicona e do número, composição e ligações das porções de açúcar (Patra e Saxena, 2009b; Morales et al., 2019), através da formação de complexos irreversíveis de saponina com colesterol, causando quebra da membrana celular e consequentemente morte celular (Cheeke, 2000). Morales et al., (2019), mostraram que a atividade antiprotozoária não é uma característica inerente a todas as saponinas e que pequenas variações na estrutura de um composto podem ter uma influência significativa em sua atividade biológica.

Em estudos de Hristov et al., (1999), encontraram na contagem de protozoários uma diminuição nas novilhas que foram suplementadas com *Y. schidigera* recebendo dieta à base de grãos, porém Sliwinski et al., (2002), relataram que a contagem de protozoários do rúmen não foi alterada pela inclusão de extrato de *Y. schidigera* recebendo uma dieta à base de silagem de capim. Em revisão de Wina, et al., (2005), os autores encontraram 28 trabalhos em que as saponinas mostraram redução no número de protozoários, outros 8 apresentando um decréscimo somente na atividade dos protozoários e 3 indicando efeito positivo das saponinas nos protozoários ruminais. O efeito antiprotozoário das saponinas ou plantas que contém saponinas ocorreram principalmente em experimentos *in vitro*, e devem ser avaliados com cuidado em razão de nem sempre serem consistentes com resultados *in vivo* (Wina et al., 2005).

O uso de dietas ricas em carboidratos altamente fermentáveis com mudança no perfil nutricional no início e durante o período de entrada de confinamento, podem causar certos desafios aos animais com mudanças comportamentais e fisiológicas, devido as experiências de estresse e período de restrição alimentar anterior (Marques

et al., 2012). Com isso, estudos mostraram que o extrato de *Yucca schidigera* possuem muitos benefícios ao crescimento e desempenho de bovinos de corte (Piacente et al., 2005; Sousa et al., 2019).

3.1. Propriedades farmacêuticas e imunológicas das saponinas

As saponinas são ricas em propriedades farmacêuticas e, recentemente, muitos estudos se concentram na sua capacidade de aumentar as respostas imunológicas (Cheok, et al. 2014). Outra aplicação importante do extrato de *Yucca schidigera* é como agente espumante nas indústrias de refrigerantes, fitoterapia, cosmética, alimentícia e de rações para outras espécies de animais (Cheeke, 2000; Piacente et al., 2005). Além disso, propriedades das saponinas são destacadas como adjuvantes para aumentar a absorção de medicamentos pelo aumento da solubilidade ou interferência nos mecanismos de absorção e consequentemente aumentar a resposta imunológica (Francis et al., 2002).

Suas propriedades imunológicas podem ser hemolíticas, antiinflamatórias, antifúngicas, antibacterianas ou antimicrobianas, antiparasitárias, antitumorais e antivirais (Sparg, et al. 2004). *Quillaja saponaria* são amplamente utilizadas como complexos imune estimulantes (formados pela combinação de colesterol, saponina, fosfolípido e proteínas hidrofílicas), adjuvantes em vacinas orais e injetáveis, pois facilitam a absorção intestinal de grandes moléculas (Cheeke, 2000; Francis et al., 2002). Estes adjuvantes à base de saponina possuem a capacidade de estimular o sistema imunológico mediado por células que aumentam a produção dos anticorpos (Francis et al., 2002; Cheok, et al. 2014).

4. Utilização de imunomodulares na nutrição

O sistema imune inato é considerado o primeiro mecanismo de defesa do organismo e representa os mecanismos de defesa inespecíficos para antígenos do sistema imunológico (Carroll e Forsberg, 2007). Ele também pode ser ativado caso o animal passe por um evento estressante como por exemplo durante a desmama, transporte, entrada de confinamento, com mudança na dieta (Duff e Galyean, 2007; Cooke et al., 2017).

As citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6, TNF- α) são proteínas liberadas por células do sistema imune inato (células NK, macrófagos e monócitos) que determinam

uma resposta inflamatória através de mecanismos celulares e sistêmicos, onde um deles é desencadeado pela resposta de fase aguda (**RFA**), através de proteínas e marcadores que permitem quantificar a inflamação, ocorrendo a síntese e liberação de proteínas de fase aguda (**PFA**, Carroll e Forsberg, 2007; Ceciliani et al., 2012).

Em ruminantes, a haptoglobina (**Hp**) é um exemplo de PFA e sua principal função é a capacidade de interação com a hemoglobina (**Hb**), formando um complexo estável Hp-Hb facilmente reconhecido que fagocita e remove o patógeno do organismo, assim diminuindo o crescimento microbiano por reduzir a disponibilidade de hemoglobina livre na corrente sanguínea, pois é considerado um ótimo meio de cultura para microrganismos patogênicos (Ceciliani et al., 2012).

Os desafios nutricionais em bovinos de corte citados anteriormente - que são gerados após mudanças na dieta por exemplo - podem inibir a produtividade dos animais e diminuir o bem-estar, causando uma desregulação neuroendócrina com uma imunossupressão que pode ser induzida pelo estresse ocasionado (Ceciliani et al., 2012). Como o timpanismo produz um estresse agudo e crônico, de acordo com sua gravidade (Lippke et al., 1972), animais que apresentam este distúrbio metabólico podem incitar uma RFA, tornando-se possível a avaliação através da quantificação de Hp (Ceciliani et al., 2012; Cooke et al., 2017).

Em vista disto, esta revisão buscou esclarecer alguns conceitos e evidenciar a importância do estudo. O próximo capítulo apresentará a avaliação como respostas ruminais, fisiológicas e de desempenho de novilhas de corte recebendo uma dieta para indução de timpanismo e suplementadas com um aditivo alimentar (extrato de *Yucca schidigera*), com potencial para prevenir ou mitigar o timpanismo.

Objetivo e Hipótese

O objetivo deste estudo foi investigar o papel do extrato de *Y. schidigera* no timpanismo espumoso como respostas ruminais, fisiológicas e de desempenho em bovinos de corte alimentados com grãos induzindo ao timpanismo

A hipótese é a suplementação do extrato de *Y. schidigera* que poderá diminuir a incidência de timpanismo espumoso em novilhas, recebendo uma dieta contendo alto teor de carboidratos fermentáveis.

Referências

- ALVES, A. R. et al. Fibra para ruminantes: Aspecto nutricional, metodológico e funcional. **Pubvet**, v. 10, p. 513-579, 2016.
- BERCHIELLI, T. T.; VEJA-GARCÍA, A.; OLIVEIRA, S. G. Distúrbios metabólicos. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. (2ª Ed.) **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2011. p. 511-516.
- Brown, M. S., D. D. Millen. "Protocolos para adaptar bovinos confinados a dietas de alto concentrado." **Simpósio Internacional de Nutrição de Ruminantes 2** (2009): 2-22.
- CARROLL, J. A.; FORSBERG, N. E. Influence of stress and nutrition on cattle immunity. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**. v. 23, p. 105-149, 2007.
- Ceciliani, F., Ceron, J. J., Eckersall, P. D., Sauerwein, H. 2012. Acute phase proteins in ruminants. **Journal of Proteomics**. v. 75, p. 4207-4231
- CHEEKE, P. R. Actual and potential applications of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* saponins in human and animal nutrition. In: **Saponins in food, feedstuffs and medicinal plants**. Springer, Dordrecht, 2000. p. 241-254.
- CHENG, K.-J. et al. A review of bloat in feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v. 76, n. 1, p. 299-308, 1998.
- CLARKE, R. T. J.; REID, C. S. W. Foamy bloat of cattle. A review. **Journal of dairy science**, v. 57, n. 7, p. 753-785, 1974.
- COLE, H. H. et al. A physical deficiency in the ration of ruminants. **Science** (Washington), v. 98, p. 543-544, 1943.
- COLE, H. H. et al. A review of bloat in ruminants. **Journal of animal science**, v. 4, n. 3, p. 183-236, 1945.
- COOKE, R. F. Nutritional and management considerations for beef cattle experiencing stress-induced inflammation. **The Professional Animal Scientist**, v. 33, n. 1, p. 1-11, 2017.doi:10.15232/pas.2016-01573.

COUTINHO, L. T. et al. Avaliação da conduta terapêutica em casos de timpanismo espumoso em bovinos. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 1, p. 288-293, 2009.

DUFF, G. C.; GALYEAN, M. L. Board-invited review: recent advances in management of highly stressed, newly received feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v. 85, n. 3, p. 823-840, 2007.

ERYAVUZ, A.; DEHORITY, B. A. Effect of *Yucca schidigera* on the concentration of microorganism in sheep. **J. Anim. Feed Sci. Technol.** 2004, 117, 215-222.

ESTEVAM, D. D.; PEREIRA, I. C.; RIGUEIRO, A. L. N.; PERDIGÃO, A.; COSTA, C. F.; RIZZIERI, R. A., ... e ARRIGONI, M. D. B. Feedlot performance and rumen morphometrics of Nelore cattle adapted to high-concentrate diets over periods of 6, 9, 14 and 21 days. **Animal**, v. 14, n. 11, p. 2298-2307, 2020.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION – FAO. **The future of food and agriculture** – Alternative pathways to 2050. Rome, 2018. p 7. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/I8429EN/i8429en.pdf>>. Acesso em: 25 set. 2020.

FRANCIS, G.; KEREM, Z.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. The biological action of saponins in animal systems: a review. **British journal of Nutrition**, v. 88, n. 6, p. 587-605, 2002.

FURLAN, R. L.; MACARI, M.; FARIA FILHO, D. E. Anatomia e fisiologia do trato gastrointestinal. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. 2. ed. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2011. p. 1-23.

GOULARTE, S. R. et al. Ácidos graxos voláteis no rúmen de vacas alimentadas com diferentes teores de concentrado na dieta. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 6, p. 1479-1486, 2011.

GRUBY, D.; DELAFOND, H. M. O. Recherches sur des animalcules se développant en grand nombre dans l'estomac et dans les intestins, pendant la digestion des animaux herbivores et carnivores. **Compt. Rend. Acad. Sci.** n. 17, p. 1304–1308, 1843.

HERRERA, Paul; KWON, Young Min; RICKE, Steven C. Ecology and pathogenicity of gastrointestinal *Streptococcus bovis*. **Anaerobe**, v. 15, n. 1-2, p. 44-54, 2009.

HRISTOV, A. N. et al. Effect of *Yucca schidigera* on ruminal fermentation and nutrient digestion in heifers. **Journal of Animal Science**, v. 77, n. 9, p. 2554-2563, 1999. doi:10.2527/1999.7792554x.

KNAPP, J. R. B.; BAKER, A. L.; PHILLIPS, R. W. Variations in the occurrence of bloat in the steer progeny of beef bulls. **Journal of Animal Science**, v. 2, n. 3, p. 221-225, 1943.

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

LIPPKE, H.; REAVES, J. L.; JACOBSON, N. L. Rumen pressures associated with the scores of a bloat severity scale. **Journal of animal science**, v. 34, n. 1, p. 171-175, 1972. doi:10.2527/jas1972.341171x.

MAJAK, W. et al. Bloat in cattle. **Alberta Agriculture Food and Rural Development Information Packaging Centre: Edmonton**, Canada, p. 1-24, 2003.

MCMURPHY, C. P.; SEXTEN, A. J.; MOURER, G. L.; SHARMAN, E. D.; TROJAN, S. J.; RINCKER, M. J.; COBLENTZ, W. K.; LALMAN. D. L. Effects of including saponins (Micro-Aid®) on intake, rumen fermentation and digestibility in steers fed low-quality prairie hay. **Animal feed science and technology**, v. 190, p. 47-58, 2014a.

MCMURPHY, C. P.; SEXTEN, A. J.; MOURER, G. L.; RINCKER, M. J.; LALMAN. D. L. Effects of including saponins (Micro-Aid®) in a protein supplement on performance of growing steers and spring-calving cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 190, p. 19-29, 2014b.

