

JOÃO PAULO ISMÉRIO DOS SANTOS MONNERAT

***Saccharomyces cerevisiae* E MONENSINA SÓDICA EM DIETAS DE ALTO
CONCENTRADO PARA BOVINOS**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia, para obtenção do título
de *Magister Scientiae*.

**VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2009**

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

M748s
2009

Monnerat, João Paulo Ismério dos Santos, 1984-
Saccharomyces cerevisiae e monensina sódica em dietas de
alto concentrado para bovinos / João Paulo Ismério dos Santos
Monnerat. – Viçosa, MG, 2009.
x, 58f. : il. ; 29cm.

Orientador: Pedro Veiga Rodrigues Paulino.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa
Inclui bibliografia.

1. Bovino - Nutrição. 2. Bovino - Alimentação e rações.
3. Rúmen - Fermentação. 4. Antibióticos na nutrição animal.
5. Purinas - Análise. 6. Fezes - Análise. I. Universidade Federal
de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 636.20852

JOÃO PAULO ISMÉRIO DOS SANTOS MONNERAT

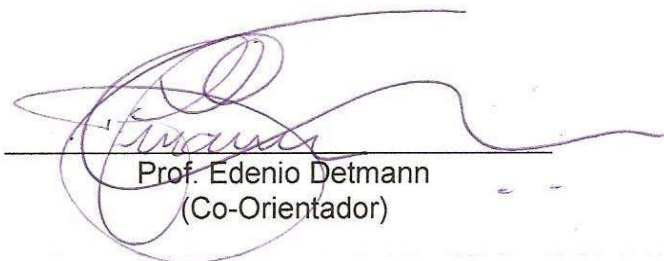
**Saccharomyces cerevisiae E MONENSINA SÓDICA EM DIETAS DE ALTO
CONCENTRADO PARA BOVINOS**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia, para
obtenção do título de *Magister
Scientiae*.

Aprovada: 13 de Fevereiro de 2009



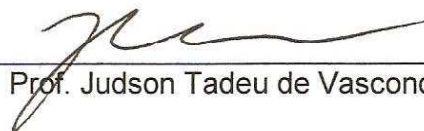
Prof. Sebastião de Campos Valadares Filho
(Co-Orientador)



Prof. Edenio Detmann
(Co-Orientador)



Prof^a. Rilene Ferreira Diniz Valadares



Prof. Judson Tadeu de Vasconcelos



Prof. Pedro Veiga Rodrigues Paulino
(Orientador)

À minha querida e amada família que tanto me ajudou, apoiou, incentivou, razão do meu orgulho e da minha alegria de viver – minha mãe, Denize, meu pai, Zaga, minha irmã, Karina, e meus avós Manoel e Denir, dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus pelo dom da vida.

Aos meus pais, Luiz Gonzaga e Denize, pela força, pelo incentivo, pela compreensão e pelo exemplo de caráter e honestidade, durante todos os momentos da minha vida.

À minha irmã, Karina, pela amizade, paciência e pela certeza de poder contar sempre.

Aos demais familiares, especialmente vovó Denir e vovô Manoel, pelo carinho, preocupação e atenção.

À Universidade Federal de Viçosa, em especial o Departamento de Zootecnia, pela oportunidade da formação profissional e realização deste curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Prof. Pedro Veiga Rodrigues Paulino pela orientação, confiança e amizade. Meus sinceros agradecimentos.

Ao Prof. Edenio Detmann, exemplo de conselheiro, pelas significativas contribuições na realização desse trabalho.

Ao Prof. Sebastião de Campos Valadares Filho, pelo valioso aconselhamento, pelos ensinamentos e pela presteza.

À Prof. Rilene Ferreira Diniz Valadares, pelo carinho, ensinamentos e pela disposição em cooperar no que for preciso.

Ao Prof. Judson Tadeu de Vasconcelos, pelas críticas construtivas, fundamentais para o aprimoramento deste trabalho.

Ao Prof. Mario Fonseca Paulino, pela colaboração e iniciação científica.

Aos demais professores da Universidade Federal de Viçosa pela contribuição na minha formação profissional.

À todos os funcionários do Departamento de Zootecnia, em especial o Marcelo, Zezé e “Pum” pelo auxílio fundamental na realização deste trabalho.

Aos estagiários e bolsistas de iniciação científica, Natália, Leandro, Pedrão, Luiz Fernando, Fernando Sussu, Laura, André, Ronald, João Paulo, Priscila e Marco Antônio,

entre outros, pelo comprometimento, grande auxílio na condução experimental, pela amizade e agradável convivência.

Ao grande amigo Márcio Duarte, pela vivência em todos os dias em que trabalhamos, aprendemos, ensinamos, discutimos, realizamos, brincamos e divertimos, pelos intermináveis dias de coleta, principalmente no final do ano, enfim... Obrigado por tudo, principalmente pela amizade e companheirismo.

À amiga Verônica por desenvolvermos nossos projetos em conjunto, pela cumplicidade e dedicação.

Aos grandes amigos Isabela, Ivanna, Luciana, Mozart, Simone Jib e Victor pela amizade durante toda a vida acadêmica, pela solidificação da mesma, preocupação, atenção e possibilidade de prolongar nosso agradável convívio durante o curso de mestrado.

Aos amigos pós-graduando, Analívia, Rafael, Mateus, Gustavo, Tadeu, Verônica, Marlos, Maykel, Jucilene, Helô, Michele, Marcos, Fabiana, Simone Reis, Josiane, entre outros tantos, pelo incentivo, sugestões e agradável convivência.

Aos amigos de república, Ronaldo e Manoel (irmão de coração), pelo aprendizado em lidar com as diferenças e pelos momentos de diversão.

A todas as pessoas que direta e, ou, indiretamente contribuíram para realização desse trabalho e pela minha estada em Viçosa, para fazer desse sonho uma realidade, o meu MUITO OBRIGADO! Vocês serão lembrados com respeito carinho e saudade.

BIOGRAFIA

JOÃO PAULO ISMÉRIO DOS SANTOS MONNERAT, filho de Luiz Gonzaga Monnerat e Denize Ismério dos Santos Monnerat, nasceu em Cantagalo, Rio de Janeiro, em 05 de junho de 1984.

Iniciou o curso de graduação em Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa - MG, em março de 2003, concluindo em agosto de 2007.

Em agosto de 2007, iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa, concentrando seus estudos na área de Nutrição de Ruminantes, submetendo-se a defesa de dissertação em 13 de fevereiro de 2009.

CONTEÚDO

RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
Introdução	1
Literatura citada	7
Parâmetros Ruminais de Novilhos de Corte Suplementados com Levedura	
RESUMO	11
ABSTRACT	12
Introdução	13
Material e Métodos	14
Resultados e Discussão	18
Conclusões	30
Literatura Citada	31
Consumo, Digestibilidade, Produção de Proteína Microbiana e Balanço de Compostos Nitrogenados em Novilhos de Corte Suplementados com Levedura	
RESUMO	35
ABSTRACT	36
Introdução	37
Material e Métodos	39
Resultados e Discussão	44
Conclusões	53
Referências Bibliográficas	54

RESUMO

MONNERAT, João Paulo Ismério dos Santos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Fevereiro de 2009. **Saccharomyces cerevisiae e monensina sódica em dietas de alto concentrado para bovinos.** Orientador: Pedro Veiga Rodrigues Paulino. Co-orientadores: Edenio Detmann e Sebastião de Campos Valadares Filho.

O presente trabalho foi desenvolvido a partir de um experimento em que objetivou-se avaliar os efeitos da suplementação com culturas de levedura em relação à monensina sódica e ao não uso de aditivos sobre o consumo e digestibilidade de nutrientes, perfil de ácidos graxos voláteis no rúmen, pH ruminal, concentração de amônia ruminal, produção de proteína microbiana, excreção de nitrogênio urinário e balanço de compostos nitrogenados em novilhos de corte alimentados com dietas de alto nível de concentrado com dois níveis de amido (23 e 38%). Foram utilizados oito novilhos de corte cruzados (*Bos taurus* x *Bos indicus*), com peso corporal (PC) médio de $499 \pm 50,49$ kg e fistulados no rúmen, que foram divididos em dois grupos de quatro, em que cada grupo recebeu um tipo de concentrado. A alimentação basal foi composta de duas rações contendo 80% de concentrado constituída de silagem de milho e os concentrados à base de milho moído em peneira de 6mm, farelo de soja, caroço de algodão, casca de soja e mistura mineral. O experimento foi avaliado segundo delineamento em quadrado latino, com agrupamento de dois quadrados simultâneos, em esquema fatorial 4 x 2. Dentro de cada quadrado, foram implementados quatro tratamentos relativos ao esquema de suplementação (controle, monensina, levedura – 1,0 g/100 kg PC/dia, levedura – 2,5 g/100 kg PC/dia). As dietas com diferentes níveis de amido foram aplicadas independentemente em cada um dos quadrados latinos. Verificou-se que os consumos de carboidratos não fibrosos, amido, de matéria seca em função do peso corporal e do peso metabólico foram menores ($P < 0,10$) para o tratamento com inclusão de levedura na dosagem de 1,0 g/100kg. Os valores do pH ruminal não foram influenciados ($P > 0,10$) pela inclusão de aditivos nas dietas, mas apresentaram menores valores ($P < 0,10$) para o tratamento com menor nível de amido. As concentrações totais de AGV foram maiores ($P > 0,10$) para os tratamentos de menor nível de amido, monensina e levedura 1 g. As concentrações de lactato foram inferiores ($P < 0,10$) com a inclusão de monensina e na dieta com maior nível de amido. Enquanto as de acetato foram aumentadas ($P < 0,10$) na dieta de menor nível de amido e com a inclusão da Levedura 1 g. As concentrações de propionato, butirato e nitrogênio amoniacal não foram influenciadas ($P > 0,10$) por nenhum dos

aditivos estudados. Entretanto, o propionato foi influenciado ($P < 0,10$) positivamente pela dieta com menor nível de amido. O menor nível de amido apresentou menores concentrações de nitrogênio amoniacal e maior coeficiente de digestibilidade da FDN. Todos os aditivos avaliados promoveram melhoria ($P < 0,10$) no coeficiente de digestibilidade do extrato etéreo. As variáveis excreção de compostos nitrogenados urinários, dos derivados de purina, purinas absorvidas, síntese de nitrogênio microbiano, eficiência de síntese de proteína microbiana e balanço de compostos nitrogenados não foram influenciadas ($P > 0,10$) por nenhum dos tratamentos avaliados.

O emprego de monensina e de culturas de levedura até o nível testado não promove melhorias nos valores pH ruminal, na digestibilidades da FDN e da matéria seca, nem aumentam a síntese de proteína microbiana e balanço de nitrogênio, tampouco reduzem as perdas de compostos nitrogenados urinários e as concentrações de amônia no rúmen em dietas com altos teores de amido.

ABSTRACT

MONNERAT, João Paulo Ismério dos Santos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February 2009. **Saccharomyces cerevisiae and monensin in high-grain diet to finishing steers.** Adviser: Pedro Veiga Rodrigues Paulino. Co-adviser: Edenio Detmann and Sebastião de Campos Valadares Filho.

The present work was developed to evaluate the effects of different levels of yeast culture supplementation in comparison to monensin and no feed additives on feed intake, nutrient digestibility, profile of volatile fatty acids (VFA) in the rumen, ruminal pH, concentration of ruminal ammonia, production of microbial protein, nitrogen excretion in urine and balance of nitrogen compounds in beef steers fed by high-concentrated diets with two levels of starch (23 and 38%). Eight steers cannulated in the rumen (*Bos taurus* x *Bos indicus*; BW: 489 kg body weight [BW]) were used. Animals were sorted out in two groups of four and each group received one kind of concentrate. The diet was composed of two rations including 80% of concentrated. The roughage used was corn silage and the concentrate composed of ground corn, soybean meal, cottonseed, soybean shell and mineral mixture. The experiment was evaluated following the two-by-two Latin Square design. Within each square, four treatments were implemented according to the supplementation plan (control, monensin, yeast – 1.0 g/100kg BW/day, yeast – 2.5 g/100kg BW/day). The diets with different levels of starch were independently applied in each Latin squares. The feed intake of non-fibrous carbohydrates, starch and dry matter were observed in relation to body weight and metabolic weight when the yeast level used was 1.0g/100 kg. The ruminal pH values were not influenced by the additive inclusion in the diets. However, the ruminal pH observed was lower ($p < 0.10$) when the diet with a lowest level of starch was given. The VFA concentrations were higher ($p > 0.10$) in the animals receiving a lowest level of starch, monensin and 1g of yeast. A lower concentration of lactate ($P < 0.10$) were observed in the treatments which had monensin added and a higher level of starch. The concentrations of propionate, butyrate and N-NH₃ were not influenced ($P > 0.10$) by any of the additives used in this study. However, the propionate was positively influenced ($P < 0.10$) by the treatment with a lower level of starch. A lower concentration of N-NH₃ and a higher NDF digestibility coefficient was observed in the treatment with the lowest level of starch. All the additives used in this study improved ($P < 0.10$) the digestibility of ether extract. The treatment with 2.5g of yeast showed better

results compared to the others additives used in this study. The urinary excretion of the nitrogen compounds, purine derivatives, purine absorbed as purine derivatives, synthesis of microbial nitrogen, efficiency of microbial protein synthesis and balance of nitrogen compounds were not influenced by any of the treatments in this study.

Introdução

A fase de terminação de bovinos de corte em confinamento vem aumentando com o passar do tempo. Em 2006, foram terminados mais de 2,18 milhões de animais neste sistema, o que representa um aumento de mais de 54% desde 1999 (Anualpec, 2007). Esse crescimento pode ser explicado pela necessidade de se melhorar a eficiência de produção e a qualidade de carcaça e de carne dos animais, bem como pela maior disponibilidade de alimentos, principalmente na região centro-oeste.

O confinamento constitui ferramenta que possibilita o abate de animais jovens e bem acabados. O crescimento expressivo da safra nacional de grãos na última década, com concomitante aumento na disponibilidade de subprodutos agroindustriais, o aumento do custo da produção de volumosos, a melhoria do potencial genético dos animais e o surgimento de unidades de confinamento de grande porte, têm contribuído para aumentar a competitividade de rações com teores altos de concentrado para bovinos confinados em terminação no Brasil (Santos et al., 2004).

Sendo assim, dietas com alto teor de concentrado, fornecidas *ad libitum* passam a ser, cada vez mais, usadas nos confinamentos. Essa estratégia de manejo alimentar caracteriza-se por proporcionar rápido ganho de peso, alta eficiência de conversão alimentar e conseqüente diminuição no tempo de terminação para abate, menor custo de mão-de-obra, menor necessidade de armazenamento de alimentos e geralmente maior uniformidade no desempenho (Bulle et al., 2002); além de melhorar as características da carcaça, como área de olho de lombo e espessura de gordura subcutânea (Costa et al., 2005).

Em estudos realizados por Woody et al. (1983), foi verificado que os níveis de grãos em dietas de bovinos em terminação têm efeito positivo sobre o desempenho e a eficiência de utilização da energia. Os autores encontraram que animais alimentados com dietas de alto concentrado (90% de grãos), comparados aos que foram alimentados com 70%, ganharam peso 7% mais rápido e apresentaram requerimento alimentar 16% menor por unidade de ganho.

Ferreira et al. (1999), Ladeira et al. (1999) e Dias et al. (2000) relataram que o fornecimento de rações com níveis crescentes de concentrado (25; 37,5; 50; 62,5; e 75%) proporcionou aumento linear de consumo. Resultados contrários foram obtidos por Bürger et al. (2000), que verificaram redução linear do consumo com o aumento dos níveis de concentrado nas dietas (30, 45, 60, 75 e 90%), enquanto Pereira et al. (2006) e Silva et al.

(2002) constataram não haver diferenças no consumo de MS, quando forneceram níveis crescentes de concentrado à dieta, em substituição ao feno.

Van Soest (1994) explicou que o mecanismo de controle do consumo voluntário nos ruminantes é produto da ação integrada de fatores físicos, químicos e fisiológicos, em que a demanda energética do animal define o consumo de dietas de alta densidade calórica, ao passo que a capacidade física do trato gastrintestinal determina o consumo de dietas de baixa qualidade e densidade energética. Entretanto, segundo Mertens (1994), além de fatores físicos e fisiológicos responsáveis pela modulação do consumo, existe também o fator psicogênico, que envolve a resposta comportamental do animal frente a fatores inibidores ou estimuladores no alimento ou no manejo alimentar, que não estariam relacionados ao valor energético do alimento nem ao efeito do enchimento.

O ganho de peso médio diário apresenta resposta linear crescente em relação ao nível de inclusão de concentrado na dieta (Oliveira, 1998; Ferreira et al., 1999). No entanto, vários autores afirmaram que a resposta animal ao acréscimo de concentrado tende a ser quadrática, e não linear (Vieira et al., 1994; Araújo et al., 1998; Gesualdi Jr. et al., 2000; Tibo et al., 2000), mostrando não ser o nível de matéria seca digestível ingerida pelo animal, somente, responsável pela obtenção de resultados esperados.

Além disso, níveis nutricionais melhores refletem em aumento do custo da alimentação, podendo tornar a atividade menos rentável, principalmente quando os animais não possuem potencial genético para alto ganho de peso. Como a alimentação é responsável pela maior parte dos custos de produção nos sistemas de confinamento, os programas nutricionais devem possuir um criterioso grau de profissionalização, exigindo suporte em estudos que busquem conhecer, minuciosamente, as interações e os impactos produzidos pelo emprego dos concentrados na alimentação de bovinos de corte confinados.

Nos confinamentos em que a principal fonte de energia das rações de terminação é o milho, há possibilidade de que o desempenho de animais alimentados com rações ricas em concentrados possa ser prejudicado, devido à alta degradação ruminal do amido, o que pode ocasionar aumento dos riscos de redução do pH ruminal a valores críticos para o animal, causando acidose.

No rúmen, microrganismos convertem alimento em ácidos graxos voláteis (AGV) e proteína microbiana. Os AGV entram na circulação portal e são usados pelo aparelho digestivo, pelo fígado e por tecidos periféricos como fonte de energia. A proteína microbiana, por sua vez, é digerida no intestino delgado e absorvida.

No rúmen são produzidas grandes quantidades de ácidos orgânicos quando o fornecimento de carboidratos é subitamente aumentado, ou seja, após consumo de cereais ou durante adaptação a dietas ricas em concentrado, por exemplo, a produção de ácidos graxos e a prevalência de ácido láctico aumentam. O ácido láctico, normalmente, está presente no rúmen apenas em baixas concentrações, mas quando o fornecimento de carboidratos não fibrosos aumenta, o mesmo pode acumular-se no rúmen em altas concentrações.

A acidose dos ruminantes é classificada por graus de intensidade em dois tipos: acidose aguda e acidose crônica (ou subclínica). A acidose crônica, freqüentemente, é chamada acidose ruminal subclínica. Quando ruminantes consomem uma quantidade muito grande de carboidratos rapidamente fermentáveis e o pH ruminal cai abaixo de 5,2, ocorre a acidose aguda. Na acidose crônica, por outro lado, a ingestão alimentar e o desempenho são reduzidos, embora os animais não apresentem sintomas evidentes.

Nos últimos anos, o interesse por subprodutos agroindustriais alternativos vem crescendo, com o objetivo de substituir o amido por pectina e fibra de alta digestibilidade nessas rações, melhorando a estabilidade do pH, a fermentação ruminal, a síntese microbiana, o consumo de matéria seca e, conseqüentemente, o desempenho animal (Blasi et al, 2000; Santos et al.; 2004; Pereira, 2005; Farran et al.; 2006).

Também para minimizar estes problemas surgem como alternativa os aditivos, que aceleram ou melhoram a eficiência de utilização dos nutrientes da dieta, melhorando a conversão alimentar e o desempenho animal. Tais fatos têm contribuído para intensificar a procura por aditivos que não ofereçam nenhum risco ao consumidor (probióticos). Orsine (2003) caracterizou aditivos alternativos como substâncias não estranhas ou adversas ao organismo, que ao serem incorporadas à dieta respeitem a fisiologia dos animais, de seus hospedeiros benéficos, o bem estar e favoreçam a saúde, o crescimento e a produção.

