

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

CAMPUS DE BOTUCATU

PRODUTIVIDADE E RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE BOVINOS CONFINADOS
SUPLEMENTADOS COM EXTRATO DE *YUCCA SCHIDIGERA* DURANTE A FASE
DE ENTRADA NO CONFINAMENTO

Oswaldo Alex de Sousa

BOTUCATU – SP

Junho – 2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

CAMPUS DE BOTUCATU

PRODUTIVIDADE E RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE BOVINOS CONFINADOS
SUPLEMENTADOS COM EXTRATO DE *YUCCA SCHIDIGERA* DURANTE A FASE
DE ENTRADA NO CONFINAMENTO

Osvaldo Alex de Sousa
Zootecnista

Orientador: Reinaldo Fernandes Cooke

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

BOTUCATU – SP

Junho – 2019

S725p

Sousa, Osvaldo Alex de

Produtividade e respostas fisiológicas de bovinos confinados suplementados com extrato de *Yucca Schidigera* durante a fase de entrada no confinamento / Osvaldo Alex de Sousa. – Botucatu, 2019

71 f. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu

Orientador: Reinaldo Fernandes Cooke

1. Bovino de corte. 2. Confinamento. 3. Resposta imune. 4. Saponinas. 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.

Aos meus pais, Vitor e Maria, por me proporcionarem todo apoio possível e por
sempre serem meu porto seguro.

Aos meus tios, Alexandre e Maurício Sérgio por todo apoio e ensinamentos durante
essa etapa em minha vida.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por me contemplar com o dom da vida, perseverança, alegria, por sempre proteger a mim, minha família e entes queridos.

Aos meus pais, razão de eu estar estudando, meus maiores motivadores, educadores e exemplo de vida.

A minha mãe Maria José Bianchone, um exemplo de vida para mim, sempre me apoiando, dando carinho, me educando, sempre incentivando a não desistir e me mostrando que só se consegue aquilo que almeja com extrema luta e dedicação.

Ao meu pai Vitor Marcos de Souza, um dos meus maiores professores na vida, sempre me educando, passando suas experiências, me apoiando, sempre me conduzindo para o caminho correto, sempre respeitando minhas decisões e me instruindo para que o caminho escolhido seja conduzido de forma correta e verdadeira.

Ao meu “Tio padrinho” Sidney Garcia Manoel, homem de princípios, nas horas mais difíceis da minha vida me ajudou, me amparou, sempre ajudando eu e minha mãe enquanto eu estava fora de casa, sempre se preocupando e torcendo pelas minhas vitórias.

A toda minha família, Irmão, Tios, Tias, Primos, Primas e etc, meus sinceros agradecimentos por sempre estarem ao meu lado.

Ao Professor Reinaldo Fernandes Cooke, por todo ensinamento, oportunidades, confiança e pela oportunidade de fazer Mestrado e de continuar meu aprendizado.

Ao Rodrigo da Silva Marques “Rodrigão”, pessoa extremamente culta e correta, pessoa que não mediu esforços para que eu saísse do mestrado como uma pessoa melhor, sempre incentivando, me policiando “famosa catracada”, me instigando a estudar, a me tornar um profissional melhor e hoje em dia um amigo do peito, e a toda sua família, por me acolherem em sua casa e proporcionarem momentos imensamente felizes.

A Alice, minha companheira de pós-graduação, amiga e professora, sempre auxiliando na minha jornada e passando experiência aos mais novos na equipe.

A toda equipe do Professor Reinaldo Fernandes Cooke, Kelsey, Eduardo, Bruna, Thiago e Giovana, por toda a ajuda, companheirismo e ensinamentos.

Ao Davi Brito de Araujo “Davisão”, pessoa de caráter, me acompanhou desde o início da faculdade, sempre me aconselhando, me incentivando, mostrando que só consegue o que se almeja com trabalho árduo e estudo, sempre perguntando e monitorando, sempre se preocupado, e se atentando a minha caminhada.

A todos os funcionários e colaboradores da Pós-graduação em Zootecnia, Claudia e Ellen por toda a atenção, colaboração, ensinamentos e amizade construída, durante o período de pós.

A todos os funcionários e colaboradores da EOARC, Dr. Bohrnet, Skip, Petrina, Tonny, Lyel, por toda a colaboração, ensinamentos e amizade construída, durante o período de intercambio.

A todos os funcionários e colaboradores da Texa A&M University, por toda a colaboração, ensinamentos e amizade construída, durante o período de intercambio.

Ao Bruno Cappelozza “Brunão”, pela amizade, conselhos e ensinamentos.

A Maria Ramirez, por me acolher em sua casa, pela amizade, companheirismo e ensinamentos.

A minha republica Mula Preta, minha segunda família, casa que me amparou e guiou enquanto calouro e em toda trajetória na graduação, onde tudo era novo e a saudade de casa era enorme, a “família M.P.” me acolheu e se incorporou a minha família, fazendo com que a distância e a saudades passasse quase que despercebida.

Ao meu amigo Pedro Fernando Santi, que desde Botucatu vem ao meu lado, sempre dividindo tristezas e alegria.

A minha amiga Aline de Aquino Tomaz, que desde sempre agiu como uma irmã para mim, desde Botucatu juntos, me aconselhando, me apoiando e me alegrando.

Ao meu amigo João Victor Tino Dellaqua, um verdadeiro irmão, companheiro de turma, companheiro de grupo de estudo, de pesquisa, companheiro para toda a vida, sempre dividindo nossas tristezas e conquistas.

Ao meu amigo e veterano “Chuba”, sempre me ensinando, sempre me apoiando e me aconselhando.

Aos meus dois amigos André Bugrao e Murillo Skywalker, sempre me orientando e me incentivando a estudar e trabalhar, sempre socorrendo e me apoiando em minhas decisões.

A toda a equipe da 4L pecuária e colaboradores, Calinhos leiteiro, Carlitão, Gazela, Bugrão, Aidão, Kastiga e Leitão, ao companheirismo, amizade e ensinamentos.

A Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, FMVZ, uma universidade mais que especial, que me proporcionou muito aprendizado e oportunidades.

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

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)

BIOGRAFIA DO AUTOR

Osvaldo Alex de Sousa, nascido na cidade de Botucatu – SP no dia 05 de Agosto de 1993. Coursou o ensino fundamental na Escola Santa Marcelina na cidade de Botucatu – SP e ensino médio na Escola Preve – Objetivo na Cidade de Botucatu - SP concluindo-os no ano de 2011. No mês de agosto do ano de 2012 iniciou sua graduação em Zootecnia pela Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas – UNESP, campus de Dracena - SP. Durante sua graduação realizou duas atividades de iniciação científica e participou do Grupo de Estudo Tutorial - PETZoo com bolsa financiada pelo Ministério da Educação (MEC) e obteve grau de Zootecnista em junho de 2017. Em julho de 2017, ingressou no curso de Mestrado Zootecnia no programa de pós-graduação em zootecnia da faculdade de medicina veterinária e zootecnia, Unesp – Botucatu - SP. Em setembro de 2017 a abril de 2018 realizou o período experimental na Oregon State University na cidade de Burns, OR com o Dr. Reinaldo Fernandes Cooke e em dezembro de 2018 a abril de 2019 realizou estágio de pesquisa e extensão na Texa A&M University. E em maio de 2019 submeteu sua dissertação para sua defesa e obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	i
LISTA DE FIGURAS.....	ii
CONSIDERAÇÕES INICIAIS	1
Capítulo I	5
REVISÃO DE LITERATURA	6
1. ESTRESSE EM BOVINOS NA FASE DE RECEBIMENTO NO CONFINAMENTO	6
1.1 Resposta de Fase Aguda (RFA)	9
1.2 Efeitos do Estresse e Reação Imune na Produtividade e Saúde Animal	11
2. SAPONINAS.....	13
2.1 Propriedades Biológicas e Utilização Comercial	15
2.2 Saponinas e seu Papel no Sistema Imune	16
2.3 Saponinas na Nutrição de Ruminantes	16
3. PROTOZOÁRIOS.....	18
OBJETIVO E HIPÓTESE DO EXPERIMENTO.....	21
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22
Capítulo II	29
RESUMO	30
ABSTRACT	32
1. INTRODUÇÃO	34
2. MATERIAL E MÉTODOS	35
2.1 Animais e Tratamentos	35
2.2 Amostragem	37
2.3 Análises laboratoriais	39
2.4 Amostras de PAXgene	40
2.5 Análise estatística	41
3. Resultados	42
3.1 Desempenho	42
3.2 Respostas de Saúde	42
3.3 Variáveis Fisiológicas	43
4. Discussão	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
TABELAS.....	52
FIGURAS	59

LISTA DE TABELAS

Capítulo II

TABELAS

Tabela 1.....	52
Composição e perfil nutricional das dietas ofertadas durante o período experimental (dia 0 a 59) ¹	
Tabela 2.....	53
Sequência de Primer, número de acesso, e referência para todos os genes transcritos analisados por transcrição reversa de PCR.	
Tabela 3.....	54
Parâmetros de desempenho de bovinos confinados suplementados ou não (CON; <i>n</i> = 7) com extrato de <i>Yuccas schidigera</i> (Micro-Aid; DPI Global, Porterville, CA) 1 g/animal/dia (M1; <i>n</i> = 7) ou 2 g/animal/dia (M2; <i>n</i> = 7) durante a fase de entrada no confinamento (dia 0 a 59) ^{1,2} .	
Tabela 4.....	55
Morbidade e respostas fisiológicas em bovinos confinados suplementados ou não (CON; <i>n</i> = 7) com extrato de <i>Yuccas schidigera</i> (Micro-Aid; DPI Global, Porterville, CA) 1 g/animal/dia (M1; <i>n</i> = 7) ou 2 g/animal/dia (M2; <i>n</i> = 7) durante a fase de entrada no confinamento (dia 0 a 59) ¹ .	
Tabela 5.....	56
Concentração de cortisol plasmático (ng/mL), insulina (pmol/L), fator de crescimento semelhante a insulina (IGF-I; ng/mL), haptoglobina (mg/mL), fator de necrose tumoral- α (TNF α ; ng/mL), e ácido graxo não esterificado (NEFA; μ Eq/L) em gado confinado no período de entrada (dia 0 a 59) ^{1,2}	
Tabela 6.....	57
Título de anticorpos contra patógenos de doença respiratória e expressão total de mRNA sanguíneo de bovinos confinados suplementados ou não (CON; <i>n</i> = 7) com extrato de <i>Yuccas schidigera</i> (Micro-Aid; DPI Global, Porterville, CA) 1g/animal/dia (M1; <i>n</i> = 7) ou 2g/animal/dia (M2; <i>n</i> = 7) durante a fase de entrada no confinamento (dia 0 a 59) ¹ .	
Tabela 7.....	58
Títulos de anticorpos contra <i>Mannheimia haemolytica</i> (MH), <i>parainfluenza 3 virus</i> (PI3), <i>vírus sincicial respiratório bovino</i> (BRSV), <i>vírus da diarreia viral bovina 1</i> (BVD-1), <i>herpesvirus bovino 1</i> (BHV), e total expressão do mRNA sanguíneo de <i>citocina ligante 5</i> (CCL5), <i>ciclooxigenase 2</i> (COX2), <i>interleucina 8</i> (IL8), <i>receptor de interleucina 8</i> (IL8R), <i>selectina L</i> (SELL), e <i>fator de necrose tumoral -α</i> (TNF α) em bovinos confinados durante a fase de entrada em confinamento (dia 0 a 59) ^{1,2}	

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I

Figura 1	14
Estrutura básica de saponinas: (a) Triterpenoide e (b) Esteroide	

Capítulo II FIGURAS

Figura 1	60
-----------------------	-----------

O PC cheio em bovinos confinados suplementados ou não (CON; $n = 7$) com extrato de *Yuccas schidigera* (Micro-Aid; DPI Global, Porteville, CA) 1 g/animal/dia (M1; $n = 7$) ou 2 g/animal/dia (M2; $n = 7$) durante a fase de entrada no confinamento (dia 0 a 59). Não foi detectado diferença ou interação de tratamento x dia ($P \geq 0.33$), enquanto houve efeito de dia ($P < 0.01$).

Figura 2	61
-----------------------	-----------

A incidência cumulativa de sintomas de doença respiratória bovina (DRB) em bovinos confinados suplementados ou não (CON; $n = 7$) com extrato de *Yuccas schidigera* (Micro-Aid; DPI Global, Porteville, CA) 1 g/animal/dia (M1; $n = 7$) ou 2 g/animal/dia (M2; $n = 7$) durante a fase de entrada no confinamento (dia 0 a 59). Os animais foram observados diariamente por sintomas de DRB de acordo com o sistema DART (Zoetis, Florham Park, NJ) seguindo as modificações descritas por Step et al. (2008) e Wilson et al. (2015). Se diagnosticado com sintomas de doença respiratória bovina, os animais recebiam tratamento antimicrobiano como descrito por Wilson et al. (2015). O gráfico representa incidência de animais diagnosticados com sintomas de DRB e tratado com antimicrobiano uma vez durante o experimento. Não foi detectado efeito de tratamento ou interação de tratamento x dia ($P \geq 0.34$), enquanto efeito de dia foi significativo ($P < 0.01$).

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O sistema agroindustrial da pecuária brasileira ocupa lugar de destaque dentro das atividades do agronegócio – em 2015, representou 6,82% do PIB nacional (Cepea, 2016b). As atividades relativas à bovinocultura de corte brasileira possuem destaques, dado que o país possui o maior rebanho comercial do mundo e se encontra na segunda posição como o maior exportador mundial de carne bovina. A principal característica dessa atividade no país é a heterogeneidade nos sistemas de produção e nos mecanismos de gestão e de comercialização do gado. Coexistem dois sistemas de produção bastante distintos: O primeiro é de alta qualidade caracterizada pela adoção de tecnologia avançada e padrões eficientes de gestão e de comercialização. O segundo, de baixa tecnologia, baseado em uma produção extensiva, e padrões simplistas de gestão e comercialização do produto (Carvalho e Zen, 2017). Com o aumento crescente da competitividade dos mercados mundiais e o aumento expressivo da demanda mundial por alimentos vêm-se pressionando demasiadamente os produtores nacionais a intensificarem e aumentarem a implantação de tecnologia, fazendo com que o balanço da atividade tenda para o lado de alta qualidade e alta eficiência. Como resultado dessa pressão, a utilização de confinamentos vem se tornando cada vez mais importante para a cadeia produtiva da carne bovina, a qual obteve crescimento de 133% nos últimos dez anos (FNP, 2002), e alcançou número de 3.377.311 milhões de cabeças confinadas em 2012 (ANUALPEC, 2013). Com os custos de produção elevados e as margens estreitas, é necessário traçar estratégias que minimizem as perdas e otimize o desempenho dos animais (Carvalho e Zen, 2017).

Como nos EUA, o sistema de produção de bovinos de corte brasileiro é estratificado em dois setores: 1) sistema de cria, onde as fêmeas bovinas são destinadas a reprodução e produção de bezerros e 2) sistema de recria e terminação, que consiste no crescimento e acabamento desses animais que são destinados ao abate para produção de carne. Logo após o desmame os bezerros são vendidos, transportados para diferentes locais onde serão confinados até atingirem o ponto de abate (Paes, 2005). O período de transição

recria-confinamento nas operações de bovinocultura de corte expõe os animais a diversos desafios de estresse durante e após entrarem no confinamento. A fase de entrada no confinamento inclui o transporte, mistura com diferentes animais e exposição a novas dietas e ambiente, além da exposição a manejos que geram estresse como: Vacinação, vermifugação, brincagem de identificação, separação de lotes, castração, descornas e mudanças de dieta (Loerch e Fluharty, 1999; Duff e Galyean, 2007). A combinação desses estressores é conhecido por estimular respostas inflamatórias e neuroendócrinas que prejudicam a imunocompetência e produtividade dos animais (Cooke, 2017). Pesquisas relacionadas ao estresse e impacto do estresse nos parâmetros de saúde e desempenho são amplamente reproduzidas, por estarem presentes em todos os sistemas de produção e terem impacto direto na saúde e produtividade animal (Carroll e Fosberg, 2007).

O transporte dos animais para o confinamento gera uma privação de água e alimentos aos animais; Essa privação durante o transporte pode ocasionar a morte de microrganismos ruminais além de casos de endotoxemia pela morte exarcebada dos mesmos (Marques et al., 2012). A privação de alimento/água é um dos principais contribuintes para uma reação de fase aguda (RFA) e redução no desempenho na chegada ao confinamento em bovinos transportados por longas distâncias (Marques et al., 2012), além de estimular a mobilização de reservas de gordura corporal por privação de nutrientes (Cooke et al., 2007). A relevância das respostas de fase aguda pode ser o indicador da subsequente produtividade no confinamento, principalmente durante o período de entrada no mesmo (Arthington et al., 2005; Qiu et al., 2007). Araujo et al. (2010), reportaram que bezerros de corte que foram transportados por longas distâncias para o confinamento tiveram correlação negativa entre proteínas de fase aguda (PFA), ganho de médio diário (GMD) e ingestão de matéria seca (IMS). Portanto, a ativação do sistema imune induzida pelo estresse e cortisol elevado pode se tornar prejudicial ao desempenho posterior dos animais (Loerch e Fluharty, 1999).

A morbidade e mortalidade causada por doença respiratória bovina (DRB) é o problema de saúde de maior impacto entre as fases de desmama e entrada no confinamento na indústria de carne bovina americana (Duff e

Galyean, 2007). Woolums et al. (2005), em pesquisa com 561 confinamentos, em 21 estados americanos, relataram que DRB foi a principal causa de morbidade e mortalidade em animais confinados. De acordo com Pinto e Millen (2018), o maior problema de saúde encontrado nos confinamentos brasileiros são animais diagnosticados com DRB. O tratamento para DRB demanda trabalho e custos com medicamentos que impactam negativamente no bem-estar, desempenho, qualidade de carcaça e marmoreio desses animais, ampliando os efeitos econômicos negativos na atividade (Montgomery et al. 1984; Gardner et al., 1999; Loneragan et al., 2001).

Apesar da vacinação contra DRB e esforços para minimizar o estresse, a incidência de DRB é elevada durante a fase de entrada no confinamento, (Snowder et al., 2008; Wilson et al., 2016). A elevada taxa de morbidade vem sendo um fator preocupante dentro das operações de terminação de bovinos de corte, por reduzir o desempenho animal e diminuir a lucratividade da atividade. Portanto, o uso de estratégias alimentares, tais como, o uso de aditivos como promotores de crescimento, que promovem um aumento na produtividade, com aumento na eficiência de produção e melhoria no desempenho (Samuelson et al., 2016). Porém, com o aumento das restrições a respeito do uso de antibióticos promotores de crescimento na alimentação animal (US Food and Drug Administration, 2015), e a proibição imposta pela União Européia sobre o uso do mesmo (Directiva 1831/2003 / CEE, Comissão Européia, 2003), é crescente e necessária a busca por novas estratégias alimentares para melhorar o desempenho e imunidade do animal.