MEMBRIVE, Claudia Maria Bertan. Anatomy and Physiology of the Rumen. In: **Rumenology**. Springer, Cham, 2016. p. 1-38.

MEYER, N. F.; BRYANT, T. C. Diagnosis and management of rumen acidosis and bloat in feedlots. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, v. 33, n. 3, p. 481-498, 2017

- MILLEN, D. D. et al. A snapshot of management practices and nutritional recommendations used by feedlot nutritionists in Brazil. **Journal of animal science**, v. 87, n. 10, p. 3427-3439, 2009.
- MILLEN, Danilo Domingues et al. Ruminal acidosis. In: **Rumenology**. Springer, Cham, 2016. p. 127-156.
- MIN, B. R. et al. In vitro rumen fermentation and in vivo bloat dynamics of steers grazing winter wheat to corn oil supplementation. **Animal feed science and technology**, v. 133, n. 3-4, p. 192-205, 2007.
- NAGARAJA, T. G. et al. Manipulation of ruminal fermentation. In: The rumen microbial ecosystem. **Springer**, Dordrecht, 1997. p. 523-632.
- NAGARAJA, T. G. Microbiology of the Rumen. In: **Rumenology**. Springer, Cham, 2016. p. 39-61.
- NAGARAJA, T. G.; GALYEAN, M. L.; COLE, N. A. Nutrition and disease. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 14, n. 2, p. 257-277, 1998.
- NAGARAJA, T. G.; TITGEMEYER, E. C. Ruminal acidosis in beef cattle: the current microbiological and nutritional outlook. **Journal of dairy science**, v. 90, p. E17-E38, 2007.
- NETO, José Adelson Santana et al. Distúrbios metabólicos em ruminantes—Uma Revisão. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 8, n. 4, p. 157-186, 2014.
- NEWBOLD, Charles J. et al. The role of ciliate protozoa in the rumen. *Frontiers in microbiology*, v. 6, p. 1313, 2015.
- NOSCHANG, Joana Piagetti; SCHMIDT, Ana Paula; BRAUNER, Cássio Cassal. *Saccharomyces cerevisiae* na nutrição de ruminantes: Revisão. **PUBVET**, v. 13, p. 170, 2018.
- OWENS, F. N. et al. Acidosis in cattle: a review. **Journal of animal science**, v. 76, n. 1, p. 275-286, 1998.

OWENS, Fredric N.; BASALAN, Mehmet. Ruminal fermentation. In: **Rumenology**. Springer, Cham, 2016. p. 63-102.

PAGANI, J. A. B. Timpanismo em ruminantes. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Garça, v. 6, n. 10, 2008.

PATRA, A. K.; SAXENA, J. Dietary phytochemicals as rumen modifiers: a review of the effects on microbial populations. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 96, n. 4, p. 363-375, 2009a.

PATRA, A. K.; SAXENA, J. The effect and mode of action of saponins on the microbial populations and fermentation in the rumen and ruminant production. **Nutrition Research Reviews**, v. 22, n. 2, p. 204-219, 2009b.

PIACENTE, S.; PIZZA, C.; OLESZEK, W. Saponins and phenolics of *Yucca schidigera* Roetzl: chemistry and bioactivity. **Phytochemistry Reviews**, v. 4, n. 2, p. 177-190, 2005.

PINTO, A. C.J.; MILLEN, D. D. Nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists: the 2016 Brazilian survey. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 99, n. 2, p. 392-407, 2018.

MORALES, R., E., et al. Not all saponins have a greater antiprotozoal activity than their related sapogenins. **FEMS microbiology letters**, v. 366, n. 13, p. fnz144, 2019.

RODRIGUES, P. H. M. Control and Manipulation of Ruminal Fermentation. In: **Rumenology**. Springer, Cham, 2016. p. 157-187.

RUMSEY, T. S. et al. Influence of level and type of diet on ruminal pH and VFA, respiratory rate and EKG patterns of steers. **Journal of animal science**, v. 31, n. 3, p. 608-616, 1970.

SANTOS, J. E. P.; Distúrbios metabólicos. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. 2. ed. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2011. p. 511-520.

SINGER, M. D. et al. Impacts of rumen fluid modified by feeding *Yucca schidigera* to lactating dairy cows on in vitro gas production of 11 common dairy feedstuffs, as well

as animal performance. **Animal Feed Science and Technology**, v. 146, n. 3-4, p. 242-258, 2008.

SHI, J., ARUNASALAM, K., YEUNG, D., KAKUDA, Y., MITTAL, G., JIANG, Y. 2004. Saponins from edible legumes: chemistry, processing, and health benefits. **J. Med. Food** 7:67–78. doi:10.1089/109662004322984734

SLIWINSKI, B. J. et al. Efficacy of plant extracts rich in secondary constituents to modify rumen fermentation. **Animal Feed Science and Technology**, v. 101, n. 1-4, p. 101-114, 2002. doi:10.1016/S0377-8401(02)00139-6.

SOUSA, O. A. et al. Productive and physiological responses of feeder cattle supplemented with *Yucca schidigera* extract during feedlot receiving. **Journal of animal science**, v. 97, n. 1, p. 208-219, 2019.

SPARG, S.G.; LIGHT, M. E.; VAN STADEN, J. Biological activities and distribution of plant saponins. **Journal of ethnopharmacology**, v. 94, n. 2-3, p. 219-243, 2004.

USDA. United States Department of Agriculture, 2020.

<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock_poultry.pdf> Acesso em jan/2021.

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

VASCONCELOS, J. T.; GALYEAN, M. L. ASAS Centennial Paper: Contributions in the Journal of Animal Science to understanding cattle metabolic and digestive disorders. **Journal of animal science**, v. 86, n. 7, p. 1711-1721, 2008.

WANG, Y. et al. In vitro effects of steroidal saponins from *Yucca schidigera* extract on rumen microbial protein synthesis and ruminal fermentation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n. 14, p. 2114-2122, 2000.

WANG, Y.; MAJAK, W.; MCALLISTER, T. A. Frothy bloat in ruminants: cause, occurrence, and mitigation strategies. **Animal feed science and technology**, v. 172, n. 1-2, p. 103-114, 2012.

WINA, E.; MUETZEL, S.; BECKER, K. The impact of saponins or saponin-containing plant materials on ruminant production A Review. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 53, n. 21, p. 8093-8105, 2005.

WILLIAMS, A. G.; COLEMAN, G. S. **The rumen protozoa**. In: The rumen microbial ecosystem. Springer, Dordrecht, 1997. p. 73-139.

WILLIAMS, ALAN G. Rumen holotrich ciliate protozoa. *Microbiological reviews*, v. 50, n. 1, p. 25, 1986.

CAPÍTULO 2

Suplementação com *Yucca schidigera* para mitigar a incidência de timpanismo espumoso em bovinos de corte alimentados com dieta de alto grão

Suplementação com *Yucca schidigera* para mitigar a incidência de timpanismo espumoso em bovinos de corte alimentados com dieta de alto grão

Resumo

Este experimento comparou a incidência de timpanismo espumoso, assim como as respostas fisiológicas ruminais e de desempenho de novilhas de corte recebendo uma dieta para induzir o timpanismo e suplementadas com extrato de *Yucca schidigera*. Dezesesseis novilhas canuladas Angus (Angus × Brahman) foram classificadas pelo peso corporal (**PC**) e distribuídas em 4 grupos de 4 novilhas cada. Os grupos foram alocados em um delineamento experimental de quadrado latino 4 × 4 replicado contendo 4 períodos de 28 dias e um intervalo (*washout*) de 21 dias entre os períodos. Os grupos foram designados para receber nenhum extrato de *Y. schidigera* (**CON**), ou extrato de *Y. schidigera* (Matéria natural) 1 g/novilha/dia (**YS1**), 2 g/novilha/dia (**YS2**) ou 4 g/novilha/dia (**YS4**). Durante cada período, as novilhas (n = 16/tratamento) foram alojadas em baias individuais e alimentadas com dieta para indução de timpanismo à base de sorgo (*Sorghum bicolor* L.) a 2% do seu PV. A dieta e os tratamentos foram fornecidos às novilhas individualmente, duas vezes ao dia, em proporções iguais (07h00 e 16h00). As novilhas foram avaliadas quanto ao escore de timpanismo (escala de 0 a 5, aumentando de acordo com a gravidade do timpanismo) 3 h após a alimentação matinal. Amostras de sangue foram coletadas nos dias 0, 7, 14, 21 e 28 às 0 h, 3, 6 e 9 h em relação à alimentação matinal. Amostras de fluido ruminal foram coletadas nos mesmos pontos de tempo nos dias 0 e 28. Contrastes ortogonais foram testados para determinar se a inclusão de extrato de *Y. schidigera* (0, 1, 2 ou 4 g/novilha/dia) produziu efeitos lineares ou quadráticos, e explorar um efeito geral da suplementação de extrato de *Y. schidigera* (CON vs. YS1 + YS2 + YS4). A viscosidade do fluido ruminal foi impactada quadraticamente pela inclusão do extrato de *Y. schidigera* (P = 0,02), sendo maior em YS1, seguido por YS2, e equivalente entre as novilhas CON e YS4. Novilhas recebendo extrato de *Y. schidigera* apresentaram maiores (P ≤ 0,05) concentrações de propionato, iso-valerato e valerato no rúmen, bem como menor (P <0,01) relação acetato: propionato em comparação com novilhas CON. A inclusão do extrato de *Y. schidigera* aumentou linearmente (P ≤ 0,04) o ganho médio diário e a eficiência alimentar. Nenhum outro efeito do tratamento foi observado (P ≥ 0,19), incluindo escore de timpanismo (1,07 ± 0,03 entre os tratamentos), contagem de protozoários ruminal, concentrações

plasmáticas de cortisol, haptoglobina, Nitrogênio ureico, proteína total e concentração ruminal de ácidos graxos voláteis totais. Suplementar extrato de *Y. schidigera* até 4 g/dia favoreceu as concentrações de propionato no rúmen e aumentou linearmente o crescimento e a eficiência alimentar, mas falhou em mitigar a incidência de timpanismo espumoso em novilhas de corte consumindo uma dieta para indução de timpanismo à base de grãos.

Palavras-chave: novilhas de corte, timpanismo espumoso, rúmen, fisiologia, extrato de *Yucca schidigera*

Supplementing *Yucca schidigera* extract to mitigate frothy bloat in beef cattle receiving a high-concentrate diet

Abstract

This experiment compared incidence of frothy bloat, as well as ruminal, physiological, and performance responses of beef heifers receiving a bloat-provoking diet and supplemented with *Yucca schidigera* extract. Sixteen ruminally-cannulated Angus-influenced heifers were ranked by body weight (**BW**) and assigned to 4 groups of 4 heifers each. Groups were enrolled in a replicated 4 × 4 Latin square design containing 4 periods of 28 d, and a 21-d washout interval between periods. Groups were assigned to receive no *Y. schidigera* extract (**CON**), or *Y. schidigera* extract at (as-fed basis) 1 g/heifer daily (**YS1**), 2 g/heifer daily (**YS2**), or 4 g/heifer daily (**YS4**). During each period, heifers (n = 16/treatment) were housed in individual pens, and fed a sorghum (*Sorghum bicolor* L.) -based bloat- provocative diet at 2% of their BW. Diet and treatments were individually fed to heifers, twice daily in equal proportions (0700 and 1600 h). Heifers were assessed for bloat score (0 to 5 scale, increasing according to bloat severity) 3 h after the morning feeding. Blood samples were collected on d 0, 7, 14, 21, and 28 prior to (0 h) and at 3, 6, and 9 h relative to the morning feeding. Rumen fluid samples were collected at the same time points on d 0 and 28. Orthogonal contrasts were tested to determine if inclusion of *Y. schidigera* extract (0, 1, 2, or 4 g/heifer daily) yielded linear or quadratic effects, and explore an overall effect of *Y. schidigera* extract supplementation (CON vs. YS1 + YS2 + YS4). Rumen fluid viscosity was impacted quadratically by *Y. schidigera* extract inclusion ($P = 0.02$), being greatest in YS1, followed by YS2, and equivalent between CON and YS4 heifers. Heifers receiving *Y. schidigera* extract had greater ($P \leq 0.05$) rumen propionate, iso-valerate, and valerate concentrations, as well as less ($P < 0.01$) acetate:propionate ratio compared with CON heifers. Inclusion of *Y. schidigera* extract linearly increased ($P \leq 0.04$) average daily gain and feed efficiency. No other treatment effects were noted ($P \geq 0.19$) including bloat score (1.07 ± 0.03 across treatments), ruminal protozoa count, plasma concentrations of cortisol, haptoglobin, urea N, total protein, and rumen concentration of total volatile fatty acids. Supplementing *Y. schidigera* extract up to 4 g/day favored rumen propionate concentrations and linearly increased growth and feed efficiency, but failed to mitigate incidence of frothy bloat in beef heifers consuming a grain-based bloat-provocative diet.