Acredita-se que estes aditivos sejam responsáveis por efeitos positivos e benéficos à saúde dos animais através de vários mecanismos, entre esses a alteração do equilíbrio específico dos microrganismos presentes no rúmen, a prevenção de aderência ou de ativação patogênica, a melhoria na permeabilidade do aparelho digestivo e/ou da função imunomodulante (Krehbiel et al.; 2003), além de poderem provocar alterações na fermentação microbiana ruminal. Portanto, vem aumentando o interesse, especificamente, no uso de levedura para otimizar a digestão ruminal (Beauchemin et al.; 2006).

A utilização de culturas de leveduras pelo homem ocorre desde a antiguidade na produção de alimentos, como na fabricação de pães e cerveja. Porém, nos últimos anos as

leveduras têm sido estudadas em dietas de bovinos de corte, com o intuito de desenvolver uma forma de aditivo natural, em substituição ao uso de outros convencionais como os ionóforos, permitindo assim que esses animais tenham melhor aproveitamento da dieta oferecida, além de diminuir o risco de resíduos nos produtos oriundos das criações, tornando o produto mais saudável.

Com relação aos ionóforos, embora pareça haver possíveis restrições por parte de alguns países em relação ao seu uso, principalmente a União Européia, os dados da literatura já são abundantes e extremamente consistentes quanto aos efeitos dos mesmos em bovinos de corte. Sendo a maior parte dos experimentos conduzida com monensina e lasalocida sódica.

A monensina sódica aumenta a *performance* animal, principalmente devido às alterações que promove na fermentação ruminal. Geralmente, os ionóforos são altamente efetivos contra bactérias gram-positivas, e exibem pouca ou nenhuma atividade contra bactérias gram-negativas. As bactérias gram-negativas possuem uma camada lipídica externa que contém porina (canais de proteínas) com um tamanho limite de, aproximadamente, 600 Da. A maioria dos ionóforos é maior que 600 Da, não passando através das porinas (Nagaraja et al., 1997). Por outro lado, as bactérias gram-positivas não possuem essa camada externa e a monensina pode penetrar livremente na membrana celular. Entretanto, a presença de membrana externa não é um absoluto critério para resistência bacteriana aos ionóforos, uma vez que algumas bactérias gram-negativas têm-se mostrado susceptíveis a altas concentrações de ionóforos (Nagaraja & Taylor, 1987).

Conforme sumarizado por Bergen & Bates (1984), o efeito da monensina sobre os microrganismos se dá pela atuação do ionóforo no fluxo de íons através da membrana, o que na dissipação de gradientes de cátions e do próton, interferindo na captação de solutos e nos sistemas primários de transporte nas células. A inibição dos microrganismos pode ser atribuída à perda de atividade do transporte ativo, diminuição do pH intracelular, alterações nas concentrações iônicas intracelulares ou drenagem de energia em ciclos fúteis (Russell & Strobel, 1989).

Desse modo, como a monensina sódica age selecionando as bactérias gram-negativas (Russell & Wallace, 1997), a produção de ácidos graxos voláteis é modificada, ocorrendo diminuição da proporção molar dos ácidos acético e butírico (McGuffey et al., 2001), com conseqüente redução das produções dos gases metano - CH₄ e carbônico - CO₂ (Bagg, 1997), e aumento da proporção de ácido propiônico (Badawy et al., 1996), seguido

por elevação das concentrações de propionato hepático e dos níveis de glicose sanguínea (Maas et al., 2001).

Além disso, a monensina sódica atua sobre as bactérias ruminais que degradam proteína, resultando em menor produção de amônia e maior escape de peptídeos do rúmen que serão absorvidos como aminoácidos (Newbold, 1990).

Em relação às leveduras, diversos mecanismos de ação têm sido propostos para explicar os seus efeitos positivos. Acredita-se que elas poderiam alterar a composição das espécies da população bacteriana do rúmen, resultando em alterações na fermentação, que trariam benefícios para o animal hospedeiro. Devido ao fato de que as características de fermentação diferem entre as espécies de bactérias, isto poderia alterar a função ruminal. Segundo Martin & Nisbet (1992) e outros autores, citados na revisão feita por Wallace (1992), as leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) podem atuar modificando a fermentação ruminal, basicamente de duas maneiras: fornecendo fatores estimulatórios para as bactérias do rúmen e seqüestrando oxigênio que entra no rúmen.

Os principais fatores estimulatórios parecem ser os ácidos dicarboxílicos fornecidos pelas culturas de leveduras, particularmente o ácido málico, que podem favorecer o crescimento e a atividade de bactérias consumidoras de ácido láctico e, conseqüentemente, prevenir flutuações perigosas do pH ruminal. Além disso, foram observadas estimulações de bactérias lactato-consumidoras *in vitro* e *in vivo* (Edwards, 1991; Dawson & Girad, 1997; Newbold et al.; 1998). Reduções nas concentrações de lactato no rúmen foram observadas em animais suplementados com *S. cerevisiae* (Williams et al.; 1991; Lynch & Martin, 2002). Também foi sugerido que o levedo poderia fornecer vitaminas do complexo B, tais como niacina e tiamina ao rúmen (Martin & Nisbet, 1992; Callaway & Martin, 1997). Porém, é improvável que a *S. cerevisiae*, nos níveis normalmente administrados, poderia fornecer vitaminas suficientes para estimular a fermentação *in vivo* (Beauchemin et al., 2006).

Rose (1987) sugeriu que a levedura poderia consumir o oxigênio dentro do rúmen e, portanto, estimular o crescimento de bactérias anaeróbicas, o que aumentaria a taxa de degradação ruminal e a digestibilidade aparente da matéria seca. A conseqüência dessa maior atividade das bactérias no rúmen seria o aumento da utilização da amônia ruminal e a síntese e o fluxo de proteína microbiana para o duodeno.

Newbold et al. (1996) demonstraram correlação positiva entre a capacidade que os preparados de levedura têm em estimular o consumo de oxigênio pelo fluido ruminal e o crescimento das bactérias ruminais. Embora o rúmen seja considerado anaeróbico, o gás

ruminal contém entre 0,5 e 1,0% de oxigênio (McArthur & Miltimore, 1962), proveniente do alimento e da saliva.

Há, entretanto, resultados contraditórios quanto ao benefício da utilização de leveduras em dietas de bovinos, além de escassez de estudos, no Brasil, com o uso dessas culturas. Sendo assim, não é possível estabelecer relações concretas entre o uso de *S. cerevisiae* com as dinâmicas ingestivas, digestivas e metabólicas com a fermentação ruminal de bovinos.

Dessa forma, este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar os efeitos da suplementação com culturas de levedura em relação à monensina sódica e ao não uso de aditivos sobre o consumo, perfil de ácidos graxos voláteis no rúmen, pH ruminal, concentração de amônia ruminal, digestibilidade aparente total dos nutrientes, síntese de proteína microbiana, excreção de uréia e balanço de compostos nitrogenados, em novilhos de corte alimentados com dietas ricas em concentrado e dois níveis de amido.

Literatura citada

- Anualpec 2007: Anuário da Pecuária Brasileira.** São Paulo: FNP, 2007. 368p.
- ARAÚJO, G.G.L.; SILVA., J.F.C.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Ganho de peso, conversão alimentar e características da carcaça de bezerros alimentados com dietas contendo diferentes níveis de volumoso. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, n.5, p.1006-1012, 1998.
- BADAWY, S.A.; YOUNIS, M.; SHALASH, M.R. et al. Monensin effects on rumen metabolic profile, methane production and protozoal population in buffalo-heifers. **Egyptian Journal of Veterinary Science**, v.30, p.49-56, 1996.
- BAGG, R. **Mode of action of ionophores in lactating dairy cattle.** Usefulness of ionophores in lactating dairy cattle. Guelph: Ontario Veterinary College, 1997. p.13-21.
- BEAUCHEMIN, K. A.; KREHBIEL, C.R.; NEWBOLD, C.J. Feed enzymes and direct-fed microbials in ruminant nutrition. Mosenthin, R., Zentek, J., Zebrowska, T. (Eds.). **Biology of Nutrition in Growing Animals.** Elsevier Limited, Philadelphia, PA.2006. p. 819-826.
- BERGEN, W.G.; BATES, D.B. Ionophores: their effect on production efficiency and mode of action. **Journal of Animal Science**, v.58, n.6, p.1465-1483, 1984.
- BLASI, D. A.; TITGEMEYER, E.C.; DROUILLARD, J. S.; et al..Soybean hulls, composition and feeding value for beef and dairy cattle. **Kansas State University Agricultural Experimental Station and Cooperative Extension Service**, Bull. MF-2438, 16 p. 2000.
- BULLE, M.L.M; RIBEIRO, F.G.; LEME, P.R.; TITTO, E.A.L.; LANNA, D.P.D. Desempenho de Tourinhos Cruzados em Dietas de Alto Teor de Concentrado com Bagaço de Cana-de-Açúcar como Único Volumoso. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.1, p.444-450, 2002.
- BÜRQUER, P.J.; PEREIRA, J.C.; SILVA., J.F.C. et al. Consumo e digestibilidade aparente total e parcial em bezerros Holandeses alimentados com dietas contendo diferentes níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.1, p.206-214, 2000.
- CALLAWAY, E.S. and MARTIN S.A. Effects of a *Sacharomyces cerevisiae* culture on ruminal bacteria that utilize acetate and digest cellulose. **Journal of Dairy Science**. v.80, p.2004-2035, 1997.
- COSTA, M.A.L.; VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, M.F. et al. Desempenho, digestibilidade e características de carcaça de novilhos zebuínos alimentados com dietas contendo diferentes níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n1, p. 268-279, 2005.
- DAWSON, K. A.; and GIRARD, I. D. Biochemical and physiological basis for the stimulatory effects of yeast reiterations on ruminal bacteria. In: Lyons, T. P.; Jacques, K. A. (Eds.), **Biotechnology in the Feed ndustry.** ottingham University Press, Nottingham, UK, p.293. 1997.

- DIAS, H.L.C.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, J.F.C. et al. Consumo e digestões totais e parciais em novilhos F1 Limousin x Nelore alimentados com dietas contendo cinco níveis de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.2, p.545-554, 2000.
- EDWARDS, I. E. Practical uses of yeast culture in beef production: insight into its mode of action. In: yons, T.P. Ed.), **Biotechnology in the Feed Industry**. Alltech Technical Publications, Nicholasville, Kentucky, p.51-65, 1991.
- FARRAN, T.B.; ERICKSON, G.E.; KLOPFENSTEIN, T.J. et al. Wet corn gluten feed and alfafa hay levels in dryrolled corn finishing diets: Effects of finishing performance and feedlot nitrogen mass balance. **Journal of Animal Science**, v.84, p. 1205-1214, 2006.
- FERREIRA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, J.F.C. et al. Consumo, conversão alimentar, ganho de peso e características da carcaça de bovinos F1 Simental x Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, n.2, p.343-351, 1999.
- GESUALDI JR., A., PAULINO, M.F., VALADARES FILHO, S.C. et al. Níveis de concentrado na dieta de novilhos F1 Limousin x Nelore: consumo, conversão alimentar e ganho de peso. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.5, p.1458-1466, 2000.
- KREHBIEL, C. R., S. R. RUST, G. ZHANG, and S. E. GILLILAND. Bacterial direct fed microbials in ruminant diets: Performance response and mode of action. **Journal of Animal Science**. 81:(E. Suppl. 2):E120-E132. 2003.
- LADEIRA, M.M.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, J.F.C. et al. Consumo e digestibilidades aparentes totais e parciais de dietas contendo diferentes níveis de concentrado, em novilhos Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, n.2, p.395-403, 1999.
- LYNCH, H.A.; and MARTIN, S.A. Effects of *Saccharomyces* culture and *Saccharomyces* live cells on *in vitro* mixed ruminal microorganism fermentation. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.2603-2603, 2002.
- MAAS, J.A.; WILSON, G.F.; McCUTCHEON, S.N. et al. The effect of season and monensin sodium on the digestive characteristics of autumn and spring pasture fed to sheep. **Journal of Animal Science**, v.79, n.4, p.1052-1058, 2001.
- MARTIN, S.A.; and NISBET, D.J. Effect of direct-fed microbial on rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, v. 5, p.1736-1744, 1992.
- MCARTHUR, J.M.; and MILTIMORE, J.E. Rumen gas analysis by gas solid chromatography. Can. **Journal of Animal Science**, v. 41, p.187-192, 1962.
- MCGUFFEY, R.K.; RICHARDSON, L.F.; WILKINSON, J.I.D. Ionophores for dairy cattle: current status and future outlook. **Journal of Dairy Science**, v.84, Supplement, p.194-203, 2001.
- MERTENS, D.R. Regulation of forage intake. In: FAHEY Jr., G.C., (Ed.) Forage quality, evaluation and utilization. Madison: **American Society of Agronomy**, 1994. p.450-493.

- NAGAJARA, T.G.; NEWBOLD, C.J.; VAN NEVEL, C.J. Manipulation of ruminal fermentation. In: Hobson, P. N.; Stewart, C. S. (eds). *The Rumen Microbial ecosystem*. **Blackie Academic e professional**, London. p. 523-632, 1997.
- NAGARAJA, T.G.; TAYLOR, M.B. Susceptibility and resistance of ruminal bacteria to antimicrobial feed additives. **Applied Environmental Microbial**, **53**, 1620-5, 1987.
- NEWBOLD, C.J.; MCINTOSH, F.M.; and WALLACE, R.J. Changes in the microbial population of a rumen-simulating fermenter in response to yeast culture. *Can. Journal of Animal Science*, v.78, p.241- 244, 1998.
- NEWBOLD, C.J.; MCINTOSH, F.M.; and WALLACE, R.J. Mode of action of the yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, as a feed additive for ruminants. **British Journal of Nutrition**, v.76, p.249- 261, 1996.
- NEWBOLD, C.J. Probiotics as feed additives in ruminant diets. In 51 st **Minnesota Nutrition Conference**, ed. M. Stern, G. Wagner, J. Rogers and R. Seilner. University of Minnesota, Minnesota, p. 102-18, 1990.
- OLIVEIRA, S.R. **Desempenho e características da carcaça de novilhos Nelores não-castrados**. 1998. 58p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 1998.
- ORSINE, G.F. Aditivos alternativos para ruminantes: probióticos e enzimas. In: SIMPÓSIO GOIANO DE MANEJO E NUTRIÇÃO DE BOVINOS DE CORTE E DE LEITE, 5., 2005, Goiânia, **Anais...** Goiânia, 2003. DR-ROOM.
- PEREIRA, D.H.; PEREIRA, O.G.; VALADARES FILHO, S.C.V. et al. Consumo, digestibilidade dos nutrientes e desempenho de bovinos de corte recebendo silagem de sorgo (*Sorghum bicolor* (L) Moench) e diferentes proporções de concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.1, p.282-291, 2006.
- ROSE, A.H. Yeast Culture, A microorganism for all species: A theoretical look at its mode of action. In: Lyons, T. P. (Ed.), **Biotechnology in the Feed Industry**, Alltech Technical Publications, Kentucky, p.113-118, 1987.
- RUSSELL, J.B.; STROBEL, H.J. Minireview: the effect of ionophores on ruminal fermentation. **Applied and Environmental Microbiology**, v.55, n.1, p.1-6, 1989.
- RUSSELL, J.B.; WALLACE, R.J. Energy-yielding and energy consuming reactions. **The rumen microbial ecosystem**. 2.ed. 1997. p.267-268.
- SANTOS, F.A.S.; PEREIRA, E.M.; PEDROSO, A.M. Suplementação energética de bovinos de corte em confinamento. In: SIMPÓSIO SOBRE BOVINOCULTURA DE CORTE, 5., Piracicaba, 2004. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2004, p.262-297.
- SILVA, L.D.F.; EZEQUIEL, J.M.B.; AZEVEDO, P.S. et al. Digestão total e parcial de alguns componentes de dietas contendo diferentes níveis de casca de soja e fontes de nitrogênio, em bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.3, p.1258- 68, 2002.

- TIBO, G.C.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Níveis de concentrado em dieta de novilhos mestiços F1 Simental x Nelore: consumo e digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.3, p.910-920, 2000.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2.ed. London: Comstock Publishing Associates, 1994. 476p.
- VIEIRA, D.M.; BUTLER, G.; PROULX, J.G. et al. Utilization of grass silage by cattle: effect of supplementation with different sources and amounts of protein. **Journal Animal Science**, v.72, n.6, p.1403-1408, 1994.
- WALLACE, R. J.; and C. J. NEWBOLD. Probiotics for ruminants. In: Fuller, R. (Ed.), **Probiotics: The scientific Basis, hapman and Hall**, London, p317-353, 1992.
- WILLIAMS, P.E.V.; TAIT, C.A.G.; INNES, G.M.; NEWBOLD, C.J. Effects of the inclusion of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae* plus growth medium) in the diet of dairy cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen of sheep and steers. **Journal of Animal Science**, v.69, p.3016-3026, 1991.
- WOODY, H.D.; FOX, D.G.; BLACK, J.R. Effect of diet grain content on performance of growing and finishing cattle. **Journal of Animal Science**, v.57, p.717-726, 1983.

Parâmetros Ruminais de Novilhos de Corte Suplementados com Levedura

RESUMO – Objetivou-se avaliar os efeitos da suplementação com culturas de levedura em relação à monensina sódica e ao não uso de aditivos sobre o perfil de ácidos graxos voláteis no rúmen, pH e concentração de amônia ruminal, em novilhos de corte alimentados com dietas de alto nível de concentrado com dois níveis de amido (23 e 38%). Foram utilizados oito novilhos de corte cruzados (*Bos taurus x Bos indicus*), com peso corporal médio (PC) de $499 \pm 50,49$ kg e fistulados no rúmen, sendo divididos em dois grupos de quatro, em que cada grupo recebeu um tipo de concentrado (23 ou 38% de amido). A alimentação basal foi composta por duas rações, contendo 80% de concentrado, constituída de silagem de milho e os concentrados à base de milho moído em peneira de 6 mm, farelo de soja, caroço de algodão, casca de soja e mistura mineral. O experimento foi avaliado segundo delineamento em quadrado latino, com agrupamento de dois quadrados simultâneos, em esquema fatorial 4 x 2. Dentro de cada quadrado, foram implementados quatro tratamentos relativos ao esquema de suplementação (sem aditivo, monensina, levedura – 1,0 g/100 kg PC/dia, levedura – 2,5 g/100 kg PC/dia). As dietas com diferentes níveis de amido foram aplicadas independentemente em cada um dos quadrados latinos. Verificou-se que os valores do pH ruminal não foram influenciados ($P > 0,10$) pela inclusão de aditivos nas dietas, mas apresentaram menores valores ($P < 0,10$) para o tratamento com menor nível de amido. As concentrações totais de AGV foram maiores ($P > 0,10$) para os tratamentos de menor nível de amido, monensina e levedura 1 g/100kg PC. As concentrações de lactato diminuíram ($P < 0,10$) com a inclusão de monensina na dieta com maior nível de amido, enquanto as de acetato foram aumentadas ($P < 0,10$) na dieta de menor nível de amido e com a inclusão da levedura na dose de 1 g/100kg PC. As concentrações de propionato, butirato e nitrogênio amoniacal não foram influenciadas ($P > 0,10$) por nenhum dos aditivos estudados. Entretanto, a concentração de propionato foi influenciada ($P < 0,10$) positivamente pela dieta com menor nível de amido, que também resultou em menores concentrações de nitrogênio amoniacal.