Isso inclui alimentos não antibióticos que melhoram a imunidade e a função ruminal, tais como Micro-Aid (MA; DPI Global; Porterville, CA). Esse produto é produzido a partir do extrato purificado da planta de *Yucca schidigera*, contendo aproximadamente $\approx 18\%$ de saponina (Base da MS; Singer et al., 2008). As saponinas contêm propriedades imunomodulatórias que aumentam a resposta dos anticorpos e linfócitos aos antígenos (Shi et al., 2004), enquanto também modulam a fermentação ruminal, diminuindo a população de protozoários e a taxa de passagem (Goetsch e Owens, 1985; Hristov et al., 2004). A suplementação com MA para animais em uma dieta a base de forragem a um nível de 1 ou 2 g/animal/dia aumentou a digestibilidade *in situ* de forragem no rúmen (McMurphy et al., 2014a) mas não

o GMD (McMurphy et al., 2014b), enquanto que a suplementação com MA aumentou o fluxo de proteína microbiana (McMurphy et al., 2014a). No entanto, os efeitos da suplementação com MA sobre o desempenho e parâmetros de imunidade em animais recém chegados no confinamento ainda são escassos.

Capítulo I

REVISÃO DE LITERATURA

1. ESTRESSE EM BOVINOS NA FASE DE RECEBIMENTO NO CONFINAMENTO

A cadeia produtiva da bovinocultura de corte apresenta diversas etapas, contudo há uma série de manejos até que os animais cheguem ao seu destino final. Inevitavelmente, bovinos de corte passam por experiências de estresse durante essas etapas (Carroll e Forsberg, 2007). Um clássico exemplo ocorre durante a transição dos animais do local onde foram criados para um confinamento comercial, onde os animais são expostos a uma grande carga estressora em um curto intervalo de tempo (Araujo et al., 2010). Isso inclui estresse psicológico, fisiológico e físico, associados aos manejos como: desmama, mistura com novos animais e novo ambiente (estresse psicológico), injúria, estresse térmico, fadiga, restrição de água e alimento durante o transporte (estresse físico), resultando em uma perturbação nas funções endócrinas e neuroendócrinas (estresse fisiológico) caracterizado pela ativação da resposta de fase aguda (RFA; Carroll e Forsberg, 2007). Segundo Duff e Galyean (2007), a fase de recebimento no confinamento é uma das fases mais críticas dentro do ciclo de produção de carne, que acomete os primeiros sessenta dias de confinamento, podendo comprometer o desempenho desses animais durante o período de crescimento e terminação.

As diversas experiências que os animais passam durante esse período geram uma série de mudanças comportamentais e fisiológicas, dentre elas a restrição alimentar ou irregularidade na ingestão que ocorrem inevitavelmente, prejudicando ainda mais a produtividade e imunocompetência nesta fase (Hutcheson e Cole., 1986; Hayirli et al., 2002; Haley et al., 2005; Mader et al., 2006; Marques et al., 2012; Lippolis et al., 2017). Por exemplo, a privação de água e alimento durante o transporte por longas distâncias (> 24 h) é o maior contribuinte para a RFA na fase de entrada no confinamento (Marques et al., 2012). Animais recém chegados ao confinamento levam pelo menos duas semanas para reestabelecer a normalidade na ingestão de matéria seca (IMS; Hutcheson e Cole, 1986; Zahng et al, 2013b). Além disso, a restrição de água e

alimentos pode prejudicar a absorção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no rúmen (Zhang et al., 2013a). Bem como, a restrição de nutrientes estimula a mobilização de reserva corporal (Cooke et al., 2007), e uma resposta de estresse neuroendócrina (Ward et al., 1992; Henricks et al., 1994). Esse aumento na mobilização das reservas corporais acarreta em um aumento na concentração de ácidos graxos não esterificados (AGNE) na corrente sanguínea, o que pode ser reconhecido pelo organismo como uma perturbação da homeostase e capaz de incitar uma RFA em bovinos (Cooke e Bohnert, 2011; Cooke et al., 2012b). Portanto, estratégias alimentares e/ou de manejo que visam minimizar os efeitos do estresse são necessárias, devido ao manejo inevitável dentro das operações de bovinocultura de corte.

O uso do confinamento como estratégia para a engorda e terminação de bovinos visa manter o crescimento contínuo e promover um balanço energético positivo aos animais, sendo assim, dietas com alto teor de grãos comumente são utilizadas na alimentação de animais confinados (Pinto e Millen, 2018). O uso de dietas ricas em carboidratos altamente fermentecíveis e a mudança no perfil nutricional no início e durante o período de confinamento gera certos desafios aos animais, podendo causar diversas mudanças comportamentais e fisiológicas, devido as experiências de estresse e período de restrição anteriores (Marques et al., 2012). A falta de ingestão de alimentos por período de tempo prolongado diminui a absorção de AGCC e o acúmulo desses ácidos no rúmen ocasiona um declínio no pH, podendo levar o animal a um quadro acidótico (Zhang et al., 2013b). Juntamente a baixa absorção, um manejo nutricional errôneo, como dietas desbalanceadas, má adaptação dos animais e mudanças abruptas de dietas, influenciam a produção exacerbada de AGCC e ácido láctico, inferindo ao hospedeiro quadros de distúrbios metabólicos e morte bacteriana (Collado e Sanz, 2007). Os desafios nutricionais gerados pela mudança dietética podem causar consequências ao hospedeiro, como o mau funcionamento do ecossistema ruminal e falta de sinergismo entre a produção e absorção de AGCC, morte de microrganismos ruminais, resultando em liberação de endotoxinas microbiana que podem ser absorvidas pelo trato digestivo do animal e entrar na circulação sistêmica, incitando uma RFA (Carroll et al., 2009; Mani et al., 2012). Segundo Berry et al. (2004), o uso de alta energia dietética pode gerar mais estresse aos animais, tornando-os mais

susceptíveis a problemas de saúde. Em ruminantes, a suplementação com grãos facilmente digestíveis mostrou aumentar o transporte de endotoxinas para a circulação periférica, indicando que os carboidratos também influenciam o transporte de endotoxinas (Khafipour et al., 2009; Zebeli et al., 2011). Lofgreen et al. (1975), relataram que a medida que se aumenta os níveis de energia na dieta (0,84, 1,01, 1,10 e 1,19 Mcal NEg / kg de MS) em bezerros estressados, também aumenta o número de tratamentos médicos por bezerro.

Com o objetivo de atender as exigências dos animais, os mesmos são apartados por peso, sexo e idades semelhantes, ocasionando a mistura de animais de fontes diferentes na mesma baia. Diversas pesquisas epidemiológicas reconhecem o agrupamento como um fator de risco para DRB em confinamentos comerciais (Taylor et al., 2010), além de desestabilizar a hierarquia social do grupo, provocando experiências de estresse psicológico que se perduram até que a estrutura social seja restabelecida (Loerch e Fluharty, 2000). Assim, a mistura de lote pode ser percebida pelos animais como um agente estressor agudo/crônico, dependendo de quanto tempo é necessário para a reestabilização social. Step et al. (2008) relataram desempenho reduzido e aumento da incidência de DRB durante um período de adaptação de 42 dias em baias contendo novilhos de múltiplas fontes em comparação com baias contendo novilhos originários de uma única fazenda. Esses autores relataram que os novilhos de uma única fonte tiveram um GMD aumentado (1,33 versus 1,24 kg/dia) e redução na incidência de DRB (11,1 versus 41,9%). Sendo assim, alternativas que diminuam a taxa de morbidade no período de entrada no confinamento são necessários, pela mistura de animais de diversas origens e diferentes históricos sanitários, juntamente com a carga estressora que os animais sofreram durante a transição e início do confinamento.

A RFA é um mecanismo do sistema imune inato de extrema importância, responsável pela tentativa de retomada a homeostase do organismo. Em contrapartida, situações de estresse, sem qualquer estímulo patogênico, são também capazes de incitar uma RFA, como foi demonstrado por Cooke e Bohnert (2011). A preocupação e uso de estratégias para evitar ou amenizar os efeitos do estresse nesse período é de suma importância para a indústria

pecuária, uma vez que a ativação do sistema imunológico é antagônico ao crescimento e ao desempenho dos animais, pois os nutrientes estão sendo divididos e direcionados a produção de citocinas, proteína de fase aguda (PFA) e outros mediadores imunológicos, em vez de processos anabólicos como síntese de músculo e leite (Johnson, 1997; Spurlock, 1997).

1.1 Resposta de Fase Aguda (RFA)

Como citado anteriormente, a RFA é um componente do sistema imune inato, presente em eventos inflamatórios traumáticos e neoplásicos (Cray et al., 2009). Possui diversas reações inespecíficas que variam em intensidade de acordo com a natureza da injúria enfrentada pelo organismo, sendo elas: leucocitose, febre, mudanças comportamentais (letargia, apatia, anorexia, hiperalgesia), alterações nas concentrações plasmáticas de minerais (ferro, zinco e cobre) e a mudança no padrão de síntese protéica (Heinrich et. al., 1990; Carroll e Forsberg, 2007).

Estas reações ocorrem em resposta ao estímulo das citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6 e TNF- α) liberadas por macrófagos, quando há reconhecimento de padrões moleculares associados a patógenos (PAMP) ou pela liberação de padrões moleculares associados a danos (DAMP). Dentre as reações citadas, duas se destacam como principais componentes de uma RFA: a resposta febril, alteração no metabolismo e regulação gênica do fígado.

Os PAMP são estruturas comumente presentes em antígenos, porém incomuns ou ausentes em células de mamíferos, como por exemplo: lipopolissacarídeo (parede celular de bactérias gram-negativas), ácido lipoteicoico (parede celular de bactérias gram-positivas), manoses (glicolipídios e glicoproteínas bacterianos), n-metil-formil-metionina (proteínas bacterianas), RNA de fita dupla (presente em vírus) e glucanos (parede celular de fungos) (Brodsky e Medzhitov, 2009). Já os DAMP são derivados de componentes intracelulares como mitocôndria, núcleo, retículo endoplasmático e quando encontrados no ambiente extracelular indicam morte ou injúria celular (Krysko et al., 2011).

A alteração no metabolismo de proteínas e regulação gênica do fígado ocorre quando há feedback positivo entre as citocinas pró inflamatórias (IL-1, IL-6 e TNF- α) que chegam pela corrente sanguínea para o órgão e aos hepatócitos que respondem iniciando a síntese e liberação de uma classe de proteínas denominadas PFA (Ceciliani et al., 2012).

A síntese de PFA desvia os aminoácidos disponíveis no fígado destinados a síntese de proteínas habituais (Carroll e Forsberg, 2007), desta forma tem-se duas classes de PFA, onde a classificação é feita de acordo com a concentração presente na corrente sanguínea durante uma RFA: As que se elevam são denominadas PFA positivas (haptoglobina, amiloide A sérico, ceruloplasmina e fibrinogênio, por exemplo) e as que diminuem são denominadas PFA negativas (albumina e paraoxonase, por exemplo). Dentre as PFA positivas há uma segunda classificação, em três subgrupos: “major” (como haptoglobina e amiloide A sérico, no caso dos ruminantes), “moderada” (proteína ligadora de lipopolissacarídeo e fibrinogênio) e “minor” (ceruloplasmina), de acordo com a maneira como suas concentrações se alteram durante a RFA, e o número de vezes que aumentam em relação a suas concentrações basais (centenas de vezes, duas a dez vezes e o dobro, respectivamente) para cada subgrupo citado a cima (Eckersall e Bell 2010; Ceciliani et al., 2012). O número de vezes que as PFA aumentam durante RFA diferiu entre os trabalhos e espécies de animais estudadas (Petersen et al., 2004; Ceron et al., 2005; Paltrinieri, 2008; Cray et al., 2009; Eckersall e Bell, 2010), porém o conceito continua o mesmo.

O uso de PFA como biomarcadores de infecção e inflamação é uma abordagem relativamente nova, datando dos anos 90 (Cray et al., 2009), e desde então, trabalhos têm mostrado sua relevância para fins de diagnósticos e prognósticos clínico de animais de companhia, assim como a avaliação de rebanhos de animais de produção (French, 1989; Ceron et al., 2005; Murata et al., 2004; Petersen et al., 2004; Ceciliani et al., 2012).

A haptoglobina (Hp) é uma PFA positiva classificada como “*major*” e, juntamente com a amiloide A sérico, são PFA de importante aspecto de diagnóstico para ruminantes (Eckersall e Bell, 2010). Sua molécula consiste de duas cadeias α e duas cadeias β ligadas por pontes de dissulfeto (Morimatsu et al. 1991). A principal função da Hp é sua capacidade de interação com a

hemoglobina (Hb) formando um complexo estável Hp-Hb (Ceceliani et al., 2012), possível de ser reconhecido, fagocitado e removido do organismo por macrófagos especializados do fígado, as células Kupffer (Graversen et al., 2002). Além disso, a formação do complexo Hp-Hb desacelera o crescimento microbiano por reduzir a disponibilidade de hemoglobina livre na corrente sanguínea, sendo um excelente meio de cultura para microrganismos (Murata et al. 2004), evitando o estresse oxidativo dos tecido (Yang et al. 2003) e prevenindo dano renal, pois o complexo Hp-Hb não atravessa a filtração glomerular, ao contrário da Hb que ao passar pelos glomérulos renais causam lesões (Allison e Rees, 1957). Assim, a interação formada pela Hp-Hb, protege o organismo dos efeitos nocivos da hemoglobina livre proveniente da hemólise (Kato, 2009) e possui propriedades anti-inflamatórias, ligando-se ao receptor CD163 de monócitos ou macrófagos induzindo a expressão de mediadores anti-inflamatórios como a IL-10 (Philippidis et. al, 2004; Schaer et. al 2006). Sendo assim, a haptoglobina pode ser usada como um eficiente marcador de estresse em animais de produção.

1.2 Efeitos do Estresse e Reação Imune na Produtividade e Saúde Animal

O conceito de estresse foi esboçado na década de 30 (Selye, 1936) e descrito como um conjunto de reações do organismo comum a diferentes estímulos agressores, sendo um método de alerta do organismo frente a possíveis ameaças. Muitos anos depois, o termo “estresse” ainda é frequentemente utilizado nos mais diferentes campos da biologia, sem ter, no entanto, uma descrição unânime. A definição de Moberg (2000) é semelhante a de Selye (1936), uma resposta biológica desencadeada pelo próprio organismo quando este reconhece alguma perturbação (por exemplo, temperaturas extremas, presença de predadores, doenças, traumas, parição e outros) à que ameace a sua homeostase.

Como descrito anteriormente, o período de transição entre a fase de recria e a fase de terminação dos animais gera experiências de estresse por conta da quantidade de manejos e situações em que são submetidos até chegarem ao abate (Araujo et al., 2010). O acúmulo de diversos tipos de

estresse (psicológico, físico e fisiológico) em um curto intervalo de tempo é responsável por ativar o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) e incitar uma RFA (Carroll e Forsberg, 2007). Cooke e Bohnert (2011) observaram o desenvolvimento de uma RFA em bezerros que receberam intravenosa de CRH, mimetizando um estímulo estressor. Quando uma situação como essa ocorre, ou seja, quando o organismo desencadeia uma RFA apenas por consequência de um estímulo de estresse, sem dano tecidual, ou ameaça de doença (por exemplo, transporte, desmama, nova dieta, misturas com diferentes animais ou estresse térmico), pode se dizer que houve uma RFA “desnecessária”, já que não há presença de patógenos a serem combatidos ou tecidos a serem reparados e o aumento nas concentrações plasmáticas das PFA não encontrando as funções presentes em outros eventos nos quais elas se encontram elevadas, como infecções, traumas, parição e neoplasias.

O aumento nas concentrações de citocinas pró inflamatórias circulantes afeta o metabolismo dos nutrientes e o crescimento dos animais (Klasing e Korver, 1997; Johnson, 1997). As PFA (haptoglobina e ceruloplasmina) têm correlação negativa com desempenho animal, como por exemplo, ganho médio diário (GMD) e ingestão de matéria seca (IMS) em bezerros logo após a chegada ao confinamento (Arthington et al., 2005; Qiu et al., 2007; Araújo et al., 2010) e correlação positiva com a morbidade e subsequente uso de tratamentos antimicrobianos (Carter et al., 2002). A restrição de nutrientes e IMS inadequada fazem com que o quadro de baixa produtividade se prolongue, comportando-se como um efeito em cascata, fazendo com que o organismo do animal responda mobilizando tecido de reserva para suprir suas exigências. O efeito de catabolismo do cortisol, incluindo os ácidos graxos não esterificados (AGNE) provenientes da lipólise, são reconhecidos pelo sistema imune como uma perturbação da homeostase do organismo (Abbas e Lichtman, 2007). A ativação do sistema imune inato e suas consequências (lipólise, degradação de proteína muscular, entre outros) é um dos principais responsáveis por tornar ineficiente a utilização dos nutrientes dietéticos, comprometendo o desenvolvimento tecidual e impossibilitando que o animal expresse seu potencial máximo (Johnson, 1997).

Portanto, quando ocorre a ativação desse sistema de defesa, o mesmo torna-se contrário aos benefícios alimentares que os sistemas de produção de

bovinos visam priorizar. Logo, em termos de desempenho animal, são correlacionadas negativamente as respostas geradas pela ativação deste mecanismo, como o aumento da síntese de PFA e ativação do sistema neuroendócrino, impactando assim no GMD, eficiência alimentar e aumento na taxa de morbidade em confinamentos principalmente por DRB (Duff e Galyean, 2007; Arthington et al., 2008; Araujo et al., 2010; Cooke et al., 2011)

2. SAPONINAS

Saponinas são conhecidas por certas características marcantes e diversas funções dentro da célula vegetal e animal, mecanismos de atuação e possíveis uso na indústria em geral. Há várias linhas de pesquisa a respeito de saponina, tanto na fisiologia vegetal, animal, quanto à atividade farmacológica/biológica deste composto. São estudos relacionados à metodologia de identificação, avaliação de concentração na planta, fontes, relação com insetos, uso na alimentação humana, alimentação animal, uso em processos industriais, etc. Existe uma crescente busca por alimentos nutracêuticos na alimentação humana, animal e aditivos fitogênicos que substituem produtos industriais, hoje altamente utilizados na cadeia produtiva.

Saponinas são compostos glicosídicos, com caráter anfifílico, termoestáveis, comumente encontrados em uma grande variedade de plantas e alimentos (Price et al. 1987). Elas consistem de um ou mais oligossacarídeos, ligados a anglicona, com característica lipofílica, triterpenoide ou esteróide e outra hidrofílica os açúcares (Liener, 1994). O anglicona é hidrofóbico, e as ligações de açúcares são hidrofílicas, essa característica proporciona a essa molécula excelentes propriedades emulsificante e espumante. A presença de ambos os grupos polar (açúcar) e não polar (esteróide ou triterpeno) fornece às saponinas fortes propriedades de redução da tensão superficial da água, que são responsáveis por efeitos biológicos benéficos (Shi et al., 2004).