Keywords: Beef heifers, frothy bloat, rumen, physiology, *Yucca schidigera* extract.

1. Introdução

O timpanismo é um distúrbio digestivo comum em bovinos que são alimentados com dietas ricas em concentrado, resultando em acúmulo excessivo de gases e aumento da pressão no rúmen (Cheng et al., 1998). O timpanismo espumoso é o tipo predominante em bovinos alimentado com grãos, quando o gás excessivo aprisionado no conteúdo ruminal forma espuma e inibe a eructação (Meyer e Bryant, 2017). Este distúrbio raramente resulta em mortalidade animal, mas produz impactos econômicos no tratamento, prejudicando o desempenho animal (Nagaraja et al., 1998). Portanto, o manejo para prevenir ou amenizar a incidência de timpanismo espumoso é fundamental para o bem-estar e a produtividade de bovinos alimentados com dietas contendo alto teor de carboidratos fermentáveis (Meyer e Bryant, 2017).

O gerenciamento no fornecimento da ração, controle de qualidade dos ingredientes da dieta e adição de antibióticos para rações em dietas ricas em concentrados têm se mostrado benéficos na redução da incidência de timpanismo (Meyer e Bryant, 2017). Com o aumento da pressão pública e restrições quanto ao uso de antimicrobianos em ração para os sistemas pecuários (US Food and Drug Administration, 2015), alternativas nas estratégias de alimentação para prevenir distúrbios digestivos e de saúde em bovinos alimentados com grãos são asseguradas. Um exemplo é utilizar aditivos alimentares derivados de plantas, como o extrato de *Yucca schidigera* (Sousa et al., 2019).

Este aditivo demonstrou melhorar a fermentação ruminal, diminuindo a população de protozoários e bactérias, como *Streptococcus bovis* (Wallace et al., 1994), que estão associados à etiologia do timpanismo em bovinos alimentados com grãos (Cheng et al., 1998). Além disso, o extrato de *Y. schidigera* possui propriedades surfactantes naturais conhecidas por modular o timpanismo em bovinos (Clarke e Reid, 1972), embora os surfactantes tenham sido mais eficazes na prevenção do timpanismo de pastagens (Nagaraja et al., 1998; Meyer e Bryant, 2017).

Suplementar o extrato de *Y. schidigera* com 2 g/d (matéria natural) melhorou a digestibilidade ruminal *in situ* e o fluxo de N microbiano em novilhos alimentados com forragem (McMurphy et al., 2014a), bem como a eficiência alimentar e o ganho médio diário (**GMD**) na entrada de confinamento de bovinos de corte (Sousa et al., 2019). Esses últimos autores não relataram a incidência de timpanismo em seu estudo, e os

impactos do extrato de *Y. schidigera* no timpanismo em bovinos alimentados com dietas ricas em concentrado permanecem desconhecidos. Dietas que provocam timpanismo têm sido usadas para examinar aditivos alimentares com potencial para prevenir ou mitigar o timpanismo em bovinos alimentados com grãos contendo alto teor de carboidratos fermentáveis (Bartley et al., 1983).

Portanto, nossa hipótese ao suplementar o extrato de *Y. schidigera* irá diminuir a incidência de timpanismo espumoso em bovinos recebendo uma dieta para indução ao timpanismo à base de grãos. Para investigar esta hipótese, este experimento comparou a incidência e timpanismo espumoso, como respostas ruminais, fisiológicas e de desempenho de novilhas de corte recebendo uma dieta para indução de timpanismo e suplementadas com extrato de *Yucca schidigera*.

2. Material e métodos

Este experimento foi conduzido na Texas A&M - Nutrition & Physiology Center (College Station, TX). Todos os animais foram tratados de acordo com práticas aceitáveis e protocolos experimentais revisados e aprovados pela Texas A&M AgriLife Research, Agriculture Animal Care and Use Committee (#2018-0099).

2.1. Animais e tratamentos

Dezesseis novilhas canuladas, nulíparas, não prenhas, de raça Angus (Angus × Brahman), foram utilizadas neste experimento. O peso corporal cheio das novilhas foi registrado por três dias consecutivos antes do início do experimento, e a média foi calculada para representar o peso corporal pré-ensaio (**PC**; 224 ± 4 kg). As novilhas foram classificadas pelo PC pré-ensaio e distribuídas em 4 grupos contendo 4 novilhas em cada, de forma que todos os grupos tivessem PC equivalente antes do experimento. Os grupos foram alocados em um delineamento experimental de quadrado latino 4×4 contendo 4 períodos de 28 dias e um intervalo de “washout” de 21 dias entre os períodos. Durante cada período (dias 0 à 28), as novilhas foram alocadas em uma estrutura fechada contendo baias individuais (2×4 m) com acesso *ad libitum* a água e alimentadas com uma dieta para indução de timpanismo (Tabelas 1 e 2) a 2% de PC registrado no início de cada período (Bartley et al., 1983). A dieta foi fornecida diariamente (0700 h e 1600 h) em proporções iguais. Ao longo do intervalo de *washout*, as novilhas receberam água, feno picado e mistura mineral (Tabela 1) para consumo *ad libitum*, sendo mantidas como um único grupo em um piquete (20×20 m) durante os 14 dias iniciais do intervalo de *washout*, e retornaram

as baias individuais pelos 7 dias restantes. Deve-se notar que as dietas oferecidas neste experimento não continham ionóforos ou outros aditivos alimentares tradicionalmente usados para prevenir ou mitigar o timpanismo em bovinos (Meyer e Bryant, 2017).

No início de cada período (dia 0), os grupos foram atribuídos para receber 1 de 4 tratamentos: 1) sem suplementação de extrato de *Y. schidigera* (**CON**, n = 16), 2) suplementação de extrato de *Y. schidigera* contendo 1 g/novilha/dia (Matéria natural; **YS1**, n = 16), 3) extrato de *Y. schidigera* contendo 2 g/novilha/dia (Matéria natural; **YS2**, n = 16) ou 4) extrato de *Y. schidigera* contendo 4 g/novilha/dia (Matéria natural; **YS4**, n = 16). A dose adequada diária de extrato de *Y. schidigera* (Micro-Aid; DPI Global, Porterville, CA) foi misturada com grãos secos de destilaria (**DDG**) na dieta para formar os tratamentos YS1, YS2, YS4. As novilhas receberam metade de sua dose diária de extrato de *Y. schidigera* durante cada refeição do dia (50 g/novilha da mistura por refeição; Matéria natural). DDG sem *Y. schidigera* foi fornecido durante cada alimentação ao grupo de novilhas do tratamento CON (50 g/novilha da mistura por refeição; Matéria natural). As novilhas consumiram completamente suas dietas em um período de 8 horas.

Tabela 1. Perfil nutricional (com base na matéria seca) dos ingredientes da dieta oferecidos às novilhas.¹

Item ²	DDG	Feno	Pelete ³
Matéria seca, %	88,3	94,1	89,4
Proteína bruta, %	35,7	8,70	19,9
Fibra em detergente neutro, %	32,0	72,4	15,4
Fibra em detergente ácido, %	14,5	44,6	11,9
Amido, %	5,42	9,00	40,4
EL para manutenção, ⁴ Mcal/kg	2,18	0,990	2,04
EL para crescimento, ⁴ Mcal/kg	1,50	0,440	1,39
Ca, %	0,030	0,610	0,860
P, %	1,13	0,170	0,640
Mg, %	0,377	0,130	0,210
K, %	1,20	1,87	1,17
Na, %	0,197	0,064	0,418

Fe, mg/kg	95	221	325
Zn, mg/kg	76,3	30	106
Cu, mg/kg	5,67	8	36
Mn, mg/kg	19,7	72	79
Mo, mg/kg	1,13	1,30	1,40
Co, mg/kg	0,116	0,360	1,52
Se, mg/kg	0,833	0,070	0,540

¹ Durante cada período experimental (d 0 a 28), as novilhas receberam na dieta a 2% de seu peso corporal inicial contendo 75% de feno + 25% de pellet do d 0 a d 2, 50% de cada ingrediente do d 3 a d 5, 25% de feno e 75% de pellet do d 6 a d 8, 15% de feno e 85% de pellet do d 9 a d 11 e 100% de pellet de d 11 a d 28. DDG = grão de destilaria seco.

² Analisado por um laboratório comercial (Dairy One Forage Laboratory, Ithaca, NY). Os cálculos da energia líquida para manutenção e crescimento utilizaram as equações propostas pelo NRC (2000).

³ Contendo (matéria natural) 58,1% de grãos de sorgo triturado (*Sorghum bicolor* L.), 21,4% de feno de alfafa desidratado, 15,5% de farelo de soja, 2,5% de melação líquido, 2% de mistura mineral e 0,5% de aglutinante de pelete. A mistura de minerais continha 14% Ca, 7% P, 13% NaCl, 0,27% K, 0,4% Mg, 0,25% Cu, 0,003% Se, 0,99% Zn, 90,91 IU / kg de vitamina A, 9,09 IU / kg de vitamina D3 e 0,045 IU / kg de vitamina E (Purina Animal Nutrition, Shoreview, MN).

⁴ Calculado com as seguintes equações (NRC, 2000): Energia líquida para manutenção = $(1,37 \times EM) - (0,138 \times EM^2) + (0,0105 \times EM^3) - (1,12)$; Energia líquida para ganho = $(1,42 \times EM) - (0,174 \times EM^2) + (0,0122 \times EM^3) - (0,165)$; $EM = (0,82 \times ED)$; 1 kg de NDT= 4,4 Mcal de ED.

Dado que EM = energia metabolizável, ED = energia digestível, NDT = nutrientes digestíveis totais calculados com base em Weiss et al. (1992).