Palavras-chave: fermentação ruminal, ácidos graxos voláteis, lactato, pH ruminal, nitrogênio amoniacal

Effects of Yeast on the Ruminal Parameters of Beef Steers

ABSTRACT - The present work was evaluate the effects of yeast culture supplementation in comparison to those of sodium monensin and those without the use of additives on profile of volatile fatty acids (VFA) in the rumen, ruminal pH, concentration of ruminal ammonia. The diets with different levels of starch were independently applied in each Latin squares. in beef steers fed by high-concentrated diets with two levels of starch (23 and 38%). Eight steers (*Bos taurus x Bos indicus*) with 499 kg body weight (BW), cannulated in the rumen, were used. The animals were sorted out in two groups of four and each group received one kind of concentrate. The diet was composed of two rations including 80% of concentrated. The roughage used was corn silage and the concentrate composed of ground corn, soybean meal, cottonseed, soybean shell and mineral mixture. The experiment was evaluated following the two-by-two Latin Square design. Within each square, four treatments were implemented according to the supplementation plan (control, monensin, yeast – 1.0 g/100kg BW/day, yeast – 2.5 g/100kg BW/day). The ruminal pH values were not influenced by the additive inclusion in the diets. However, the ruminal pH observed was lower ($p < 0.10$) when the diet with a lowest level of starch was given. The VFA concentrations were higher ($p > 0.10$) in the animals receiving a lowest level of starch, monensin and 1g of yeast. A lower concentration of lactate ($P < 0.10$) were observed in the treatments which had monensin added and a higher level of starch. The concentrations of propionate, butyrate and N-NH₃ were not influenced ($P > 0.10$) by any of the additives used in this study. However, the propionate was positively influenced ($P < 0.10$) by the treatment with a lower level of starch. A lower concentration of N-NH₃ was observed in the treatment with the lowest level of starch.

Keywords: lactate, ruminal ammonia, ruminal fermentation, volatile fatty acids, ruminal pH

Introdução

Nos confinamentos em que a principal fonte de energia das dietas de terminação é o milho, há possibilidade de que o desempenho dos animais alimentados com rações ricas em concentrado possa ser prejudicado, devido à alta degradação ruminal do amido, o que pode ocasionar aumento dos riscos de redução do pH ruminal a valores críticos para o animal, causando acidose.

Para minimizar estes problemas, surgem como alternativa os aditivos, que acelerem ou melhorem a eficiência de utilização dos nutrientes da dieta, melhorando a conversão alimentar e o desempenho animal.

Há alguns anos vem aumentando a lista de vários antibióticos usados em nutrição animal proibidos na Comunidade europeia como promotores de crescimento (Lanna, 2007). Com isso tem-se intensificado a procura por aditivos alternativos que não ofereçam nenhum risco ao consumidor, como os probióticos. Orsine (2003) caracterizou aditivos alternativos como substâncias não estranhas ou adversas ao organismo, que ao serem incorporadas à dieta respeitem a fisiologia dos animais, de seus hospedeiros benéficos, o bem estar e favoreçam a saúde, o crescimento e a produção.

Acredita-se que estes aditivos sejam responsáveis por desempenhos positivos e benéficos à saúde dos animais através de vários mecanismos, esses a alteração do equilíbrio microbiano, a prevenção de aderência ou de ativação patogênica, a melhoria na permeabilidade do aparelho digestivo e/ou da função imunomodulante (Krehbiel et al., 2003).

A utilização de culturas de leveduras pelo homem ocorre desde a antiguidade na produção de alimentos, como na fabricação de pães e cerveja. Porém, nos últimos anos as leveduras têm sido estudadas em dietas de bovinos de corte, como aditivo, em substituição ao uso de outros convencionais como os ionóforos, permitindo que os animais tenham melhor aproveitamento da dieta oferecida, e reduzindo a possibilidade de contaminação cruzada, devido ao desenvolvimento de cepas bacterianas resistentes a antibióticos (Teather & Forster, 1998).

Diversos mecanismos de ação têm sido propostos para explicar os efeitos benéficos do uso de leveduras vivas na nutrição animal. Acredita-se que essas poderiam alterar o equilíbrio das espécies microbianas no rúmen, resultando em alterações na fermentação, que trariam benefícios para o animal hospedeiro. Devido ao fato de que as características de fermentação diferem entre as espécies de bactérias, isto poderia alterar a função ruminal. Se o equilíbrio populacional é alterado de modo a aumentar as espécies benéficas, como as

bactérias celulolíticas, que são consumidoras de ácido láctico, o resultado pode ser melhor utilização energética por parte do animal hospedeiro.

Segundo Martin & Nisbet (1992) e outros autores, citados na revisão feita por Wallace (1992), as leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) podem atuar modificando a fermentação ruminal, basicamente de duas maneiras: fornecendo fatores estimulatórios para as bactérias do rúmen e seqüestrando oxigênio que entra no rúmen.

Os principais fatores estimulatórios parecem ser os ácidos dicarboxílicos fornecidos pelas culturas de leveduras, particularmente o ácido málico, que podem favorecer o crescimento e a atividade de bactérias consumidoras de ácido láctico e, conseqüentemente, prevenir flutuações perigosas do pH ruminal. Reduções nas concentrações de lactato no rúmen foram observadas em animais suplementados com *S. cerevisiae* (Williams et al., 1991; Lynch & Martin, 2002). Também foi sugerido que a levedura poderia fornecer vitaminas do complexo B, tais como niacina e tiamina ao rúmen (Martin & Nisbet, 1992; Callaway & Martin, 1997). Porém, é improvável que a *S. cerevisiae*, nos níveis normalmente administrados, poderia fornecer vitaminas suficientes para estimular a fermentação *in vivo* (Beauchemin et al., 2006).

Há, entretanto, resultados contraditórios quanto ao benefício da utilização de leveduras em dietas de bovinos, além de escassez de estudos, no Brasil, com o uso dessas culturas. Sendo assim, ainda não é possível estabelecer uma relação entre o uso de *S. cerevisiae* com as dinâmicas ingestivas, digestivas e com a fermentação ruminal de bovinos.

Dessa forma, este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar os efeitos da suplementação com culturas de levedura ou monensina sódica sobre o perfil de ácidos graxos voláteis no rúmen, o pH e a concentração de amônia ruminal, em novilhos de corte alimentados com dietas de alto nível de concentrado e com dois níveis de amido.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Animais e no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa-MG, sendo a fase de campo realizada entre outubro e dezembro de 2007.

Foram utilizados oito novilhos de corte mestiços (*Bos taurus* x *Bos indicus*) com peso corporal (PC) médio de $499 \pm 50,49$ kg e idade média de 24 meses, fistulados no rúmen, segundo técnica descrita por Leão & Coelho da Silva (1980), mantidos em confinamento do tipo *tie stall* em baias individuais cobertas, dotadas de comedouro, com 3x3 m de área, piso de cimento revestido de borracha e acesso irrestrito à água através de bebedouros automáticos.

Inicialmente, todos os animais foram pesados, identificados, vermifugados contra ecto e endoparasitas e submetidos a um período de adaptação à dieta com alta proporção de concentrado, tentado pelo uso de dietas seqüenciais, nas quais as quantidades de forragem foram paulatinamente diminuídas (de 50 para 20 % da matéria seca total), enquanto aumentou-se o fornecimento de concentrados por um período de 28 dias antes do início dos períodos experimentais.

Os tratamentos experimentais consistiram da inclusão ou não de aditivos [monensina sódica (Rumensin[®] 100 Premix), na quantidade de 25 mg/kg de MS ofertada; e levedura (Beef-sacc[®], *Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026), nas quantidades de 1,0 e 2,5 g/100 kg PC (Levedura 1 g e Levedura 2,5 g, respectivamente)] combinados com duas dietas de alto concentrado contendo níveis de amido diferentes (23 e 38%, respectivamente).

Os animais foram divididos em dois grupos de quatro, em que cada grupo recebeu um tipo de concentrado, com níveis de amido diferentes para se avaliar o efeito dos aditivos sobre duas condições de fermentação.

A alimentação basal foi composta de duas rações contendo 80% de concentrado. O volumoso foi constituído de silagem de milho e os concentrados à base de milho moído grosso (peneira de 6 mm), farelo de soja, caroço de algodão, casca de soja e mistura mineral, conforme a Tabela 1. A composição química das dietas é apresentada na Tabela 2.

Tabela 1 – Proporção dos ingredientes nas dietas experimentais, em percentual na base da matéria seca

Ingredientes	Dietas Experimentais	
	Baixo Amido (23 %)	Alto Amido (38 %)
Silagem de Milho	20,25	20,36
Milho Moído Grosso	29,06	55,18
Farelo de Soja	4,89	7,37
Caroço de Algodão	13,06	13,14
Casca de Soja	28,16	-
Uréia	0,45	0,71
Núcleo Mineral ¹	3,22	3,24
Total	100,00	100,00

^{1/} Composição (%): fosfato bicálcico, 41,66; sal comum, 56,79; sulfato de cobre, 0,20; sulfato de zinco, 1,19; iodato de potássio, 0,03; sulfato de cobalto, 0,05; e selenito de sódio, 0,08. Níveis de garantia (por kg do núcleo): Fósforo, 31,5g; Enxofre, 31g; Sódio, 95g; Magnésio, 50g; Manganês, 1200mg; Zinco, 3000mg; Ferro, 600mg; Cobre, 600mg; Iodo, 36mg, Selênio, 10mg; Flúor, 315mg (no máximo).

Tabela 2 – Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), carboidratos não-fibrosos corrigidos (CNFcp), amido e minerais, das dietas experimentais e dos ingredientes, com base na matéria seca

Nutrientes	Dietas Experimentais	
	Baixo Amido (23 %)	Alto Amido (38 %)
MS (%)	76,81	76,30
MO	93,34	94,08
PB	14,16	14,85
EE	4,27	4,27
FDNcp	36,55	21,40
CNFcp	36,41	54,39
AMIDO	23,26	38,18
MINERAIS	6,66	5,92

Nutrientes	Ingredientes				
	Silagem de Milho	Milho	Farelo de Soja	Caroço de Algodão	Casca de Soja
MS (%)	30,24	87,26	86,44	88,84	88,92
MO	94,80	98,84	93,22	96,33	95,65
PB	7,38	8,50	51,53	21,93	12,33
EE	2,85	2,59	2,45	19,17	1,04
FDNcp	47,60	9,78	8,10	43,51	63,56
CNFcp	36,98	77,97	31,15	11,72	18,72
AMIDO	24,45	59,90	0,90	0,60	0,90
MINERAIS	5,20	1,16	6,78	3,67	4,35

Foram realizados quatro períodos experimentais com 17 dias cada, sendo 14 destinados à adaptação dos animais à dieta e os outros três às coletas.

Os alimentos foram fornecidos à vontade, três vezes ao dia, às 7h00, 12h00 e 17h00, na forma de ração completa, ajustados de forma a se manter as sobras em torno de 5 a 10% do fornecido. A levedura e a monensina foram pesadas diariamente e misturado ao núcleo mineral, que era incorporado ao concentrado fornecido durante as alimentações.

Para avaliação do pH e da concentração de nitrogênio amoniacal ruminal (N-NH₃), foram realizadas coletas de líquido ruminal no décimo quinto e décimo sexto dias de cada período experimental. As amostras foram coletadas manualmente às 07h00, 09h00, 11h00, 13h00, 15h00, 17h00, 19h00, 21h00, 23h00, 01h00, 03h00 e 05h00. As leituras de pH foram feitas imediatamente após as coletas, utilizando-se potenciômetro digital. Depois de obtidas as leituras de pH, alíquotas de 50 mL de líquido ruminal foram filtradas por uma camada tripla de gaze e adicionadas em um recipiente contendo 1mL de H₂SO₄ (1:1) e congeladas a -15°C para posterior análise quanto às concentrações de nitrogênio amoniacal ruminal, segundo o método colorimétrico descrito por Chaney & Marbach (1962) e adaptado pelo Laboratório de Microbiologia de Anaeróbios - UFV (Oliveira, 2003).

Para a avaliação da concentração dos ácidos graxos voláteis (AGV) no rúmen, foram colhidas amostras de 50 mL de líquido ruminal nos horários de zero (antes da primeira alimentação), duas, quatro, seis e oito horas após o primeiro fornecimento da dieta simultaneamente à avaliação de pH ruminal e N-NH₃, filtradas em camada tripla de gaze e armazenadas a -15°C. Após o descongelamento, alíquotas de 2 mL foram retiradas de cada amostra, as quais se adicionou 1 mL de ácido metafosfórico a 20% e 0,2 mL de ácido fênico a 1% (como padrão interno). Em seguida, foram centrifugadas a 38000 g, por 15 minutos, sendo o sobrenadante utilizado para as leituras das concentrações de ácido láctico, acético, propiônico e butírico.

As leituras de AGV foram realizadas em Cromatógrafo Líquido de Alta Performance (HPLC), marca SHIMADZU SPD-10 A VP, com detector ultravioleta (UV) e em comprimento de onda de 210 nm. A coluna usada foi C18 (fase reversa). Utilizou-se como fase móvel ácido fórmico 0,1% em água, com fluxo de 1,5 mL/minuto, pressão da coluna de 168 kgf e volume injetado de 20 µL.

O experimento foi avaliado segundo delineamento em quadrado latino, com agrupamento de dois quadrados simultâneos, em esquema fatorial 4 x 2. Dentro de cada quadrado, foram implementados quatro tratamentos relativos ao esquema de suplementação (sem aditivo, monensina, levedura – 1,0 g/100 kg PC/dia, levedura – 2,5 g/100 kg PC/dia). As dietas com diferentes níveis de amido foram aplicadas independentemente em cada um dos

quadrados latinos. As comparações entre as médias foram efetuadas a partir do teste da Diferença Mínima Significativa (DMS) de Fisher e todos os procedimentos estatísticos foram realizados por intermédio do programa *Statistical Analysis System* (SAS), adotando-se 0,10 como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I.

Resultados e Discussão

Não houve interação ($P > 0,10$) entre os níveis de amido e os aditivos estudados para nenhuma das variáveis testadas. Portanto, os efeitos dos aditivos e dos níveis de amido foram avaliados independentemente.

Segundo Oba & Allen (2003), o tempo após a alimentação em que o pH encontra-se mais baixo situa-se entre as quatro e seis horas e reflete o balanço entre as taxas de produção e absorção dos ácidos graxos voláteis, o influxo de tampões por meio da saliva e a presença ou liberação de tampões ou bases do alimento. Contudo, o fornecimento das dietas no presente estudo ocorreu em três momentos, com intervalos de cinco horas entre eles, iniciado às sete da manhã.

De forma geral, os tratamentos Monensina e Levedura 2,5 g apresentaram maiores valores de pH (Tabela 3), embora não tenham diferido do tratamento sem inclusão de aditivo ($P > 0,10$). O primeiro, possivelmente, pela diminuição das bactérias produtoras de lactato (*Streptococcus bovis* e *Lactobacillus* spp), que proliferam abundantemente sem a presença de monensina e o segundo pela estimulação das bactérias utilizadoras de ácido láctico, como a *Salenomonas ruminantium*, por exemplo. O tratamento Levedura 1 g apresentou as menores médias de pH, sugerindo que a dosagem tenha sido insuficiente. O tratamento sem aditivo teve comportamento intermediário, não se diferenciando de nenhum dos três tratamentos comparados, na média geral.

As dietas ofertadas favorecem a diminuição do pH devido à grande ingestão de amido, que é acompanhada por um aumento na produção dos AGV, principalmente lactato. Esse aumento, aparentemente, ocorre pelo resultado de maior produção de ácidos orgânicos que excede a taxa de utilização, absorção e/ou passagem. Entretanto, os valores do pH observados situaram-se próximos ao limite superior proposto como ideal por Owens & Goetsch (1988), que sugeriram que o pH do fluido ruminal varia entre 5,5 a 6,5 para dietas

ricas em concentrado, o que permite afirmar que não houve um significativo declínio do pH em nenhum dos níveis de amido estudados (Tabela 3).

Essa possível resistência à queda do pH apresentada pelos animais ocorreu, certamente, devido ao período de adaptação a que os animais foram submetidos anteriormente ao início do experimento. O objetivo envolvia a adaptação de microrganismos ruminais, aumentando o número de bactérias amilolíticas, em comparação às fibrolíticas (Goad et al., 1998). Além disso, a principal fonte de amido utilizada (milho) foi processada em peneira de 6 mm, ou seja, de forma grosseira, quando comparada ao processamento convencional do milho, o qual é moído mais finamente. O maior tamanho de partícula diminui a superfície específica e faz com que os grânulos de amido sejam menos acessíveis para a ação microbiana, dificultando a fermentação rápida e reduzindo o risco de transtornos ruminais.

Tabela 3 - Valores de pH ruminal referente ao uso ou não de aditivos, ao nível de amido e momento de coleta, em horas após a primeira alimentação

Tempo ¹	Níveis de Amido ²		Aditivo ²				CV (%)
	Baixo	Alto	Sem Aditivo	Monensina	Levedura 1 g	Levedura 2,5 g	
0*	6,57 ^b	6,71 ^a	6,60 ^{bc}	6,75 ^a	6,59 ^c	6,63 ^{ab}	1,9
2	6,56 ^a	6,65 ^a	6,55 ^a	6,66 ^a	6,59 ^a	6,63 ^a	2,4
4**	6,60 ^a	6,64 ^a	6,59 ^a	6,65 ^a	6,39 ^c	6,55 ^{ab}	1,5
6	6,48 ^a	6,51 ^a	6,49 ^{ab}	6,55 ^a	6,39 ^b	6,55 ^a	2,1
8	6,49 ^a	6,50 ^a	6,48 ^a	6,51 ^a	6,45 ^a	6,54 ^a	2,7
10*	6,43 ^a	6,46 ^a	6,51 ^a	6,43 ^a	6,39 ^a	6,46 ^a	3,0
12	6,24 ^a	6,25 ^a	6,26 ^a	6,26 ^a	6,16 ^a	6,30 ^a	4,0
14	6,29 ^a	6,26 ^a	6,25 ^{ab}	6,30 ^{ab}	6,16 ^b	6,40 ^a	3,8
16	6,32 ^a	6,41 ^a	6,35 ^a	6,38 ^a	6,43 ^a	6,30 ^a	4,1
18	6,43 ^a	6,50 ^a	6,36 ^a	6,50 ^a	6,41 ^a	6,59 ^a	4,4
20	6,41 ^b	6,66 ^a	6,59 ^{ab}	6,58 ^{ab}	6,31 ^b	6,65 ^a	2,8
22	6,49 ^b	6,66 ^a	6,68 ^a	6,60 ^{ab}	6,38 ^b	6,65 ^{ab}	2,7
Média	6,44 ^b	6,52 ^a	6,48 ^{ab}	6,51 ^a	6,40 ^b	6,53 ^a	1,8

^{1/} Corresponde às horas após o fornecimento da primeira refeição (7h00) em que as mensurações foram realizadas.

^{2/} Médias na linha, dentro de cada fator, seguidas por letras diferentes, são diferentes (P<0,10).

*/ Correspondem aos horários em que as coletas foram realizadas imediatamente antes do fornecimento da refeição (7h00 e 17h00).

**/ Corresponde à coleta realizada uma hora antes do fornecimento da segunda refeição do dia (12h00).

Analisando-se os fatores principais, observou-se que não houve diferença (P>0,10) para os valores de pH entre os níveis de amido durante a maior parte do dia. Porém, em alguns horários, correspondentes a 20 e 22 horas após a primeira refeição e o horário imediatamente antes da primeira refeição (0h), diferenças no pH foram observadas (P<0,10),

com reflexos sobre a média geral (Tabela 3). Menores valores de pH foram evidenciados para os animais que receberam a dieta com menor nível de amido (Tabela 3). Este resultado, embora aparentemente contraditório, pode ser atribuído a mais lenta taxa de degradação e maior extensão da digestão ruminal de alguns carboidratos (fibra) desta dieta, que prolongou, por mais tempo, a produção de ácidos orgânicos, enquanto que a dieta de mais alto amido pode ter proporcionado taxa de passagem mais rápida, reduzindo o tempo de exposição do amido aos microrganismos ruminais.

Esta hipótese de menor taxa de fermentação dos carboidratos da dieta de mais alto teor de amido pode ser sustentada pela concentração ruminal total dos ácidos graxos voláteis (Tabela 4), em que o menor nível de amido apresentou concentrações maiores ($P < 0,10$), contribuindo para que este tratamento apresentasse menores valores de pH ruminal.

Os valores de concentração molar média dos AGV para os níveis de amido mostraram-se diferentes devido aos maiores valores verificados no tempo zero (imediatamente antes do fornecimento da dieta) do menor nível de amido, em que o pH ruminal mostrou-se mais baixo, ou seja, comportamento complementar.

Segundo Britton & Stock (1987), a massa total de ácidos orgânicos ruminais, e não apenas de lactato, pode ser responsável por alguns casos de acidose. Isso leva à sugestão de que os AGV, de forma geral, podem contribuir para a queda do pH. Entretanto, a queda verificada no menor nível de amido foi insuficiente para alterar qualquer função ruminal.