São classificadas de acordo com o número fundamental das angliconas, e também, pelo seu caráter ácido, básico ou neutro. Assim, denominam-se saponinas esteroidais e saponinas triterpênicas. As saponinas esteroidais e triterpênicas apresentam distribuição diferenciada no reino vegetal. As

saponinas triterpênicas encontram-se predominantemente em dicotiledôneas, principalmente nas famílias *Sapindaceae*, *Hippocastanaceae*, *Sapotaceae*, *Polygalaceae*, *Caryophyllaceae*, *Primulaceae* e *Araliaceae*.

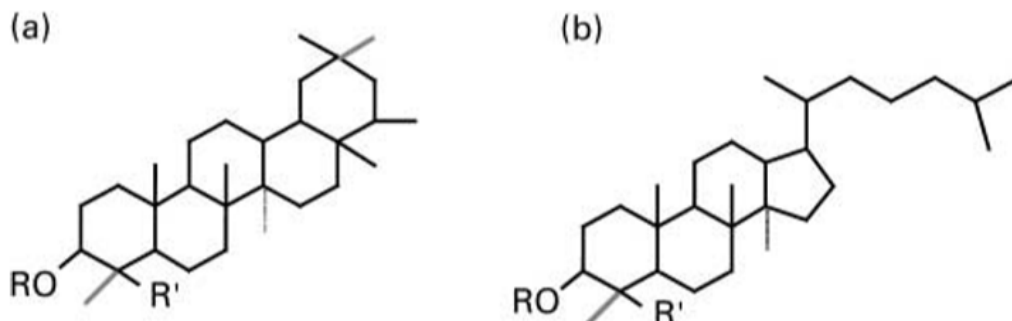


Figura 1. Estrutura básica de saponinas: (a) Triterpenoide e (b) Esteróide

As saponinas esteroidais neutras são encontradas quase que exclusivamente em monocotiledôneas, principalmente nas famílias *Liliaceae*, *Dioscoreaceae* e *Agavaceae*. Os gêneros *Smilax*, *Dioscorea*, *Agave*, *Yucca* são especialmente ricos nessas saponinas.

Outra classificação refere-se a ligações de açúcares ao aglicona, podendo conter uma ou mais ligações C-C insaturadas. A cadeia de oligossacarídeos é normalmente anexada na posição C3 (monodesmosídica), C26 ou C28 (bidesmosídica) (Hu et al., 1996). Contudo, saponinas esteróides e triterpênicas que possuem uma única cadeia de açúcar (monodesmosídeos) apresentaram forte atividade hemolítica, enquanto as que apresentavam duas cadeias de açúcar (bidesmosídeos) mostraram menor atividade hemolítica (Fukuda et al., 1985; Woldemichael e Wink, 2001).

2.1 Propriedades Biológicas e Utilização Comercial

As saponinas são substâncias derivadas do metabolismo secundário das plantas, relacionados principalmente com o sistema de defesa. São encontradas nos tecidos que são mais vulneráveis ao ataque fúngico, bacteriano ou predatório dos insetos (Wina et al., 2005), considerando-se parte do sistema da defesa das plantas e indicadas como “fitoprotetoras” (Pizarro, 1999). Essa atividade seria devido à interação com os esteróis da membrana (Francis et al., 2002).

O comportamento anfifílico das saponinas e a capacidade de formar complexos com esteróides, proteínas e fosfolípídeos de membranas possibilitam ações biológicas variadas. Vale ressaltar a ação sobre membranas celulares que pode alterar a permeabilidade ou até mesmo levar a sua destruição (Schenkel et al., 2001). Relacionadas com essa ação sobre membranas, estão às atividades hemolíticas, ictiotóxica e molusquicida. A irritação causada nas mucosas já relatadas por alguns autores, até o momento é um fator que impede o desenvolvimento de aplicações práticas.

Outros empregos destacados são como adjuvantes para aumentar a absorção de medicamentos pelo aumento da solubilidade ou interferência nos mecanismos de absorção para aumentar a resposta imunológica. Por suas propriedades surfactantes, são usadas na indústria na preparação de emulsões para filmes fotográficos, na indústria de cosméticos de batons e xampus (Cheeke, 1999) e na indústria alimentícia como flavorizante e agente espumante.

Os extratos vegetais mais utilizados comercialmente são extraídos da *Yucca schidigera* ou da *Quillaja saponaria*. As saponinas da *Quillaja saponaria* são amplamente utilizadas como adjuvantes em vacinas orais e injetáveis e melhoram a eficácia de vacinas orais facilitando a absorção intestinal de grandes moléculas (CHEEKE, 1999). Isto ocorre, provavelmente, pela interação com o colesterol das membranas dos micróvilos que causam lesões estruturais e com consequente alteração da permeabilidade (Johnson et al., 1986).

A ação imunológica envolve a interação da saponina com o colesterol das membranas celulares dos macrófagos ou células apresentadoras de antígenos e facilitam a formação do complexo celular (Bomford, 1992).

2.2 Saponinas e seu Papel no Sistema Imune

Adjuvantes a base de saponinas têm uma habilidade única de estimular células mediadoras do sistema imune, bem como aumentar a produção de anticorpos, e tem a vantagem de que apenas uma pequena dose é necessária pra apresentar sua habilidade como adjuvante (Oda et al., 2000). Há algumas revisões a respeito das propriedades imunomoduladoras das saponinas (Kensil, 1996; Barr et al., 1998; Sjolander et al., 1998). Acreditava-se que a ação do adjuvante estivesse relacionada com as cadeias de açúcares ou grupos aldeídos (Bomford et al. 1992) ou a residual de acil nos anglicones (Kensil, 1996).

Os mecanismos da ação estimuladora do sistema imune das saponinas não estão claramente compreendidos, porém diversas explicações têm sido especuladas e apresentadas. O uso de saponinas supostamente induz a produção de citocinas tais como interleucina e interferons que podem mediar os efeitos de imunomodulador (Jie et al., 1984; Kensil, 1996). É provável que elas interajam com células apresentadoras de antígenos para induzir muito dessas respostas (Barr et al., 1998). A incorporação das saponinas nas membranas celulares ou endossomais pode expor o antígeno incorporado às proteases citosólicas (Francis et al., 2002).

Em contraste com os efeitos estimulatórios sobre componentes específicos da imunidade, as saponinas também demonstraram ser capazes de prevenir algumas reações imunes não específicas, tais como a inflamação (Oliveira et al., 2001; Haridas et al., 2001a) e proliferação de monócitos (Delmas et al. 2000; Yuietal., 2001).

2.3 Saponinas na Nutrição de Ruminantes

A *Yucca schidigera* e a *Quillaja saponaria* são as maiores fontes de saponinas utilizadas como aditivos em rações, sendo os principais objetivos a

melhoria do desempenho e melhor aproveitamento de nitrogênio. *Yucca schidigera*, planta comum na América do Sul e Central onde é usada como ração animal, assim como muitas outras plantas ricas em saponina, como fitoterapia, é um extrato vegetal que melhorou o crescimento, a eficiência alimentar e a saúde em ruminantes (Mader e Brumm, 1987). As saponinas de *Quillaja* aumentaram a eficiência da síntese protéica microbiana no rúmen e diminuíram a degradabilidade da proteína dietética em estudos *in vitro* (Makkar e Becker, 1996). As saponinas de luzerna parcialmente hidrolisadas e inoculadas no rúmen resultaram em uma redução significativa na contagem total de protozoários no rúmen de ovinos (Lu e Jorgensen, 1987), o que pode ser a razão para a diminuição da degradabilidade da proteína dietética. As saponinas têm efeitos deletérios sobre a população de protozoários no rúmen (Valdez et al., 1986; Wallace et al., 1994; Hristov et al., 1999; McMurphy et al., 2014a), devido a sua ligação com os esteróis presentes na membrana dos protozoários. O extrato de *Yucca* também pode se ligar ao NH_4 quando as concentrações no rúmen estão altas, e liberá-lo novamente quando a concentração estiver baixa, promovendo um fornecimento contínuo e adequado de NH_4 para a síntese protéica microbiana (Hussain e Cheeke, 1995).

Um efeito positivo das saponinas de *Yucca* na nutrição de ruminantes foi atribuído ao aumento da retenção de $\text{NH}_4\text{-N}$ em dietas a base de palhada suplementadas com uréia (Makkar et al., 1999). Isso aumenta a disponibilidade de nutrientes para microbiota ruminal e reduz os danos ambientais, diminuindo as perdas de NH_4 para o ambiente. A suplementação de ração com folhas de *Sesbania sesban*, conhecida por seu alto conteúdo de saponina, tem o potencial de melhorar o fluxo de proteína do rúmen suprimindo a ação de protozoários (Newbold et al., 1997), já as bactérias ruminais foram observadas como capazes de metabolizar o fator antiprotozoário.

Os efeitos positivos das saponinas foram mais pronunciados quando foram diretamente administrados no rúmen, em vez de serem adicionados à ração (Odenyo et al., 1997). Killeen et al., (1998), propuseram que um surfactante ou ação emulsificante das saponinas nos constituintes da ração que altera a taxa de digestibilidade explicaria a natureza dependente do substrato do efeito de *Y. schidigera* sobre a digestibilidade da matéria seca (MS) e nitrogênio (N) no rúmen. McMurphy et al., (2014a) utilizando animais

canulados, alimentados com uma dieta a base de feno de baixa qualidade, reportaram que a inclusão de extrato de *Yucca* aumentou a digestibilidade *in situ* da matéria seca e fibra em detergente neutro (FDN) em bovinos de corte, sem impactar na IMS. Outros autores corroboraram com esses resultados, com uma diminuição da taxa de passagem em animais suplementados com extrato de *Yucca*, por meio de um aumento na viscosidade do fluído ruminal ocasionado pela característica de formação de espuma das saponinas (Cheeke, 2000). Por sua vez, esse conjunto de efeitos intra ruminal e diminuição da população de protozoários pode aumentar a eficiência alimentar pela redução na produção de metano, a seleção da microbiota ruminal, ocasionando uma mudança no padrão de fermentação, diminuindo a relação acetato:propionato e aumentando o fluxo de N para o intestino (Wallace et al., 1994; Hristov et al., 1999). Concordando com McMurphy et al., (2014a), a inclusão de extrato de *Yucca* aumenta o fluxo de proteína microbiana para o intestino, disponibilizando um aporte maior de proteína metabolizável para o animal.

3. PROTOZOÁRIOS

Os protozoários foram os primeiros microrganismos ruminais a serem descobertos por Gruby e Delafond (1843), por meio do seu tamanho celular (mais que 200 μ M de comprimento) e mobilidade. Eles compõem uma grande parcela da biomassa microbiana ruminal, o papel deles na fermentação ruminal e sua contribuição com o metabolismo e nutrição do hospedeiro ainda tem controvérsias. A população de protozoários no rúmen não é essencial para que o animal sobreviva e a técnica de defaunação (retirada dos protozoários ruminais usando uma série de processos químicos e físicos) é tradicionalmente usada por grupos de pesquisas para a produção de animais livres de protozoários ruminais, e a utilização dos mesmos para estudar o papel desses microrganismos na função ruminal (Williams e Coleman, 1992). Representando cerca de 50% da biomassa microbiana do rúmen, e comumente conhecido por agir na reciclagem de N e predação bacteriana (Koenig et al., 2000).

No rúmen há presença de dois tipos de protozoários, flagelados ou ciliados. Flagelados são mais largos e compridos em espessura, e apresentam

maior mobilidade quando comparado com protozoários ciliados. Flagelados são pouco numerosos e utilizam apenas carboidratos solúveis, sendo assim, a contribuição deles no rúmen é insignificante. Ciliados são menores e finos, mais numerosos, mais funcionais no quesito mobilidade e ingestão de alimentos. Tendo em vista que os ciliados são a porção de importância dentro dos protozoários ruminais, são extremamente especializados, célula única e possuem características similar aos animais (pele, trato digestivo, esqueleto estrutural, etc). São classificados por suas características morfológicas (arranjo ciliar, localização do macronúcleo e presença ou ausência de esqueleto estrutural). Existem dois amplos grupos que se diferem em características morfológicas e função, os chamados *Holotrichs* e *Entodiniomorphs* (Nagaraja, 2016).

Mesmo ainda não elucidado completamente o papel dos protozoários, eles são responsáveis por uma gama de ações e funções dentro do rúmen. *Holotrichs* são os principais usuários de açúcares solúveis, enquanto os *Entodiniomorphs* usam uma larga variedade de substratos. A maioria dos *Entodiniomorphs* são capazes de ingerir partículas de plantas e usar carboidratos estruturais (Nagaraja, 2016), possuem alta atividade fibrolítica e alta atividade de enzimas como endoglucanase e xilanase (Williams e Coleman, 1992).

Todos os ciliados possuem alta atividade de amilase para digestão do amido, onde ocorre a captação de amido e armazenamento como grânulos ou amilopectina no esqueleto estrutural (Nagaraja, 2016). Os protozoários são conhecidos também por sua atividade predatória, usando como fonte de nitrogênio outros microrganismos como fungos e bactérias (Koenig et al., 2000).

Diferentes grupos de pesquisa vêm buscando elucidar o papel dos protozoários dentro do rúmen, como citado anteriormente o uso de animais livres de protozoários por meio da defaunação é o método mais comum entre os estudiosos da área. Buscando maiores respostas, Newbold et al., (2015), fez uma compilação de dados e por meio de uma meta-análise, obteve os seguintes resultados: defaunação resultou em menor digestibilidade da matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA), 4, 3,11 e 9% respectivamente. Outros fatores que

poderiam compensar essas repostas tornando o rúmen energeticamente mais eficiente poderiam ser mencionados como a menor emissão de metano e menor exigência de energia em animais defaunados, menor quebra de proteína microbiana e menor N-NH_3 no rúmen (-26%), diminuindo a excreção de uréia. A ausência de protozoários melhorou a conversão alimentar, resultada de uma menor IMS (-2%) e maior GMD (9%). A diminuição da quebra de bactérias como fonte de energia, fez com que o rúmen fosse mais eficiente em síntese de proteína (+27%) e fluxo de proteína microbiana para o intestino (+30%) (Newbold et al. 2015). Corroborando com a defaunação podemos também modificar a composição da microbiota ruminal (Belancheetal.,2012b) e enfim o suprimento de proteína para o intestino, frente a uma mudança no perfil de aminoácidos, promovendo um aumento em específicos aminoácidos tais como leucina, treonina e arginina (Ivan,2009), porém não acomete a lisina, considerado o principal aminoácido limitante na produção animal (Hristov e Jouany, 2005).

OBJETIVO E HIPÓTESE DO EXPERIMENTO

O objetivo do trabalho foi avaliar o impacto da suplementação de extrato de *Yucca schidigera* no desempenho, saúde e variáveis fisiológicas de bovinos na fase de recebimento no confinamento. A hipótese foi que a suplementação com extrato de *Yucca schidigera* Micro-Aid (MA; DPI Global; Porterville, CA) melhoraria o desempenho e saúde de bovinos na fase de entrada no confinamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIEC. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes. 2016. Disponível em: < <http://www.abiec.com.br/Exportacoes.aspx> >. Acesso em: 27 out. 2017.
- Allison, A. C. e Rees, W. 1957. The binding of haemoglobin by plasma proteins (haptoglobins) — its bearing on the renal threshold for haemoglobin and the aetiology of haemoglobinuria. **Br Med J**; 2(NOV16):1137–43.
- ANUALPEC: Anuário da pecuária brasileira. São Paulo: Argos, 2013.
- Araujo, D. B., R. F. Cooke, G. R. Hansen, C. R. Staples, and J. D. Arthington. 2010. Effects of rumen-protected polyunsaturated fatty acid supplementation on performance and physiological responses of growing cattle following transportation and feedlot entry. **J. Anim. Sci.** 88:4120–4132.
- Arthington, J. D., Qiu, X., Cooke, R. F., Vendramini, J. M. B., Araujo, D. B., Chase, C. C. JR., Coleman, S. W. Effects of pre-shipping management on measures of stress and performance of beef steers during feedlot receiving. **J. Anim. Sci.** 86:2016–2023. 2008
- Arthington, J. D., Spears, J. W., Miller, D. C. The effect of early weaning on feedlot performance and measures of stress in beef calves. **J. Anim. Sci.** 83:933–939. 2005.
- Barr, I.G., Sjolander, A.& Cox, J. C. (1998) ISCOMs and other saponin based adjuvants (Review). *Advanced Drug Delivery Reviews* **32**, 247–271.
- Belanche,A., DelaFuente,G.,Pinloche,E.,Newbold,C.J.,andBalcells,J.(2012b). Effect of diet and absence of protozoa on the rumen microbial community and on the representativeness of bacterial fractions used in the determination of microbialproteinsynthesis. **J.Anim.Sci.** 90,3924–3936.doi:10.2527/jas.20114802
- Berry, B. A., Confer, A. W., Krehbiel, C. R., Gill, D. R., Smith, R. A., Montelongo, M. Effects of dietary energy and starch concentrations for newly received feedlot calves: II. Acute phase protein response. **J. Anim. Sci.** 82:845–850. 2004.
- Bomford, R., Stapleton, M., Winsor, S., Beesley, J. E., Jessup, E. A., Price, K. R., Fenwick, G. R. Adjuvanticity and ISCOM formation by structurally diverse saponins. **Vaccine**, v.10, p.572–577, 1992.
- Brodsky, I. E. e Medzhitov, R. 2009. Targeting of immune signaling networks by bacterial pathogens. **Nat Cell Biol**;11(5):521–6.
- Carroll, J. A., Reuter, R. R., Chase, J. R. C. C., Coleman, S. W., Riley, D. G., Spiers, D. E., Arthington, J. D., Galyean, M. L. Profile of the bovine acute-phase response following an intravenous lipopolysaccharide challenge. **Innate Immun.** 15:81–89. 2009.
- Carroll, J. A., Forsberg, N. E. Influence of stress and nutrition on cattle immunity. **Vet. Clin. Food. Anim.** 23:105–149. 2007.
- Carter, J. N., Meredith, G. L., Montelongo, M., Gill, D. R., Krehbiel, C., Payton, M. E., Confer, A. W. Relationship of vitamin E supplementation and antimicrobial treatment with acute-phase protein responses in cattle affected by naturally acquired respiratory tract disease. **American J. of Vet. Research.** v. 63, p. 1111-1117, 2002.
- Carvalho, T. B., De Zen, S. A cadeia de Pecuária de Corte no Brasil: evolução e tendências. **Revista Ipecege**, [s.l.], v. 3, n. 1, p.85-99, 16 fev. 2017. I-PECEGE. <http://dx.doi.org/10.22167/r.ipecege.2017.1.85>.
- Ceciliani, F., Ceron, J. J., Eckersall, P. D., Sauerwein, H. 2012. Acute phase proteins in ruminants. **Journal of Proteomics** v. 75, p. 4207-4231.

Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada [CEPEA]. 2016b. PIB agronegócio. Disponível em: <<http://cepea.esalq.usp.br/pib/>>. Acesso em: 06 jan. 2017.

Ceron, J. J., Eckersall, P. D., Martynez-Subiela, S. 2005. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. **Vet Clin Pathol** 34:85–99.

Cheeke, P.R. 2000. Actual and potential applications of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* saponins in human and animal nutrition. In: W. Oleszek and A. Marston, editors. Saponins in food, feedstuffs and medicinal plants. **Kluwer Academic Publishers**: Boston; p. 241–254.

Cheeke, P. R. Actual and potential applications of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* saponins in human and animal nutrition. In: American Society of Animal Science, **Proceedings**...Indianapolis: ASAS, p.1-10, 1999.

Collado, M. C., Sanz, Y. Quantification of mucosa-adhered microbiota of lambs and calves by the use of culture methods and fluorescent in situ hybridization coupled with flow cytometry techniques. **Vet. Microbiology**. V.121, p. 299-306. 2007.

Cooke, R. F. Invited Paper: Nutritional and management considerations for beef cattle experiencing stress-induced inflammation. **American Registry of Professional Animal Scientists**. 33:1–11. 2017.

Cooke, R. F., J. A. Carroll, J. Dailey, B. I. Cappelozza, and D. W. Bohnert. 2012b. Bovine acute-phase response following different doses of corticotrophin-release hormone challenge. **J. Anim. Sci.** 90:2337– 2344.

Cooke, R. F., D. W. Bohnert, P. Moriel, B. W. Hess, and R. R. Mills. 2011b. Effects of polyunsaturated fatty acid supplementation on forage digestibility, performance, and physiological responses of feeder cattle. **J. Anim. Sci.** 89:3677–3689.

Cooke, R. F., and D. W. Bohnert. 2011. Bovine acute-phase response following corticotrophin-release hormone challenge. **J. Anim. Sci.** 89:252–257.

Cooke, R. F., Silva Del Rio, D. Z., Caraviello, S. J., Bertics, M. H., Ramos, N., and Grummer R. R. 2007. Supplemental choline for prevention and alleviation of fatty liver in dairy cattle. **J. Dairy Sci.** 90:2413–2418.

Cray, C., Zaias, J., Altman, N. H. 2009. Acute phase response in animals: A review. **Comp. Med.** 59:517-526.

De Oliveira, C. A. C., Perez, A. C., Merino, G., Prieto, J. G., Alvarez, A. I. (2001) Protective effects of *Panax ginseng* on muscle injury and inflammation after eccentric exercise. **Comparative Biochemistry and Physiology** 130C, 369–377.

Delmas, F., Di Giorgio, C., Elias, R., Gasquet, M., Azas, N., Mshvildadze, V., Dekanosidze, G., Kemertelidze, E., Timon-David, P. (2000) Antileishmanial activity of three saponins isolated from ivy, alpha-hederin, beta-hederin and hederacolchiside A(1), as compared with their action on mammalian cells cultured in vitro. **Planta Medica** 66, 343–347.

Duff, G. C., Galyean, M. L. Board-Invited Review: Recent advances in management of highly stressed, newly received feedlot cattle. **J. Anim. Sci.** 85:823– 840. 2007.

Eckersall P. D., Bell R. 2010. Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. **Veterinary Journal** 185, 23–27.

FNP CONSULTORIA E AGROINFORMATIVOS. **Anualpec**: anuário da pecuária brasileira. São Paulo, 2002. p. 87.

Francis, G., Kerem, Z., Makkar, H.P. S., Becker, K. The biological action of saponins in animal systems: a review. **British Journal of Nutrition** [online], v.88, p. 587–605, 2002. Disponível

em:http://journals.cambridge.org/download.php?file=%2FBJN%2FBJN88_06%2FS0007114502002349a.pdf&code=731524a7844a5fdf5eecd461067b11c3 Acesso em 1 set.2011.

Fukuda, K., Utsumi, H., Shoji, J., Hamada, A. 1985. Saponins can cause the agglutination of phospholipid vesicles. **Biochimica et Biophysica Acta** 820, 199–206.

French, T. 1989. Acute phase proteins, p 201–235. In: Loeb WF, Quimby FW, editors. The clinical chemistry of laboratory animals. **Oxford (UK)**: Pergamon Press.

Gardner, B. A., Dolezal, H. G., Bryant, L. K., Owens, F. N., Smith, R. A. Health of finishing steers: Effects on performance, carcass traits, and meat tenderness. **J. Anim. Sci.** 77:3168–3175. 1999.

Goetsch, A. L., F. N. Owens. 1985. Effects of sarsaponin on digestion and passage rates in cattle fed medium to low concentrate. **J. Dairy Sci.** 68:2377–2384. doi:10.3168/jds. S0022-0302(85)81112-7

Graversen, J. H., Madsen, M., Moestrup, S. K. 2002. CD163: a signal receptor scavenging haptoglobin-hemoglobin complexes from plasma. **Int J Biochem Cell Biol**; 34(4):309–14.

Gruby, D., Delafond, H. M. O. (1843). 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.** 17, 1304–1308.

Haley, D. B., Bailey, D. W., Stookey, J. M. 2005. The effects of weaning beef calves in two stages on their behavior and growth rate. **J. Anim. Sci.** 83:2205–2214.

Hayirli, A., Grummer, R. R., Nordheim, E. V., Crump, P. M. 2002. Animal and dietary factors affecting feed intake during the prefresh transition period in Holsteins. **J. Dairy Sci.** 85:3430–3443.

Haridas, V., Arntzen, C. J., Gutterman, J. U. (2001a) Avicins, a family of triterpenoid saponins from *Acacia victoriae* (Benth), inhibit activation of nuclear factor-kappa B by inhibiting both its nuclear localization and ability to bind DNA. **Proceedings ...** 98, 11557–11562.

Heinrich, P. C., Castell, J. V., Andus, T. 1990. Interleukin-6 and the acute phase response. **Biochemistry Journal**, Vol.265, No.3, (February 1990), pp. 621-626

Henricks, D. M., Jenkins, T. C., Ward, J. R., Krishnan, C. S., Grimes, L. 1994. Endocrine responses and body composition changes during feed restriction and realimentation in young bulls. **J. Anim. Sci.** 72:2289–2297.

Hristov, A. N., Jouany, J. P. (2005). "Factors affecting the efficiency of nitrogen utilization in the rumen," in Nitrogen and Phosphorus Nutrition of Cattle and Environment, eds A. N. Hristov and E. Pfeffer (**Wallingford: CAB International**), 177–166.

Hristov, A. N., Grandeen, K. L., Ropp, J., Greer, D. 2004. Effect of *Yucca schidigera*-based surfactant on ammonia utilization in vitro, and in situ degradability of corn grain. **Anim. Feed Sci. Technol.** 115:341–355. doi:10.1016/j. ani. Feedsci.2004.02.010

Hu, M., Konoki, K., Tachibana, K. 1996. Cholesterol-independent membrane disruption caused by triterpenoid saponins. **Bio- chimica et Biophysica Acta – Lipid Metabolism** 1299, 252 – 258.

Hutcheson, D. P., Cole, N. A. 1986. Management of transit-stress syndrome in cattle: Nutritional and environmental effects. **J. Anim. Sci.** 62:555–560.

- Hussain, I., Cheeke, P. R. (1995) Effect of *Yucca schidigera* extract on rumen and blood profiles of steers fed concentrate- or roughage-based diets. **Animal Feed Science and Technology** 51, 231–242.
- Ivan, M. (2009). Comparison of duodenal flow and digestibility in fauna-free sheep inoculated with *Holotrich* protozoa, *Entodinium* monofauna or total mixed protozoa population. **Br. J. Nutr.** 101, 34–40. doi:10.1017/S0007114508984245
- Jie, Y. H., Cammisuli, S., Baggiolini, M. (1984) Immunomodulatory effects of *Panax ginseng* C. A. MEYER in the mouse. **Agents and Actions** 15, 386–391.
- Johnson, I. T., Gee, J. M., Price, K., Curl, C., Fenwick, G. R. Influence of saponins on gut permeability and active nutrient transport in vitro. **Journal of Nutrition** [online], v. 116, n. 11, p. 2270–2277, 1986. Disponível em: <http://jn.nutrition.org/content/116/11/2270.full.pdf+html?sid=1281f9906380-458d-967a-a8375540aee3>.
- Johnson, R. W. Inhibition of growth by pro-inflammatory cytokines: An integrated view. **J. Anim. Sci.** 75:1244–1255. 1997.
- Kato, G. J. 2009. Haptoglobin halts hemoglobin's havoc. **J Clin Invest**; 119(8):2140-2.
- Kensil, C. R. (1996) Saponins as vaccine adjuvants. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems* 13, 1–55.
- Khafipour, E., Krause, D. O., Plaizier, J. C. A grain-based subacute ruminal acidosis challenge causes translocation of lipopolysaccharide and triggers inflammation. **J. Dairy Sci.** 92:1060–1070. 2009.
- Killeen, G. F., Madigan, C. A., Connolly, C. R., Walsh, G. A., Clark, C., Hynes, M. J., Timmins, B. F., James, P., Headon, D. R., Power, R. F. 1998. Antimicrobial saponins of *Yucca schidigera* and the implications of their in vitro properties for their in vivo impact. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 46, 3178–3186.
- Klasing, K. C., Korver, D. R. Leukocytic cytokines regulate growth rate and composition following activation of the immune system. **J. Anim. Sci.** 75(Suppl. 2):58–67. 1997.
- Koenig, K. M., C. J. Newbold, F. M. McIntosh, and L. M. Rode. 2000. Effects of protozoa on bacterial nitrogen recycling in the rumen. **J. Anim. Sci.** 78:2431–2445.
- Krysko, D. V., Agostinis, P., Krysko, O., Garg, A. D., Bachert, C., Lambrecht, B. N. 2011. Emerging role of damage-associated molecular patterns derived from mitochondria in inflammation. **Trends Immunol** ;32(4):157–64.
- Liener, I. E. Implications of antinutritional components in soybean foods. **Crit Rev Food Sci Nutr.** 1994;34:31–67.
- Lippolis, K. D., Cooke, R. F., Schumacher, T., Brandão, A. P., Silva, L. G. T., Schubach, K. M., Marques, R. S., Bohnert, D. W. 2017. Physiologic, health, and performance responses of beef steers supplemented with an immunomodulatory feed ingredient during feedlot receiving. **J. Anim. Sci.** 95:4945–4957. doi:10.2527/jas2017.1837
- Loerch, S. C., Fluharty, F. L. Physiological changes and digestive capabilities of newly received feedlot cattle. **J. of Anim. Sci.** v. 77, p. 1113–1119, 1999.
- Lofgreen, G. P., Dunbar, J. R., Addis, D. G., Clark, J. G. Energy level in starting rations for calves subjected to marketing and shipping stress. **J. Anim. Sci.** 41:1256–1265. 1975.
- Loneragan, G. H., Dargatz, D. A., Morley, P. S., Smith, M. A. Trends in mortality ratios among cattle in U.S. feedlots. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 219:1122–1127. 2001
- Lu, C. D., Jorgensen, N. A. (1987) Alfalfa saponins affect site and extent of nutrient digestion in ruminants. **Journal of Nutrition** 117, 919–927.

Mani, V., Weber, T. E., Baumgard, L. H., Gabler, N. K. Growth And Development. Symposium: Endotoxin, inflammation, and intestinal function in livestock. **J. Anim. Sci.** v. 90, p. 1452–1465. 2012

Mader, T. L., Brumm, M. C. 1987. Effect of feeding sarsasaponin in cattle and swine diets. **Journal of Animal Science** 65, 9–15.

Makkar, H. P. S., Aregheore, E. M., Becker, K. 1999. Effects of saponins and plant extracts containing saponins on the recovery of ammonia during urea ammoniation of wheat straw and fermentation kinetics of the treated straw. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge 132, 313–321.

Marques, R. S., Cooke, R. F., Francisco, C. L., Bohnert, D. W. 2012. Effects of 24-h transport or 24-h feed and water deprivation on physiologic and performance responses of feeder cattle. **J. Anim. Sci.** 90:5040–5046.

McMurphy, C. P., Sexten, A. J., Mourer, G. L., Rinker, M. J., Lalman, D. J. 2014b. Effects of including saponins (Micro-Aid) in a protein supplement on performance of growing steers and spring-calving cows. **Anim. Feed Sci. Technol.** 190:19–29. doi:10.1016/j.anifeedsci.2014.01.002

McMurphy, C. P., Sexten, A. J., Mourer, G. L., Sharman, E. D., Trojan, S. J., Rincker, M. J., Coblenz, W. K., Lalman, D. L. 2014a. Effects of including saponins (MicroAid®) on intake, rumen fermentation and digestibility in steers fed low quality prairie hay. **Anim. Feed Sci. Technol.** 190:47–58. doi:10.1016/j.anifeedsci.2014.01.007

Meiske, J. C., Salsbury, R. L., Hoefer, J. A., Luecke, R. W. 1958. The effect of starvation and subsequent re-feeding on some activities of rumen microorganisms in vitro. **J. Anim. Sci.** 17:774–781.

Moberg, G. P. 2000. Biological responses to stress: Implications for animal welfare. In: The Biology of Animal Stress: Basic Principles and Implications for Animal Welfare, **CAB International**, Oxon, UK. p. 1-21.

Morimatsu, M., Syuto, B., Shimada, N., Fujinaga, T., Yamamoto, S., Saito, M., Naiki, M. 1991. Isolation and characterisation of bovine haptoglobin from acute phase sera. **Journal of Biological Chemistry** 266, 11833– 11837.

Murata, H., Shimada, N., Yoshioka, M. 2004. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. **Vet J** ;168:28–40.

Nagaraja, Tg. Microbiology of the Rumen. In: MILLEN, Danilo Domingues. **Rumenology**. [s.l.]: Springer, 2016. p. 39-62.

Newbold, C. J., De la Fuente, G., Belanche, A., Ramos-Morales, E., McEwan, N. R. (2015) The Role of Ciliate Protozoa in the Rumen. 2015. **Front. Microbiol.** 6:1313. doi: 10.3389/fmicb.2015.01313

Newbold, C. J., El Hassan, S. M., Wang, J., Ortega, M. E., Wallace, R. J. 1997. Influence of foliage from African multipurpose trees on activity of rumen protozoa and bacteria. **British Journal of Nutrition** 78, 237–249.

Oda, K., Matsuda, H., Murakami, T., Katayama, S., Ohgitani, T., Yoshikawa, M. (2000) Adjuvant and haemolytic activities of 47 saponins derived from medicinal and food plants. **Biological Chemistry** 381, 67–74.

Odenyo, A. A., Osuji, P.O., Karanfil, O. 1997. Effects of multipurpose tree (MPT) supplements on ruminant ciliate protozoa. **Animal Feed Science and Technology** 67, 169–180.

Paes, P.R.O. A influência do desmame, do transporte rodoviário e da contenção e tronco, na etiologia, hematologia e bioquímica clínica de bovinos da raça Nelore (*Bos indicus*). Botucatu,

2005. 124p. Tese (Doutorado em Clínica Veterinária) – **Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia** – Universidade Estadual Paulista

Paltrinieri, S. 2008. The feline acute phase reaction. **Vet J** 177:26–35.

Petersen, H. H., Nielsen, J. P., Heegaard, P. M. H. 2004. Application of acute phase protein measurement in veterinary clinical chemistry. **Vet Res** ;35:163–87.

Philippidis, P., Mason, J. C., Evans, B. J., Nadra, I., Taylor, K. M., Haskard, D. O. 2004. Hemoglobin scavenger receptor CD163 mediates interleukin-10 release and heme oxygenase-1 synthesis — antiinflammatory monocyte-macrophage responses in vitro, in resolving skin blisters in vivo, and after cardiopulmonary bypass surgery. **Circ Res**;94(1):119–26

Pizarro, A. P. B., Filho, A. M. O., Parente, J. P., Melo, M. T. V., Santos, C. E., Lima, P. R. O aproveitamento do resíduo da indústria do sisal no controle de larvas de mosquitos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v.32, n.1, p. 23-29, 1999

Price, K. R., Johnson, I. T., Fenwick, G. R. The chemistry and biological significance of saponins in food and feeding stuffs. **CRC Crit Rev Food. Sci Nutr** 1987;26:27–135.

Qiu, X., Arthington, J. D., Riley, D. G., Chase, C. C., Phillips, W. A., Coleman, S. W., Olson, T. A. Genetic effects on acute phase protein response to the stresses of weaning and transportation in beef calves. **J. Anim. Sci.** 85:2367–2374. 2007.

Samuelson, K. L., Hubbert, M. E., Galyean, M. L., Loest, C. A. 2016. Nutritional recommendations of feedlot consulting nutritionists: the 2015 New Mexico State and Texas Tech University survey. **J. Anim. Sci.** 94:2648–2663. doi:10.2527/jas.2016-0282

Schenkel, E. P., Gosmann, G., Athayde, M. L. Saponinas. In: Simões, C. M., Schenkel, E. P., Gosmann, G., Mello, J. C. P., Mentz, L. A., Petrovick, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3 ed. Porto Alegre: Ed. UFRGS/Ed. UFSC, 2001. cap.27, p.597-619.

Schleimer, R. P. 2004. Glucocorticoids suppress inflammation but spare innate immune responses in airway epithelium. **Proc Am Thorac Soc**; 1(3):222–30

Selye, H. 1936. A syndrome produced by diverse nocuous agents. **Nature**, v. 138, n.32

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

Singer, M. D., Robinson, P. H., Salem, A. Z. M., DePeters, E. J. 2008. Impacts of ruminal 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. **Anim. Feed Sci. Technol.** 146:242–258. doi:10.1016/j.anifeedsci.2007.12.010

Sjolander, A., Cox, J. C., Barr, I. G. (1998) ISCOMs: an adjuvant with multiple functions (Review). **Journal of Leukocyte Biology** 64, 713–723.

Snowder, G. D., Van Vleck, L. D., Cundiff, L. V., Bennett, G. L. 2006. Bovine respiratory disease in feedlot cattle: environmental, genetic, and economic factors. **J. Anim. Sci.** 84:1999–2008. doi:10.2527/jas.2006-046.

Spurlock, M. E. Regulation of metabolism and growth during immune challenge: An overview of cytokine function. **J. Anim. Sci.** 75:1773–1783. 1997.

Step, D. L., Krehbiel, C. R., Drpra, H. A., Cranston, J. K., Fulton, R. W., Kirkpatrick, J. G., Gill, D. R., Payton, M. E., Montelongo, M. A., Confer, A. W. 2008. Effects of commingling beef calves from different sources and weaning protocols during a forty-two-day receiving period on performance and bovine respiratory disease. **J. Anim. Sci.** 86: 3146–3158.