Tabela 2. Composição e perfil nutricional de dietas para indução de timpanismo oferecidas a novilhas durante um período experimental de 28 dias

Item	Dias do período experimental				
	0 à 2	3 à 5	6 à 8	9 à 11	11 à 28
Ingredientes, % (Matéria natural)					
Feno (picado)	75	50	25	15	0
Pelete ²	25	50	75	85	100
Perfil Nutricional ¹ (matéria seca)					
Matéria seca, %	92,9	91,8	90,6	90,1	89,4
Proteína bruta, %	11,4	14,1	17,0	18,1	19,9
Fibra em detergente neutro, %	58,7	44,6	30,2	24,3	15,4
Fibra em detergente ácido, %	36,7	28,7	20,4	17,0	11,9
Amido, %	16,6	24,3	32,2	35,5	40,4
EL para manutenção, Mcal/kg	1,24	1,50	1,77	1,88	2,04
EL para crescimento, Mcal/kg	0,669	0,902	1,143	1,241	1,39
Ca, %	0,670	0,731	0,795	0,821	0,860
P, %	0,283	0,399	0,518	0,566	0,640
Mg, %	0,149	0,169	0,189	0,197	0,210
K, %	1,70	1,53	1,35	1,28	1,17
Na, %	0,149	0,236	0,326	0,363	0,418
Fe, mg/kg	246	272	298	309	325
Zn, mg/kg	48,3	67,0	86,2	94,1	106
Cu, mg/kg	14,7	21,6	28,7	31,6	36
Mn, mg/kg	73,7	75,4	77,2	77,9	79
Mo, mg/kg	1,32	1,35	1,37	1,38	1,40
Co, mg/kg	0,639	0,925	1,218	1,338	1,52
Se, mg/kg	0,183	0,299	0,418	0,466	0,540

¹ Contendo (material natural) 58,1% de grãos de sorgo triturado (*Sorghum bicolor* L.), 21,4% de feno de alfafa desidratado, 15,5% de farelo de soja, 2,5% de melaço líquido, 2% de mistura mineral e 0,5% de aglutinante de pellet. A mistura de minerais continha 14% Ca, 7% P, 13% NaCl, 0,27% K, 0,4% Mg, 0,25% Cu, 0,003% Se, 0,99% Zn, 90,91 IU / kg de vitamina A, 9,09 IU / kg de vitamina D3 e 0,045 IU / kg de vitamina E (Purina Animal Nutrition, Shoreview, MN).

² Analisado por meio de procedimentos de teor de umidade por um laboratório comercial (Dairy One Forage Laboratory, Ithaca, NY). Os cálculos da energia líquida para manutenção e crescimento utilizaram as equações propostas pelo NRC (2000).

³ Calculado com as seguintes equações (NRC, 2000): Energia líquida para manutenção = $(1,37 \times EM) - (0,138 \times EM^2) + (0,0105 \times EM^3) - (1,12)$; Energia líquida para ganho = $(1,42 \times EM) - (0,174 \times EM^2) + (0,0122 \times EM^3) - (0,165)$; $EM = (0,82 \times ED)$; 1 kg de NDT = 4,4 Mcal de DE.

Dado que EM = energia metabolizável, ED = energia digestível, NDT = nutrientes digestíveis totais calculados com base em Weiss et al. (1992).

2.2. Amostragem

Amostras dos ingredientes da dieta foram coletadas antes do início de cada período, agrupadas e analisadas quanto ao teor de nutrientes por um laboratório comercial (Dairy One Forage Laboratory, Ithaca, NY). Foi coletado PC cheio das novilhas nos dias -3, -2 e -1 em relação ao início de cada período como média do peso corporal inicial. O PC final foi calculado pela média do peso corporal das novilhas nos dias 28, 29 e 30 em relação ao início de cada período. Escore de timpanismo espumoso foi avaliado diariamente (dia 0 a 28) nas novilhas 3 horas após o fornecimento da dieta matinal (Bartley et al., 1983; Neibarger e Nagaraja, 1988; Coe et al., 1996) de acordo com Bartley (1965):

- 0 = sem espuma e sem distensão abdominal;
- 1 = espuma leve, mas sem pressão ou distensão abdominal;
- 2 = espuma definida com pressão suficiente para expelir, mas sem distensão abdominal;
- 3 = espuma definitiva com pressão suficiente para causar distensão abdominal do lado esquerdo;
- 4 = espuma definitiva com pressão suficiente para causar distensão abdominal do lado esquerdo e direito;
- 5 = espuma definitiva, distensão abdominal grave, animal em sofrimento severo, terminal a menos que a pressão seja aliviada pela abertura da tampa da cânula.

As novilhas não receberam nenhum tratamento adicional se diagnosticadas com timpanismo, independentemente do escore atribuído.

Amostras de sangue foram coletadas de todas as novilhas nos dias 0, 7, 14, 21 e 28 de cada período, antes (0 h) e às 3, 6 e 9 h em relação à dieta matinal fornecida (0700 h). O sangue foi coletado através de punção da veia jugular em tubos de coleta de sangue comerciais (Vacutainer, 10 mL; Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ) contendo heparina sódica liofilizada. Amostras de pelo foram coletadas da cauda de todas as novilhas (Schubach et al., 2017), simultaneamente com a coleta de sangue antes da alimentação (0700 h). O pelo foi coletado em uma área que não havia sido retirado anteriormente. Em seguida foi cortado com uma tesoura o mais próximo possível da pele com aproximadamente 1 cm de comprimento e 100 mg de peso.

Amostras de rúmen foram coletadas via cânula ruminal de todas as novilhas nos dias 0 e 28 de cada período, imediatamente antes (0 h) e às 3, 6 e 9 h em relação à dieta matinal fornecida (0700 h). O conteúdo ruminal total foi extraído como em Cagle et al. (2020) usando uma peneira de sucção. O pH ruminal também foi medido imediatamente após a coleta (medidor de pH Orion STAR A221, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA). Amostras de rúmen (aproximadamente 200 mL) foram coadas em 8 camadas de pano de algodão para extração de fluido, que foi armazenado em garrafas térmicas de aço inoxidável individuais para manter a temperatura e um ambiente anaeróbico, em seguida foram transportadas para o laboratório para o processamento destas amostras.

2.2.1. Análises laboratoriais

Amostras dos ingredientes da ração.

As amostras foram analisadas por procedimentos químicos de teor de umidade para concentrações de proteína bruta (método 984.13; AOAC, 2006), fibra em detergente ácido (método 973.18 modificado para uso em um analisador de fibra Ankom 200, Ankom Technology Corp., Fairport, NY; AOAC, 2006), fibra de detergente neutro usando α -amilase e sulfito de sódio (Van Soest et al., 1991; modificado para uso em um analisador de fibra Ankom 200, Ankom Technology Corp.), amido (YSI 2700 SELECT Biochemistry Analyzer; YSI Inc., Yellow Springs, OH), macro e micro minerais utilizando uma espectroscopia de emissão de plasma acoplada indutivamente (Sirois et al., 1991), e Se (método 996.16; AOAC, 2006). As equações usadas para calcular energia líquida de manutenção (**ELm**), energia líquida de ganho (**ELg**) e o perfil nutricional dos ingredientes da dieta estão descritas na Tabela 1.

Amostras de plasma e pelo.

As amostras de sangue foram alocadas imediatamente em gelo após a coleta, centrifugadas ($2.500 \times g$ por 30 min; $4^\circ C$) para o plasma sanguíneo e estocadas a $-80^\circ C$ no mesmo dia da coleta. Todas as amostras foram analisadas para cortisol (kit de radioimunoensaio nº 07221106, MP Biomedicals, Santa Ana, CA; Colombo et al., 2019) e haptoglobina (Cooke e Arthington, 2013). As amostras de plasma coletadas nos dias 0, 14 e 28 foram analisadas quanto à Nitrogênio Ureico Plasmático (**NUP**) e proteína total (Carysta High Volume Chemistry Analyzer; Zoetis). Os Coeficientes de variação (CV) intra e inter ensaios foram, respectivamente, 3,9 e 4,4% para o cortisol, 5,3 e 7,2% para a haptoglobina, 2,1 e 2,3% para a proteína total e 1,7 e 2,3% para o NUP. O cortisol foi extraído de amostras do pelo e analisado como em Schubach et al. (2020). Os CV intra e inter ensaio para cortisol do pelo foram, respectivamente, 7,7 e 8,9%, respectivamente.

Amostras de rúmen.

Uma subamostra de 5 mL de cada amostra de fluido ruminal foi transferida para tubos falcon individuais contendo 1 mL de ácido metafosfórico e armazenada a $-20^\circ C$ no mesmo dia da coleta. Essas amostras foram processadas e analisadas quanto ao perfil de ácidos graxos voláteis (AGV), conforme descrito por Cappellozza et al. (2013). Uma segunda subamostra de 10 mL de cada amostra de fluido ruminal foi analisada quanto à viscosidade, utilizando SV-10 / SV-100 Vibro Viscometer (A&D Company Ltd.; Tóquio, Japão) como em Pitta et al., (2016). Uma terceira subamostra de fluido ruminal foi analisada para contagens de protozoários, conforme descrito por Cagle et al. (2020) utilizando uma Câmara de contagem Sedgewick Rafter (Hausser Scientific, Horsham, PA).

2.3. Análises estatística

A novilha foi considerada a unidade experimental para todas as análises. Todos os dados foram analisados com o procedimento MIXED do SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC), utilizando a aproximação de Satterthwaite para determinar os graus de liberdade do denominador para testes de efeitos fixos, e novilha (grupo) e grupo como variáveis aleatórias. O modelo usado para a novilha em PC, GMD e eficiência alimentar continha os efeitos do tratamento e do período. O modelo usado para ingestão de

alimento, escore de timpanismo e concentrações de cortisol no pelo continha os efeitos do tratamento, dia, a interação do tratamento x dia e período como variável independente. O termo especificado para essas medidas repetidas foi dia, com novilha (grupo x tratamento x período) como sujeito, e autorregressivo como estrutura de covariância com base no critério de informação de Akaike. O modelo usado para todas as variáveis de plasma e fluido ruminal continha os efeitos do tratamento, dia, hora, todas as interações resultantes e período como uma variável independente. O termo especificado para essas medidas repetidas foi hora, com novilha (grupo x tratamento x período x dia) como sujeito, e autoregressiva como estrutura de covariância com base no critério de informação de Akaike. Os resultados das variáveis do plasma, fluido ruminal e cortisol do pelo a partir do d 0 foram calculados e usados como covariável independente em cada análise, respectivamente. Todos os resultados foram relatados como médias de mínimos quadrados, ou médias de mínimos quadrados covariavelmente ajustados quando o modelo continha variáveis independentes e separados usando diferenças de mínimos quadrados. A significância foi determinada se $P \leq 0,05$ e as tendências se $P > 0,05$ e $\leq 0,10$. Contrastes ortogonais foram testados para determinar se a inclusão de extrato de *Y. schidigera* (0, 1, 2 ou 4 g/novilha/dia) produziu efeitos lineares ou quadráticos e para explorar o efeito geral da suplementação de extrato de *Y. schidigera* (CON vs. YS1 + YS2 + YS4). Os coeficientes de contraste foram gerados usando o procedimento IML do SAS (SAS Inst. Inc.). Os contrastes descritos acima foram escolhidos devido à sua relevância para nossa hipótese, e limitados a três contrastes, pois quatro tratamentos experimentais foram investigados (Kaps e Lamberson. 2017). Se vários contrastes forem significativos ($P \leq 0,05$), o contraste com o maior valor F e o menor valor P foi discutido.

3. Resultados

O escore de timpanismo e a incidência de cada escore individual durante o experimento não foram afetadas pelos tratamentos ($P \geq 0,15$; Tabela 3). O escore de timpanismo aumentou entre os tratamentos com o avanço de cada período experimental (efeito do dia, $P < 0,01$; Figura 2). O pH ruminal e a contagem de protozoários ruminais (Tabela 4) também não foram afetados pelos tratamentos ($P \geq 0,39$; Tabela 4). Viscosidade do líquido ruminal foi quadraticamente afetada pela

inclusão do extrato de *Y. schidigera* ($P = 0,02$), sendo maior nas novilhas YS1, seguida pelas novilhas YS2, e equivalente entre as novilhas CON e YS4 (Tabela 4). Efeitos de dia e hora, bem como interações dia \times hora foram detectados ($P \leq 0,05$) para esses parâmetros e são descritos na Figura 3.