A inclusão de monensina e levedura na dosagem de 1 g / 100 kg PC incrementaram as concentrações molares médias dos AGV no rúmen dos animais (Tabela 4). Isso ocorreu devido aos mecanismos de ação já explicados anteriormente, atribuídos a estes aditivos (fatores estimulatórios e às melhorias nos ambiente ruminal), que propiciam, diretamente e/ou indiretamente, o aumento da população de microrganismos ruminais, elevando também a taxa de fermentação dos carboidratos a AGV. Entretanto, o mecanismo de ação da levedura no maior nível testado mostrou-se menos atuante, devido às concentrações médias de AGV obtidas neste tratamento, terem sido menores ($P < 0,10$) que as obtidas com a inclusão da levedura 1 g e iguais ao tratamento em que não utilizou aditivo algum (Tabela 4).

Tabela 4 – Médias e coeficiente de variação para concentração total dos ácidos graxos voláteis (acetato, propionato e butirato), no líquido ruminal, referentes ao tipo de aditivo e níveis de amido empregados, em função dos tempos de coleta

Tempo ¹	Níveis de Amido ²		Aditivo ²				CV(%)
	Baixo	Alto	Sem Aditivo	Monensina	Levedura 1g	Levedura 2,5g	
Concentração Total de AGV (mmol/dL)							
0	19,32 ^a	15,80 ^b	16,75 ^a	19,67 ^a	17,97 ^a	15,85 ^a	27,6
2	15,97 ^a	17,02 ^a	15,21 ^a	15,90 ^a	18,89 ^a	15,98 ^a	26,4
4	18,85 ^a	16,66 ^a	18,03 ^{ab}	19,98 ^a	17,20 ^{ab}	15,81 ^b	22,1
6	20,33 ^a	18,41 ^a	19,30 ^a	18,79 ^a	20,54 ^a	18,84 ^a	19,3
8	16,57 ^a	15,33 ^a	14,62 ^a	16,49 ^a	16,35 ^a	16,33 ^a	14,6
Média	18,20 ^a	16,68 ^b	16,78 ^b	18,17 ^a	18,19 ^a	16,56 ^b	7,9

^{1/} Corresponde as horas após o fornecimento da primeira refeição (7h00) em que as mensurações foram realizadas.

^{2/} Médias na linha, dentro de cada fator, seguidas por letras diferentes, são diferentes (P<0,10).

As concentrações dos ácidos orgânicos ruminais foram influenciados (P<0,10) pelos tratamentos (Tabela 5). O mais alto nível de amido apresentou os menores valores (P<0,10) para as concentrações de ácido láctico, acético e propiônico quando comparado ao baixo nível de amido, considerando-se os valores médios de todos os tempos de coleta (Tabela 5). Tal fato poderia ser atribuído à maior participação do milho nesta dieta, o que, em função do seu menor processamento, fez com que grande parte dos carboidratos não-fibrosos com potencial para serem fermentados no rúmen (amido, por exemplo) escapasse para os próximos compartimentos do trato gastrointestinal (intestino delgado e grosso), reduzindo a produção de lactato e propionato no rúmen. Segundo Owens (2005), milho processado grosseiramente apresenta, freqüentemente, menos da metade da digestão total do amido ocorrendo no rúmen.

No rúmen estão presentes dois isômeros do ácido láctico, Levógiro (L) e Dextrógiro (D), produzidos pelos microrganismos ruminais na proporção 4:1, em pH maior que 6,0 (Antunes & Rodriguez, 2006). O L-lactato é rapidamente metabolizado pelas enzimas do ruminante, enquanto o D-lactato é metabolizado mais lentamente, portanto, considerado mais tóxico. Quanto menor for o valor do pH ruminal maior é a proporção de D-lactato no fluido ruminal, o que contribui para a disfunção fisiológica geral do animal em acidose (Dawson et al., 1997). O tratamento de mais baixo amido apresentou menores valores de pH quando comparado ao de mais alto amido, deste modo, a concentração do isômero D-lactato no rúmen dos animais submetidos a esta dieta pode ter sido maior, contribuindo ainda mais para que os valores das concentrações de lactato neste tratamento fossem maiores (Tabela 5).

As concentrações médias de ácido láctico não diferiram entre os tratamentos levedura 1,0 g, levedura 2,5 g e sem aditivo (Tabela 5). Diferenças foram encontradas, somente, para o tratamento da monensina, que apresentou menor concentração ($P < 0,10$) desse ácido em relação aos outros tratamentos. A monensina atua sobre as bactérias gram-positivas, incluindo as principais bactérias ruminais produtoras de lactato, fazendo com que o número destas diminua no ambiente ruminal, reduzindo o lactato livre. Mas, de forma geral, as concentrações, obtidas neste estudo, foram bem inferiores às encontradas por Peters et al. (1990), Sutton et al. (2003) e Ribeiro (2007), trabalhando com dietas ricas em concentrado.

A ausência de resposta da inclusão de levedura sobre as concentrações de lactato talvez seja explicado pelo fato de que este aditivo atue estimulando o crescimento de microrganismos lactato-consumidores tolerantes ao baixo pH, como a *Megasphaera elsdenii*. Entretanto, não foram registrados, neste estudo, valores baixos para o pH ruminal (Tabela 5).

Em condições em que os valores de pH encontram-se mais elevados, como neste estudo, o percentual de cada ácido orgânico (entre eles o lactato) na forma dissociada é maior, reduzindo a taxa de absorção destes e aumentando a utilização do lactato pelos microrganismos ruminais, convertendo-o a acetato e propionato (Owens, 1998).

A maior parte das bactérias ruminais lactato-consumidoras são sensíveis a baixo pH (Owens, 1998), o que leva a inferir que, em condições em que o pH não sofre queda para os limites críticos, o estímulo causado pelo fornecimento de leveduras vivas sobre crescimento destes microrganismos seria menos eficaz. Sendo assim, respostas sobre a redução das concentrações molares de lactato pela ação de leveduras devem ser mais significativas em condições de baixo pH.

A menor concentração de acetato média apresentada pelo tratamento de mais alto nível de amido em comparação ao de menor nível ocorreu devido às diferenças nos teores de FDN entre essas duas dietas (Tabela 2). Reduções na concentração molar e na taxa de produção do acetato ocorrem com o aumento da proporção de carboidratos não-estruturais na dieta, devido, possivelmente, à inibição do crescimento de microrganismos celulolíticos e protozoários (ambos produtores de acetato).

A concentração de ácido acético variou com o fornecimento dos aditivos durante os dois primeiros tempos (duas e quatro horas) decorridos após o fornecimento da primeira dieta (Tabela 5), o que influenciou o comportamento do valor médio dos horários.

O tratamento com Levedura 1 g apresentou as maiores concentrações de acetato duas horas após o fornecimento da ração e na média geral ($P < 0,10$), em relação ao não uso de aditivo. Deste modo, esperava-se que no tratamento Levedura 2,5 g tal comportamento

fosse mais pronunciado, no entanto, as concentrações ruminais de acetato não foram afetadas, sendo inferiores ao tratamento levedura 1,0 g/100kg PC, considerando a média geral dos horários de coleta.

O tratamento com inclusão de monensina apresentou maior concentração de ácido acético ($P < 0,10$) no tempo de quatro horas após a primeira refeição. O fato de este aditivo atuar sobre as bactérias gram-positivas, dentre as quais as produtoras de acetato se enquadram, faria com que houvesse uma redução na produção deste ácido. Porém, tal comportamento não causou mudanças significativas no valor médio de concentração deste AGV no rúmen, que foi maior somente no tratamento 1,0 g (Tabela 5).

As concentrações ruminais de propionato, considerando os valores médios, não diferiram ($P > 0,10$) entre todos os tratamentos, com e sem aditivo (Tabela 5). Possivelmente, pelo fato das dietas serem ricas em concentrado, favoreceram o incremento na produção deste ácido, independentemente do uso ou não de aditivos. Segundo Lana & Russell (1997), o incremento nas concentrações de propionato com o uso de monensina são mínimos em dietas de alta proporção de concentrado.

O efeito da monensina em aumentar a concentração molar de propionato é comumente observado na literatura, pois as bactérias produtoras de ácido propiônico no rúmen são resistentes à presença deste ionóforo. Russell & Strobel (1989) condicionaram esta resistência à presença de uma membrana externa nas bactérias gram-negativas, agindo como barreira protetora ao acesso dos ionóforos e outras macromoléculas à membrana celular. Entretanto, esses modelos de resistência podem ter exceções, pois, de acordo com Callaway & Russell (1999), algumas espécies de bactérias gram-negativas precisam de um período de adaptação para se desenvolverem na presença do ionóforo. Além disso, algumas espécies gram-positivas podem ser tão resistentes quanto às gram-negativas (Callaway & Russell, 2000).

Semelhantemente a este trabalho, muitos autores também não encontraram resultados significativos nas concentrações molares de propionato com o uso da monensina (Baile et al., 1979; Darden et al., 1985; e Fredrickson et al., 1993).

As concentrações médias de butirato apresentaram diferenças ($P < 0,10$) entre a monensina e a levedura 2,5 g, onde a monensina apresentou as maiores concentrações, entretanto o controle não diferiu de nenhuma outra. Embora a produção deste ácido seja pouco manipulável (Owens, 1998), a proporção molar dos outros ácidos graxos é uma das poucas variáveis que pode alterar as proporções do butirato. A síntese do butirato no rúmen pode ocorrer a partir do acetato e de outros compostos que resultem em aceti-CoA (Leng,

1970). Dessa forma, os resultados obtidos para as concentrações de butirato se suportam, pois os tratamentos que apresentaram as maiores concentrações de acetato, também apresentaram maiores de butirato. Por outro lado, as concentrações de butirato não foram influenciadas ($P>0,10$) pelos dois níveis de amido testados (Tabela 5).

De acordo com Bergman et al. (1990) e Valadares Filho & Pina (2006), o estudo da produção quantitativa dos ácidos graxos no rúmen é difícil, uma vez que a concentração de determinado metabólito no rúmen depende de vários fatores, dentre os quais a taxa de passagem do conteúdo ruminal para os segmentos distais do trato digestivo, taxa de produção e absorção pelo epitélio ruminal, diluição do material com a saliva, utilização de metabólitos pelos microrganismos e conversão para outros metabólitos.

Tabela 5 – Concentrações de ácido láctico, acético, propiônico e butírico, em mmol/dL, referente a cada aditivo e ao nível de amido, em função do momento da coleta

Tempo ¹	Nível de Amido ²		Aditivo ²				CV(%)
	Baixo	Alto	Sem Aditivo	Monensina	Levedura 1 g	Levedura 2,5 g	
Ácido Láctico (mmol/dL)							
0	3,69 ^a	3,22 ^b	3,65 ^a	3,17 ^b	3,29 ^{ab}	3,72 ^a	15,2
2	3,77 ^a	3,18 ^b	3,49 ^{ab}	3,17 ^b	3,55 ^a	3,69 ^a	11,2
4	3,69 ^a	3,12 ^b	3,41 ^a	3,02 ^b	3,67 ^a	3,52 ^a	10,4
6	3,70 ^a	3,06 ^b	3,43 ^a	3,24 ^a	3,55 ^a	3,30 ^a	18,7
8	3,50 ^a	3,27 ^a	3,62 ^a	3,15 ^a	3,26 ^a	3,53 ^a	17,2
Média	3,67 ^a	3,17 ^b	3,52 ^a	3,15 ^b	3,46 ^a	3,55 ^a	6,4
Ácido Acético (mmol/dL)							
0	11,04 ^a	9,56 ^a	9,66 ^a	11,24 ^a	10,74 ^a	9,56 ^a	38,6
2	9,43 ^a	9,91 ^a	8,91 ^b	9,61 ^{ab}	10,85 ^a	9,31 ^{ab}	22,3
4	10,24 ^a	9,41 ^b	9,90 ^b	11,14 ^a	9,22 ^b	9,04 ^b	10,4
6	11,58 ^a	10,14 ^a	10,48 ^a	10,70 ^a	11,97 ^a	10,29 ^a	22,0
8	9,17 ^a	8,57 ^a	8,01 ^a	9,20 ^a	9,29 ^a	9,98 ^a	15,4
Média	10,29 ^a	9,52 ^b	9,39 ^b	10,38 ^{ab}	10,42 ^a	9,43 ^b	9,7
Ácido Propiônico (mmol/dL)							
0	6,56 ^a	4,40 ^b	5,51 ^{ab}	6,31 ^a	5,34 ^{ab}	4,77 ^b	26,8
2	4,86 ^a	5,14 ^a	4,68 ^{ab}	4,33 ^b	5,95 ^a	5,06 ^{ab}	32,5
4	6,05 ^a	5,49 ^a	5,87 ^a	6,05 ^a	5,78 ^a	5,37 ^a	15,8
6	6,56 ^a	6,34 ^a	6,72 ^a	6,00 ^a	6,67 ^a	6,40 ^a	19,6
8	5,52 ^a	5,14 ^a	5,16 ^a	5,33 ^a	5,22 ^a	5,61 ^a	23,3
Média	5,91 ^a	5,30 ^b	5,59 ^a	5,60 ^a	5,79 ^a	5,44 ^a	9,9
Ácido Butírico (mmol/dL)							
0	1,73 ^a	1,89 ^a	1,69 ^{ab}	2,13 ^a	1,91 ^{ab}	1,52 ^b	35,4
2	1,68 ^a	2,08 ^a	1,84 ^a	1,97 ^a	2,09 ^a	1,61 ^a	53,0
4	2,57 ^a	1,93 ^b	2,62 ^{ab}	2,79 ^a	2,20 ^{ab}	1,40 ^b	48,5
6	2,19 ^a	1,92 ^a	2,09 ^a	2,09 ^a	1,90 ^a	2,15 ^a	27,4
8	1,88 ^a	1,69 ^b	1,62 ^a	1,96 ^a	1,83 ^a	1,74 ^a	23,5
Média	2,01 ^a	1,90 ^a	1,97 ^{ab}	2,19 ^a	1,98 ^{ab}	1,68 ^b	23,0

^{1/} Corresponde as horas após o fornecimento da primeira refeição (7h00) em que as mensurações foram realizadas.

^{2/} Médias na linha, dentro de cada fator, seguidas por letras diferentes, são diferentes (P<0,10).

Deste modo, o estudo isolado das concentrações ruminais de AGV e lactato é pouco consistente para se inferir sobre o padrão de fermentação ocorrido no rúmen e discriminar diferenças entre tratamentos. Complementarmente, o estudo das proporções entre os ácidos graxos voláteis pode ser uma ferramenta auxiliar no entendimento desses processos. As proporções dos ácidos graxos voláteis (Tabelas 6 e 7) não tiveram o mesmo comportamento das concentrações molares desses ácidos (Tabela 5).

Enquanto os tratamentos de mais alto nível de amido, sem aditivo e Levedura 2,5g apresentaram menores concentrações molares de ácido acético (Tabela 5), o estudo da proporção molar dos ácidos graxos voláteis mostrou-se comportamento diferente. As diferenças antes observadas para a concentração de acetato entre levedura 1,0 g e levedura 2,5 g e controle deixaram de existir, quando se avaliou a proporção deste ácido. Já em relação aos níveis de amido o resultado se inverteu, ou seja, o baixo amido apresentou maior concentração de acetato em relação ao alto amido, porém menor proporção. Isto ocorreu porque estes mesmos tratamentos em que se verificou menores concentrações de acetato também apresentaram menores concentrações totais de AGV (Tabela 4).

A proporção média encontrada dos ácidos acético, propiônico e butírico foi de 45,71:39,62:14,01. Segundo Bergman et al. (1990), a relação molar acetato, propionato e butirato varia de 75:15:10 a 40:40:20. Assim, a relação encontrada está próxima à faixa proposta por esses autores como adequada, para dietas com maior participação de concentrado.

A relação média de acetato:propionato encontrada foi de 1,38, valor esse que se deve à elevada concentração de propionato no fluido ruminal, resultado do tipo de dieta ofertada (rica em concentrado).

O nível de amido influenciou ($P < 0,10$) a relação acetato:propionato (Tabela 7). A menor participação de propionato no pool total de AGV (Tabela 6) observada no tratamento de maior nível de amido, mesmo que acompanhada de menor concentração de ácido acético (Tabela 5), foi acentuada o bastante para promover a redução na razão entre esses dois ácidos. Entretanto, para nenhum dos aditivos avaliados foi verificada diferença ($P > 0,10$) nesta relação (Tabela 7).

Tabela 6 – Médias e coeficientes de variação para as proporções de ácido acético, propiônico e butírico, no líquido ruminal, referentes aos níveis de amido e aos aditivos avaliados

Tempo ¹	Nível de Amido ²		Aditivo ²				CV(%)
	Baixo	Alto	Sem Aditivo	Monensina	Levedura 1 g	Levedura 2,5 g	
Ácido Acético (% AGV)							
0	47,32 ^a	50,82 ^a	50,63 ^{ab}	45,29 ^b	48,19 ^{ab}	52,17 ^a	12,3
2	49,34 ^a	51,41 ^a	51,79 ^a	48,56 ^a	50,10 ^a	51,06 ^a	12,6
4	37,16 ^b	43,60 ^a	38,59 ^b	36,04 ^c	41,79 ^{ab}	44,10 ^a	9,6
6	47,50 ^a	45,99 ^a	45,69 ^{ab}	46,98 ^{ab}	49,32 ^a	44,98 ^b	9,8
8	44,49 ^a	46,07 ^a	45,42 ^a	46,64 ^a	44,59 ^a	44,49 ^a	9,8
Média	45,16 ^b	47,58 ^a	46,63 ^a	44,70 ^a	46,80 ^a	43,36 ^a	6,9
Ácido Propiônico (% AGV)							
0	41,73 ^a	34,11 ^b	38,04 ^a	39,86 ^a	37,57 ^a	36,20 ^a	12,3
2	38,48 ^a	34,55 ^b	35,51 ^a	37,21 ^a	36,17 ^a	37,21 ^a	13,2
4	42,71 ^a	41,76 ^a	41,68 ^a	43,08 ^a	41,28 ^a	42,90 ^a	11,2
6	39,91 ^a	41,10 ^a	40,46 ^a	40,33 ^a	39,46 ^a	41,76 ^a	9,8
8	41,80 ^a	40,02 ^a	41,88 ^a	39,52 ^a	40,78 ^a	41,47 ^a	12,1
Média	40,93 ^a	38,31 ^b	39,51 ^a	40,00 ^a	39,05 ^a	39,91 ^a	6,5
Ácido Butírico (% AGV)							
0	10,95 ^b	15,07 ^a	11,32 ^a	14,84 ^a	14,24 ^a	11,64 ^a	30,6
2	12,17 ^a	14,03 ^a	12,71 ^a	14,24 ^a	13,73 ^a	11,73 ^a	29,3
4	20,13 ^a	14,65 ^b	18,73 ^{ab}	20,88 ^a	16,93 ^b	132,00 ^c	24,2
6	12,60 ^a	12,92 ^a	13,84 ^a	12,70 ^{ab}	11,23 ^b	13,26 ^{ab}	21,5
8	13,70 ^a	13,91 ^a	12,70 ^a	13,84 ^a	14,63 ^a	14,04 ^a	23,2
Média	13,91 ^a	14,12 ^a	13,86 ^{ab}	15,30 ^a	14,15 ^{ab}	12,73 ^b	13,5

^{1/} Corresponde as horas após o fornecimento da primeira refeição (7h00) em que as mensurações foram realizadas.

^{2/} Médias na linha, dentro de cada fator, seguidas por letras diferentes, são diferentes (P<0,10).

Tabela 7 – Médias e coeficientes de variação para a relação acetato:propionato, no líquido ruminal, referentes aos níveis de amido e aos aditivos avaliados

Tempo ¹	Nível de Amido ²		Aditivo ²				CV(%)
	Baixo	Alto	Sem Aditivo	Monensina	Levedura 1 g	Levedura 2,5 g	
	Relação Acetato/Propionato						
0	1,27 ^b	1,68 ^a	1,42 ^a	1,31 ^a	1,47 ^a	1,70 ^a	31,1
2	1,41 ^a	1,54 ^a	1,54 ^a	1,48 ^a	1,46 ^a	1,43 ^a	24,8
4	1,01 ^b	1,81 ^a	1,50 ^a	1,15 ^b	1,42 ^{ab}	1,57 ^a	21,9
6	1,27 ^a	1,19 ^a	1,18 ^a	1,25 ^a	1,32 ^a	1,17 ^a	17,7
8	1,24 ^a	1,35 ^a	1,31 ^a	1,36 ^a	1,34 ^a	1,18 ^a	25,9
Média	1,24 ^b	1,51 ^a	1,39 ^a	1,31 ^a	1,40 ^a	1,41 ^a	17,5

^{1/} Corresponde às horas após o fornecimento da primeira refeição (7h00) em que as mensurações foram realizadas.