US Food and Drug Administration. 2015. FACT SHEET: veterinary feed directive final rule and next steps [accessed March 10, 2018]. Available from <http://www.fda.gov/AnimalVeterinary/DevelopmentApprovalProcess/ucm449019.htm>.

Valdez, F.R., Bush, L.J., Goetsch, A.L., Owens, F.N., 1986. Effect of steroidal saponins on ruminal fermentation and on production of lactating dairy cows. **J. Dairy Sci.** 69, 1568–1575.

Taylor, J. D., Fulton, R. W., Lehenbauer, T. W., Step, D. L., Confer, A. W. 2010. The epidemiology of bovine respiratory disease: What is the evidence for predisposing factors? **Can. Vet. J.** 51:1095–1102.

Wallace, R.J., Arthaud, L., Newbold, C.J., 1994. Influence of *Yucca schidigera* extract on ruminal ammonia concentrations and ruminal microorganisms. **Appl. Environ. Microbiol.** 60, 1762–1767.

Ward, J. R., Henricks, D. M., Jenkins, T. C., Bridges, W. C. 1992. Serum hormone and metabolite concentrations in fasted young bulls and steers. **Domest. Anim. Endocrinol.** 9:97–103.

Williams, A. G., Coleman, G. S. (1992). *The Rumen Protozoa*. New York: Springer-Verlag.

Wilson, B. K., Richards, C. J., Step, D. L., Krehbiel, C. R. 2017. Best management practices for newly weaned calves for improved health and well-being. **J. Anim. Sci.** 95:2170–2182. doi:10.2527/jas.2016.1006

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** [online], v.53, n.21, p.8093–8105, 2005.

Woldemichael, G. M., Wink, M. 2001. Identification and biological activities of triterpenoid saponins from *Chenopodium quinoa*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 49, 2327 – 2332.

Woolums, A. R., Loneragan, G. H., Hawkins, L. L., Williams, S. M. Baseline management practices and animal health data reported by US feedlots responding to a survey regarding acute interstitial pneumonia. **Bovine Pract.** 39:116–124. 2005.

Yui, S., Ubukata, K., Hodono, K., Kitahara, M., Mimaki, Y., Kuroda, M., Sashida, Y., Yamazaki, M. (2001) Macrophage-oriented cytotoxic activity of novel triterpene saponins extracted from roots of *Securidaca inappendiculata*. **International Immunopharmacology** 1, 1989–2000.

Zhang, S., R. I. Albornoz, J. R. Aschenbach, D. R. Barreda, and G. B. Penner. 2013a. Short-term feed restriction impairs the absorptive function of the reticulo-rumen and total tract barrier function in beef cattle. **J. Anim. Sci.** 91:1685–1695. doi:10.2527/jas.2012-5669

Zhang, S., J. R. Aschenbach, D. R. Barreda, and G. B. Penner. 2013b. Recovery of absorptive function of the reticulo-rumen and total tract barrier function in beef cattle after short-term feed restriction. **J. Anim. Sci.** 91:1696–1706. doi:10.2527/jas.2012-5774

Zebeli, Q., Dunn, S. M., Ametaj, B. N. Perturbations of plasma metabolites correlated with the rise of rumen endotoxin in dairy cows fed diets rich in easily degradable carbohydrates. **J. Dairy Sci.** 94:2374–2382. 2011.

Capítulo II

PRODUTIVIDADE E RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE BOVINOS CONFINADO SUPLEMENTADO COM EXTRATO DE *YUCCA SCHIDIGERA* DURANTE A FASE DE ENTRADA NO CONFINAMENTO

RESUMO

Esse experimento avaliou a suplementação de um ingrediente contendo saponina, manufaturado a partir do extrato purificado de *Yucca schidigera* [Micro-Aid (MA); DPI Global; Porterville CA], no desempenho, saúde e respostas fisiológicas em bezerros recém chegados em confinamento. Um total de 105 bezerros Angus x Hereford recém desmamados (75 machos e 30 fêmeas), provenientes de oito fazendas de cria, foram adquiridos em um leilão comercial no dia -2 e transportados (800 km; 12 h) até o local do experimento. Imediatamente após a chegada no dia -1 foi coletado o peso vazio, e os animais foram agrupados e alocados com acesso a vontade ao feno, suplemento mineral e água. No dia 0, os animais foram ranqueados por sexo, local de origem e peso vazio e alocados em uma das 21 baias (5 animais/baia; contendo uma ou duas fêmeas por baia). As baias receberam uma dieta completa (TMR) e um entre os três tratamentos (matéria natural): (1) 1 g /animal/dia de MA (**M1**; $n=7$), (2) 2 g /animal/dia de MA (**M2**; $n=7$), ou (3) sem suplementação de MA (**CON**; $n=7$). Os animais receberam a dieta completa calculada para conter 15% de sobra (matéria orgânica), e os tratamentos foram dispostos por cima da dieta durante o dia 0 ao 59. Os animais foram monitorados para sintomas de doença respiratória bovina (DRB) e coletou o consumo diário de cada baia. Os animais foram vacinados contra DRB no dia 0 e 21. O peso vazio final foi coletado no dia 60, e amostras de sangue foram coletadas nos dias 0, 2, 6, 10, 14, 21, 28, 34, 45 e 59. Ganho médio diário foi melhor ($P = 0,03$) nos animais do tratamento M2 vs. M1 e CON (1,53, 1,42 e 1,42 kg/dia, respectivamente), e similar ($P = 0,95$) entre M1 e CON. Não foi detectado efeito de tratamento para ingestão de matéria seca ($P = 0,52$), enquanto eficiência alimentar foi melhor ($P \leq 0,05$) para os animais do tratamento M2 vs. M1 e CON (213, 200, 204 g/kg, respectivamente) e similar ($P = 0,40$) entre M1 e CON. Não foi detectado efeito de tratamento ($P = 0,39$) para diagnostico de sintomas de DRB. O número de tratamentos de antibiótico

requerido uma vez que foi diagnosticado DRB foi maior ($P \leq 0,01$) para os animais do grupo CON vs. M1 e M2 (1,40, 1,05 e 1,10 tratamentos, respectivamente), e similar ($P = 0,60$) entre M1 e M2. Nenhum outro efeito de tratamento foi detectado ($P \geq 0,23$), incluindo concentrações séricas de hormônios e metabólitos, título de anticorpos para patógenos de DRB, e expressão de mRNA de genes de imunidade inata no sangue. Em conjunto, os resultados do presente experimento sugerem que a suplementação com MA 2 g/animal/dia melhorou o desempenho e resposta ao tratamento de DRB em situação de alto risco durante a fase de recebimento dos animais no confinamento.

Palavras-chave: Imunidade inata, nutrição, desempenho, doença respiratória, saponinas

PRODUCTIVE AND PHYSIOLOGICAL RESPONSES OF FEEDER CATTLE SUPPLEMENTED WITH *YUCCA SCHIDIGERA* EXTRACT DURING FEEDLOT RECEIVING

ABSTRACT

This experiment evaluated the effects of supplementing a saponin-containing feed ingredient, manufactured from purified extract of *Yucca schidigera* [Micro-Aid (MA); DPI Global; Porterville, CA], on performance, health, and physiological responses of receiving cattle. A total of 105 recently weaned Angus x Hereford calves (75 steers and 30 heifers), originating from eight cow-calf operations, were obtained from an auction facility on day -2 and road transported (800 km; 12 h) to the experimental facility. Immediately after arrival on day -1, shrunk BW was recorded and calves were grouped with free choice access to grass hay, mineral supplement, and water. On day 0, calves were ranked by sex, source, and shrunk BW, and allocated to one of 21 pens (5 calves/pen; being one or two heifers within each pen). Pens were assigned to receive a total mixed ration (TMR) and one of three treatments (as-fed basis): (1) 1 g/calf daily of MA (M1; n = 7), (2) 2 g/ calf daily of MA (M2; n = 7), or (3) no MA supplementation (CON; n = 7). Calves received the TMR to yield 15% (as-fed basis) orts, and treatments were top-dressed from days 0 to 59. Calves were assessed for bovine respiratory disease (BRD) signs and TMR intake was recorded for each pen daily. Calves were vaccinated against BRD pathogens on days 0 and 21. Final shrunk BW was recorded on day 60, and blood samples were collected on days 0, 2, 6, 10, 14, 21, 28, 34, 45, and 59. ADG was greater ($P = 0.03$) in M2 vs. M1 and CON (1.53, 1.42, and 1.42 kg/day, respectively), and similar ($P = 0.95$) between M1 and CON calves. No treatment effects were detected for TMR intake ($P = 0.52$), whereas feed efficiency was greater ($P \leq 0.05$) in M2 vs. M1 and CON calves (213, 200, and 204 g/kg, respectively) and similar ($P = 0.40$) between M1 and CON calves. No treatment effects were detected ($P = 0.39$) for diagnosis of BRD signs. The number of antimicrobial treatments required upon BRD diagnosis was greater ($P \leq 0.01$) in CON vs. M1 and M2 (1.40, 1.05, and 1.10 treatments, respectively), and similar

($P = 0.60$) between M1 and M2 calves. No other treatment effects were detected ($P \geq 0.23$), including circulating concentrations of hormones and metabolites, serum antibody titers to BRD pathogens, and mRNA expression of innate immunity genes in whole blood. Collectively, results from this experiment suggest that MA supplementation at 2 g/animal daily enhances performance and response to BRD treatment in high-risk cattle during feedlot receiving.

Key words: innate immunity, nutrition, performance, receiving cattle, respiratory disease, saponins

1. INTRODUÇÃO

Bovinos de corte são expostos a múltiplos desafios de estresse durante a fase de recebimento em confinamento, incluindo transporte, mistura com diferentes animais, e exposição a novas dietas e ambientes (Duff e Galyean, 2007). A combinação desses estressores são conhecidos por estimular respostas neuroendócrinas e inflamatórias que podem prejudicar a imunocpetência e produtividade (Cooke, 2017). Consequentemente, a incidência de doença respiratória bovina (DRB) é elevada durante a fase de recebimento no confinamento, apesar da vacinação contra patógenos de DRB e esforços para minimizar o estresse (Snowder et al., 2006; Wilson et al., 2017).

Medicamentos profiláticos como promotores de crescimento são estratégias convencionais para mitigar a incidência de DRB e aumentar o crescimento em animais recém chegados ao confinamento (Samuelson et al., 2016). Com maiores restrições em relação ao uso de promotores de crescimento na pecuária (US Food and Drug Administration, 2015), estratégias dietéticas como alternativas para melhorar o desempenho e imunidade são necessárias. Isso inclui o uso de ingredientes não antibióticos que melhorem a imunidade e função ruminal, tais como, Micro-Aid (MA; DPI Global; Porterville, CA). Esse aditivo produzido a partir do extrato purificado de planta de *Yucca schidigera*, contém $\approx 18\%$ de saponina (base da matéria seca; Singer et al., 2008). As saponinas fornecem propriedades imunoestimuladoras, aumentando as respostas de lipócitos e anticorpos a antígenos (Shi et al., 2004), auxiliando também na fermentação ruminal, diminuindo a população de protozoários e modulando a taxa de passagem (Goetsch e Owens, 1985; Hristov et al., 2004).

A suplementação de MA 1 ou 2 g / dia (base da matéria orgânica) para novilhos alimentados com dietas a base de forragem melhorou a digestibilidade *in situ* de forragem (McMurphy et al., 2014a) mas não o GMD (McMurphy et al., 2014b), enquanto a suplementação de MA 2 g / dia aumentou o fluxo de proteína microbiana (McMurphy et al., 2014a). Entretanto, os efeitos da suplementação com MA sobre o desempenho e parâmetros de imunidade em bovinos recém chegados no confinamento ainda necessitam mais

investigações. Baseados nesse raciocínio, nós hipotetizamos que a suplementação com MA é uma estratégia dietética que melhora a imunocompetência e produtividade durante a fase de recebimento no confinamento. Para investigar essa hipótese, esse experimento comparou desempenho, saúde, e respostas imunológicas animais suplementados com MA durante os 60 primeiros dias do período de recebimento.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Esse experimento foi conduzido na estação experimental Eastern Oregon Agricultural Research Center (Burns, OR), Oregon State University. Todos os animais foram tratados de acordo com práticas adequadas e os protocolos foram revisados e aprovados pela OSU Institutional Animal Care and Use Committee (#4973).

2.1 Animais e Tratamentos

Cento e cinco bezerros recém desmamados Angus x Hereford (75 bezerros 30 bezerras), foram comprados em um leilão comercial (Producers Livestock Marketing Association; Vale, OR), e utilizados nesse experimento (dia 0 ao 60). Os animais provenientes de oito diferentes fazendas de cria localizadas no leste do Oregon e oeste de Idaho, sem prévio conhecimento do histórico sanitário dos mesmos. No dia da compra (dia -2; 1800 horas), os animais foram carregados no local de compra em um trailer comercial dois andares para transporte de animal (Legend 50' cattle liner; Barrett LLC., Purcell, OK) e transportados por 800 km para simular o estresse por longas distancias (Cooke et al., 2013). Durante o transporte, após 6 horas de viagem foi feita uma parada para descanso de 60 minutos, totalizando 12 horas de transporte até o destino final. Os animais permaneceram no trailer durante as 12 horas de transporte. A temperatura média, máxima e mínima durante o transporte foram 7, 13 e -1°C, respectivamente, enquanto a umidade média foi 71% e não houve precipitação.

No dia -1 do experimento (0600 horas), os animais foram descarregados na estação experimental Eastern Oregon Agricultural Research Center, imediatamente foram pesados (PC vazio inicial = 220 ± 2 kg), e mantidos como

um único grupo (piquete 160 x 100 m) por 24 h com feno de alfafa a vontade, água e mistura mineral comercial (descrito na Tabela 1). No dia 0, os animais foram ranqueados de acordo com sexo, local de origem (fonte) e PC vazio, e alocados em 1 de 21 baias (7 x 15 m; 5 animais/baia, havendo 1 ou 2 fêmeas por baia), as baias continham PC vazio equivalente e bezerros de pelo menos três fontes diferentes pra estimular o estresse da mistura com novos animais (Step et al., 2008). As baias receberam uma dieta completa (TMR) e um dos três tratamentos (base da MO): (1) 1 g/animal/dia de MA (**M1**; $n=7$), (2) 2 g/animal/dia de MA (**M2**; $n=7$), ou (3) sem suplementação com MA (**CON**; $n=7$). Os tratamentos foram atribuídos as baias de forma que M1, M2 e CON estivessem balanceados pelo PC vazio iniciais, sexo e fonte, e contendo animais de 8 fazendas diferentes. De acordo com o fabricante (DPI Global), MA é um aditivo derivado de plantas usado na nutrição animal, extraído do extrato purificado de *Y. schidigera* comum no sudeste do Estados Unidos e México, e contem 97% MS e 181,6 g de saponina por kilograma de MS (Singer et al., 2008). A dosagem de MA usada no presente estudo foi de acordo com a recomendação do fornecedor e prévias pesquisas com bovinos de corte em fase de crescimento (McMurphy et al., 2014a,2014b).

Os animais receberam água e TMR *ad libitum* do dia 0 a 59 (Tabela 1), alimentados duas vezes por dia (0800 e 1300 horas). A TMR foi ofertada de maneira que houvesse 15% (base de MO) de sobra antes de cada trato, em cocho de concreto (7,5 m. linear de cocho por baia), um misturador vertical (NDEco S600; New Direction Equipment; Sioux Falls, SD) foi usado para a mistura da dieta. Foram usadas quatro dietas TMR durante o período experimental (Tabela 1). O MA foi misturado com farelo de soja como veículo (1,25 kg/baia; base da MO) e ofertado sobre o primeiro trato do dia diariamente nas baias M1 e M2. Nas baias pertencentes ao tratamento CON foram ofertados apenas farelo de soja sem a adição de MA (1,25 kg/baia; base da MO) da mesma maneira que o M1 e M2. No dia 0, os novilhos foram vacinados contra *Clostridium* e *Mannheimia haemolytica* (One Shot Ultra 7; Zoetis Florham Park, NJ), rinotraqueíte infecciosa bovina, complexo de diarreia viral bovina, parainfluenza 3 e vírus respiratório sincicial bovino (Bovi- Shield Gold 5; Zoetis), e foi administrado anti-helmíntico (Dectomax; Zoetis). No dia 21, os animais receberam um reforço vacinal contra *Clostridium* (Ultrabac 8; Zoetis),

rinotraqueíte infecciosa bovina, complexo de diarreia viral bovina, parainfluenza 3 e vírus respiratório sincicial bovino (Bovi-Shield Gold 5; Zoetis), seguindo a recomendação do fabricante para a revacinação contra esses patógenos. Os animais não receberam implante promotor de crescimento durante o período experimental.

2.2 Amostragem

Amostras de ingredientes da TMR foram coletadas semanalmente, uma amostra composta foi feita de todas as semanas, e analisadas em relação ao conteúdo nutricional em um laboratório comercial (Dairy One Forage Laboratory, Ithaca, NY). Todas as amostras foram analisadas para concentrações de proteína bruta (PB; método 984.13; AOAC, 2006), fibra em detergente ácido (FDA; método 973.18 modificado para uso em um analisador de fibra Ankom 200, Ankom Technology Corp., Fairport, NY; AOAC, 2006), e fibra em detergente neutro (FDN; Van Soest et al., 1991; modificado para uso em um analisador de fibra Ankom 200, Ankom Technology Corp.). Para o cálculo dos nutrientes digestíveis totais (NDT), foi utilizada a equação proposta por Weiss et al. (1992), enquanto que E_{LM} e E_{LG} foram calculados pela equação proposta pelo NRC (1996). O perfil nutricional das dietas TMR está descrito na Tabela 1.

Animais pesados e manejados para a coleta de dados em um tronco de contenção (Moly Manufacturing, Lorraine, KS) equipado com células de pesagem Avery Weigh-Tronix (Fairmount, MN; readability 0.45 kg). O PC vazio foi coletado no dia 60, após 16 horas de jejum de líquido e sólido. A balança foi calibrada antes de cada pesagem com peso de massa conhecida. O PC vazio do dia -1 e 60 foram usados para calcular GMD durante o experimento. A ingestão de TMR (base da MS) foi avaliada do dia 0 ao 59 de cada baia, calculado pela diferença entre a quantia ofertada e a quantia de sobra de TMR diariamente (07h00 horas), toda a sobra não consumida foi descartada. Amostras do ofertado e da sobra de TMR foram secas por 96 horas a 50°C em estufa de ventilação forçada para o cálculo da MS. A ingestão de TMR de cada baia foi dividida pelo número de animais de cada baia, e expressado em quilograma por animal/dia. O ganho de PC total (em quilogramas, baseado nos

valores de PC vazio) e ingestão de MS total (em kg, base da MS) de cada baia durante o período experimental foram usados para o cálculo da eficiência alimentar (EA), e reportado em ganho de PC por quilograma de MS consumida.