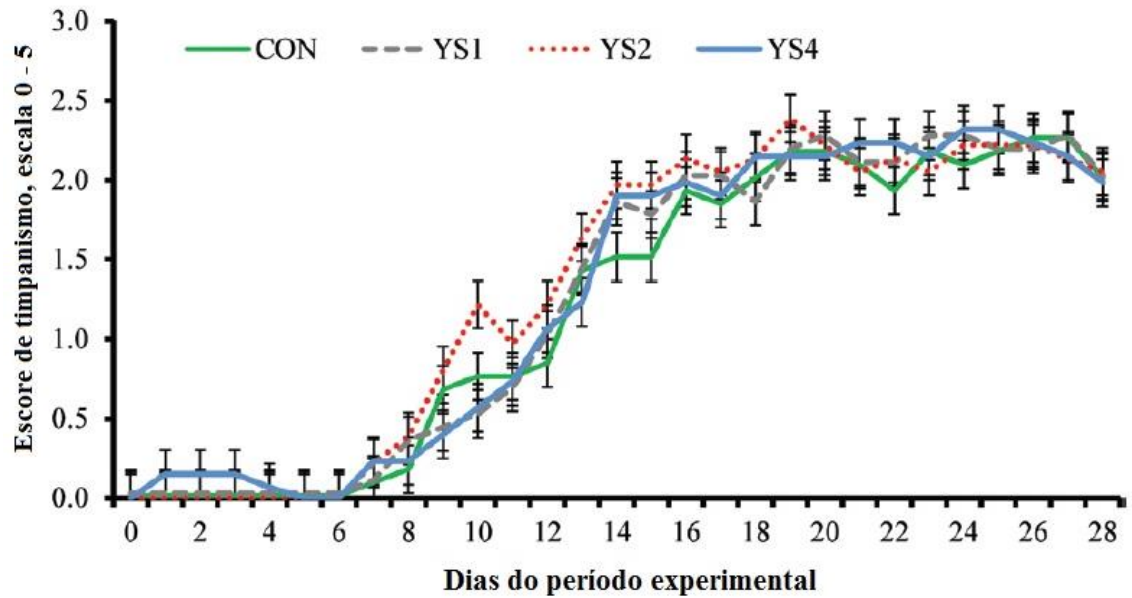


Figura 2: Escore de timpanismo em novilhas canuladas recebendo uma dieta com indução de timpanismo e suplementadas ou não com diferentes níveis de extrato de *Yucca schidigera* sob desafio de timpanismo

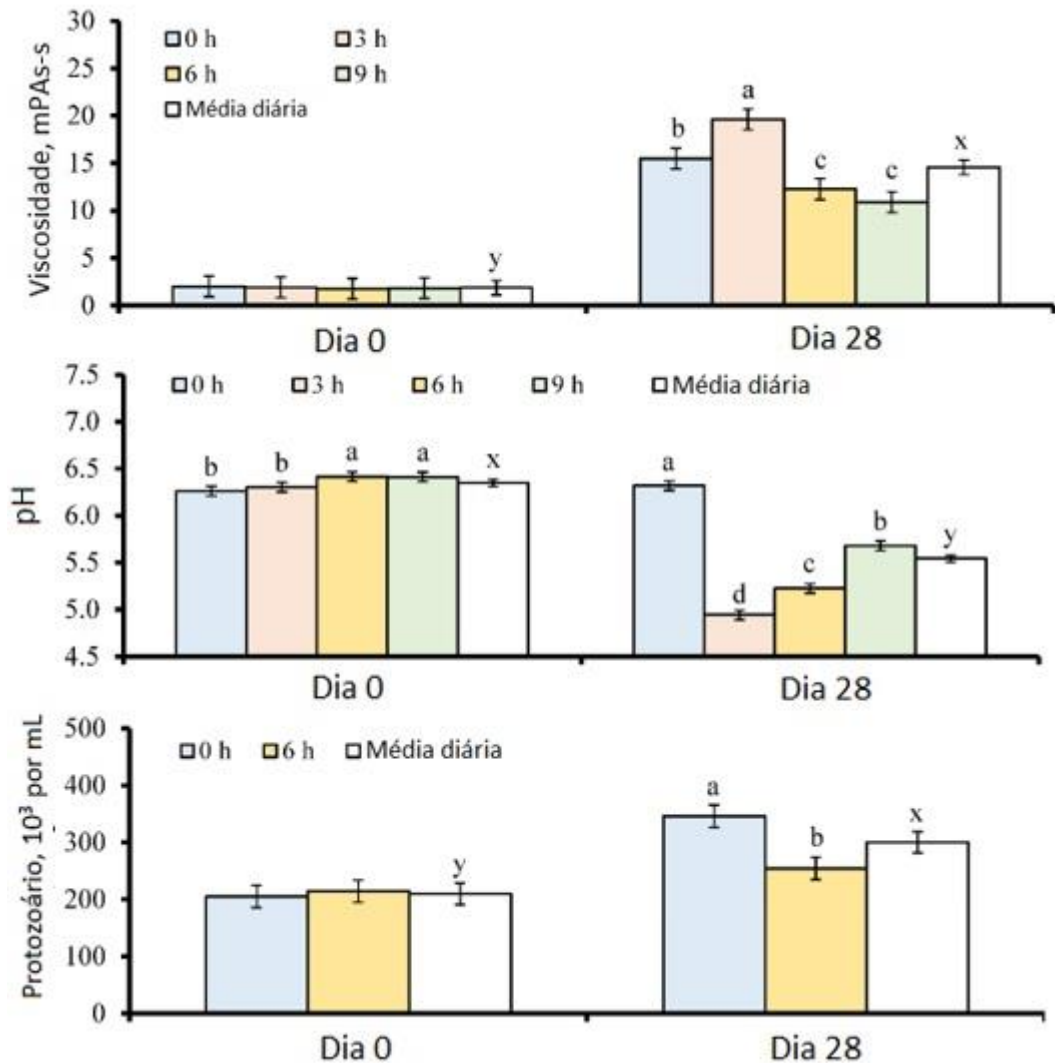


Figura 3: Efeitos de dia e hora para os parâmetros de pH ruminal, contagem de protozoários ruminais e viscosidade do fluido ruminal

As concentrações no fluido ruminal de acetato, butirato, isobutirato e AGV total não foram afetadas ($P \geq 0,12$) pelos tratamentos (Tabela 4). Novilhas recebendo extrato de *Y. schidigera* apresentaram maiores ($P \leq 0,05$) concentrações ruminais de propionato, iso-valerato e valerato, bem como menor ($P < 0,01$) relação acetato: propionato comparado com novilhas CON (Tabela 4). Os efeitos de dia e hora, bem como as interações dia \times hora, foram detectados ($P \leq 0,05$) para as respostas de AGV são descritas na Figura 4.

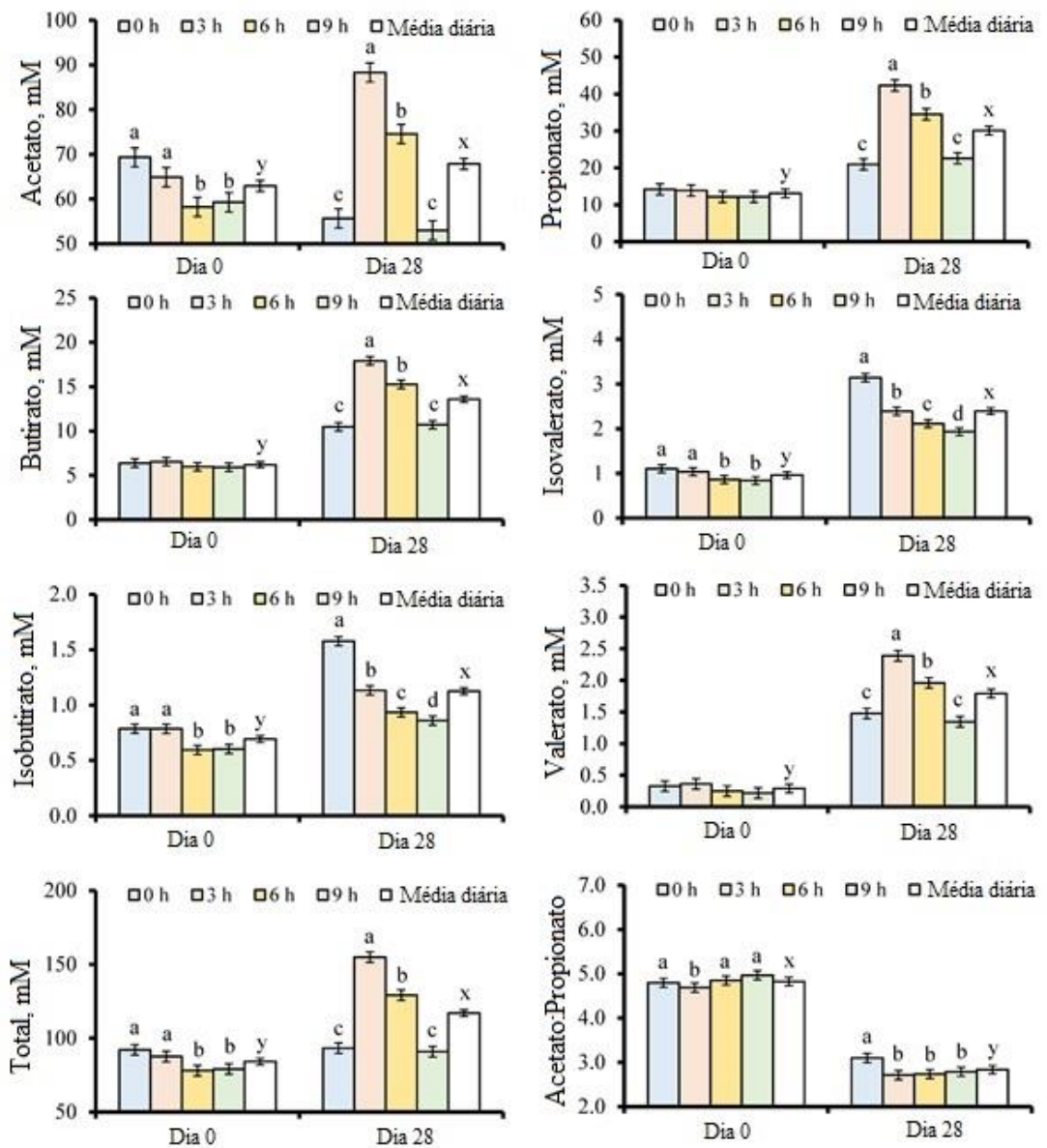


Figura 4: Efeitos de dia e hora para as respostas de AGV

As concentrações plasmáticas de cortisol, haptoglobina, NUP, proteína total e concentrações de cortisol no pelo não foram afetadas ($P \geq 0,20$) pelos tratamentos (Tabela 5). Efeitos de dia e hora, bem como interações dia \times hora também foram detectados ($P \leq 0,05$) para essas variáveis e estão descritos na Figura 5. O PC das novilhas durante o experimento não foi afetado ($P \geq 0,24$) pelos tratamentos (Tabela 6). No entanto, a inclusão do extrato de *Y. schidigera* aumentou linearmente ($P \leq 0,04$)

o GMD das novilhas e a eficiência alimentar (Tabela 6).