^{2/} Médias na linha, dentro de cada fator, seguidas por letras diferentes, são diferentes (P<0,10).

Uma das vantagens do aumento da concentração de ácido propiônico no rúmen, como ocorreu para o tratamento de menor nível de amido, seria a redução de perdas por incremento calórico, uma vez que o ácido acético possui incremento calórico maior que o ácido propiônico (Bergen & Bates, 1984), resultando em mais energia para a produção ou menos energia requerida para manutenção (Tedeschi et al., 2003).

A hidrólise de proteínas por enzimas microbianas ruminais libera peptídeos, que são quebrados em aminoácidos e amônia e incorporados como proteína microbiana. Quando a fermentação de proteína no rúmen ultrapassa a capacidade de assimilação do nitrogênio pelos microrganismos, ocorre acúmulo de amônia e pequena retenção de nitrogênio pelo animal, sendo parte deste nitrogênio excretada pelos rins (AFRC, 1993).

Segundo Carvalho et al (1997), existe grande controvérsia em relação à concentração ótima de N-NH₃ ruminal requerida para o crescimento microbiano e que esse nível depende da quantidade de energia disponível na dieta. Slyter et al. (1979) e Schaefer et al. (1980), trabalhando *in vitro*, consideraram que a concentração de N-NH₃ requerida para o máximo crescimento e síntese de proteína microbiana por unidade de substrato fermentado seria de aproximadamente, 5 a 6 mg de N-NH₃/dL. Já Leng (1990) afirmou que a concentração de N-NH₃ para a síntese de proteína microbiana máxima variaria de 10 a 20 mg de N-NH₃/dL de fluido ruminal. Enquanto Mehrez et al. (1977), a concentração de amônia ruminal ótima para a fermentação, *in vivo*, seria de 23,5 mg/dL. Os valores observados no presente trabalho (Tabela 8) são superiores aos preditos por Slyter et al. (1979) e Schaefer et al. (1980), porém dentro do intervalo descrito por Leng (1990). Observando-se as concentrações médias de N-NH₃ no rúmen (Tabela 8), verificou que duas horas após o fornecimento da primeira refeição

as concentrações amoniacais, em todos os tratamentos, ultrapassaram os valores recomendados por Leng (1990), porém mantiveram-se próximos ao sugerido por Mehrez et al (1977).

Caso tenha ocorrido perda de nitrogênio, seria maior no nível mais alto de amido, onde a concentração de amônia ruminal foi maior (Tabela 7). O número de microrganismos celulolíticos existentes no fluido ruminal dos animais submetidos a esta dieta, possivelmente, foi menor e como são aqueles que mais utilizam amônia como fonte de nitrogênio para o crescimento e digestão ruminal da parede celular, explicaria o comportamento observado para a concentração de amônia ruminal. Além disso, já foi discutido a possibilidade do escape ruminal de carboidratos fermentáveis ser maior neste tratamento, o que resultaria em menor disponibilidade de energia, reduzindo a assimilação de nitrogênio pelos microrganismos.

A concentração de amônia ruminal é dependente do pH do rúmen, pois quanto mais baixo o pH, menor o nível de amônia (Erflle et al., 1982), já que ocorre inibição de bactérias proteolíticas, cujo produto final é a amônia. Deste modo, o controle da concentração de amônia pelas leveduras seria indireto através da elevação do pH, embora isto não tenha ocorrido, pois não houve queda nos valores de pH para níveis considerados críticos.

A monensina poderia reduzir as concentrações de N-NH₃ no fluido ruminal, diminuindo a degradação de peptídeos e aminoácidos através de um grupo de bactérias denominadas bactérias hiper-produtoras de amônia. Isso resultaria em menor produção de amônia e maior escape de peptídeos do rúmen. No entanto, os resultados obtidos mostraram que isso não ocorreu (Tabela 8).

Resultados semelhantes ao encontrado neste estudo, em que a monensina não afetou as concentrações amoniacais ruminais, foram encontrados por Ramazin et al. (1997), em vacas em lactação alimentadas com dietas com 30 ou 50% de concentrados, Garcia-Lopez et al. (1996), utilizando meio de cultura contendo dietas com 0, 50 ou 90% de concentrados, e Lana & Russell (1997), utilizando dietas com 0, 50 ou 100% de alfafa, que verificaram efeitos da monensina apenas nos animais alimentados com a dieta com 100% de alfafa, nos quais houve aumento do nitrogênio amoniacal.

Como já discutido anteriormente, algumas espécies gram-positivas podem ser tão resistentes quanto às gram-negativas ao tratamento com monensina. Um exemplo é a espécie *Clostridium aminophilum*, uma bactéria gram-positiva produtora de amônia e que contribui na degradação de aminoácidos no rúmen, que, em estudos *in vitro*, foi inibida pela

monensina (Chen & Russell, 1989), enquanto em estudos *in vivo*, não pôde ser eliminada do rúmen quando utilizado o mesmo produto (Krause & Russell, 1996).

Tabela 8 – Concentração de N-NH₃, em mg/dL, referente a cada tratamento, ao nível de amido e o momento de coleta, em horas após a primeira alimentação

Tempo ¹	Nível de Amido ²		Aditivo ²				CV(%)
	Baixo	Alto	Controle	Monensina	Levedura 1 g	Levedura 2,5 g	
0*	16,29 ^a	19,23 ^a	17,19 ^a	18,98 ^a	16,67 ^a	18,20 ^a	29,4
2	21,14 ^b	27,59 ^a	25,14 ^{ab}	20,41 ^b	27,85 ^a	24,08 ^{ab}	28,3
4**	17,70 ^a	12,39 ^a	15,56 ^a	13,32 ^a	16,60 ^a	14,71 ^a	58,3
6	12,42 ^b	19,14 ^a	13,81 ^a	17,20 ^a	16,05 ^a	16,05 ^a	34,7
8	11,15 ^b	14,64 ^a	11,78 ^a	12,97 ^a	13,69 ^a	13,14 ^a	36,9
10*	16,72 ^a	19,32 ^a	18,21 ^a	19,10 ^a	16,07 ^a	18,69 ^a	29,8
12	12,13 ^b	17,41 ^a	11,43 ^b	18,50 ^a	16,61 ^a	12,53 ^b	29,1
14	12,71 ^b	17,14 ^a	12,66 ^b	16,78 ^a	16,37 ^{ab}	13,90 ^{ab}	31,0
16	13,56 ^b	19,62 ^a	15,40 ^a	18,24 ^a	16,52 ^a	16,21 ^a	32,0
18	15,69 ^a	17,91 ^a	18,20 ^a	15,05 ^a	17,06 ^a	16,89 ^a	26,1
20	14,88 ^a	15,90 ^a	14,89 ^a	13,92 ^a	17,26 ^a	15,50 ^a	34,6
22	14,52 ^a	16,69 ^a	16,24 ^a	15,26 ^a	13,81 ^a	17,10 ^a	24,9
Média	14,91 ^b	18,08 ^a	15,88 ^a	16,64 ^a	17,05 ^a	16,42 ^a	15,5

^{1/} Corresponde as horas após o fornecimento da primeira refeição (7h00) em que as mensurações foram realizadas.

^{2/} Médias na linha, dentro de cada fator, seguidas por letras diferentes, são diferentes (P<0,10).

*/ Corresponde aos horários cujas coletas foram realizadas imediatamente antes do fornecimento da refeição (7h00 e 17h00).

**/ Corresponde à coleta realizada uma hora antes do fornecimento da segunda refeição do dia (12h00).

Conclusões

O emprego de monensina e de culturas de levedura até o nível testado não promove melhorias nos valores pH ruminal e nem redução nas concentrações de amônia no rúmen.

A concentração de lactato no rúmen diminui e as concentrações totais de AGV aumentam com a inclusão de monensina na dieta.

Literatura Citada

- AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL - AFRC. **Energy and protein requirements of ruminants**. An advisory manual prepared by the AFRC. Technical Committee on Responses to Nutrients. CAB International, 1993. p.159.
- ANTUNES, R.C.; RODRIGUEZ, N.M. Metabolismo de carboidratos não estruturais. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V; OLIVEIRA, S.V. (Eds.). **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, p.229-253, 2006.
- BAILE, C.A.; McLAUGHLIN, C.L.; POTTER, E.L. et al. Feeding behavior changes of cattle during introduction of monensina with roughage or concentrate diets. **Journal of Animal Science**, v.48, n.6, p.1501-1508, 1979.
- BEAUCHEMIN, K. A.; KREHBIEL, C.R.; NEWBOLD, C.J. Feed enzymes and direct-fed microbials in ruminant nutrition. Mosenthin, R., Zentek, J., Zebrowska, T. (Eds.). **Biology of Nutrition in Growing Animals**. Elsevier Limited, Philadelphia, PA.2006. p. 819-826.
- BERGEN, W.G.; BATES, D.B. Ionophores: their effect on production efficiency and mode of action. **Journal of Animal Science**, v.58, n.6, p.1465-1483, 1984.
- BERGMAN, E.N. Energy contributions of volatile fatty acid from the gastrointestinal tract in various species. **Physiology Review**, v.10, n.2, p.567-589, 1990.
- BRITTON, R.A.; and STOCK R.A. Acidosis, rate of starch digestion and intake. Owens, F.N. (Ed.). In: Symposium on Feed Intake by Beef Cattle. **Proceedings...** Oklahoma State University, Stillwater. 1987. p. 121-125.
- CALLAWAY, E.S. and MARTIN S.A. Effects of a *Sacharomyces cerevisiae* culture on ruminal bacteria that utilize acetate and digest cellulose. **Journal of Dairy Science**. v.80, n.9, p.2004-2035, 1997.
- CALLAWAY, T.R.; RUSSELL, J.B. Selection of a highly monensinresistant *Prevotella bryantii* sub-population with altered outer membrane characteristics. **Applied and Environmental Microbiology**, v.65, n.11, p.4753-4759, 1999.
- CALLAWAY, T.R.; RUSSELL, J.B. Variations in the ability of ruminal Gram negative *Prevotella* species to resist monensin. **Current Microbiology**, v.40, n.3, p.185-190, 2000.
- CARVALHO, A.U.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, J.F.C.; QUEIROZ, A.C.; Cecon, P.R. e MINIZ, E.B. Níveis de concentrado em dietas de zebuínos. 1. Consumo e digestibilidade aparente. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.5, p.986-995, 1997.
- CHANEY, A.L.; MARBACH, E.P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, v.8, n.4, p.130-132, 1962.

- CHEN, G.; RUSSELL, J.B. Sodium-dependent transport of branched-chain amino acids by a monensin-sensitive ruminal *Peptostreptococcus*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.55, n.10, p.2658-2663, 1989.
- DARDEN, D.E.; MERCHEN, N.R.; BERGER, L.L. et al. Effects of avoparcin, lasalocid and monensin on sites of nutrient digestion in beef steers. **Nutrition Reports International**, v.31, n.4, p.979-989, 1985.
- DAWSON, K. A.; and GIRARD, I. D. Biochemical and physiological basis for the stimulatory effects of yeast reiterations on ruminal bacteria. In: Lyons, T. P.; Jacques, K. A. (Eds.), **Biotechnology in the Feed Industry**. Nottingham University Press, Nottingham, UK, p.293. 1997.
- ERFLE, J.D.; BOILA, R.J.; TEATHER, R.M.; MAHADEVAN, S. and SAUER F. D. Effect of pH on fermentation characteristics and protein degradation by rumen microorganisms in vitro. **Journal of Dairy Science**, v.65, n.8, p.1457-1464, 1982.
- FREDRICKSON, E.L.; GALYEAN, M.L.; BRANINE, M.E. et al. Influence of ruminally dispensed monensin and forage maturity on intake and digestion. **Journal of Range Management**, v.46, n.3, p.214-220, 1993.
- GARCIA-LOPEZ, P.M.; KUNG, L.; ODOM, J.M. *In vitro* inhibition of microbial methane production by 9,10-Anthraquinone. **Journal of Animal Science**, v.74, n.9, p. 2276-2284, 1996.
- GOAD, D.W.; GOAD, C.L.; NAGARAJA, T.G. Ruminal microbial and fermentative changes associated with experimentally induced substrate acidosis in steers. **Journal of Animal Science**, v.76, n.7, p.1842-1850 1998.
- KRAUSE, D.O.; RUSSELL, J.B. An rRNA approach for assessing the role of obligate amino acid-fermenting bacteria in ruminal amino acid degradation. **Applied and Environmental Microbiology**, v.62, n.3, p.815-821, 1996.
- KREHBIEL, C.R.; RUST, S.R.; ZHANG, G.; GILLILAND, S.E. Bacterial direct fed microbials in ruminant diets: Performance response and mode of action. **Journal of Animal Science**, v.81, E. Suppl. 2, p.E120-E132, 2003.
- LANA, R.P.; RUSSELL, J.B. Effect of forage quality and monensin on the ruminal fermentation of fistulated cows fed continuously at a constant intake. **Journal of Animal Science**, v. 75, n.1, p. 224-229, 1997.
- LANNA, D.D.P.; and MEDEIROS, S.R. uso de aditivos na bovinocultura de corte. In: SIMPÓSIO SOBRE BOVINOCULTURA DE CORTE, 6., Piracicaba, 2007. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2007, P.297-324.
- LEÃO, M.I.; COELHO DA SILVA, J.F. Técnicas de fistulação de abomaso em bezerros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, 1. REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 17., 1980, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: SBZ, 1980, p.37.

- LENG, R.A. Fermentation and production of volatile fatty acids in the rumen. In: PHILLIPSON, A.T. (Ed.). **Physiology of the digestion and metabolism in the ruminant**. Cambridge. Proceedings of the Third International Symposium. Cambridge: Oriel, 1970. p.406-421.
- LENG, R.A. Factors affecting the utilization of “poor-quality” forages by ruminants particularly under tropical conditions. **Nutritional Research and Review**, v.3, n.1, p.277, 1990.
- LYNCH, H.A.; and MARTIN, S.A. Effects of *Saccharomyces* culture and *Saccharomyces* live cells on *in vitro* mixed ruminal microorganism fermentation. **Journal of Dairy Science**, v.85, n.10, p.2603-2603, 2002.
- MARTIN, S.A.; and NISBET, D.J. Effect of direct-fed microbial on rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, v. 5, n.6, p.1736-1744, 1992.
- MEHREZ, A.Z; ØRSKOV, E.R.; and McDONALD, I. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. **British Journal of Nutrition**, v.38, n.11, p.437-443, 1977.
- OBA, M.; ALLEN, M.S. Effects of corn grain conservation method on feeding behavior and productivity of lactating dairy cows at two dietary starch concentrations. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n.1, p.174-183, 2003.
- OLIVEIRA. M.V.M. **Utilização do ionóforo monensina sódica na alimentação de ruminantes**. Viçosa – MG: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 110p. Tese (Doutorado em Zootecnia) -, Viçosa. 2003.
- ORSINE, G.F. Aditivos alternativos para ruminantes: probióticos e enzimas. In: SIMPÓSIO GOIANO DE MANEJO E NUTRIÇÃO DE BOVINOS DE CORTE E DE LEITE, 5.; 2005, Goiânia, **Anais...** Goiânia: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2003. CD-ROM.
- OWENS, F.N.; GOETSCH, A.L. Ruminal fermentation. In: CHURCH, D.C. (Ed.). **The ruminant animal: digestive physiology and nutrition**. Englewood Cliffs: Simon & Schuster, 1988. p.145-171.
- OWENS, F.N. Corn Grain processing and digestion. In: MINNESOTA NUTRITION CONFERENCE, 2005, St. Paul, MN. **Proceedings...** St. Paul, p.113-133.
- OWENS, F.N.; SECRIST, D. S.; HILL, W.J. and GILL, D.R. Acidosis in cattle: a review. **Journal of Animal Science**, v.76, n.1, p.275-286, 1998.
- PETERS, J.P.; PULISSEN, J.B.; ROBINSON, J.A. The effects of diet on water flux and volatile fatty acid concentrations in the rumen of growing beef steers fed once daily. **Journal of Animal Science**, v.68, n.6, p.1711-1718, 1990.
- RAMAZIN, M.; BAILONI, L.; SCHIAVON, S. et al. Effect of monensin on milk production and efficiency of dairy cows fed two diets differing in forage to concentrate ratios. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.8, p.1136-1142, 1997.
- RIBEIRO, M.D. **Desempenho e digestão em bezerros, com adição de acidificante ou ácido propiônico na ração**. Viçosa, MG, 2007. 87p. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Viçosa, 2007.

- RUSSELL, J.B.; STROBEL, H.J. Minireview: the effect of ionophores on ruminal fermentation. **Applied and Environmental Microbiology**, v.55, n.1, p.1-6, 1989.
- SCHAEFER, D.M.; DAVIS, C.L.; BRYANT, M.P. Ammonia saturation contents for predominant species of rumen bacteria. **Journal of Dairy Science**, v.63, n.8, p.1263-1280, 1980.
- SLYTER, L.L.; SATTER, L.D.; DINIUS, D.A. Effect of ruminal ammonia concentration on nitrogen utilization by steers. **Journal of Animal Science**, v.48, n. 5, p.906-912, 1979.
- SUTTON, J.B.; DHANOA, M.S.; MORANT, S.V.; FRANCE, J.; NAPPER, D. J.; and SCHULLER, E. Rates of production of acetate, propionate, and butyrate in the rumen of lactating dairy cows give normal and low-roughage diets. **Journal of Dairy Science**, v.86, n.11, p.3620-3633, 2003.
- TEDESCHI, L.O.; FOX, D.G.; TYLUTKI, T.P. Potential environmental benefits of ionophores in ruminants diets. **Journal of Environmental Quality**, v.32, n.5, p.1591-1602, 2003.
- TEATHER, R.M; and FORSTER, R.J. Manipulating the rumen microflora with bacteriocins to improve ruminant production. **Canadian Journal of Animal Science**, v.78 (suppl.), p.57-69, 1998.
- VALADARES FILHO, S.C. and PINA, D.S. Fermentação ruminal. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V; OLIVEIRA, S.V. (Eds.). **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006. p.151-182.
- WALLACE, R. J.; and C. J. NEWBOLD. Probiotics for ruminants. In: Fuller, R. (Ed.), **Probiotics: The Scientific Basis**, Chapman and Hall, London, p317-353, 1992.
- WILLIAMS, P.E.V.; TAIT, C.A.G.; INNES, G.M.; NEWBOLD, C.J. Effects of the inclusion of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae* plus growth medium) in the diet of dairy cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen of sheep and steers. **Journal of Animal Science**, v.69, n.7, p.3016-3026, 1991.