Os animais foram observados diariamente em busca de sintomas de DRB por dois avaliadores treinados sem o conhecimento sobre os tratamentos de cada baia, de acordo com o método de DART score (Zoetis) com as modificações descritas por Step et al., (2008) e Wilson et al., (2015). Em resumo, os animais receberam um score de severidade de 0 a 4, onde 0 é sem sintomas visuais de DRB. Os animais foram diagnosticados com DRB e atribuídos scores de 1 ou 2 quando estavam com a temperatura retal $\geq 40^{\circ}\text{C}$ (GL M-500, GLA Agricultural Electronics, San Luis Obispo, CA), ou eram atribuídos scores de 3 ou 4 independentemente da temperatura retal. Dentro das baias, apenas os animais que apresentavam scores 1 e 2 eram manejados para a aferição da temperatura retal, enquanto os animais diagnosticados com DRB receberam tratamento com antibiótico. O primeiro tratamento com antibiótico administrado foi gamitromicina [150 mg/mL (Zactran; Merial, Duluth, GA) 1 mL/25 kg de PC aplicação subcutânea]. Um período de moratória era observado (10 dias de moratória para severidade 1 ou 2, ou 4 dias para severidade 3 e 4) após a aplicação de gamitromicina e antes do segundo tratamento com antibiótico ser administrado. Os animais diagnosticados com sintomas de DRB após o primeiro período de moratória era administrado florfenicol 300 mg/mL (Nuflor; Merck Animal Health, Madison, NJ) 1mL/7,6 kg de PC por aplicação subcutânea. Um período de moratória de 4 dias era observado independentemente do score de severidade, e se o animal fosse diagnosticado com sintomas de DRB receberia ácido livre cristalino de ceftiofur na concentração de 200 mg/mL (Excede; Zoetis) 1mL/30,3 kg de PC na base da orelha. No entanto, nenhum dos animais utilizados no presente estudo necessitou o uso de um terceiro tratamento com antibiótico recorrente a DRB, além disso, não foi removido nenhum animal do presente experimento recorrente a DRB.

Amostras de sangue foram coletadas dos animais nos dias 0, 2, 6, 10, 14, 21, 28, 34, 45 e 59 do experimento as 0700 horas, antes do primeiro trato do dia, em tubos de coleta de sangue comerciais (Vacutainer, 10 mL; Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), sem a presença de aditivos ou heparina sódica

liofilizada para coleta de soro e plasma, respectivamente. Também foram coletadas amostras de sangue de 2 animais por baia, que foram aleatoriamente selecionados no dia -1, em tubos PAXgene (BD Diagnostics, Sparks, MD) para a extração total de RNA sanguíneo. Essas amostras foram coletadas no dia 0, 2, 6, 10 e 14 para análises de expressão de mRNA de genes de imunidade inata para avaliar as repostas durante as 2 primeiras semanas da fase de recebimento no confinamento (Tabela 2), quando os animais estão lidando com os estressores associados com a entrada no confinamento (Cooke, 2017; Lippolis et al., 2017). Foi coletado o PC cheio juntamente com as coletas de sangue, usando a mesma balança e procedimentos para calibrar a mesma, descritos na coleta de PC vazio.

2.3 Análises laboratoriais

Amostras de plasma e soro. Após a coleta todas as amostras de sangue foram alocadas imediatamente no gelo, centrifugada ($2500 \times g$ por 30 min; $4^{\circ}C$) para a coleta do plasma ou soro, e estocado a $-80^{\circ}C$ no mesmo dia da coleta. As amostras coletadas no dia 0 ao 28 foram analisadas para cortisol plasmático (Immulite 1000; Siemens Medical Solutions Diagnostics, Los Angeles, CA), ácido graxo não esterificado sérico (AGNE; colorimetric kit HR Series AGNE-2; Wako Pure Chemical Industries Ltd. USA, Richmond, VA) e concentração de haptoglobina plasmática (Cooke and Arthington, 2013), dado que essas respostas retornam aos seus níveis basais em 4 semanas após a entrada no confinamento (Cooke, 2017). As amostras de plasmas coletadas nos dias 0, 14, 28, 45 e 59 foram analisadas as concentrações de insulina e fator de crescimento semelhante a insulina tipo 1 (IGF-1) (Immulite 1000; Siemens Medical Solutions Diagnostics) para avaliar metabolicamente o status nutricional dos animais durante o período experimental (Hess et al., 2005). As amostras coletadas nos dias 0 ao 14 foram analisadas em relação ao fator de necrose tumoral alfa ($TNF\alpha$; bovine $TNF-\alpha$ ELISA kit #ELB- $TNF\alpha$ -1; RayBiotech, Inc., Norcross, GA), como se espera que as concentrações de citocinas retornem aos seus níveis basais duas semanas após a entrada no confinamento (Cooke, 2017). O CV do intra e inter ensaio foram, respectivamente, 1,9% e 8,6% para haptoglobina, 4,3% e 5,2% para AGNE, e

4,7% e 6,3% para TNF α . Cortisol plasmático, insulina e IGF-1 foram analisados dentro de único ensaio. O CV do intra ensaio foi, respectivamente, 4,2% para cortisol, 1,7% para insulina, 0,9% para IGF-1. Foram selecionados 2 animais por baia que não foram diagnosticados com DRB durante o experimento e as amostras de soro coletadas foram selecionadas para as análises de títulos de anticorpos contra patógenos de DRB, para garantir que esta resposta foi associada com a eficácia da vacina, em vez de infecção patogênica (Callan, 2001). Mais especificamente, as amostras de soro coletadas nos dias 0, 10, 21 e 45 foram analisadas para títulos de anticorpos contra *parainfluenza 3 virus (PI3)*, *vírus sincicial respiratório bovino (BRSV)*, *vírus da diarreia viral bovina 1 (BVD-1)*, *herpesvírus bovino 1 (BHV)* usando testes de neutralização viral e anticorpos contra *Mannheimia haemolytica (MH)*, via teste quantitativo de aglutinação (Texas A&M Veterinary Medical Diagnostic Laboratory, Amarillo, TX).

2.4 Amostras de PAXgene

O RNA total sanguíneo foi extraído usando kit comercial para extração de RNA (Qiagen, Valencia, CA). Quantidade e qualidade do RNA isolado foram analisados via absorbância UV (NanoDrop Lite; Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE) a 260 nm e uma relação 260/280 nm, respectivamente (Fleige e Pfaffl, 2006). Todas as amostras tiveram a relação 260/280 nm entre 1,8 e 2,0; conseqüentemente, apropriado para a síntese de cDNA (Fleige e Pfaffl, 2006). O RNA extraído (120 ng) foi feito a transcrição reversa usando um kit de alta capacidade de transcrição reversa cDNA (Applied Biosystems, Foster City, CA). A transcrição reversa de PCR em tempo real foi completa usando o Fast SYBR Green Master Mix (Applied Biosystems) juntamente com primers de genes específicos (20 pM cada; Tabela 2) com o primeiro passo do sistema de PCR em tempo real (Applied Biosystems). Seguindo de incubação a 95 °C durante 10 min, 40 ciclos de desnaturação (95 °C por 15 s), e anelamento/síntese (60 °C por 2 min) completo. Cada amostra de RNA foi analisada em triplicata, e a ausência de contaminação gênica foi verificada por uma quarta reação sem a exposição a uma transcrição reversa. Ao final de cada transcrição reversa de PCR, os produtos amplificados foram submetidos a

um gradiente de dissociação (95 °C por 15 s, 60 °C por 30 s, e 95 °C por 15 s) para verificar a amplificação de um único produto por desnaturação por temperatura prevista. Uma porção dos produtos amplificados foram purificados com o QIAquick kit de purificação de PCR (Qiagen Inc., Valencia, CA), senquenciado na Oregon State University – Center for Genome Research e biocomputado para verificar a especificidade da amplificação. Todos os produtos amplificados apresentaram apenas os genes de interesse. Respostas dos genes de interesse foram quantificadas baseadas no ciclo *threshold cycle* (CT), o numero de ciclos de PCR requerido para a amplificação alvo para se chegar a um predeterminado *threshold*. As respostas de CT dos genes de interesse foram quantificadas com base na CT e normalizadas para a média geométrica dos valores de CT da β 2-microglobulina e β -actina (Vandesompele et al., 2002). O CV da média geométrica dos valores de Ct de β 2-microglobulina e β -actina entre as todas as amostras foi 2,7%. Os resultados foram expressosas **relative fold change ($2^{-\Delta\Delta CT}$)** como apresentado por Ocón-Grove et al. (2008).

2.5 Análise estatística

A baia foi considerada a unidade experimental para todas as análises. Os dados quantitativos foram analisados usando o procedimento MIXED do SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC), enquanto os dados binários foram analisados usando o procedimento GLIMMIX do SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC), com uma distribuição binomial e logit link function. Todos os dados foram analisados usando a aproximação Satterthwaite para determinar o denominador **DF** para testes de efeito fixo, com baia(tratamento), animal(baia) como variáveis aleatória, enquanto ingestão de TMR e EA usou-se baia(tratamento) como a variável aleatória. O modelo usado para PC inicial e final, GMD, EA, e taxa de morbidade os resultados continham o efeito de tratamento, sexo do animal como uma covariavel independente. O modelo para ingestão de TMR, sintomas de BRD, PC cheio e variáveis sanguíneas continham o efeito de tratamento, dia, interação e sexo do animal como covariavel independente. As variáveis sanguíneas foram analisadas usando os resultados do dia 0 como covariavel independente. A origem do animal também foi incluída como uma covariavel

independente para as análises de expressão de mRNA de genes de imunidade inata e títulos de anticorpos contra patógenos de DRB, dado que para essa análise não contou a origem do animal. O termo específico para todas as medidas repetidas foi dia, com baia (tratamento) como sujeito para consumo de TMR e bezerro (baia) como sujeito para as demais análises. A estrutura de covariância utilizada foi auto regressiva de primeira ordem, a qual resultou em menor critério Akaike e, portanto foi a mais adequada para todas as variáveis analisadas. Todos os resultados estão reportados como quadrados mínimos ajustados na covariável e separados usando PDIFF. Significância foi determinada se $P < 0,05$ e tendências se $P > 0,05$ e $\leq 0,10$. Medidas repetidas estão reportadas de acordo com principal efeito de tratamento e se a interação tratamento $\times$ dia foi maior que 0,10. Além disso, valores de P relativos a comparações individuais entre tratamentos pelo PDIFF foram fornecidas quando o efeito de tratamento foi $P \leq 0,10$.

3. Resultados

3.1 Desempenho

Como esperado, PV inicial (dia -1) foi similar ($P = 0,97$) entre os tratamentos (Tabela 3). O GMD foi superior ($P = 0,03$) nos animais do tratamento M2 vs. M1 e CON, e similar ($P = 0,95$) entre M1 e CON (Tabela 3; principal efeito de tratamento, $P = 0,05$). No entanto, não foram detectados efeitos de tratamento ($P \geq 0,49$) para PC vazio final ou mensurações de PC cheio (Figura 1). Não houve efeito de tratamento para ingestão de TMR ($P = 0,52$; Tabela 3), enquanto EA foi melhor ($P \leq 0,05$) nos animais do tratamento M2 vs. M1 e CON, e similar entre M1 e CON (Tabela 3; principal efeito de tratamento, $P = 0,04$).

3.2 Respostas de Saúde

Não foi detectado efeito de tratamento ($P = 0,39$) para incidência de animais diagnosticados com sintomas de DRB e tratados pelo menos uma vez durante o experimento (Tabela 4), que foram principalmente durante os primeiros 21

dias da fase de entrada no confinamento (Figura 2, efeito de dia, $P < 0,01$). No entanto, a incidência de animais que necessitaram de mais de um tratamento com antibiótico foi superior ($P \leq 0,05$) no tratamento CON vs. M1 e M2, e similar ($P = 0,66$) entre M1 e M2 (Tabela 4; principal efeito de tratamento, $P = 0,04$). Sendo assim, o número de tratamentos antimicrobianos necessários ao diagnóstico de sinais de DRB foi maior ($P \leq 0,01$) nos animais do tratamento CON vs. M1 e M2, e similar ($P = 0,60$) entre M1 e M2 (Tabela 4; principal efeito de tratamento, $P = 0,01$). Não houve incidência de mortalidade durante o período experimental.

3.3 Variáveis Fisiológicas

Não foi detectado efeito de tratamento ($P \geq 0.42$) nas concentrações de AGNE no soro, cortisol plasmático, haptoglobina, $\text{TNF}\alpha$, insulina, e IGF-I (Tabela 4). Efeito de dia foi detectado ($P \leq 0,05$) para todas essas variáveis (tabela 5). Não foi detectado efeito de tratamento ($P = 0.56$) para títulos contra patógenos contra DRB (Tabela 6), onde todos aumentaram após a vacinação durante o período experimental (efeito de dia; $P < 0.01$; Tabela 7). Não foi detectado efeito de tratamento ($P \geq 0.23$) para expressão de mRNA de citocina ligante 5 (CCL5), ciclogênase 2 (COX2), interleucina 8 (IL8), receptor de interleucina 8 (IL8R), selectina L (SELL), e fator de necrose tumoral α ($\text{TNF}\alpha$) (Tabela 5), enquanto foi detectado efeito de dia ($P \leq 0.03$) para todas as respostas de expressão de mRNA (Tabela 7).

4. Discussão

As saponinas são compostos naturais encontrados em uma variedade de plantas e leguminosas, consiste em um ou mais oligossacarídeo ligado a um aglicone hidrofóbico triterpenoide ou esteróide (Shi et al., 2004). A estrutura das saponinas varia entre as plantas e dependem do tipo de planta, o açúcar presente e a composição do anel esteróide (Rao et al., 1995). No entanto, as funções biológicas das saponinas permanecem semelhantes em diferentes fontes vegetais (Francis et al., 2002). Dado o número limitado de pesquisa que investiga o papel das saponinas do extrato de *Y. schidigera* nos animais recém

chegados ao confinamento, os resultados deste experimento também estão sendo comparados com estudos utilizando saponinas de outras fontes vegetais e administrados a diferentes espécies.

Os animais usados no presente estudo foram considerados de alto risco, dado que o histórico prévio de manejo e sanidade eram desconhecidos (Lippolis et al., 2017; Wilson et al., 2017; Souza et al., 2018). Além disso, o rebanho passou por experiências de estresse como o desmame, leilão, transporte, mistura com novos animais, vacinação, e a entrada no confinamento em um curto intervalo; A combinação desses estressores tem impacto na imunocompetência e no desempenho dos bovinos (Cooke, 2017). Efeito de dia foi observado entre os tratamentos para cortisol plasmático, haptoglobina e TNF α , uma vez que os animais passaram por uma experiência resposta adrenocortical e subsequente RFA durante a fase de entrada no confinamento (Cooke et al., 2011; Rodrigues et al., 2015). Respostas similares foram notadas para expressão gênica de RNAm, indicando a ativação imune na entrada do confinamento, como esses componentes inflamatórios codificam o sistema imune inato (Abbas e Lichtman, 2014). Todos esses estresses induzidos e os processos inflamatórios estão ligados a DRB em animais recém chegados no confinamento (Berry et al., 2004; Cooke, 2017) suportando que a incidência de sintomas de DRB observado no presente estudo seja comparável com a pesquisa conduzida em operações comerciais de recria em confinamento (Snowder et al., 2006; Marques et al., 2016). Sendo assim, o modelo experimental adotado neste estudo representou os desafios de estresse e saúde que animais confinados normalmente passam durante o confinamento nos Estados Unidos (Duff e Galyean, 2007).

A suplementação com MA aumentou o GMD dos animais quando a inclusão foi de 2 g/animal/dia (M2), mas não quando a inclusão foi em dosagem baixa (1 g/animal/dia; M1). Essa resposta deveria ser primeiramente atribuída ao aumento da EA nos animais do tratamento M2, sabendo que a ingestão de TMR, incidência de sintomas de DRB, e todas as respostas fisiológicas não diferiram entre os tratamentos. McMurphy et al., (2014a) reportaram que a suplementação com MA 1 g/animal/dia e 2 g/animal/dia (base da MO) melhorou a digestibilidade *in situ* da MS e FDN em bovinos de corte, sem impactar a ingestão de alimento. Os autores associaram esses resultados com a menor

taxa de passagem nos animais suplementados com MA, dado que as saponinas extraídas da *Y. schidigera* tem características de formação de espuma podendo aumentar a viscosidade do fluído ruminal (Cheeke, 2000). Suplementação com MA 1 g/animal/dia e 2 g/animal/dia (base da MO) também reduziu a concentração de protozoários ciliados. Segundo McMurphy et al., (2014a), considerando que a saponina reage com a membrana colesterol das células dos protozoários provocando lise (Hristov et al., 1999; Cheeke, 2000). Por sua vez, a diminuição na concentração de protozoários ruminal pode aumentar EA por meio da redução da emissão de metano, alteração da fermentação ruminal de acetato para propionato e aumentando fluxo de proteína microbiana para o intestino (Wallace et al., 1994; Hristov et al., 1999). De acordo com McMurphy et al., (2014a), quando os animais foram suplementados com MA 2 g/animal/dia (base da MO) aumentou o fluxo de proteína microbiana. Junto, os resultados do presente estudo e por McMurphy et al. (2014a) sugere que MA deveria ser suplementado 2 g/dia para produzir benefícios na fermentação ruminal podendo aumentar a EA e GMD nos animais recém chegados no confinamento.

As saponinas são conhecidas como um potencial imuno estimulante e usadas como adjuvantes em vacinas de humanos e animais (Ellis et al., 2005; Skene and Sutton, 2006; Sun et al. 2009). Chavali and Campbell (1987), reportaram que a suplementação com saponina via dieta aumentou a resistência a vírus de ratos e coelhos. No entanto, contrário a esse raciocínio, a suplementação com MA falhou em mitigar a incidência de sintomas de DRB no presente experimento. Porém, bovinos M1 e M2 diagnosticados com sinais de DRB necessitaram de menos tratamentos antimicrobianos para se recuperarem da doença em comparação com o CON. Estes resultados implicam que a suplementação de MA melhorou parcialmente a imunocompetência de bovinos, mas não explica o aumento do desempenho de bovinos M2, uma vez que tais benefícios para a saúde foram observados para ambos os tratamentos incluindo MA. Uma das chaves das propriedades imunomodulatórias das saponinas é a melhoria na resposta dos anticorpos e linfócitos a antígenos (Kensil, 1996; Shi et al., 2004), incluindo a estimulação da resposta imune de Th1 e produção de linfócitos tipo T citotóxicos contra patógenos exógenos (Sun et al., 2009). Saponinas também podem melhorar a imunidade aumentando a

captação de antígenos pelo intestino e outras membranas (Das et al., 2012). Portanto, a suplementação com MA provavelmente aumentou a capacidade dos animais de se recuperarem da DRB após a administração antimicrobiana; Porém, mais pesquisas são necessárias para elucidar adequadamente os benefícios imunológicos da suplementação com MA.