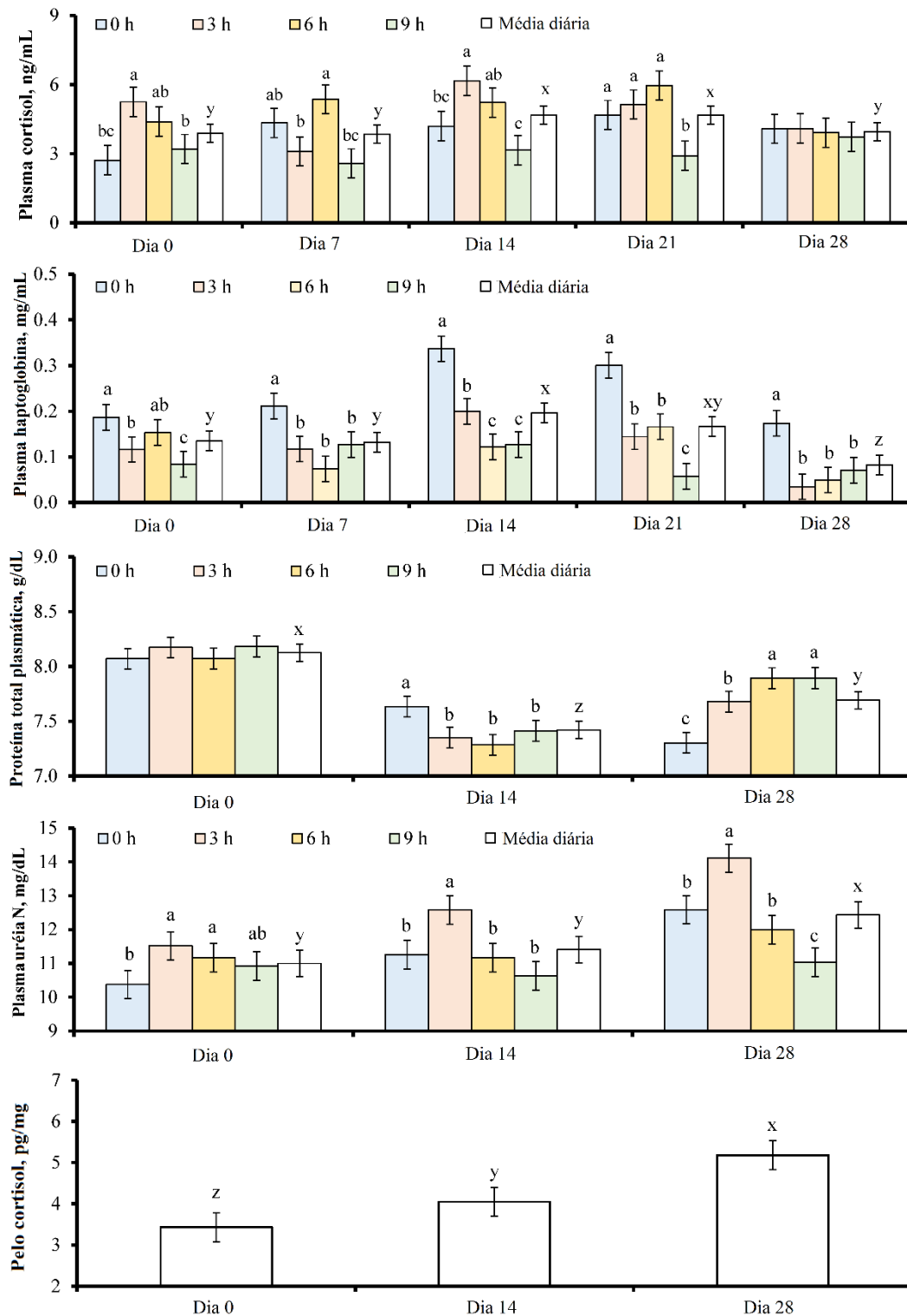


Figura 5: Efeitos de dia e hora para as respostas das concentrações plasmáticas de cortisol, haptoglobina, NUP, proteína total e concentrações de cortisol no pelo

Tabela 3. Escore de timpanismo em novilhas canuladas recebendo uma dieta para indução de timpanismo e suplementadas ou não com diferentes níveis do extrato de *Yucca schidigera* sob desafio de timpanismo

Item	CON	YS1	YS2	YS4	EPM	Contrastes (Valor de P) ²		
						M inclusão	Linear	Quadrático
Média de escore de timpanismo	1,21	1,25	1,32	1,27	0,08	0,20	0,38	0,19
Escore 0, %	38,1	39,3	33,1	36,0	2,81	0,52	0,38	0,44
Escore 1, %	11,0	8,83	12,8	9,91	1,89	0,79	0,93	0,60
Escore 2, %	42,0	42,5	42,3	45,8	3,77	0,63	0,31	0,70
Escore 3, %	8,51	7,95	11,1	8,36	3,38	0,71	0,87	0,29
Escore 4, %	0,392	2,07	0,076	0,00	0,621	0,60	0,15	0,15

¹ As novilhas foram distribuídas em um delineamento de quadrado latino 4 × 4, contendo 4 períodos de 28 dias cada e um intervalo de *washout* de 21 dias entre os períodos. As novilhas receberam dietas com 2% de seu peso corporal inicial (matéria natural) e consumiram completamente suas dietas em um período de 8 horas. A eficiência alimentar foi calculada usando o ganho de peso corporal total e o consumo total de ração de cada novilha em cada período. Escore de timpanismo foi avaliado diariamente 3 h após a alimentação matinal

²Contrastes ortogonais foram testados para determinar um efeito geral da suplementação de extrato de *Y. schidigera* (inclusão de M; CON vs. YS1 + YS2 + YS4) e se a inclusão de extrato de *Y. schidigera* (0, 1, 2 ou 4 g/novilha/dia) produziu efeitos lineares de quadráticos.

Tabela 4. Parâmetros ruminiais de novilhas canuladas recebendo dieta para indução de timpanismo e suplementadas ou não com diferentes níveis do extrato de *Yucca schidigera* sob desafio de timpanismo ^{1,2}

Item	CON	YS1	YS2	YS4	EPM	Contrastes (Valor de P) ³		
						M inclusão	Linear	Quadrático
pH Ruminal	55,8	5,62	5,51	5,53	0,074	0,72	0,39	0,88
Contagem de protozoários, 1000 por mL	257	255	268	280	29	0,84	0,50	0,92
Viscosidade do fluido ruminal, mPa.s.	13,0	17,3	15,6	12,3	1,8	0,23	0,32	0,02
AGV rúmen, mM								
Acetato	66,6	67,3	64,2	66,8	2,3	0,83	0,90	0,54
Propionato	25,1	31,9	31,8	31,3	2,4	0,01	0,10	0,09
Butirato	13,0	13,8	13,3	13,6	0,7	0,53	0,74	0,80
Isovalerato	2,12	2,48	2,48	2,60	0,16	0,03	0,05	0,32
Isobutirato	1,06	1,19	1,10	1,19	0,05	0,12	0,16	0,85
Valerato	1,61	1,97	1,86	1,76	0,13	0,05	0,72	0,06
Relação Acetato:propionato	3,18	2,73	2,57	2,63	0,18	< 0,01	0,04	0,04
Total	110	119	115	117	4	0,13	0,37	0,44

¹ As novilhas foram designadas a um delineamento de quadrado latino 4 × 4, contendo 4 períodos de 28 dias cada e um intervalo de *washout* de 14 dias entre os períodos. As novilhas receberam uma dieta indutora de timpanismo a 2% do peso corporal por dia, que foi alimentada duas vezes ao dia (07h00 e 16h00) em proporções iguais.

² Amostras de fluido ruminal (50 mL) foram coletadas nos dias 0 e 28 de cada período experimental, imediatamente antes (0 h) e aos 3, 6 e 9 h em relação à alimentação matinal (0700 h). O pH ruminal foi medido usando um medidor de pH concomitantemente com a amostragem do fluido ruminal. Amostras de fluido ruminal coletadas em 0 h e 6 h foram analisadas para avaliação de viscosidade (Pitta et al., 2016) e contagem de protozoários (Caigle et al., 2020), enquanto todas as amostras foram analisadas quanto ao perfil de ácidos graxos voláteis (Cappellozza et al., 2013). Os resultados obtidos em d 0 foram calculados e usados como covariável independente em cada análise respectiva.

³ Contrastes ortogonais foram testados para determinar um efeito geral da suplementação de extrato de *Y. schidigera* (inclusão de M; CON vs. YS1 + YS2 + YS4) e se a inclusão de extrato de *Y. schidigera* (0, 1, 2 ou 4 g/novilha/dia) gerou efeitos lineares de quadráticos.

Tabela 5. Respostas fisiológicas de novilhas canuladas recebendo uma dieta para indução de timpanismo e suplementadas ou não com diferentes níveis do extrato de *Yucca schidigera* sob desafio de timpanismo ^{1,2}

Item	CON	YS1	YS2	YS4	SEM	Contrastes (Valor de P) ³		
						M inclusão	Linear	Quadrático
Cortisol plasmático, ng/mL	4,75	5,01	4,33	4,44	0,39	0,61	0,20	0,81
Haptoglobina plasmática, mg/mL	0,261	0,239	0,273	0,199	0,037	0,49	0,18	0,40
Nitrogênio da uréia plasmática, mg/dL	11,8	12,1	11,5	12,3	0,4	0,59	0,34	0,38
Proteína total do plasma, g/dL	7,53	7,62	7,50	7,59	0,06	0,59	0,76	0,74
Cortisol no pelo, pg/mg	4,81	4,36	4,68	4,59	0,32	0,46	0,83	0,66

¹ As novilhas foram designadas a um delineamento de quadrado latino 4 × 4, contendo 4 períodos de 28 dias cada e um intervalo de *washout* de 21 dias entre os períodos. As novilhas receberam uma dieta indutora de timpanismo a 2% do peso corporal por dia, alimentadas duas vezes ao dia (07h00 e 16h00) em proporções iguais.

² Amostras de sangue foram coletadas de novilhas nos dias 0, 7, 14, 21 e 28 de cada período experimental, imediatamente antes (0 h) e aos 3, 6 e 9 h em relação à alimentação matinal (0700 h). Amostras de cabelo foram coletadas da cauda como em Schubach et al. (2017) às 0700h nos dias 0, 14 e 28 de cada período experimental. Os resultados obtidos em d 0 foram usados como covariável independente em cada análise respectiva.

³ Contrastes ortogonais foram testados para determinar um efeito geral da suplementação de extrato de *Y. schidigera* (inclusão de M; CON vs. YS1 + YS2 + YS4) e se a inclusão de extrato de *Y. schidigera* (0, 1, 2 ou 4 g/novilha/dia) gerou efeitos lineares de quadráticos.

Tabela 6. Parâmetros de desempenho de novilhas canuladas recebendo uma dieta para indução de timpanismo e suplementadas ou não com diferentes níveis do extrato de *Yucca schidigera* sob desafio de timpanismo ^{1,2}

Item	CON	YS1	YS2	YS4	SEM	Contrastes (Valor de P) ³		
						M inclusão	Linear	Quadrático
Peso corporal inicial, kg	257,4	257,4	258,2	255,6	4,7	0,86	0,40	0,42
Peso corporal final, kg	266,5	267,6	269,5	268,2	5,2	0,24	0,38	0,27
Média do ganho diário, kg/dia	0,324	0,363	0,420	0,452	0,052	0,08	0,04	0,66
Consumo alimentar, kg/dia	5,15	5,15	5,17	5,11	0,094	0,84	0,39	0,41
Eficiência alimentar, kg/kg	0,064	0,070	0,084	0,091	0,010	0,10	0,04	0,71

¹ As novilhas foram distribuídas em um delineamento de quadrado latino 4 × 4, contendo 4 períodos de 28 dias cada e um intervalo de *washout* de 21 dias entre os períodos. As novilhas receberam dietas com 2% de seu peso corporal inicial (matéria natural) e consumiram completamente suas dietas em um período de 8 horas. A eficiência alimentar foi calculada usando o ganho de peso corporal total e o consumo total de ração de cada novilha em cada período.

² O peso corporal das novilhas foi registrado nos dias -3, -2 e -1 em relação ao início de cada período experimental e a média do peso corporal inicial. O peso corporal final foi calculado pela média do peso corporal da novilha nos dias 28, 29 e 30 em relação ao início de cada período experimental.

³ Contrastes ortogonais foram testados para determinar um efeito geral da suplementação de extrato de *Y. schidigera* (inclusão de M; CON vs. YS1 + YS2 + YS4) e se a inclusão de extrato de *Y. schidigera* (0, 1, 2 ou 4 g/novilha/dia) gerou efeitos lineares de quadráticos.