Consumo, Digestibilidade, Produção de Proteína Microbiana e Balanço de Compostos Nitrogenados em Novilhos de Corte Suplementados com Levedura

RESUMO – Objetivou-se avaliar a digestibilidade aparente total, produção de proteína microbiana, excreção de uréia e balanço de compostos nitrogenados em novilhos de corte em fase de terminação, suplementados com leveduras vivas ou monensina, alimentados com dietas de alta proporção de concentrado. Foram utilizados oito novilhos de corte cruzados (*Bos taurus x Bos indicus*), com peso corporal médio (PC) de $499 \pm 50,49$ kg e fistulados no rúmen, que foram divididos em dois grupos de quatro, em que cada grupo recebeu um tipo de concentrado (baixo ou alto teor de amido). A alimentação basal foi composta de duas rações, sendo constituídas por 20% de silagem de milho e 80% de concentrado, formulado à base de milho moído em peneira de 6mm, farelo de soja, caroço de algodão, casca de soja e mistura mineral. O experimento foi avaliado segundo delineamento em quadrado latino, com agrupamento de dois quadrados simultâneos, em esquema fatorial 4 x 2. Dentro de cada quadrado, foram implementados quatro tratamentos relativos ao esquema de suplementação (sem aditivo, monensina, levedura – 1,0 g/100 kg PC/dia, levedura – 2,5 g/100 kg PC/dia). As dietas com diferentes níveis de amido (23 e 38%) foram aplicadas independentemente em cada um dos quadrados latinos. Verificou-se que os consumos de carboidratos não fibrosos, amido e matéria seca, expressos em função do peso corporal e do peso metabólico, foram menores ($P < 0,10$) para o tratamento com inclusão de levedura na dosagem de 1,0 g/100kg. Somente o coeficiente de digestibilidade da FDN foi influenciado ($P < 0,10$) pelo nível de amido testado, em que o menor nível de amido apresentou o maior valor para esta variável. Todos os aditivos avaliados promoveram melhoria ($P < 0,10$) no coeficiente de digestibilidade do extrato etéreo, sendo que a Levedura 2,5g proporcionou resultados superiores aos demais aditivos. As variáveis relacionadas à excreção de compostos nitrogenados urinários, dos derivados de purina, purinas absorvidas como derivados de purina, síntese de nitrogênio microbiano, eficiência de síntese de proteína microbiana e balanço de compostos nitrogenados não foram influenciadas ($P > 0,10$) por nenhum dos tratamentos avaliados.

Palavras-chave: aditivos, derivados de purina, excreções nitrogenadas urinárias, crescimento microbiano,

Yeast Culture in Diets for Beef Steers: Feed Intake and Nutrient Digestibility, Production of Microbial Protein and Nitrogen Compounds Balance

ABSTRACT - The present work was conducted to evaluate the effects of yeast culture supplementation in comparison to those of sodium monensin and those without the use of additives on feed intake and nutrient digestibility, production of microbial protein, nitrogen excretion in urine balance in beef steers fed by high-concentrated diets with two levels of starch (23 and 38%). Eight steers (*Bos taurus* x *Bos indicus*) with 499 kg body weight (BW), cannulated in the rumen, were used. The animals were sorted out in two groups of four and each group received one kind of concentrate. The diet was composed of two rations including 80% of concentrated. The roughage used was corn silage and the concentrate composed of ground corn, soybean meal, cottonseed, soybean shell and mineral mixture. The experiment was evaluated following the two-by-two Latin Square design. Within each square, four treatments were implemented according to the supplementation plan (control, monensin, yeast – 1.0 g/100kg BW/day, yeast – 2.5 g/100kg BW/day). The diets with different levels of starch were independently applied in each Latin squares. The feed intake of non-fibrous carbohydrates, starch and dry matter were observed in relation to body weight and metabolic weight when the yeast level used was 1.0g/100 kg. A higher NDF digestibility coefficient was observed in the treatment with the lowest level of starch. All the additives used in this study improved ($P<0.10$) the digestibility of ether extract. The treatment with 2.5g of yeast showed better results compared to the others additives used in this study. The urinary excretion of the nitrogen compounds, purine derivatives, purine absorbed as purine derivatives, synthesis of microbial nitrogen, efficiency of microbial protein synthesis and balance of nitrogen compounds were not influenced by any of the treatments in this study.

Keywords: additive, microbial growth, purine bases, urinary nitrogen excretion

Introdução

A alimentação corresponde a 85% do custo da arroba de carne produzida em confinamento (Leme et al., 2003).

Sendo assim, em sistemas mais intensivos de produção, em que o custo das dietas é ainda mais alto, qualquer esforço, por menor que seja para minimizar ou eliminar alguns processos ineficientes do rúmen, pode trazer um grande benefício, principalmente quando se tem maior escala de produção.

Nesse sentido, o uso de aditivos tem aumentado no intuito de buscar alternativas que possam melhorar e acelerar a eficiência de utilização dos nutrientes da dieta, aumentando a conversão alimentar através do incremento na disponibilidade de nutrientes digestíveis e metabolizáveis por unidade de matéria seca ingerida, o que permite maior eficiência econômica por quilo do alimento consumido.

Alterações no equilíbrio microbiano, que provoquem mudanças favoráveis na fermentação ruminal são reportadas por diversos autores, quando se faz a inclusão de aditivos como monensina sódica e leveduras vivas (*Saccharomyces cerevisiae*) em dietas de ruminantes (Russell & Wallace, 1997; McGuffey et al., 2001; e Beauchemin et al., 2006). Tais modificações poderiam melhorar as condições do ambiente ruminal, estimulando o crescimento dos microrganismos. A utilização de amônia e a síntese e o fluxo de proteína microbiana para o duodeno também podem aumentar como consequência da maior atividade das bactérias do rúmen.

A perda de compostos nitrogenados na urina pode ser uma ferramenta útil para se diagnosticar alguma ineficiência no processo de digestão e metabolismo de proteínas (o nutriente de maior custo em rações). O aumento dessas perdas pode ser decorrente de menor assimilação ou excessiva proteólise ruminal, ou pela composição aminoacídica dos concentrados protéicos que nem sempre são compatíveis com as exigências dos animais. Sendo assim, minimizar essas perdas pode ser entendido como uma tentativa de se aumentar a eficiência de qualquer sistema de produção de carne.

Enzimas produzidas pelas bactérias do rúmen, hidrolisam a uréia e degradam proteínas dietéticas em amônia (Huntington & Archibeque, 1999). Assim, quando a produção de amônia excede a capacidade de assimilação pelos microorganismos, mesmo que por um curto intervalo de tempo, ocorre acúmulo, e posterior remoção do ambiente ruminal (Nolan, 1993). Essa amônia é transportada para o fígado e convertida em uréia. Assim, a uréia é

liberada no sangue e excretada na urina ou é reciclada para o rúmen, via saliva ou difusão pelo epitélio ruminal (Coelho da Silva & Leão, 1979; Huntington & Archibeque, 1999).

A administração de monensina sódica nas dietas atua sobre as bactérias ruminais que degradam proteína, resultando em menor produção de amônia e maior escape de peptídeos do rúmen que seriam absorvidos como aminoácidos (Newbold et al., 1990), reduzindo as concentrações e, conseqüentemente, perdas de nitrogênio através da urina.

Tem sido objetivo da nutrição de ruminantes maximizar o fluxo de proteína microbiana para o intestino delgado, aumentando assim a eficiência produtiva. Para tanto, é necessário quantificar a contribuição da síntese ruminal microbiana para um melhor entendimento do processo e conservação dos nutrientes dietéticos em proteína microbiana e dos fatores que a afetam.

As leveduras têm a capacidade de estimular o crescimento e a atividade microbiana ruminal, aumentando a utilização da amônia livre, elevando a síntese microbiana e reduzindo as perdas nitrogenadas na urina (Mutsvangwa et al., 1992). Esta capacidade de estimular o crescimento das bactérias ruminais se dá, pela melhoria do ambiente ruminal através do consumo de oxigênio dentro do rúmen (Rose, 1987).

Deste modo, faz sentido que haja também maior atividade fermentativa dentro do rúmen, o que refletiria em maior taxa de degradação dos nutrientes da dieta, aumentando os coeficientes de digestibilidade da matéria seca, carboidratos, lipídeos e proteínas.

O tipo de dieta ofertado aos animais pode interferir na digestibilidade dos nutrientes. Dietas ricas em amido apresentam elevadas taxas de degradação ruminal, aumentando o risco de redução do pH ruminal a valores críticos para o animal, prejudicando a fermentação ruminal, logo, a digestibilidade dos nutrientes, a síntese de proteína microbiana e o consumo de matéria seca (Blasi et al, 2000; Santos et al., 2004; Pereira, 2005; Farran et al., 2006).

Apesar de muito se falar dos benefícios da utilização de leveduras em dietas de bovinos de corte, os resultados obtidos e disponíveis na literatura são inconsistentes, além da escassez de estudos, no Brasil, com o uso dessas culturas.

Diante do exposto, o presente trabalho foi desenvolvido objetivando avaliar o efeito da inclusão da monensina sódica e leveduras vivas, em dietas com alta proporção de concentrado, com baixo e alto teor de amido, sobre o consumo e digestibilidade aparente total, produção de proteína microbiana, excreção de uréia e balanço de compostos nitrogenados em novilhos de corte.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Animais e no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa-MG, sendo a fase de campo realizada entre outubro e dezembro de 2007.

Foram utilizados oito novilhos de corte mestiços (*Bos taurus* x *Bos indicus*) com peso corporal (PC) médio de 499 ±50,49 kg e idade média de 24 meses, fistulados no rúmen, segundo técnica descrita por Leão & Coelho da Silva (1980), mantidos em confinamento do tipo *tie stall* em baias individuais cobertas, dotadas de comedouro, com 3x3 m de área, piso de cimento revestido de borracha e acesso irrestrito à água através de bebedouros automáticos.

Inicialmente, todos os animais foram pesados, identificados, vermifugados contra ecto e endoparasitas e submetidos a um período de adaptação à dieta com alta proporção de concentrado, tentado pelo uso de dietas seqüenciais, nas quais as quantidades de forragem foram paulatinamente diminuídas (de 50 para 20 % da matéria seca total), enquanto aumentou-se o fornecimento de concentrados por um período de quatro semanas antes do início dos períodos experimentais.

Os tratamentos experimentais consistiram da inclusão ou não de aditivos [monensina sódica (Rumensin[®] 100 Premix), na quantidade de 25 mg/kg de MS ofertada; e levedura (Beef-sacc[®], *Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026), nas quantidades de 1,0 e 2,5 g/100 kg PC (Levedura 1 g e Levedura 2,5 g, respectivamente)] combinados com duas dietas de alto concentrado contendo níveis de amido diferentes (23 e 38%, respectivamente).

Os animais foram divididos em dois grupos de quatro, em que cada grupo recebeu um tipo de concentrado, com níveis de amido diferentes para se avaliar o efeito dos aditivos sobre duas condições de fermentação.

A alimentação basal foi composta de duas rações contendo 80% de concentrado. O volumoso foi constituído de silagem de milho e os concentrados à base de milho moído grosso (peneira de 6 mm), farelo de soja, caroço de algodão, casca de soja e mistura mineral, conforme a Tabela 1. A composição química das dietas é apresentada na Tabela 2.

Foram realizados quatro períodos experimentais com 17 dias cada, sendo 14 destinados à adaptação dos animais à dieta e os outros três às coletas.

A dieta foi fornecida à vontade, três vezes ao dia, às 7h00, 12h00 e às 17h00, na forma de ração completa, e ajustada de forma a se manter as sobras em torno de 5 a 10% do fornecido. A levedura e a monensina foram pesadas diariamente e misturadas ao núcleo mineral, que era incorporado ao concentrado.

Para quantificação do consumo e dos coeficientes de digestibilidade foram realizadas coletas totais de fezes durante três dias (do décimo quinto ao décimo sétimo dia de cada período experimental). A quantidade de ração oferecida foi registrada, sendo as sobras recolhidas e pesadas diariamente durante todo o período de coleta de fezes. Ao final de cada dia de coleta, as fezes foram pesadas e homogeneizadas e uma amostra foi retirada, pesada, e seca (60°C), sendo então elaborada uma amostra composta por animal em cada período, com base no peso seco de cada amostra diária.

Tabela 1 – Proporção dos ingredientes nas dietas experimentais, em percentual na base da matéria seca

Ingredientes	Dietas Experimentais	
	Baixo Amido	Alto Amido
Silagem de Milho	20,25	20,36
Milho	29,06	55,18
Farelo de Soja	4,89	7,37
Caroço de Algodão	13,06	13,14
Casca de Soja	28,16	-
Uréia	0,45	0,71
Premix Mineral ¹	3,22	3,24
Total	100,00	100,00

^{1/} Composição (%): fosfato bicálcico, 41,66; sal comum, 56,79; sulfato de cobre, 0,20; sulfato de zinco, 1,19; iodato de potássio, 0,03; sulfato de cobalto, 0,05; e selenito de sódio, 0,08.

Durante o mesmo período (do 15 ao 17º dia do período experimental) foram coletadas amostras individuais dos ingredientes dos concentrados, da silagem de milho fornecida e das sobras de cada animal e em cada período. Todas essas amostras foram devidamente armazenadas a -15°C, sendo posteriormente pré-secas em estufa de ventilação forçada (60°C/ 72 horas) e moídas em moinho de facas com peneira de malha de 1 mm e submetidas às análises laboratoriais, em conjunto com as amostras fecais.

Quatro horas após o primeiro fornecimento da ração, no décimo sexto dia de cada período experimental, foi coletada uma amostra de sangue de todos os animais, via punção da veia jugular, utilizando-se tubo de ensaio contendo gel separador e acelerador de coagulação. As amostras foram imediatamente centrifugadas a 2700 x g por 20 minutos,

obtendo-se o soro sangüíneo, que foi armazenado a -15°C, para posteriormente ser analisado quanto à sua concentração de nitrogênio uréico.

As amostras de urina, em cada período experimental, foram obtidas a partir de coleta total, com duração de 24 horas (Valadares et al., 1997), realizada no décimo sétimo dia de cada período experimental, utilizando-se funis coletores adaptados aos animais. Mangueiras de borracha, acopladas aos funis, conduziram a urina até recipientes plásticos contendo 250 mL de solução de ácido sulfúrico (H₂SO₄) a 20%, para evitar a perda de nitrogênio. Após a coleta foi determinado o volume total excretado, feita a homogeneização da urina e, em seguida, retirada uma amostra de 10 mL que foi filtrada por uma camada tripla de gaze e diluída com 40 mL de ácido sulfúrico 0,036N, para evitar destruição bacteriana dos derivados de purina urinários e precipitação do ácido úrico. Uma outra amostra de urina foi coletada sem diluição para determinação da uréia e N total. Ambas as amostras foram armazenadas a -15°C para posteriores análises laboratoriais.

Tabela 2 – Teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína (FDNcp), carboidratos não-fibrosos corrigidos (CNFcp), carboidratos totais (CHOT), amido e minerais, das dietas experimentais e dos ingredientes, com base na matéria seca

Nutrientes	Dietas Experimentais	
	Baixo Amido (23 %)	Alto Amido (38 %)
MS (%)	76,81	76,30
MO	93,34	94,08
PB	14,16	14,85
EE	4,27	4,27
FDNcp	36,55	21,40
CNFcp	36,41	54,39
AMIDO	23,26	38,18
MINERAIS	6,66	5,92

Nutrientes	Ingredientes				
	Silagem de Milho	Milho	Farelo de Soja	Caroço de Algodão	Casca de Soja
MS (%)	30,24	87,26	86,44	88,84	88,92
MO	94,80	98,84	93,22	96,33	95,65
PB	7,38	8,50	51,53	21,93	12,33
EE	2,85	2,59	2,45	19,17	1,04
FDNcp	47,60	9,78	8,10	43,51	63,56
CNFcp	36,98	77,97	31,15	11,72	18,72
AMIDO	24,45	59,90	0,90	0,60	0,90
MINERAIS	5,20	1,16	6,78	3,67	4,35

As amostras da silagem de milho, dos ingredientes dos concentrados, sobras foram e fezes analisadas no Laboratório de Nutrição Animal do DZO/UFV quanto aos seus teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN), seguindo as recomendações de Silva & Queiroz (2002). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) foram obtidos de acordo com as recomendações de Mertens (2002), sendo corrigida para cinzas e proteína.

Os carboidratos não fibrosos (CNF) foram calculados de acordo com o proposto por Hall (2000), sendo $CNF = 100 - ((\%PB - \%PB \text{ derivada da uréia} + \% \text{ da uréia}) + \%FDNcp + \%EE + \%cinzas)$.

O consumo de energia dos animais foi obtido a partir do produto entre o consumo de matéria seca e a densidade energética das dietas, que foi determinada a partir da fórmula recomendada pelo NRC (2000): $NDT (\%) = PBD + 2,25 \times EED + CNFD + FDNcpD$, sendo que PBD, EED, CNFD e FDNcpD significam, respectivamente, proteína bruta digestível, extrato etéreo digestível, carboidratos não-fibrosos digestíveis e fibra em detergente neutro (isenta de cinzas e proteína) digestível, calculados a partir dos coeficientes de digestibilidade

As concentrações de amido das amostras de silagem de milho, dos ingredientes dos concentrados e das sobras foram determinadas, segundo recomendações de Bach Knudsen (1997), no Laboratório de Nutrição e Crescimento Animal da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo, colocando-se em tubos de ensaio de 40 mL 0,40, 0,20 e 0,00 g de amostra, respectivamente. Estas quantidades foram determinadas após vários pré-estudos para verificar a linearidade da reação.

Nos tubos, previamente pesados, foram dispensados 30 mL de solução tampão de acetato de sódio ($pH = 5,00 \pm 0,05$ a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e adicionado 50 μL da enzima α -amilase (Novozymes, Termamyl 2X). Todos os tubos de ensaio foram homogeneizados em agitador. Posteriormente, foram colocados em banho-maria a 100°C durante uma hora, com homogeneização dos tubos aos 10, 30 e 50 minutos de incubação. Em seguida, foram retirados do banho-maria até atingirem temperatura ambiente. Adicionou-se 1 mL da solução contendo 100 unidades da enzima amiloglucosidase por mL (Megazyme, E-AMGDF).

Os tubos foram novamente agitados e colocados em banho-maria a 60°C , permanecendo durante 2 horas, sendo agitados após 1 hora de incubação. Após as 2 horas, os tubos foram colocados na bancada até atingirem temperatura ambiente. Posteriormente, os mesmos foram pesados (para correção do volume) e a solução transferida para tubos de 50 mL, centrifugados a $2.060 \times g$ por 10 minutos a uma temperatura de 10°C .

Posteriormente, foram utilizados 10 µL de cada tubo centrifugado para reagir com 1 mL de uma solução estável de um kit comercial de glicose GOD PAP (Laborlab, 06400), em diluição de 1:100. Após 15 minutos de reação a 23°C, fez-se a leitura em espectrofotômetro (Shimadzu, UV – 1601 PC) a 505 nm. Para cada reação foi feita uma curva padrão com solução de glicose. Para cada ensaio utilizaram-se duas amostras padrões (amido puro e fubá de milho) e branco.

Para que o amido da dieta e sobras não fosse superestimado pela contaminação com glicose, pesou-se 0,20 g de amostra, que foi colocada em um tubo de ensaio com tampa de rosca de 40 mL, previamente pesado. Foram adicionados ao 30 mL de água deionizada e, por quatro horas, foram agitados em intervalos de 30 minutos. Após as quatro horas, os tubos foram pesados, para correção do volume e em seguida transferidos para tubos de centrifugação. A partir da centrifugação, todos os processos foram iguais. Após a leitura de glicose destas amostras, os valores obtidos foram subtraídos dos valores do amido.

Nas amostras de urina diluída, foram realizadas as análises dos derivados de purinas (alantoína e ácido úrico) pelo método colorimétrico, conforme técnica de Fujihara et al. (1987), descrita por Chen & Gomes (1992). A excreção de derivados de purinas (DP) na urina em 24 horas foi calculada multiplicando-se o volume urinário em 24 horas pela concentração dos DP na amostra de urina da coleta total. As purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas na urina (DP, mmol/dia), por intermédio da equação:

$$\text{Pabs} = (\text{DP} - 0,236 \times \text{PV}^{0,75}) / 0,84$$

em que 0,84 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados urinários de purinas e 0,236 $\text{PV}^{0,75}$, a contribuição endógena para a excreção de purinas (Orellana Boero et al., 2001).

O fluxo intestinal de compostos nitrogenados microbianos (Nmic, g N/dia) foi calculado em função das purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia), utilizando-se a equação:

$$\text{Nmic} = (70 \times \text{Pabs}) / (0,83 \times 0,134 \times 1000),$$

em que 70 representa o conteúdo de N nas purinas (mg N/mmol); 0,83, a digestibilidade das purinas microbianas (Chen & Gomes, 1992) ; 0,134 a relação N purinas:N total dos microrganismos ruminais, conforme Valadares et al. (1999).

No soro sangüíneo e na urina, foram avaliadas as concentrações de uréia, segundo o método diacetil modificado (kits comerciais). A concentração de N-uréico no soro (NUS) foi obtida pela concentração da uréia sérica, multiplicada por 0,466, correspondente ao teor de N na uréia.

A concentração total de nitrogênio na urina foi determinada pelo método de Kjeldahl, conforme descrito por Silva & Queiroz (2002).