Outro mecanismo pelo qual as saponinas estimulam o sistema imunológico é induzir a produção de citocinas e componentes inflamatórios (Francis et al., 2002). A suplementação de saponinas também demonstrou aumentar a eficácia da vacina em aves de criatório, como a maior resposta do título de anticorpos à vacinação contra a doença infecciosa da bolsa (Zhai et al., 2014). No entanto, a suplementação de MA não modulou respostas inflamatórias e de fase aguda associadas com a fase de entrada no confinamento. Estes incluem expressão gênica de mRNA de imunidade inata e concentrações plasmáticas de haptoglobina, cortisol e TNF α . Os títulos de anticorpos séricos contra patógenos DRB também não foram afetados pela suplementação de MA, mas aumentou durante os tratamentos durante o experimento, o que denota imunidade humoral adquirida a esses antígenos após a vacinação (Richeson et al., 2008). Da mesma forma, a suplementação de MA não modulou as concentrações circulantes de insulina, IGF-I e AGNE, que são marcadores metabólicos do estado nutricional em ruminantes (Hess et al., 2005).

Embora os impactos específicos de MA e saponinas nessas variáveis sejam em sua maioria indeterminados, pode-se esperar concentrações circulantes aumentadas de insulina e IGF-I em bovinos M2 devido ao seu maior GMD e EA (Ellenberger et al., 1989). Enquanto, as concentrações plasmáticas de insulina e IGF-1 aumentaram e as concentrações de NEFA diminuíram entre os tratamentos, proporcionando melhor ingestão de nutrientes e crescimento ao decorrer do experimento (Lippolis et al., 2017). Porém, as variáveis fisiológicas avaliadas neste estudo não elucidaram os mecanismos biológicos pelos quais a suplementação com MA melhorou o desempenho (M2) e a resposta ao tratamento com DRB (M1 e M2); Talvez isso tenha ocorrido sem impactos substanciais nas respostas sistêmicas inflamatórias, humorais e metabólicas.

Em resumo, o modelo experimental apresentou os desafios de estresse e a saúde dos animais que um bovino de corte experimenta durante a fase de entrada no confinamento, resultando em substancial incidência de sintomas de

DRB. A suplementação com MA 2 g/animal/dia aumenta o GMD e EA na fase de entrada no confinamento; enquanto a mesma resposta não foi observada quando MA foi suplementado em uma dosagem menor 1 g/dia. Além disso, a suplementação de MA em 1 ou 2 g / d não preveniu a incidência de sintomas de DRB, mas reduziu a necessidade de tratamentos antimicrobianos em bovinos diagnosticados com sintomas de DRB. Nenhuma das respostas inflamatórias, humorais e metabólicas aqui avaliadas foi impactada pela suplementação com MA; Portanto, pesquisas ainda são necessárias para investigar os impactos fisiológicos da suplementação desse ingrediente na fase de entrada no confinamento. No entanto, os resultados deste experimento sugerem que a suplementação de MA a 2 g / animal por dia pode melhorar o desempenho e a imunocompetência de bovinos de alto risco durante o período de confinamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbas, A. K., Lichtman, A. H. 2014. Cellular and molecular immunology. 8th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Health Sciences.
- AOAC. 2006. Official methods of analysis. 18th ed. Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists.
- Berry, B. A., Confer, A. W., Krehbiel, C. R., Gill, D. R., Smith, R. A., Montelongo, M. 2004. Effects of dietary energy and starch concentrations for newly received feedlot calves: II. Acute-phase protein response. **J. Anim. Sci.** 82:845–850. doi:10.2527/2004.823845x
- Buza, J. J., Mori, Y., Bari, A. M., Hikono, H., Aodon-geril, Hirayama, S., Shu, Y., Momotani, E. 2003. Mycobacterium avium subsp. Paratuberculosis infection causes suppression of RANTES, monocyte chemoattractant protein 1, and tumor necrosis factor alpha expression in peripheral blood of experimentally infected cattle. **Infect. Immun.** 71:7223–7227. doi:10.1128/IAI.71.12.7223-7227.2003
- Callan, R. J. 2001. Fundamental considerations in developing vaccination protocols. **Bovine Pract.** 34:14–22.
- Chavali, S. R., Campbell, J. B. 1987. Immunomodulatory effects of orally-administered saponins and nonspecific resistance against rabies infection. **Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.** 84:129–134. doi:10.1159/000234411
- Cheeke, P. R. 2000. Actual and potential applications of Yucca schidigera and Quillaja saponaria saponins in human and animal nutrition. In: W. Oleszek and A. Marston, editors, Saponins in food, feedstuffs and medicinal plants. Boston: Kluwer Academic Publishers; p. 241–254.
- Cooke, R. F. 2017. Invited paper: nutritional and management considerations for beef cattle experiencing stress-induced inflammation. **Prof. Anim. Sci.** 33:1–11. doi:10.15232/pas.2016-01573
- Cooke, R. F., Arthington, J. D. 2013. Concentrations of haptoglobin in bovine plasma determined by ELISA or a colorimetric method based on peroxidase activity. **J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.** (Berl.). 97:531–536. doi:10.1111/j.1439-0396.2012.01298.x
- Cooke, R. F., Bohnert, D. W., Moriel, P., Hess, B. W., Mills, R.R. 2011. Effects of polyunsaturated fatty acid supplementation on ruminal in situ forage degradability, performance, and physiological responses of feeder cattle. **J. Anim. Sci.** 89:3677–3689. doi:10.2527/jas.2010-3515
- Das, T. K., Banerjee, D., Chakraborty, D., Pakhira, M. C., Shrivastava, B., Kuhad, R. C. 2012. Saponin: role in animal system. **Vet. World.** 5:248–254. doi:10.5455/vetworld.2012.248–254
- Duff, G. C., Galyean, M. L. 2007. Board-invited review: recent advances in management of highly stressed, newly received feedlot cattle. **J. Anim. Sci.** 85:823–840. doi:10.2527/jas.2006-501
- Ellenberger, M. A., Johnson, D. E., Carstens, G. E., Hossner, K. L., Holland, M. D., Nett, T. M., Nockels, C. F. 1989. Endocrine and metabolic changes during altered growth rates in beef cattle. **J. Anim. Sci.** 67:1446–1454. doi:10.2527/jas1989.6761446x
- Ellis, J. A., West, K. H., Waldner, C., Rhodes, C. 2005. Efficacy of a saponin-adjuvanted inactivated respiratory syncytial virus vaccine in calves. **Can. Vet. J.** 46:155–162.
- Fleige, S., Pfaffl, M. W. 2006. RNA integrity and the effect on the real-time qRT-PCR performance. **Mol. Aspects Med.** 27:126–139. doi:10.1016/j.mam.2005.12.003

- Francis, G., Kerem, Z., Makkar, H. P., Becker, K. 2002. The biological action of saponins in animal systems: a review. **Br. J. Nutr.** 88:587–605. doi:10.1079/BJN2002725
- Gifford, C. A., Racicot, K., Clark, D. S., Austin, K. J., Hansen, T. R., Lucy, M. C., Davies, C. J., Ott, T. L. 2007. Regulation of interferon-stimulated genes in peripheral blood leukocytes in pregnant and bred, nonpregnant dairy cows. **J. Dairy Sci.** 90:274–280. doi:10.3168/jds.S0022-0302(07)72628-0
- Goetsch, A. L., Owens, F. N. 1985. Effects of sarsaponin on digestion and passage rates in cattle fed medium to low concentrate. **J. Dairy Sci.** 68:2377–2384. doi:10.3168/jds.S0022-0302(85)81112-7
- Hess, B. W., Lake, S. L., Scholljegerdes, E. J., Weston, T. R., Nayigihugu, V., Molle, J. D. C., Moss, G. E. 2005. Nutritional controls of beef cow reproduction. **J. Anim. Sci.** 83:E90–E106. doi:10.2527/2005.8313_supplE90x
- Hristov, A. N., Grandeén, K. L., Ropp, J., Greer, D. 2004. Effect of *Yucca schidigera*-based surfactant on ammonia utilization in vitro, and in situ degradability of corn grain. **Anim. Feed Sci. Technol.** 115:341–355. doi:10.1016/j.anifeedsci.2004.02.010
- Hristov, A. N., McAllister, T. A., Van Herk, F. H., Cheng, K. J., Newbold, C. J., Cheeke, P. R. 1999. Effect of *Yucca schidigera* on ruminal fermentation and nutrient digestion in heifers. **J. Anim. Sci.** 77:2554–2563. doi:10.2527/1999.7792554x
- Kensil, C. R. 1996. Saponins as vaccine adjuvants. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* 13:1–55.
- Kliem, H., Rodler, D., Ulbrich, S. E., Sinowatz, F., Berisha, B., Meyer, H. H., Schams, D., 2013. Dexamethasone induced eosinopenia is associated with lower progesterone production in cattle. **Reprod. Domest. Anim.** 48:137–148. doi:10.1111/j.1439-0531.2012.02116.x
- Lippolis, K. D., Cooke, R. F., Schumacher, T., Brandão, A. P., Silva, L. G. T., Schubach, K. M., Marques, R. S., Bohnert, D. W. 2017. Physiologic, health, and performance responses of beef steers supplemented with an immunomodulatory feed ingredient during feedlot receiving. **J. Anim. Sci.** 95:4945–4957. doi:10.2527/jas2017.1837
- Marques, R. S., Cooke, R. F., Rodrigues, M. C., Cappellozza, B. I., Mills, R. R., Larson, C. K., Moriel, P., Bohnert, D. W. 2016. Effects of organic or inorganic cobalt, copper, manganese, and zinc supplementation to late-gestating beef cows on productive and physiological responses of the offspring. **J. Anim. Sci.** 94:1215–1226. doi:10.2527/jas.2015-0036
- McMurphy, C. P., Sexten, A. J., Mourer, G. L., Rinker, M. J., Lalman, D. J. 2014b. Effects of including saponins (Micro-Aid) in a protein supplement on performance of growing steers and spring-calving cows. **Anim. Feed Sci. Technol.** 190:19–29. doi:10.1016/j.anifeedsci.2014.01.002
- McMurphy, C. P., Sexten, A. J., Mourer, G. L., Sharman, E. D., Trojan, S. J., Rincker, M. J., Coblenz, W. K., Lalman, D. L. 2014a. Effects of including saponins (MicroAid®) on intake, rumen fermentation and digestibility in steers fed low quality prairie hay. **Anim. Feed Sci. Technol.** 190:47–58. doi:10.1016/j.anifeedsci.2014.01.007
- NRC. 1996. Nutrient requirements of beef cattle. 7th rev. ed. Washington, DC: National Academic Press.
- Ocón-Grove, O. M., Cooke, F. N., Alvarez, I. M., Johnson, S. E., Ott, T. L., Ealy, A. D. 2008. Ovine endometrial expression of fibroblast growth factor (FGF) 2 and conceptus expression of FGF receptors during early pregnancy. **Domest. Anim. Endocrinol.** 34:135–145. doi:10.1016/j.domaniend.2006.12.002
- Playford, M. C., Dawson, K., Playford, S. E., Smith, A. N., Page, S. W., Collins, K., Forsberg, N. 2014. Effect of an immunomodulatory feed additive on markers of immunity in pasture-fed dairy cows. **Aust. Vet. J.** 92:479–481. doi:10.1111/avj.12269

- Rao, A. V., Sung, M. K. 1995. Saponins as anticarcinogens. **J. Nutr.** 125 (3 Suppl.):717S–724S. doi:10.1093/jn/125.3_Suppl.717S
- Richeson, J. T., Beck, P. A., Gadberry, M. S., Gunter, S. A., Hess, T. W., Hubbell, D. S., III, Jones, C. 2008. Effects of on-arrival versus delayed modified live virus vaccination on health, performance, and serum infectious bovine rhinotracheitis titers of newly received beef calves. **J. Anim. Sci.** 86:999–1005. doi:10.2527/jas.2007-0593
- Riollet, C., Rainard, P., Poutrel, B. 2000. Kinetics of cells and cytokines during immune-mediated inflammation in the mammary gland of cows systemically immunized with *Staphylococcus aureus* alpha-toxin. **Inflamm. Res.** 49:486–496. doi:10.1007/s000110050621
- Rodrigues, M. C., Cooke, R. F., Marques, R. S., Cappellozza, B. I., Arispe, S. A., Keisler, D. H., Bohnert, D. W. 2015. Effects of vaccination against respiratory pathogens on feed intake, metabolic, and inflammatory responses in beef heifers. **J. Anim. Sci.** 93:4443–4452. doi:10.2527/jas.2015-9277
- Samuelson, K. L., Hubbert, M. E., Galyean, M. L., Loest, C. A. 2016. Nutritional recommendations of feedlot consulting nutritionists: the 2015 New Mexico State and Texas Tech University survey. **J. Anim. Sci.** 94:2648–2663. doi:10.2527/jas.2016-0282
- 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
- Silva, E., Gaivão, M., Leitão, S., Amaro, A., Costa, L. L., Mateus, L. 2008. Blood COX-2 and PGES gene transcription during the peripartum period of dairy cows with normal puerperium or with uterine infection. **Domest. Anim. Endocrinol.** 35:314–323. doi:10.1016/j.domaniend.2008.07.001
- Singer, M. D., Robinson, P. H., Salem, A. Z. M., DePeters, E. J. 2008. Impacts of ruminal 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. **Anim. Feed Sci. Technol.** 146:242–258. doi:10.1016/j.anifeedsci.2007.12.010
- Skene, C. D., Sutton, P. 2006. Saponin-adjuvanted particulate vaccines for clinical use. **Methods** 40:53–59. doi:10.1016/j.ymeth.2006.05.019
- Snowder, G. D., Van Vleck, L. D., Cundiff, L. V., Bennett, G. L. 2006. Bovine respiratory disease in feedlot cattle: environmental, genetic, and economic factors. **J. Anim. Sci.** 84:1999–2008. doi:10.2527/jas.2006-046
- Souza, K. A., Cooke, R. F., Schubach, K. M., Brandão, A. P., Schumacher, T. F., Prado, I. N., Marques, R. S., Bohnert, D. W. 2018. Performance, health, and physiological responses of newly-weaned feedlot cattle supplemented with feed-grade antibiotics or alternative feed ingredients. **Animal**. doi:10.1017/S1751731118000551
- Step, D. L., Krehbiel, C. R., DePra, H. A., Cranston, J. J., Fulton, R. W., Kirkpatrick, J. G., Gill, D. R., Payton, M. E., Montelongo, M. A., Confer, A. W. 2008. Effects of commingling beef calves from different sources and weaning protocols during a forty-two-day receiving period on performance and bovine respiratory disease. **J. Anim. Sci.** 86:3146–3158. doi:10.2527/jas.2008-0883
- Sun, H. X., Xie, Y., Ye, Y. P. 2009. Advances in saponin-based adjuvants. **Vaccine**. 27:1787–1796. doi:10.1016/j.vaccine.2009.01.091
- US Food and Drug Administration. 2015. FACT SHEET: veterinary feed directive final rule and next steps [accessed March 10, 2018]. Available from <http://www.fda.gov/AnimalVeterinary/DevelopmentApprovalProcess/ucm449019.htm>.

- Vandesompele, J., De Preter, K., Pattyn, F., Poppe, B., Van Roy, N., De Paepe, A., Speleman, F. 2002. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. **Genome Biol.** 3:RESEARCH0034.
- Van Soest, P. J., Robertson, J. B., Lewis, B. A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **J. Dairy Sci.** 74:3583–3597. doi:10.3168/jds. S0022-0302(91)78551-2
- Wallace, R. J., Arthaud, L., Newbold, C. J. 1994. Influence of *Yucca shidigera* extract on ruminal ammonia concentrations and ruminal microorganisms. **Appl. Environ. Microbiol.** 60:1762–1767.
- Wilson, B. K., Richards, C. J., Step, D. L., Krehbiel, C. R. 2017. Best management practices for newly weaned calves for improved health and well-being. **J. Anim. Sci.** 95:2170– 2182. doi:10.2527/jas.2016.1006
- Wilson, B. K., Step, D. L., Maxwell, C. L., Wagner, J. J., Richards, C. J., Krehbiel, C. R. 2015. Evaluation of multiple ancillary therapies used in combination with an antimicrobial in newly received high-risk calves treated for bovine respiratory disease. **J. Anim. Sci.** 93:3661–3674. doi:10.2527/jas.2015-9023
- Zhai, L., Wang, Y., Yu, J., Hu, S. 2014. Enhanced immune responses of chickens to oral vaccination against infectious bursal disease by ginseng stem-leaf saponins. **Poult. Sci.** 93:2473–2481. doi:10.3382/ps.2014-04056

TABELAS

Tabela 1. Composição e perfil nutricional das dietas ofertadas durante o período experimental (dia 0 a 59)¹

Item	A	B	C	D
<i>Ingrediente, % MS</i>				
Feno de gramiea	74,5	58,2	37,0	33,7
Milho quebrado	17,5	35,0	54,6	58,2
Farelo de soja	7,2	6,0	7,7	7,4
Premix Mineral ²	0,80	0,80	0,70	0,70
<i>Perfil Nutricional,³ base da MS</i>				
NE _m , Mcal/kg	1,38	1,55	1,76	1,80
NE _g , Mcal/kg	0,80	0,95	1,14	1,17
FDN, %	46,8	39,3	29,5	27,9
PB, %	13,7	13,1	13,6	13,5

¹ A = dia 0 ao 8; B = dia 9 ao 19; C = dia 20 ao 33; e D = dia 34 ao 59. Os animais tiveram acesso *ad libitum* a dieta e água durante o período experimental. A dieta foi oferecida de forma que houvesse 15% (base da MO) de sobra antes de cada trato, a dieta foi homogeneizada usando um misturador vertical (NDEco S600; New Direction Equipment; Sioux Falls, SD), e oferecido em cocho de concreto (7.5 m linear de cocho por baia).

² Cattleman's Choice (Performix Nutrition Systems, Nampa, ID) contendo 14% Ca, 10% P, 16% NaCl, 1.5% Mg, 3,200 mg/kg de Cu, 65 mg/kg de I, 900 mg/kg de Mn, 140 mg/kg de Se, 6,000 mg/kg de Zn, 136,000 IU/kg de vitamina A, 13,000 IU/kg de vitamin D3, e 50 IU/kg de vitamina E.

³ Baseado no perfil nutricional de cada ingrediente, que foram analisados via procedimentos químicos em laboratório (Dairy One Forage Laboratory, Ithaca, NY). A NE_m e NE_g foram calculadas usando as equações proposta pelo NRC (1996).

Table2. Sequencia de Primer, número de acesso e referencia para todos os genes transcritos analisados por transcrição reversa de PCR.