4. Discussão

O modelo experimental e a dieta para indução de timpanismo usados neste experimento foram bem-sucedidos em induzir o timpanismo espumoso, pelo fato do aumento do escore observado nas novilhas ao longo dos tratamentos conforme o período experimental avançava. Nenhuma incidência de timpanismo extremo (por exemplo, escore 5) e apenas alguns casos de timpanismo com escore 4 foram observados (Tabela 3), sendo de acordo com pesquisas anteriores que usaram uma dieta semelhante e relataram também a indução de timpanismo sem casos extremos (Bartley et al., 1983; Neibarger e Nagaraja, 1988; Coe et al., 1996). Contrariando à nossa hipótese, a suplementação com extrato de *Y. schidigera* falhou em mitigar o timpanismo espumoso em bovinos que receberam uma dieta para indução de timpanismo à base de grãos contendo alto teor de carboidratos fermentáveis. Apesar de suas propriedades surfactantes e impactos potenciais na redução do timpanismo (Cheng et al., 1998; Nagaraja et al., 1998), o extrato de *Y. schidigera* também contém aproximadamente 18% de saponinas (Singer et al., 2008) que produzem um efeito espumante (Cheeke, 2000). A formação de espuma e o subsequente timpanismo nos bovinos estão positivamente associados à viscosidade do fluido ruminal (Cheng et al., 1998; Pitta et al., 2016).

A viscosidade do fluido ruminal foi maior nas novilhas YS1, seguida pelas novilhas YS2, e equivalente entre as novilhas CON e YS4. A razão pela qual a viscosidade do fluido ruminal diminuiu de acordo com a inclusão dietética do extrato de *Y. schidigera* é desconhecida e merece investigação. Essas diferenças não foram suficientes para aumentar a incidência de timpanismo em novilhas YS1 e YS2. No entanto, a viscosidade do fluido ruminal aumentou com o avanço do experimento (dia 0 vs. dia 28) e com a alimentação da dieta para indução de timpanismo, corroborando que a incidência de timpanismo e a viscosidade do fluido ruminal estão positivamente associadas (Pitta et al., 2016).

A inclusão do extrato de *Y. schidigera* também não afetou o pH ruminal e a contagem de protozoários em novilhas que receberam a dieta para indução de timpanismo. Como esperado, o pH ruminal diminuiu com o avanço do experimento e alimentação entre os tratamentos (Cheng et al., 1998; Nagaraja et al., 1998). A contagem de protozoários aumentou ao longo do experimento e

diminuiu 6 horas após o fornecimento da dieta entre os tratamentos. Dado seu alto teor de grãos e capacidade fermentativa, a dieta para indução de timpanismo favoreceu a proliferação de protozoários no rúmen (Williams e Coleman, 1997). Embora seu envolvimento no timpanismo em confinamento não seja totalmente conhecido (Cheng et al., 1998), os protozoários são conhecidos por ingerir cloroplastos de plantas que contém lipídios antiespumantes (Oxford, 1958; Mangan, 1959), enquanto o conteúdo celular de protozoários estoura devido o armazenamento excessivo de amido, contribuindo também para a formação de espuma ruminal (Clarke, 1965; Jones e Lyttleton, 1972). Suportando nossas descobertas, McMurphy et al. (2014a) relataram redução do pH ruminal e aumento das concentrações de protozoários ruminais em novilhos alimentados com forragem suplementados com caroço de algodão e farelo de trigo em comparação com novilhos não suplementados. Esses autores também relataram que a inclusão de extrato de *Y. schidigera* no suplemento (1 ou 2 g/dia) falhou no impacto do pH ruminal, mas reduziu a concentração de protozoários em comparação com novilhos que não receberam suplemento de extrato de *Y. schidigera*. Hristov et al. (1999) suplementaram pó de *Y. schidigera* para novilhas de corte recebendo dieta à base de grãos e relataram que o pH ruminal não foi alterado, enquanto a contagem de protozoários diminuiu em novilhas suplementadas. As saponinas contidas no extrato de *Y. schidigera* reagem com o colesterol da membrana celular do protozoário para estimular sua quebra (Cheeke, 2000). Talvez a dieta para indução de timpanismo usada neste experimento tenha favorecido a proliferação de protozoários ruminais e alterado o ambiente ruminal a um ponto que anulou os efeitos antiprotozoários do extrato de *Y. schidigera*. Por sua vez, Sliwinski et al. (2002) relataram que a contagem de protozoários do rúmen não foi alterada pela inclusão de extrato de *Y. schidigera* em fermentadores ruminais contendo uma dieta à base de silagem de capim. Pesquisas ainda são necessárias para determinar os impactos do extrato de *Y. schidigera* na população de protozoários ruminais em bovinos de corte recebendo dietas à base de forragem ou à base de grãos e dietas que induzem timpanismo.

O perfil ruminal de AGV também foi alterado pela inclusão do extrato de *Y. schidigera* independentemente do nível, favorecendo propionato, iso-valerato, valerato e diminuindo a relação acetato:propionato. Da mesma forma,

Holtshausen et al. (2009) relataram que a inclusão de pó de *Y. schidigera* em culturas ruminais de 24 horas in vitro aumentou as concentrações de propionato e valerato, diminuiu a relação acetato: propionato e não alterou a concentração total de AGV.

Hristov et al. (1999) também relataram maiores concentrações de propionato, similares de acetato e AGV total, além de redução da proporção acetato: propionato em novilhas de corte recebendo dieta à base de grãos e suplementadas com pó de *Y. schidigera*. Esses resultados foram atribuídos principalmente aos efeitos antiprotozoários de *Y. schidigera*, uma vez que os protozoários ruminais competem por nutrientes e hidrogênio com bactérias produtoras de propionato (Williams e Coleman, 1997).

No entanto, *Y. schidigera* também demonstrou inibir o crescimento de espécies bacterianas do rúmen não envolvidas na síntese de propionato, como *S. bovis* e *Butyrivibrio fibrisolvens* (Wallace et al., 1994), facilitando a proliferação de bactérias produtoras de propionato (Hristov et al., 1999). Este último raciocínio corrobora com os resultados deste experimento, uma vez que a inclusão do extrato de *Y. schidigera* aumentou as concentrações de propionato no rúmen sem reduzir a contagem de protozoários no rúmen. Os impactos de *Y. schidigera* na síntese de valerato têm sido variáveis (Hristov et al., 1999; Santoso et al., 2004; Holtshausen et al., 2009), enquanto que a concentração de iso-valerato aumentou, observada neste experimento, podem estar associadas com aumento fermentação de proteína ruminal a partir da suplementação de *Y. schidigera* (Dijkstra, 1994; Santos et al., 2004). Entre os tratamentos, as concentrações de todos os AGV aumentaram e a relação acetato: propionato diminuiu com o avanço do experimento (d 0 vs. d 28) e após a alimentação, o que era esperado dada a composição à dieta base de grãos para indução de timpanismo (NASEM, 2016). Os efeitos das horas relatados neste experimento representam o perfil de AGV ruminal esperado após a alimentação de uma dieta à base de forragem (d 0) ou dieta à base de grãos (d 28; NASEM, 2016).

O timpanismo pode produzir estresse agudo e crônico em bovinos, de acordo com sua gravidade (Lippke et al., 1972), que por sua vez eliciam respostas de fase aguda e inflamatória (Cooke, 2017). Por essas razões, as concentrações de cortisol (pelo e plasma) e haptoglobina (plasma) foram avaliadas para determinar se o extrato de *Y. schidigera* impactaria como

respostas para aliviar a incidência de timpanismo. As concentrações de cortisol e haptoglobina não foram afetadas pela inclusão do extrato de *Y. schidigera* na dieta provocadora de timpanismo, corroborando com os resultados de escore de timpanismo. Entre os tratamentos, as concentrações plasmáticas de haptoglobina e cortisol aumentaram até o dia 14 do período experimental, mas voltaram aos níveis basais no dia 28, sugerindo que as novilhas sofreram respostas adrenocorticais transitórias e de fase aguda (Cooke, 2017). Os efeitos das horas foram variáveis para o cortisol plasmático, mas mostram que as concentrações plasmáticas de haptoglobina diminuíram após a alimentação, o que, até onde sabemos, não foi relatado antes e fornece uma nova visão sobre a resposta da haptoglobina em bovinos. As concentrações de cortisol no pelo têm sido usadas como biomarcador de estresse crônico em bovinos (Schubach et al., 2020), e aumentaram com o avanço do experimento entre os tratamentos. Este resultado pode estar associado à incidência de timpanismo e ao aumento do estresse crônico, mas também ao confinamento das novilhas em baias individuais (Schubach et al., 2017). No entanto, os impactos do timpanismo nas respostas fisiológicas e inflamatórias induzidas pelo estresse merecem consideração, particularmente devido ao papel dessas respostas na imunocompetência de bovinos (Cooke, 2017).

Suplementar *Y. schidigera* em bovinos também mostrou aumentar o fluxo de N microbiano para o trato gastrointestinal inferior, diminuindo a população de protozoários ruminais e a predação de bactérias (Wallace et al., 1994; Hristov et al., 1999). McMurphy et al. (2014a) relataram que o fluxo de N microbiano para o intestino delgado foi aumentado pela suplementação de extrato de *Y. schidigera* a 2 g/dia para novilhos alimentados com forragem, sugerindo maior oferta de proteína metabolizada disponível para absorção duodenal. Portanto, NUP e a proteína plasmática total foram avaliados neste experimento, porém não foram afetados pela inclusão do extrato de *Y. schidigera* nas dietas para indução de timpanismo, o que concorda com a falta de diferenças na contagem de protozoários ruminais entre os tratamentos.

No entanto, McMurphy et al. (2014a) também não relataram diferenças no Nitrogênio ureico no sangue em seu experimento, apesar das diferenças observadas no fluxo de N microbiano. Hristov et al. (1999) relataram semelhantes concentrações de NUP em novilhas de corte alimentadas com

grãos e suplementadas ou não com pó de *Y. schidigera*, apesar das diferenças na contagem de protozoários. Talvez as concentrações de NUP e proteína total não capturaram os benefícios potenciais do extrato de *Y. schidigera* na síntese microbiana ruminal neste experimento e em pesquisas anteriores (McMurphy et al., 2014a; Hristov et al., 1999). As concentrações de NUP aumentaram com o avanço do experimento e com a alimentação entre os tratamentos, conforme esperado, dado o conteúdo de proteína bruta da dieta para indução de timpanismo (Tabelas 1 e 2; Broderick e Clayton, 1997). As concentrações plasmáticas de proteína total diminuíram quando as novilhas receberam a dieta para indução de timpanismo, e os efeitos das horas variaram com o avanço do experimento. Esses resultados podem sugerir impedir a absorção de proteínas e função hepática e renal alterada devido ao timpanismo (Meyer e Bryant, 2017).