O cálculo do balanço de nitrogênio foi realizado determinando-se a quantidade média de nitrogênio ingerido durante os três dias em que mediu o consumo dos animais e descontando desse valor a quantidade excretada pelos animais. O nitrogênio excretado foi calculado a partir da quantidade média de nitrogênio nas fezes e na urina, durante os dias de coleta.

O experimento foi avaliado segundo delineamento em quadrado latino, com agrupamento de dois quadrados simultâneos. Dentro de cada quadrado, foram implementados quatro tratamentos relativos ao esquema de suplementação (sem aditivo, monensina, levedura – 1,0 g/100 kg PC/dia, levedura – 2,5 g/100 kg PC/dia). As dietas com diferentes níveis de amido foram aplicadas independentemente em cada um dos quadrados latinos. As comparações entre as médias foram efetuadas a partir do teste da Diferença Mínima Significativa (DMS) de Fisher e todos os procedimentos estatísticos foram realizados por intermédio do programa *Statiscal Analysis System* (SAS), adotando-se 0,10 como nível crítico de probabilidade para o erro tipo I.

Resultados e Discussão

Não houve interação ($P > 0,10$) entre os níveis de amido com os aditivos estudados para nenhuma das variáveis testadas. Portanto, os efeitos dos aditivos e dos níveis de amido foram discutidos independentemente.

Devido ao fato do uso de dietas ricas em concentrado não ser massificado no Brasil, questionamentos sobre a possibilidade de que o consumo de matéria seca apresentado nesse experimento (Tabela 3) seja considerado baixo podem surgir, uma vez que estes sempre são comparados aos consumos verificados em animais consumindo dietas menos concentradas, por predominarem na realidade local. Entretanto, quando se estimou as exigências para manutenção dos animais empregados neste trabalho (3,04 kg NDT/dia), segundo o NRC (2000), verificou-se que o consumo médio de NDT ficou próximo ao dobro

dessas exigências (5,53 kg NDT/dia), o que suporta a variação positiva de peso corporal dos animais ocorrida entre início e o final do experimento, que foi de 460,9 para 517,4 kg (ganho médio diário de 830 g/dia).

Quando comparado aos valores disponíveis na literatura para dietas com alta proporção de concentrado, verifica-se que o consumo médio de matéria seca obtido (1,59 %PC) encontra-se compatível. Beauchemin et al. (2003), trabalhando com machos castrados, em fase de terminação e recebendo dietas com 87% de concentrado verificaram consumo diário de matéria seca de 7,78 kg (1,51 %PC), similar ao obtido nesse experimento (Tabela 3).

O fornecimento de aditivos não influenciou ($P>0,10$) a maioria das variáveis de consumo avaliadas, expressas em bases absolutas (Tabela 3). Nota-se que o tratamento Levedura 1 g/100kg PC proporcionou menores consumos de CNF, conseqüentemente de amido, e menores valores de CMSPC em comparação ao tratamento sem aditivo (Tabela 3).

As respostas de produção atribuídas à levedura são geralmente relacionadas à estimulação das bactérias totais, das bactérias ruminais celulolíticas e a uma maior digestão das fibras (Martin & Nisbet, 1992; Newbold et al.; 1996), o que proporcionaria maior densidade energética às dietas dos animais suplementados com a levedura.

Em dietas ricas em concentrado, como a utilizada neste experimento, o consumo é regulado pelo suprimento energético da dieta através do mecanismo quimiostático da satisfação da ingestão. Sendo assim, o aumento na disponibilidade energética, como se espera com o uso de leveduras, em dietas ricas em concentrado, em que o mecanismo quimiostático de regulação do consumo já é atuante, faz com que um menor consumo já supra à mesma quantidade de energia, o que foi evidenciado pela não diferença nos consumos de NDT e pelo menor consumo de matéria seca em função do PC dos animais que receberam levedura em relação aos alimentados sem aditivos (Tabela 3).

Os níveis de amido nas dietas influenciaram ($P<0,10$) os consumos de EE, FDN, CNF e amido (Tabela 3). À exceção do EE, essas diferenças no consumo se devem ao fato de que as duas dietas apresentavam diferenças quanto às concentrações destes nutrientes, não havendo nenhuma influência metabólica ou fisiológica advinda do nível de amido no consumo, uma vez que o CMS foi semelhante nos animais que receberam dietas de baixo e alto teor de amido. Para o EE, a diferença não se deve às variações no teor desse constituinte nas dietas (Tabela 2). O caroço de algodão utilizado nas rações possivelmente foi mais selecionado, durante a alimentação, pelos animais que estavam recebendo a dieta

mais rica em amido, de forma a aumentar a ingestão de fibra, o que pode ter contribuído para o aumento no consumo de EE (Tabela 3).

Tabela 3 – Médias e coeficientes de variação para consumo de matéria seca (CMS), de proteína bruta (CPB), de extrato etéreo (CEE), de FDN (CFDN), de CNF (CCNF), de amido (CAMI) e de NDT (CNDT), em kg/dia, e consumo de matéria seca em função do peso corporal (CMSPC), e consumo de FDN em função do peso corporal (CFDNPC), em %, referentes aos níveis de amido na dieta e aos tratamentos

Consumo	Nível de amido ¹		Aditivo ¹				CV (%)
	Baixo	Alto	Sem Aditivo	Monensina	Levedura 1 g	Levedura 2,5 g	
CMS	7,76 ^a	7,91 ^a	8,06 ^a	8,14 ^a	7,47 ^a	7,67 ^a	14,1
CMO	7,25 ^a	7,47 ^a	7,57 ^a	7,64 ^a	7,02 ^a	7,21 ^a	14,9
CPB	1,09 ^a	1,15 ^a	1,16 ^a	1,18 ^a	1,05 ^a	1,10 ^a	14,8
CEE	0,34 ^b	0,38 ^a	0,38 ^a	0,37 ^a	0,35 ^a	0,34 ^a	16,2
CFDN	2,85 ^a	1,56 ^b	2,27 ^a	2,41 ^a	2,17 ^a	2,17 ^a	13,6
CCNF	2,78 ^b	4,01 ^a	3,61 ^a	3,53 ^{ab}	3,07 ^b	3,37 ^{ab}	17,1
CAMI	1,62 ^b	2,77 ^a	2,33 ^a	2,28 ^{ab}	2,01 ^b	2,14 ^{ab}	15,7
CNDT	5,50 ^a	5,56 ^a	5,63 ^a	5,86 ^a	5,15 ^a	5,50 ^a	18,1
CMSPC	1,62 ^a	1,56 ^a	1,72 ^a	1,66 ^{ab}	1,49 ^b	1,49 ^b	15,2
CFDNPC	0,59 ^a	0,33 ^b	0,49 ^{ab}	0,50 ^a	0,44 ^{ab}	0,43 ^b	16,2

^{1/} Médias na linha, dentro de cada fator, seguidas por letras diferentes, são diferentes (P<0,10).

O CMS não diferiu (P>0,10) entre as dietas com baixo e alto teor de amido (Tabela 3). O período de adaptação a dietas ricas em concentrado a que os animais foram submetidos, anteriormente ao início do experimento, parece ter possibilitado que os animais alimentados com a dietas de alto amido não apresentassem problemas de consumo.

O efeito dos aditivos sobre o coeficiente de digestibilidade da FDN mostrou-se mais favorável para os tratamentos Monensina e Levedura 2,5 g e apresentou menores médias para o tratamento de Levedura 1 g, enquanto o não uso de aditivos não diferiu (P>0,10) de nenhum destes tratamentos, ocupando posição intermediária (Tabela 4).

Somente os coeficientes de digestibilidade da FDN foram influenciados (P<0,10) tanto pelo níveis de amido quanto pelos aditivos utilizados. A digestibilidade da FDN da dieta com maior nível de amido foi inferior à de menor nível de amido. Entretanto, os coeficientes de digestibilidade do extrato etéreo foram influenciados (P<0,10), somente, pela inclusão de aditivos na dieta (Tabela 4), enquanto a digestibilidade dos demais componentes mantiveram-se inalterados para qualquer um dos aditivos.

Tabela 4 – Médias e coeficientes de variação para digestibilidade da matéria seca (CDMS), da matéria orgânica (CDMO), da proteína bruta (CDPB), do extrato etéreo (CDEE), da fibra em detergente neutro (CDFDN), dos carboidratos não fibrosos (CDCNF), do amido (CDAMI) e o NDT, em %, referentes aos níveis de amido na dieta e dos aditivos avaliados

Coeficiente de Digestibilidade	Nível de amido ¹		Aditivo ¹				CV (%)
	Baixo	Alto	Sem Aditivo	Monensina	Levedura 1 g	Levedura 2,5 g	
CDMS	72,81 ^a	72,01 ^a	70,62 ^a	72,79 ^a	72,84 ^a	73,38 ^a	7,7
CDMO	74,11 ^a	72,94 ^a	72,02 ^a	73,86 ^a	73,81 ^a	74,42 ^a	7,6
CDPB	69,59 ^a	69,62 ^a	67,98 ^a	70,59 ^a	69,41 ^a	70,44 ^a	9,3
CDEE	78,06 ^a	77,48 ^a	69,92 ^c	78,12 ^b	77,93 ^b	85,11 ^a	7,5
CDFDN	70,33 ^a	56,35 ^b	62,36 ^{ab}	65,79 ^a	58,54 ^b	66,63 ^a	9,1
CDCNF	77,30 ^a	78,46 ^a	77,20 ^a	77,48 ^a	80,11 ^a	76,74 ^a	9,3
CDAMI	81,88 ^a	85,16 ^a	84,61 ^a	83,71 ^a	81,63 ^a	84,12 ^a	10,9
NDT	70,92 ^a	69,94 ^a	69,65 ^a	71,86 ^a	68,74 ^a	71,46 ^a	8,7

^{1/} Médias na linha, dentro de cada fator, seguidas por letras diferentes, são diferentes (P<0,10).

Diferenças no coeficiente de digestibilidade da FDN ocorreram, possivelmente, devido às diferenças da qualidade da fibra presente em cada dieta. Como já exposto anteriormente na Tabela 1, os alimentos que compuseram a maior parte da FDN da dieta de menor nível de amido foram o caroço de algodão e a silagem de milho, enquanto na dieta de menor nível de amido a casca de soja foi incluída. A FDN da casca de soja é rapidamente fermentável (Silva et al.; 2002; Ezequiel et al.; 2004; Mendes et al.; 2006), o que fez com que a dieta de baixo amido apresentasse melhor coeficiente de digestibilidade da FDN (Tabela 4).

Dietas ricas em concentrados e com elevados teores de amido causariam reduções significativas no pH ruminal, podendo ser responsáveis pela inibição parcial da degradação fibrosa, por comprometerem a condição ideal de meio para o crescimento dos microrganismos fibrolíticos (Mould et al., 1983; Hoover, 1986; Van Soest, 1994). No entanto, os valores de pH obtidos neste estudo, mostrados no capítulo anterior, não sofreram queda que comprometesse esta condição ideal para a atividade celulolítica, não sendo, portanto, o pH o causador da menor digestibilidade da FDN no tratamento com maior nível de amido.

No entanto, na presença de amido e carboidratos fibrosos ocorre competição entre nutrientes essenciais entre grupos de espécies microbianas, resultando em maior proliferação dos microrganismos que degradam amido (El-Shazly et al.; 1961; Coelho da Silva & Leão, 1979; e Mould et al.; 1983). Essa competição conduziria à preferência inicial pela utilização do amido como substrato energético no ambiente ruminal como um todo (El-Shazly et al.; 1961), com a transformação gradativa dos carboidratos fibrosos em substratos energéticos à medida que se reduz a disponibilidade de amido (El-Sahzly et al.; 1961;

Mertens & Loften, 1980; e Arroquy et al.; 2005), fazendo com que dietas com maior percentual de amido tenham maior comprometimento na digestibilidade da fibra.

Alguns autores têm reportado que a redução da digestibilidade da FDN ocorre devido à inibição da atividade de enzimas fibrolíticas em função da presença de amido no meio (Hiltne & Dehority, 1983, citados por Arroquy et al.; 2005), fato que parece estar associado à liberação de compostos inibidores pelos microrganismos que degradam amido (El-Shazly et al.; 1961).

Os resultados encontrados para os coeficientes de digestibilidade de extrato etéreo (Tabela 4) mostram que a inclusão de aditivo melhorou a digestibilidade deste nutriente quando comparada ao não fornecimento de aditivo, sendo que o tratamento levedura 2,5 g proporcionou o melhor resultado de CDEE.

O uso de monensina teria efeito adicional sobre a digestibilidade da FDN, pois teria a capacidade de reduzir a lipólise de lipídeos insaturados (altamente tóxicos aos microrganismos ruminais) em ácidos graxos livres (Van Nevel & Demeyer, 1995), reduzindo os efeitos danosos que esses compostos teriam sobre alguns microrganismos mais sensíveis (gram-positivos, dentre os quais encontram os fermentadores de carboidratos estruturais), melhorando a digestibilidade da FDN.

O uso de levedura estimularia o crescimento de bactérias totais, dentre elas as gram-positivas que promovem menor biohidrogenação dos ácidos graxos, propiciando maior escape de lipídeos insaturados e aumentando a digestão do mesmo no intestino delgado. Entretanto, esta ação só se mostrou eficaz com a administração da maior dose de leveduras vivas (Tabela 4).

Embora a digestão total no trato digestivo seja o fator energético primário, o local onde os nutrientes são digeridos também parece ser importante. Amido transformado em glicose por digestão no intestino delgado tem um valor energético líquido maior do que o do amido fermentado em ácido propiônico no rúmen, já que ocorrem perdas térmicas próprias da fermentação do amido no rúmen (Harmon & McLeod, 2001; Huntington et al.; 2006). Entretanto, tal vantagem pode ser reduzida em função da digestão limitada do amido dentro do intestino delgado. Os fatores específicos para essa deficiência podem ser a atividade limitada da amilase, maltase e isomaltase, em razão da insuficiência na sua produção e secreção; da capacidade de absorção de glicose secretada pela digestão do amido; do acesso inadequado das enzimas aos grânulos de amido, por causa da sua insolubilidade ou proteção física conferida pela matriz protéica e do tempo insuficiente para hidrólise completa do amido (Owens et al., 1986).

Estudos de desempenho com vacas lactantes e bovinos confinados têm indicado que o amido é mais produtivo quando fermentado extensivamente no rúmen (Stock et al., 1987; Nocek & Tamminga, 1991). Até que as limitações quanto à digestão e a utilização do amido intestinal sejam compreendidas e resolvidas, a maximização da digestão do amido no rúmen parece ser o meio mais direto para otimizar sua utilização. Aparentemente, a capacidade microbiana de fermentar o amido não tem limites (Huntington, 1997). Entretanto, fermentação rápida do amido em ácidos orgânicos pode levar a acidose ruminal e outros distúrbios metabólicos associados.

Portanto, optou-se em utilizar milho moído em peneira de 6 mm a fim de reduzir a taxa de fermentação, minimizando tais disfunções ruminais, o que aumentaria a quantidade de amido a ser digerido no intestino (delgado e grosso). Talvez devido à capacidade limitada do intestino delgado em digerir o amido, seria normal que o tratamento de mais alto nível de amido apresentasse o CDAMI menor devido à sobrecarga deste carboidrato chegando à parte distal do aparelho gastrointestinal. Contudo, não foi verificada diferença ($P > 0,10$) entre os tratamentos, quanto a essa variável (Tabela 4).

A escolha pelo menor processamento do milho também poderia comprometer a digestibilidade aparente total do amido devido ao escape da digestão enzimática que o amido também poderia sofrer no intestino delgado. Assim, utilizou-se o modelo proposto por Zinn et. al (2007) para prever a digestão total do amido como referência.

$$DAMI = 100 - \{1 - [(0,938 - 0,497NF + 0,0853NF^2) AMIF/AMI]\}$$

em que DAMI representa a digestão total do amido; NF, nitrogênio fecal; AMIF, amido nas fezes e AMI, amido dietético, expressos em % da matéria seca.

Esse modelo foi construído a partir de um banco de dados de ensaios de digestibilidade com 147 novilhos recebendo dietas ricas em concentrado e com o nível de amido variando de 25,2 a 61,9 % de amido (com base na matéria seca). Os valores estimados a partir desse modelo sugeriram um coeficiente de digestibilidade médio de 87,98 %, enquanto o coeficiente médio obtido neste estudo foi de 83,52 %. A proximidade entre os resultados sugere que o processamento do amido não prejudicou, demasiadamente, a digestibilidade do amido e, que as perdas fecais não foram excessivamente elevadas.

Os valores de NDT das dietas não diferiram ($P > 0,10$) entre os tratamentos (Tabela 4). Mesmo havendo menores coeficientes de digestibilidade para FDN e EE nos tratamentos de mais alto nível de amido e o sem uso de aditivo, respectivamente, esses valores não foram suficientes para reduzir a quantidade de nutrientes digestíveis disponíveis para os animais

que receberam estes tratamentos. Isto ocorreu, possivelmente, porque a FDN e o EE, quantitativamente, representam pouco mais de 25% da matéria seca da dieta de alto amido (Tabela 2).

Valadares et al. (1997) e Valadares et al. (1999) demonstraram que a concentração sérica de uréia está positivamente relacionada à ingestão de N. Suportados por essa teoria, os resultados encontrados neste experimento para concentrações séricas de uréia (Tabela 5) mostraram-se não influenciados pelos tratamentos ($P>0,10$), uma vez que as concentrações de N nas dietas (Tabela 2) e o consumo de PB (Tabela 3) foram iguais e a digestibilidade da PB não foi influenciada pelos aditivos (Tabela 4).

De acordo com Santos et al. (2001), quanto maior a degradação da proteína dietética, maior a produção de amônia ruminal e, conseqüentemente, maiores as concentrações de uréia no soro e as perdas nitrogenadas na urina. Isto ocorre porque a maior parte da amônia não utilizada pelos microrganismos é absorvida pela parede ruminal por difusão e transportada para o fígado onde é convertida a uréia. Parte dessa uréia é excretada, via urina, e parte pode retornar ao rúmen via saliva ou por difusão através da parede celular.

Os resultados encontrados nesse estudo confirmam tal hipótese (Tabela 5). As concentrações ruminais de amônia não diferiram ($P>0,10$) entre os tratamentos com inclusão ou não de aditivos e, com isso, as perdas totais urinárias de nitrogênio não diferiram. Contudo, a excreção de nitrogênio na forma de uréia foi maior ($P<0,10$) para o tratamento Monensina.

O custo energético para síntese e excreção de uréia é muito elevado, uma vez que para cada mol de uréia produzido são gastos quatro moles de ATP. Desta forma, pode-se inferir que os tratamentos que apresentaram maiores excreções de uréia, proporcionaram redução na concentração de energia líquida.

Segundo Butler et al. (1998), a variação de NUS é um parâmetro útil para avaliar a utilização da proteína em relação à sua ingestão. Esses autores, avaliando amostras obtidas em 19 rebanhos de alta produção de leite, obtiveram valor médio de NUS de 15,83 mg/dL (variando de 12,88 a 18,07 mg/dL). Broderick (1995) sugeriu que valores de NUS de 10,7 a 15,2 mg/dL indicariam adequado balanceamento de PDR e de energia fermentada no rúmen. Os valores obtidos neste experimento encontram-se próximo ao limite superior preconizado, mostrando que as dietas proporcionaram uso eficiente da proteína.

Tabela 5 - Médias e coeficientes de variação (CV) para as concentrações de N amoniacal no rúmen (N-NH₃) e de nitrogênio uréico no soro (NUS), excreções de N total na urina (NU) e de nitrogênio uréico na urina (NUU), referentes aos níveis de amido na dieta e dos aditivos avaliados

Variável	Nível de Amido ¹		Aditivo ¹				CV (%)
	Baixo	Alto	Sem Aditivo	Monensina	Levedura 1g/kgPC	Levedura 2,5g/kgPC	
	Concentração (mg/dL)						
N –NH ₃ ²	14,91 ^b	18,08 ^a	15,88 ^a	16,64 ^a	17,05 ^a	16,42 ^a	15,5
NUS (mg/dL)	14,74 ^a	15,97 ^a	15,81 ^a	16,27 ^a	14,53 ^a	14,79 ^a	19,1
	Excreção diária						
NUU(g)	75,23 ^a	71,79 ^a	69,04 ^{bc}	85,94 ^a	62,41 ^c	76,64 ^{ab}	21,4
NU(g)	89,21 ^a	85,62 ^a	82,82 ^a	91,21 ^a	86,38 ^a	89,42 ^a	19,8
NUU(mg/kgPC)	153,35 ^a	140,09 ^a	144,70 ^{ab}	173,40 ^a	122,75 ^b	146,03 ^{ab}	23,5
NU(mg/kgPC)	182,72 ^a	166,42 ^a	172,41 ^a	184,25 ^a	170,25 ^a	171,36 ^a	21,2

^{1/} Médias na linha, dentro de cada fator, seguidas por letras diferentes, são diferentes (P<0,10).