Gene alvo	Primer sequencia	Nº de acesso	Fonte
<i>Cyclooxygenase-2</i>			
Forward	AATCATTACACCAGGCAAAGG	AF031699	Silva et al. (2008)
Reverse	TAGGGCTTCAGCAGAAAACG		
<i>Tumor necrosis factor α</i>			
Forward	AACAGCCCTCTGGTTCAAAC	NM_173966	Riollet et al. (2000)
Reverse	TCTTGATGGCAGACAGGATG		
<i>L-selectin</i>			
Forward	GACACTTCCCTTCAGCCGTAC	NM_174182.1	Playford et al. (2014)
Reverse	AGTTCTTTGCTTCTTCAGTGAGAG		
<i>Interleukin-8</i>			
Forward	ACACATTCCACACCTTTCCAC	NM_173925.2	Kliem et al. (2013)
Reverse	ACCTTCTGCACCCACTTTTC		
<i>Interleukin-8 receptor</i>			
Forward	CGGGTCATCTTTGCTGTCTG	NM_174360.3	Playford et al. (2014)
Reverse	ATGAGGGTGTCCGCGATC		
<i>CCL5</i>			
Forward Reverse	GCCCTGCTGCTTTGCCTATAT	NM_175827.2	Buza et al. (2003)
<i>β-Actin</i>	TCCACCCTAGCTCAACTCCAA		
Forward Reverse	CTGGACTTCGAGCAGGAGATGG	AY141970	Gifford et al. (2007)
<i>β2-Microglobulin</i>	ATGTCGACGTCACACTTC		
Forward	GGGCTGCTGTCGCTGTCT	NM_173893	Silva et al. (2008)
Reverse	TCTTCTGGTGGGTGTCTTGAGT		

Tabela 3. Parametros de desempenho de bovinos confinados suplementados ou não (CON; $n = 7$) com extrato de *Yuccas schidigera* (Micro-Aid; DPI Global, Porteville, CA) 1g/animal/dia (M1; $n = 7$) ou 2g/animal/dia (M2; $n = 7$) durante a fase de entrada no confinamento (dia 0 a 59)^{1,2}.

Item	CON	M1	M2	EPM	Valor de <i>P</i>
PC inicial (dia -1; kg)	220,00	220,00	221,00	4,00	0,97
PC final (dia 60; kg)	307,00	307,00	315,00	4,00	0,49
GMD, kg/dia	1,42 ^b	1,42 ^b	1,53 ^a	0,03	0,05
Ingestão de alimento, kg/dia; base da MS	7,16	7,33	7,35	0,13	0,52
Eficiência alimentar, g/kg	204,00 ^b	200,00 ^b	213,00 ^a	3,00	0,04

¹Os animais foram pesados após o transporte (800 km por 12h) no dia -1, e após 16h de jejum de sólido e líquido no dia 60. O GMD foi calculado usando o peso vazio inicial e final. A ingestão de alimento foi aferida diariamente nos dias 0 ao 59 pela diferença entre a quantia oferecida e a quantia de sobra de cada baia, dividida pela quantidade de animais dentro de cada baia, e expressado em quilogramas por animal por dia. A eficiência alimentar foi calculada usando o ganho de peso total (em gramas, baseados nos valores de peso vazio) e total de ingestão de alimento (em quilogramas, base da MS) de cada baia durante o período experimental, e reportado em gramas de PC ganho por quilograma de MS consumido.

²A interação de tratamento x dia não foi significativa para ingestão de alimento ($p = 0,83$); sendo assim, estão representadas pela média dos mínimos quadrados de acordo com o efeito principal de tratamento. Dentro das linhas, as letras que diferem entre si representam diferença significativa ($p \leq 0,05$).

Tabela 4. Morbidade e respostas fisiológicas em bovinos confinados suplementados ou não (CON; $n = 7$) com extrato de *Yuccas schidigera* (Micro-Aid; DPI Global, Porterville, CA) 1g/animal/dia (M1; $n = 7$) ou 2g/animal/dia (M2; $n = 7$) durante a fase de entrada no confinamento (dia 0 a 59)¹.

Item	CON	M1	M2	EPM	Valor de P
Animais tratados para doença respiratória ² , %					
Uma vez	42,9	60	54,3	8,8	0,39
Duas vezes	17,1 ^a	2,85 ^b	5,71 ^b	4,68	0,04
Numero de tratamentos antimicrobiano requerido	1,40 ^a	1,05 ^b	1,10 ^b	0,08	0,01
Variáveis fisiológicas ³					
Cortisol plasmático, ng/mL	23,6	21,6	21,7	1,7	0,63
Insulina, pmol/mL	29,8	29,1	33,3	3	0,55
Fator de crescimento semelhante a insulina 1, ng/mL	159	155	149	7	0,42
Haptoglobina, mg/mL	0,37	0,40	0,37	0,05	0,82
Fator de necrose tumoral - α , ng/mL	0,14	0,24	0,35	0,13	0,46
Ácido graxo não esterificado, μ Eq/L	0,25	0,25	0,23	0,02	0,67

¹Valores reportados são as médias dos mínimos quadrados de acordo com o efeito principal de tratamento, dado que não houve interação entre tratamento x dia ($P \geq 0.37$). Dentro da linha, letras que diferem entre si representam diferença significativa ($P \leq 0.05$).

²Os animais foram observados diariamente por sintomas de doença respiratória bovina de acordo com o sistema DART (Zoetis, Florham Park, NJ) seguindo as modificações descritas por Step et al. (2008) e Wilson et al. (2015).

³As amostras de sangue foram coletadas nos dias 0, 2, 6, 10, 14, 21, 28, 34, 45, e 59 do experimento, e analisou-se fator de necrose tumoral- α (dia 0 a 14), cortisol plasmático, haptoglobina, e ácidos graxos não esterificados (dia 0 a 28), bem como insulina IGF-1 (dias 0, 14, 28, 45, e 59).

Tabela 5. Concentração de cortisol plasmático (ng/ mL), insulina (pmol/L), fator de crescimento semelhante a insulina (IGF-I; ng/mL), haptoglobina (mg/mL), fator de necrose tumoral- α (TNF α ; ng/mL), e ácido graxo não esterificado (AGNE; μ Eq/L) em gado confinado no período de entrada (dia 0 a 59)^{1,2}

Dia	Cortisol	Insulina	IGF-1	Haptoglobina	TNF α	AGNE
0	29,2 ^a	28,8 ^c	82,6 ^d	0,26 ^e	0,12 ^b	0,42 ^a
2	20,3 ^c	—	—	0,37 ^{cd}	0,18 ^b	0,36 ^b
6	20,9 ^c	—	—	0,48 ^{ab}	0,33 ^a	0,31 ^c
10	20,2 ^c	—	—	0,52 ^a	0,22 ^{ab}	0,22 ^d
14	20,3 ^c	26,9 ^c	131 ^c	0,41 ^{bc}	0,14 ^b	0,19 ^e
21	23,8 ^b	—	—	0,31 ^{de}	—	0,19 ^e
28	23,7 ^b	37,6 ^a	162 ^b	0,31 ^{de}	—	0,18 ^e
45	—	30,3b ^c	165 ^b	—	—	—
59	—	34,5 ^{ab}	175 ^a	—	—	—
EPM	1,6	2,7	4,8	0,05	0,07	0,01
Valor de <i>P</i>	0,01	<0,01	<0,01	0,03	0,05	<0,01

¹Dentro da coluna, letras que diferem entre si representam diferença significativa ($P \leq 0.05$).

²As amostras de sangue foram coletadas nos dias 0, 2, 6, 10, 14, 21, 28, 34, 45, e 59 do experimento, e analisou-se fator de necrose tumoral- α (dia 0 a 14), cortisol plasmático, haptoglobina, e ácidos graxo não esterificados (dia 0 a 28), bem como insulina IGF-1 (dias 0, 14, 28, 45, e 59).

Tabela 6. Título de anticorpos contra patógenos de doença respiratória e expressão total de mRNA sanguíneo de bovinos confinados suplementados ou não (CON; $n = 7$) com extrato de *Yucca schidigera* (Micro-Aid; DPI Global, Porteville, CA) 1g/animal/dia (M1; $n = 7$) ou 2g/animal/dia (M2; $n = 7$) durante a fase de entrada no confinamento (dia 0 a 59)¹.

Item	CON	M1	M2	EPM	Valor de P
Anticorpos sérico, titer log 2					
<i>Mannheimia haemolytica</i>	9,21	9,19	9,05	0,21	0,78
<i>Parainfluenza 3 virus</i>	6,10	5,87	5,61	0,35	0,56
<i>Vírus sincicial respiratório bovino</i>	4,84	4,46	4,70	0,50	0,83
<i>Vírus da diarreia viral bovina 1</i>	3,29	3,10	3,17	0,36	0,92
<i>Herpesvirus bovino 1</i>	1,95	1,94	1,92	0,38	0,99
Expressão de mRNA sanguíneo, fold effect					
<i>Citocina ligante 5</i>	4,83	3,93	3,62	0,54	0,23
<i>Ciclooxigenase 2</i>	6,95	7,51	6,66	0,75	0,64
<i>Interleucina 8</i>	11,6	9,68	13,8	2,08	0,27
<i>Receptor de interleucina 8</i>	20,7	23,6	19,7	2,7	0,50
<i>L Selectina</i>	2,61	2,84	2,90	0,25	0,62
<i>Fator de necrose tumoral α</i>	6,26	6,06	6,07	0,82	0,98

¹Expressão de mRNA sanguíneo reportado com em Ocón-Grove et al. (2008). Valores reportados são as médias dos mínimos quadrados de acordo com o efeito principal de tratamento, dado que não houve interação entre tratamento x dia ($P \geq 0.55$).

²As amostras de sangue foram coletadas nos dias 0, 2, 6, 10, 14, 21, 28, 34, 45, e 59 do experimento e foram analisados para títulos de anticorpos (dias 0, 10, 21, e 45) e expressão de mRNA sanguíneo (dia 0 a 14). Os dados foram analisados usando os resultados do dia 0 como covariável independente. No dia 0 os animais foram vacinados contra *Clostridium* e *Mannheimia haemolytica* (One Shot Ultra 7; Zoetis Florham Park, NJ), rinotraqueíte infecciosa bovina, complexo de diarreia viral bovina, parainfluenza 3 e vírus respiratório sincicial bovino (Bovi- Shield Gold 5; Zoetis), e foi administrado anti-helmíntico (Dectomax; Zoetis). No dia 21, os animais receberam um reforço vacinal contra *Clostridium* (Ultrabac 8; Zoetis), rinotraqueíte infecciosa bovina, complexo de diarreia viral bovina, parainfluenza 3 e vírus respiratório sincicial bovino (Bovi-Shield Gold 5; Zoetis).

Tabela 7. Títulos de anticorpos contra *Mannheimia haemolytica* (MH), parainfluenza 3 vírus (PI3), vírus sincicial respiratório bovino (BRSV), vírus da diarreia viral bovina 1 (BVD-1), herpesvírus bovino 1 (BHV), e total expressão do mRNA sanguíneo de citocina ligante 5 (CCL5), ciclogênase 2 (COX2), interleucina 8 (IL8), receptor de interleucina 8 (IL8R), selectina L (SELL), e fator de necrose tumoral α (TNF α) em bovinos confinados durante a fase de entrada em confinamento (dia 0 a 59)^{1,2}

Dia	Títulos de anticorpos					Expressão de mRNA sanguíneo					
	MH	PI3	BRSV	BVD-1	BHV	CCL5	COX2	IL8	IL8R	SELL	TNF α
0	8,17 ^d	2,82 ^c	1,37 ^d	0,84 ^d	0,21 ^c	4,66 ^{ab}	7,16 ^b	12,5 ^a	26,6 ^a	2,76 ^a	6,68 ^{ab}
2	—	—	—	—	—	4,08 ^b	8,61 ^a	6,88 ^b	16,7 ^c	2,37 ^b	7,18 ^a
6	—	—	—	—	—	5,07 ^a	5,34 ^c	14,8 ^a	22,3 ^{ab}	2,63 ^{ab}	5,17 ^c
10	8,48 ^c	3,99 ^b	3,08 ^c	1,01 ^c	0,50 ^c	4,32 ^b	6,83 ^b	14,2 ^a	18,3 ^{bc}	3,00 ^a	6,14 ^b
14	—	—	—	—	—	4,14 ^b	7,21 ^b	13,6 ^a	22,2 ^{ab}	2,93 ^a	5,69 ^c
21	9,31 ^b	6,25 ^a	4,73 ^b	2,32 ^b	2,81 ^a	—	—	—	—	—	—
45	9,75 ^a	6,75 ^a	5,56 ^a	5,63 ^a	2,36 ^b	—	—	—	—	—	—
EPM	0,19	0,36	0,37	0,35	0,25	0,37	0,65	2,28	2,57	0,19	0,61
Valor de P	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,02	<0,01	<0,01	<0,01	0,03	<0,01

¹Dentro da coluna, letras que diferem entre si representam diferença significativa ($P \leq 0.05$). Expressão de mRNA reportado como em Ocón-Grove et al. (2008).

²As amostras de sangue foram coletadas nos dias 0, 2, 6, 10, 14, 21, 28, 34, 45, e 59 do experimento e foram analisadas para títulos de anticorpos (dias 0, 10, 21, e 45) e expressão de mRNA sanguíneo (dia 0 a 14). No dia 0 os animais foram vacinados contra *Clostridium* e *Mannheimia haemolytica* (One Shot Ultra 7; Zoetis Florham Park, NJ), rinotraqueíte infecciosa bovina, complexo de diarreia viral bovina, parainfluenza 3 e vírus respiratório sincicial bovino (Bovi-Shield Gold 5; Zoetis), e foi administrado anti-helmíntico (Dectomax; Zoetis). No dia 21, os animais receberam um reforço vacinal contra *Clostridium* (Ultrabac 8; Zoetis), rinotraqueíte infecciosa bovina, complexo de diarreia viral bovina, parainfluenza 3 e vírus respiratório sincicial bovino (Bovi-Shield Gold 5; Zoetis).

FIGURAS

Figura 1. O PC cheio em bovinos confinados suplementados ou não (CON; $n = 7$) com extrato de *Yuccas schidigera* (Micro-Aid; DPI Global, Porteville, CA) 1g/animal/dia (M1; $n = 7$) ou 2g/animal/dia (M2; $n = 7$) durante a fase de entrada no confinamento (dia 0 a 59). Não foi detectada diferença ou interação de tratamento x dia ($P \geq 0.33$), enquanto houve efeito de dia ($P < 0.01$).

Figura 2. A incidência cumulativa de sintomas de doença respiratória bovina (DRB) em bovinos confinados suplementados ou não (CON; $n = 7$) com extrato de *Yuccas schidigera* (Micro-Aid; DPI Global, Porteville, CA) 1g/animal/dia (M1; $n = 7$) ou 2g/animal/dia (M2; $n = 7$) durante a fase de entrada no confinamento (dia 0 a 59). Os animais foram observados diariamente por sintomas de DRB de acordo com o sistema DART (Zoetis, Florham Park, NJ) seguindo as modificações descritas por Step et al. (2008) e Wilson et al. (2015). Se diagnosticado com sintomas de doença respiratória bovina, os animais recebiam tratamento antimicrobiano como descrito por Wilson et al. (2015). O gráfico representa incidência de animais diagnosticado com sintomas de DRB e tratado com antimicrobiano uma vez durante o experimento. Não foi detectado efeito de tratamento ou interação de tratamento x dia ($P \geq 0.34$), enquanto efeito de dia foi significativo ($P < 0.01$).

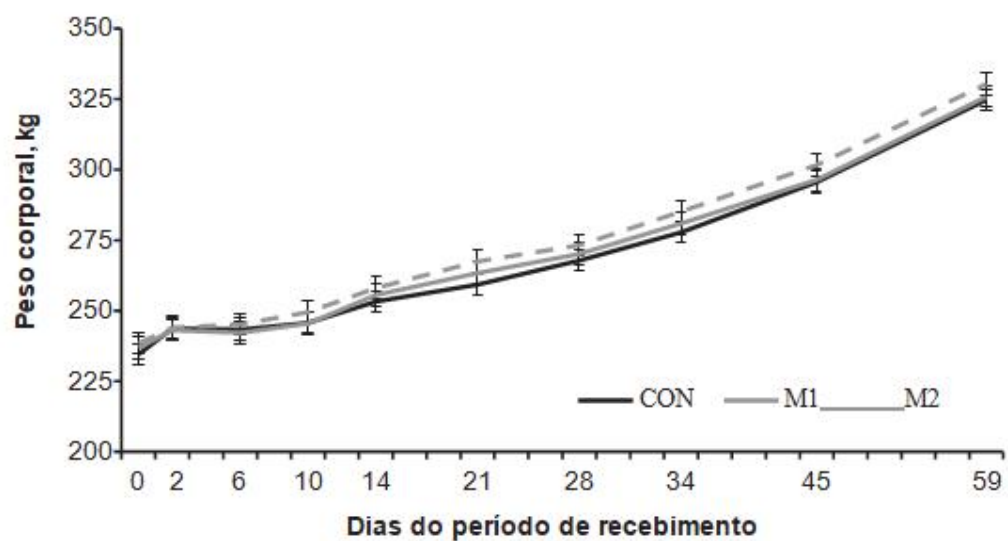


Figura 1.

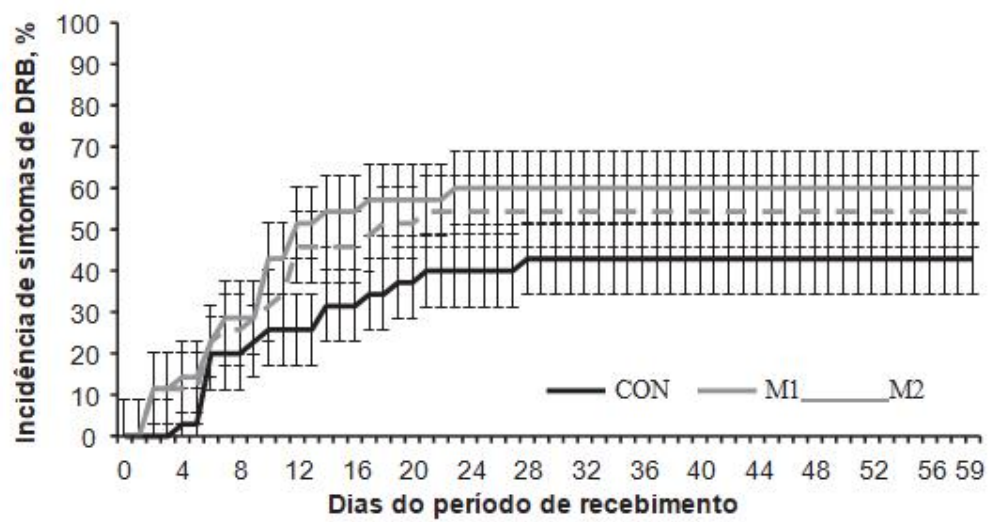


Figura 2.