O principal objetivo deste experimento foi investigar o papel do extrato de *Y. schidigera* no timpanismo espumoso em bovinos de corte alimentados com grãos, uma vez que os benefícios produtivos da suplementação deste aditivo para gado de corte em crescimento foram recentemente investigados por outros autores (McMurphy et al., 2014b; Sousa et al., 2019). No entanto, o peso vivo da novilha, o GMD e a eficiência alimentar foram avaliados, pois essas respostas produtivas são impactadas pelo timpanismo (Nagaraja et al., 1998). O GMD da novilha foi linearmente aumentado com a inclusão do extrato de *Y. schidigera* na dieta, e atribuído a uma melhora linear na eficiência alimentar, uma vez que o consumo de ração foi fixado em 2% do PV inicial da novilha. Apoiando essas descobertas, Sousa et al. (2019) relataram que a suplementação de 2 g/dia de extrato de *Y. schidigera* para bovinos em confinamento melhorou seu GMD e eficiência alimentar, sem impactos no consumo de ração. Esses resultados foram creditados às melhores condições de fermentação ruminal devido à redução da população de protozoários ruminais (Sousa et al., 2019), levando à diminuição das emissões de metano, aumento da produção de propionato ruminal e maior fluxo de N microbiano para o trato gastrointestinal inferior (Wallace et al., 1994; Hristov et al., 1999). No entanto, Sousa et al. (2019) não avaliou nenhum desses parâmetros ruminais, nem a inclusão do extrato de *Y. schidigera* na dose de 4 g/animal/dia. Neste experimento o extrato de *Y. schidigera* foi incluído em 1 g, 2 g ou 4 g/novilha diariamente como dosagens experimentais para prevenção de timpanismo, o que aumentou as

concentrações de propionato no rúmen, mas não de forma linear. A contagem de protozoários ruminais não foi impactada pelo extrato de *Y. schidigera*, e quaisquer benefícios potenciais para o fluxo de N microbiano para o intestino delgado não foram capturados pelas concentrações plasmáticas de proteína total e NUP. Portanto, a pesquisa é garantida para determinar os mecanismos biológicos pelos quais com a suplementação de extrato de *Y. schidigera* até 4 g/dia aumentou linearmente o GMD e a eficiência alimentar de novilhas de corte alimentadas com grãos.

Em conclusão, a suplementação de extrato de *Y. schidigera* com 1 g, 2 g ou 4 g/dia não mitigou a incidência de timpanismo espumoso em novilhas de corte que consumiram uma dieta para indução de timpanismo à base de grãos. Consequentemente, o extrato de *Y. schidigera* não reduziu as respostas ruminais associadas à etiologia do timpanismo, incluindo viscosidade do fluido ruminal, contagem de protozoários e concentração total de AGV (Cheng et al., 1998; Nagaraja et al., 1998). Por sua vez, a inclusão do extrato de *Y. schidigera* aumentou linearmente o GMD da novilha devido à melhora na eficiência alimentar, corroborando pesquisas anteriores de nosso grupo (Sousa et al., 2019). Esses últimos resultados foram independentes da incidência de timpanismo e não podem ser totalmente explicados pelas respostas ruminais e fisiológicas avaliadas neste experimento. Portanto, a pesquisa é garantida para investigar os benefícios biológicos e produtivos do extrato de *Y. schidigera* para bovinos de corte recebendo dietas com alto teor de concentrado, incluindo a suplementação deste aditivo alimentar de 4g/ animal por dia para bovinos de corte em confinamento.

5. Referências

- AOAC. 2006. Official Methods of Analysis. 18th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington, VA.
- BARTLEY, E. E. et al. Effects of lasalocid or monensin on legume or grain (feedlot) bloat. **Journal of animal science**, v. 56, n. 6, p. 1400-1406, 1983. Anim. Sci. 56:1400–1406. doi:10.2527/jas1983.5661400x.
- BRODERICK, Glen A.; CLAYTON, Murray K. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. **Journal of dairy science**, v. 80, n. 11, p. 2964-2971, 1997. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(97)76262-3.
- CAGLE, Caitlyn M. et al. Evaluation of the effects of live yeast on rumen parameters and in situ digestibility of dry matter and neutral detergent fiber in beef cattle fed growing and finishing diets. *Applied Animal Science*, v. 36, n. 1, p. 36-47, 2020.
- CAPPELLOZZA, B. I. et al. Daily and alternate day supplementation of urea or soybean meal to ruminants consuming low-quality cool-season forage: II. Effects on ruminal fermentation. **Livestock Science**, v. 155, n. 2-3, p. 214-222, 2013. doi:10.1016/j.livsci.2013.05.002.
- CHEEKE, P. R. Actual and potential applications of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* saponins in human and animal nutrition. In: **Saponins in food, feedstuffs and medicinal plants**. Springer, Dordrecht, 2000. p. 241-254.
- CHENG, K. J. et al. A review of bloat in feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v. 76, n. 1, p. 299-308, 1998. doi:10.2527/1998.761299x.
- CLARKE, R. T. J. Role of the rumen ciliates in bloat in cattle. **Nature**, v. 205, n. 4966, p. 95-96, 1965.
- CLARKE, R. T. J.; REID, C. S. W. Foamy bloat of cattle. A review. **Journal of dairy science**, v. 57, n. 7, p. 753-785, 1974. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(74)84964-7.

COE, M. L., T. G.; NAGARAJA, N.; WALLACE, K. E.; KEMP, J. C.; PARROTT. 1996. Effect of monensin on grain bloat in cattle. Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports, pp. 103-105. doi:10.4148/2378-5977.2021.

COLOMBO, E. A., et al. Supplementing an immunomodulatory feed ingredient to improve thermoregulation and performance of finishing beef cattle under heat stress conditions. **Journal of Animal Science**, v. 97, n. 10, p. 4085-4092, 2019. doi:10.1093/jas/skz266.

COOKE, R. F. Nutritional and management considerations for beef cattle experiencing stress-induced inflammation. **The Professional Animal Scientist**, v. 33, n. 1, p. 1-11, 2017. doi:10.15232/pas.2016-01573.

COOKE, R. F., & ARTHINGTON J. D. Concentrations of haptoglobin in bovine plasma determined by ELISA or a colorimetric method based on peroxidase activity. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 97, n. 3, p. 531-536, 2013. doi:10.1111/j.1439-0396.2012.01298x.

DIJKSTRA, J. Production and absorption of volatile fatty acids in the rumen. **Livestock Production Science**, v. 39, n. 1, p. 61-69, 1994. doi:10.1016/0301-6226(94)90154-6

HOLTSHAUSEN, L. et al. Feeding saponin-containing *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* to decrease enteric methane production in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 6, p. 2809-2821, 2009. doi:10.3168/jds.2008-1843.

HRISTOV, A. N. et al. Effect of *Yucca schidigera* on ruminal fermentation and nutrient digestion in heifers. **Journal of Animal Science**, v. 77, n. 9, p. 2554-2563, 1999. doi:10.2527/1999.7792554x.

JONES, W. T.; LYTTLETON, J. W. Bloat in cattle: XXXVII. The foaming properties of bovine salivary secretions and protozoal proteins. **New Zealand journal of agricultural research**, v. 15, n. 3, p. 506-511, 1972. doi:10.1080/00288233.1972.10430542.

KAPS, M.; LAMBERSON, W. R. (3rdEd.). **Biostatistics for animal science**. Cabi, 2017. CAB International, London, UK.

LIPPKE, H.; REAVES, J. L.; JACOBSON, N. L. Rumen pressures associated with the scores of a bloat severity scale. **Journal of animal science**, v. 34, n. 1, p. 171-175, 1972. doi:10.2527/jas1972.341171x.

MANGAN, J. L. Bloat in cattle: XI. The foaming properties of proteins, saponins, and rumen liquor. **New Zealand journal of agricultural research**, v. 2, n. 1, p. 47-61, 1959. doi:10.1080/00288233.1959.10427123.

MCMURPHY, C. P.; SEXTEN, A. J.; MOURER, G. L.; SHARMAN, E. D.; TROJAN, S. J.; RINCKER, M. J.; COBLENTZ, W. K.; LALMAN, D. L. Effects of including saponins (Micro-Aid®) on intake, rumen fermentation and digestibility in steers fed low-quality prairie hay. **Animal feed science and technology**, v. 190, p. 47-58, 2014a. doi:10.1016/j.anifeedsci.2014.01.007.

MCMURPHY, C. P.; SEXTEN, A. J.; MOURER, G. L.; RINCKER, M. J.; LALMAN, D. L. Effects of including saponins (Micro-Aid®) in a protein supplement on performance of growing steers and spring-calving cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 190, p. 19-29, 2014b doi:10.1016/j.anifeedsci.2014.01.002.

MEYER, N. F., & T. C. BRYANT. 2017. Diagnosis and management of rumen acidosis and bloat in feedlots. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 33, n. 3, p. 481-498, 2017. doi:10.1016/j.cvfa.2017.06.005.

NAGARAJA, T. G., GALYEAN, M. L. & COLE, N. A.. Nutrition and disease. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.** 1998. 14:257–277. doi:10.1016/S0749-0720(15)30253-X

National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine (NASEM). 2016. Nutrient Requirements of Beef Cattle. (8th ed.). Animal Nutrition Series. National Academy Press, Washington, DC. doi:10.17226/19014.

NEIBARGER, L. R.; NAGARAJA, T. G. Effect of Tetronasin on frothy bloat in cattle caused by high-grain diet. 1988. Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports, pp. 115-117. doi:10.4148/2378-5977.2341.

NRC. 2000. Nutrient Requirements of Beef Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC

OXFORD, A. E. Bloat in cattle: IX. Some observations on the culture of the cattle rumen ciliate *Epidinium ecaudatum* crawley occurring in quantity in cows fed on red clover (*Trifolium pratense* L.). **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v. 1, n. 6, p. 809-824, 1958. doi:10.1080/00288233.1958.10422384

PITTA, D. W. et al. Metagenomic analysis of the rumen microbiome of steers with wheat-induced frothy bloat. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 689, 2016. doi:10.3389/fmicb.2016.00689

SANTOSO, B. et al. Effect of *Yucca schidigera* with or without nisin on ruminal fermentation and microbial protein synthesis in sheep fed silage-and hay-based diets. **Animal Science Journal**, v. 75, n. 6, p. 525-531, 2004. doi:10.1111/j.1740-0929.2004.00223.x

SCHUBACH, K. M. et al. Impacts of stocking density on development and puberty attainment of replacement beef heifers. **Animal**, v. 11, n. 12, p. 2260-2267, 2017. doi:10.1017/S1751731117001070

SCHUBACH, K. M. et al. Administering an appeasing substance to beef calves at weaning to optimize productive and health responses during a 42-d preconditioning program. **Journal of Animal Science**, v. 98, n. 9, p. skaa269, 2020. doi:10.1093/jas/skaa269

SINGER, M. D. et al. Impacts of rumen fluid modified by feeding *Yucca schidigera* to lactating dairy cows on in vitro gas production of 11 common dairy feedstuffs, as well as animal performance. **Animal Feed Science and Technology**, v. 146, n. 3-4, p. 242-258, 2008. doi:10.1016/j.anifeedsci.2007.12.010.

SIROIS, P. K. et al. A method for determining macro and micro elements in forages and feeds by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Spectroscopist**, v. 3, p. 6-9, 1994.

SLIWINSKI, B. J. et al. Efficacy of plant extracts rich in secondary constituents to modify rumen fermentation. **Animal Feed Science and Technology**, v. 101, n. 1-4, p. 101-114, 2002. doi:10.1016/S0377-8401(02)00139-6.

SOUSA, O. A. et al. Productive and physiological responses of feeder cattle supplemented with *Yucca schidigera* extract during feedlot receiving. **Journal of animal science**, v. 97, n. 1, p. 208-219, 2019. doi:10.1093/jas/sky412.

US Food and Drug Administration. 2015. FACT SHEET: Veterinary feed directive final rule and next steps. Disponível em: <<http://www.fda.gov/AnimalVeterinary/DevelopmentApprovalProcess/ucm449019.htm>> Acesso: 15 de Agosto de 2020.

Van Soest, P. J.; Robertson J. B.; & Lewis B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of dairy science**, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991. doi:10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2.

WALLACE, R. J.; ARTHAUD, Laury; NEWBOLD, C. J. Influence of *Yucca schidigera* extract on ruminal ammonia concentrations and ruminal microorganisms. **Applied and environmental microbiology**, v. 60, n. 6, p. 1762-1767, 1994.

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

WILLIAMS, A. G. & COLEMAN, G. S. The rumen protozoa. In: **The rumen microbial ecosystem**. Springer, Dordrecht, 1997. p. 73-139.