^{2/} Valor médio obtido por 12 avaliações realizadas em um período de 24 horas.

Foram constatadas menores excreções urinárias de ácido úrico (P<0,10) quando se forneceu levedura, em qualquer um dos dois níveis aos animais (Tabela 6), embora não tenha sido suficiente para alterar a excreção de derivados de purinas, a absorção intestinal de purinas e nem a produção de proteína microbiana no rúmen dos animais (Tabela 6).

O NRC (2001) recomendou que a eficiência microbiana deva encontrar-se próxima dos 130 g de proteína microbiana (PMic) para cada quilo de NDT consumido. A análise de um conjunto de dados aqui no Brasil, sugeriram como valor de referência para condições tropicais valor um pouco inferior, em torno de 120 g PMic/kg NDT (Valadares Filho et al., 2006a).

A eficiência microbiana varia de acordo com a composição iônica do meio, com a composição da célula e com a taxa de crescimento microbiano (Valadares Filho et al., 2006a). Semelhante aos animais, as bactérias ruminais requerem energia para manutenção e são mais eficientes quando crescem ou se multiplicam mais rapidamente. Nos custos de manutenção estão incluídos os nutrientes e a energia gasta para motilidade, *turnover* dos constituintes celulares, transporte ativo, etc. Algumas espécies bacterianas diferem no seu custo de manutenção. Por exemplo, os microrganismos que fermentam celulose e hemicelulose e os que fermentam açúcares, amido e pectina requerem 0,05 e 0,15 g de carboidrato por grama de bactéria por hora, respectivamente (Russell et al., 1992).

Os valores encontrados neste estudo, para eficiência microbiana (Tabela 6) ficaram abaixo do valor sugerido por Valadares Filho et al. (2006a) para ambos os níveis de amido e tipos de aditivos avaliados e não apresentaram diferenças entre os tratamentos (P>0,10).

A dieta utilizada neste estudo (alta proporção de concentrado) favorecia o crescimento das espécies microbianas que degradam amido, açúcares e pectina, que tem o custo de manutenção cerca de três vezes maior que o dos microrganismos fermentadores de carboidratos fibrosos.

Em condições normais, inclusive nas quais o valor referência citado por Valadares Filho et al. (2006a) foi obtido, os animais não foram alimentados com dietas com proporção tão alta de concentrado, o que possibilitava aos microrganismos fibrolíticos proliferarem mais facilmente, fazendo com que os resultados de eficiência microbiana fossem maiores devido ao menor custo energético para manutenção.

Conforme demonstrado na Tabela 7, a quantidade de N ingerido não variou ($P>0,10$) entre os níveis de amido e nem com a utilização de nenhum dos aditivos testados. Este resultado concorda com os dados da Tabela 3 em que não houve influência de nenhum dos tratamentos sobre o consumo de PB.

A excreção fecal de N também não foi influenciada ($P>0,10$) pelos tratamentos, representando, em média 30,76 % do N ingerido. De acordo com a Tabela 4, os coeficientes de digestibilidade da PB mostraram-se invariáveis aos tratamentos empregados, justificando tal resultado.

Tabela 6 - Médias e coeficientes de variação (CV), obtidos em coleta total de urina, das excreções urinárias de alantoína (ALA) e ácido úrico (AcU), de derivados de purinas totais (DP), da porcentagem de alantoína nos DP (ALA:DP), das purinas absorvidas (Pabs), do nitrogênio microbiano (Nmic), da eficiência microbiana (Efic) e do pH ruminal (pH), referentes aos níveis de amido nas dietas e aditivos avaliados

Variável	Nível de Amido ¹		Aditivo ¹				CV (%)
	Baixo	Alto	Sem Aditivo	Monensina	Levedura 1g/kgPC	Levedura 2,5g/kgPC	
AcU ³	14,88 ^a	14,12 ^a	16,69 ^a	16,94 ^a	11,97 ^b	12,40 ^b	28,1
ALA ³	137,20 ^a	150,09 ^a	136,16 ^a	143,07 ^a	147,00 ^a	148,34 ^a	20,8
ALA:DP ⁴	90,06 ^a	91,19 ^a	89,13 ^b	89,25 ^b	92,00 ^a	92,13 ^a	3,5
DP ³	152,07 ^a	164,21 ^a	152,82 ^a	160,01 ^a	158,97 ^a	160,74 ^a	18,6
Pabs ³	151,92 ^a	165,05 ^a	153,07 ^a	160,93 ^a	159,28 ^a	160,68 ^a	21,6
NMic ⁵	95,62 ^a	103,89 ^a	96,35 ^a	101,29 ^a	100,25 ^a	101,13 ^a	21,6
EFic ⁶	110,05 ^a	118,69 ^a	108,16 ^a	108,03 ^a	123,9 ^a	117,38 ^a	16,9
pH ²	6,44 ^b	6,52 ^a	6,48 ^{ab}	6,51 ^a	6,40 ^a	6,53 ^b	1,8

¹/ Médias na linha, dentro de cada fator, seguidas por letras diferentes, são diferentes ($P<0,10$).

²/ Valor de pH obtido através da média de 12 avaliações realizadas em um período de 24 horas.

³/ Expressos em mmol/dia.

⁴/ Expresso em %.

⁵/ Expressos em g/dia.

⁶/ Expressos em gPMic/kgNDT.

O balanço dos compostos nitrogenados, independente do modo como foi expresso, não diferiu ($P>0,10$) entre nenhum dos tratamentos testados. Embora esta variável não apresente nenhum valor de referência, devido às inúmeras fontes de ingredientes com coeficiente de digestibilidade e metabolizabilidade diferentes para PB e teores da mesma nas rações, é possível afirmar que o balanço de compostos nitrogenados verificado neste estudo, expressos em g/dia, foram baixo.

Calculando-se as exigências de PB, utilizando as equações propostas pelo BR-Corte (Valadares Filho et al., 2006b) com a eficiência de síntese microbiana calculada a partir da fórmula de purinas absorvidas como derivados de purina proposta por Orellana Boero et al. (2001) e consumo de NDT obtidos neste estudo, verificou-se que o consumo de PB (1.121,97 g/dia) foi muito superior aos valores exigência estimados, 809,17 g/dia. Isto indica que as perdas nitrogenadas urinárias possam ter sido demasiadamente altas, ou seja, os teores de proteína das dietas poderiam ter sido menores.

Tabela 7 – Médias e coeficiente de variação (CV), para os compostos nitrogenados (N) ingeridos, excretados nas fezes e urina, balanço dos compostos nitrogenados (BN) e eficiência de uso do nitrogênio (EfN) em função dos níveis de amido nas dietas e aditivos avaliados, expressos em g/dia

Variável	Nível de Amido ¹		Aditivo ¹				CV (%)
	Baixo	Alto	Sem Aditivo	Monensina	Levedura 1g/kgPC	Levedura 2,5g/kgPC	
N ingerido	174,33 ^a	174,7 ^a	175,54 ^a	189,30 ^a	168,22 ^a	175,00 ^a	14,8
N fezes	52,95 ^a	55,30 ^a	58,92 ^a	55,46 ^a	51,42 ^a	51,16 ^a	22,3
N urina	89,29 ^a	85,63 ^a	82,82 ^a	91,21 ^a	86,38 ^a	89,43 ^a	19,8
BN	32,09 ^a	43,54 ^a	43,80 ^a	41,62 ^a	30,42 ^a	34,52 ^a	60,8
EfN (%)*	17,95 ^a	23,32 ^a	23,24 ^a	22,20 ^a	18,46 ^a	18,65 ^a	56,5

^{1/} Médias na linha, dentro de cada fator, seguidas por letras diferentes, são diferentes ($P<0,10$).

* / Percentual expresso em função dos compostos nitrogenados ingeridos.

Conclusões

Dietas com mais alto teor de amido resultam em decréscimo na digestibilidade da FDN.

Não se recomenda o uso de monensina e levedura por não melhorarem a digestibilidades da FDN e da matéria seca em dietas com altos teores de amido, nem aumentarem a síntese de proteína microbiana e balanço de nitrogênio, tampouco reduzirem as perdas de compostos nitrogenados urinários.

Referências Bibliográficas

- ARROQUY, J.I.; COCHRAN, R.C.; NAGARAJA, T.G.; TITGEMEYER, E.C.; JOHNSON, D.E. Effect of types of non-fiber carbohydrate on *in vitro* forage fiber digestion of low-quality grass hay. **Animal Feed Science and Technology**, v.120,n.1-2, p.93-106, 2005.
- BACH KNUDSEN, K.E. Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. **Animal Feed Science and Technology**, v. 67, n.8, p. 319-338, 1997.
- BEAUCHEMIN, K. A.; KREHBIEL, C.R.; NEWBOLD, C.J. Feed enzymes and direct-fed microbials in ruminant nutrition. Mosenthin, R.; Zentek, J.; Zebrowska, T.(Eds.). **Biology of Nutrition in Growing Animals**. Elsevier Limited, Philadelphia, PA.2006. p. 819-826.
- BEAUCHEMIN, K. A.; YANG, W.Z.; MORGAVI, D.P. et al. Effects of bacterial direct-fed microbials and yeast on site and extent of digestion, blond chemistry, and subclinical ruminal acidosis in feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v.81, n.6, p.1628-1640, 2003.
- BLASI, D. A.; TITGEMEYER, E.C.; DROUILLARD, J. S.; et al..Soybean hulls, composition and feeding value for beef and dairy cattle. **Kansas State University Agricultural Experimental Station and Cooperative Extension Service**, Bull. MF-2438, 16 p. 2000.
- BRODERICK, G.A. **Use of milk urea as an indicator of nitrogen utilization in lactating dairy cow**. Washington: USDA Agricultural Research Service; US Dairy Forage Research Center, 1995. 122p. (Research Summaries).
- BUTLER, W.R.; Review: Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.9, p.2533-2539, 1998.
- CHEN, X.B.; GOMES, M.J. **Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives** – an overview of technical details. Bucksburnd: Rowett Research Institute; International Feed Resources Unit, 1992. 21p. (Occasional publication).
- COELHO da SILVA, J.F.; LEÃO, M.I. **Fundamentos de nutrição dos ruminantes**. Piracicaba: Livrocere, 1979. 380p.
- EL-SHAZLY, K; DEHORITY, B.A.; JOHSON, R.R. Effect of starch on the digestion of cellulose *in vitro* and *in vivo* by rumen microorganisms. **Journal of Animal Science**, v.20, n.3, p.268-273, 1961.
- EZEQUIEL, J.M.B.; GALATI, R.L.; MENDES, A.R. et al. Desempenho e características de carcaça de bovinos da raça Nelore alimentados com diferentes fontes energéticas, em confinamento. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41.; 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2004 (CD-ROM). Nutrição de Ruminantes 251.
- FARRAN, T.B.; ERICKSON, G.E.; KLOPFENSTEIN, T.J. et al. Wet corn gluten feed and alfafa hay levels in dryrolled corn finishing diets: Effects of finishing performance and

- feedlot nitrogen mass balance. **Journal of Animal Science**, v.84, n.5, p. 1205-1214, 2006.
- FUJIHARA, T.; ØRSKOV, E.R.; REEDS, P.J. et al. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **Journal of Agricultural Science**, v.109, n.1, p.7-12, 1987.
- HALL, M.B. **Calculation of non-structural carbohydrate content of feeds that contain non-protein nitrogen**. Gainesville: University of Florida, 2000. p.A-25 (Bulletin, 339).
- HARMON, D.L.; and MCLEOD, K.R. Glucose uptake and regulation by intestinal tissues: Implications and wholebody energetics. **Journal of Animal Science**. v.79(E. Suppl.): p.59–72, 2001.
- HOOVER, W.H. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. **Journal of Dairy Science**, v.69, n.10, p.2755-2766, 1986.
- HUNTINGTON, G.B.; ARCHIBEQUE, S.L. Practical aspects of urea and ammonia metabolism in ruminants. In: AMERICAN SOCIETY OF ANIMAL SCIENCE. 1999, Raleigh. **Proceedings...** Raleigh: ASAS, 1999, p.01-11.
- HUNTINGTON, G.B.; HARMON, D. L.; and RICHARDS, C. J. Sites, rates, and limits of starch digestion and glucose metabolism in growing cattle. **Journal of Animal Science**. v.84, n.1 , p. 14,24, 2006
- HUNTINGTON, G.B. Starch utilization by ruminants: From basics to the bunk. **Journal of Animal Science**, v.75, n.3, p.852-867, 1997.
- LEÃO, M.I.; COELHO DA SILVA, J.F. Técnicas de fistulação de abomaso em bezerros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, 1. REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 17., 1980, Fortaleza. **Anais...**Fortaleza:SBZ, 1980, p.37.
- LEME, P.R.; SILVA, S.L.; PEREIRA, A.S.C. et al. Utilização do bagaço de cana-de-açúcar e dietas com elevada proporção de concentrados para novilhos Nelore em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p.1786-1791, 2003.
- MARTIN, S.A.; and NISBET, D.J. Effect of direct-fed microbial on rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, v. 5, n.6, p.1736-1744, 1992.
- MCGUFFEY, R.K.; RICHARDSON, L.F.; WILKINSON, J.I.D. Ionophores for dairy cattle: current status and future outlook. **Journal of Dairy Science**, v.84, Supplement, p.194-203, 2001.
- MENDES, A.R.; EZEQUIEL, J.M.B.; GALATI, R.L. et al. Cinética digestiva e eficiência de síntese de proteína microbiana em novilhos alimentados com farelo de girassol e diferentes fontes energéticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.1, p.264-274, 2006.
- MERTENS, D.R.; LOFTEN, J.R. The effect of starch on forage fiber digestion kinetics *in vitro*. **Journal of Dairy Science**, v.63,n.6, p 1437-1446, 1980.

- MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.85, p.1217-1240, 2002.
- MOULD, F.L.; ØRSKOV, E.R.; MANNS, O. Associative effects of mixed feeds. I. Effects of type and level of supplementation and the influence of the rumen pH on cellulolysis *in vivo* and dry matter digestion of various roughages. **Animal Feed Science and Technology**, v.10, n.1, p.15-30, 1983.
- MUTSVANGWA, T.; EDWARDS, I.E.; TOPPS, J.H. et al. The effect of dietary inclusion of yeast culture (Yea-Sacc) on patterns of rumen fermentation, food intake and growth of intensively fed bulls. **Animal Production**, v.55, n.1, p.35-40, 1992.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7 rev. ed. National Academic Press, Washington, D.C.: 2001. 381p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7 rev. ed. National Academic Press, Washington, D.C.: 2000. 242p.
- NEWBOLD, C.J.; MCINTOSH, F.M.; and WALLACE, R.J. Mode of action of the yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, as a feed additive for ruminants. **British Journal of Nutrition**, v.76, n.2, p.249- 261, 1996.
- NEWBOLD, C.J. Probiotics as feed additives in ruminant diets. In 51 st **Minnesota Nutrition Conference**, ed. M. Stern, G. Wagner, J. Rogers and R. Seilner. University of Minnesota, Minnesota, p. 102-18, 1990.
- NOCEK, J. E. and TAMMINGA, S. Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3598-629, 1991.
- NOLAN, J.V. Nitrogen kinetics. In: FORBS, J.M.; FRANCE, J. **Quantitative Aspects of Ruminants Digestion and Metabolism**. 1993. p.123-143.
- ORELLANA BOERO, P.; BALCELLS, J.; MARTÍN-ORÚE, S.M. et al. Excretion of purine derivatives in cows: endogenous contribution and recovery of exogenous purine bases. **Livestock Production Science**, v.68, p.243-250, 2001.
- OWENS, F.N.; ZINN, R.A.; KIM, Y.K. Limits to starch digestions in the ruminant small intestine. **Journal of Animal Science**, v.63, n.5, p.1634-1684, 1986.
- PEREIRA, E.M. **Substituição de milho por ingredientes alternativos na dieta de tourinhos na fase de terminação**. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, USP. Piracicaba, 2005.
- ROSE, A.H. Yeast Culture, A microorganism for all species: A theoretical look at its mode of action. In: Lyons, T. P. (Ed.), **Biotechnology in the Feed Industry**, Alltech Technical Publications, Kentucky, p.113-118, 1987.

- RUSSELL, J. B. Glucose toxicity and the inability of *Bacteroides ruminicola* to regulate glucose transport and utilization. **Applied and Environmental Microbiology**, v.58, p.2040-2045, 1992.
- RUSSELL, J.B.; WALLACE, R.J. Energy-yielding and energy consuming reactions. **The rumen microbial ecosystem**. 2.ed. 1997. p.267-268.
- SANTOS, G.T.; CAVALIERI, F.L.B.; MODESTO, E.C. Recentes avanços em nitrogênio não protéico na nutrição vacas leiteiras. In: SINLEITE - NOVOS CONCEITOS EM NUTRIÇÃO, 2.; 2001, Lavras. **Anais...** Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2001. p.225-248.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de Alimentos: Métodos Químicos e Biológicos**. 3.ed. Viçosa: Editora UFV, 2002. 235p.
- SILVA, L.D.F.; EZEQUIEL, J.M.B.; AZEVEDO, P.S. et al. Digestão total e parcial de alguns componentes de dietas contendo diferentes níveis de casca de soja e fontes de nitrogênio, em bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.3, p.1258- 68, 2002.
- STOCK, R. A.; BRINK, D. R.; BRITTON, R. A.; GOCDEKIN, F. K.; SINDT, M. H.; KREIKEMEIER, K. K.; BAUER, M. L. and SMITH, K. K. Feeding combinations of high moisture corn and dry-rolled grain sorghum to finishing steers. **Journal of Animal Science**, v.65, n.1, p.290-302, 1987.
- VALADARES FILHO, PAULINO, P.V.R.; DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; SAINZ, R.D. Exigências nutricionais de zebuínos no Brasil. I. Energia. In: VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, P.V.R.; MAGALHÃES, K.A. (Eds). **Exigências Nutricionais de Zebuínos e Tabelas de Composição de Alimentos – BR-Corte**. Viçosa: UFV, DZO, 2006b. p.57-73.
- VALADARES FILHO, S.C.; PINA, D.S.; CHIZZOTTI, M.L.; VALADARES, R. F.D.; LEÃO; M. I.; CAMPOS, J.M. Degradação Ruminal da proteína dos alimentos e síntese de proteína microbiana. In: VALADARES FILHO, S.C.; PAULINO, P.V.R.; MAGALHÃES, K.A. (Eds). **Exigências Nutricionais de Zebuínos e Tabelas de Composição de Alimentos – BR-Corte**. Viçosa: UFV, DZO, 2006a. p.13-44.
- VALADARES, R.F.D.; BRODERICK, G.A.; VALADARES FILHO, S.C. et al. Effect of replacing alfafa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.12, p.2686-2696, 1999.
- VALADARES, R.F.D.; GONÇALVES, L, C.; SAMPAIO, I. B. et al. Níveis de proteína em dietas de bovinos. 2. Consumo, digestibilidade e balanços de compostos nitrogenados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.6, p.1259-1263, 1997.
- VAN NEVEL, C.J.; DEMEYER, D.I. Lipolysis and biohydrogenation of soybean oil in the rumen *in vitro*: inhibition by antimicrobials. **Journal of Dairy Science**, v.78, n.12, p.2797-2806, 1995.
- VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.

ZINN, R.A.; BARRERAS, L.; CORONA, F.N.; et al. Starch digestion by feedlot cattle: Predictions from analysis of feed and fecal starch and nitrogen. **Journal of Animal Science**, v.85, n.7, p.1727-1730, 2007.