

LUIZ HENRIQUE VARGAS

INFLUÊNCIA DE LIPÍDIOS, MONENSINA E NÍVEIS DE CONCENTRADO  
SOBRE A FERMENTAÇÃO RUMINAL E DESEMPENHO DE BOVINOS

Tese 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  
JANEIRO - 2001

LUIZ HENRIQUE VARGAS

INFLUÊNCIA DE LIPÍDIOS, MONENSINA E NÍVEIS DE CONCENTRADO  
SOBRE A FERMENTAÇÃO RUMINAL E DESEMPENHO DE BOVINOS

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de “Doctor Scientiae”.

APROVADA: 22 de março de 2000.

---

Prof. Antônio Bento Mâncio  
(Conselheiro)

---

Prof. José Maurício de Sousa Campos  
(Conselheiro)

---

Prof. Augusto César de Queiróz

---

Prof. Gulab Newandram Jham

---

Prof. Rogério de Paula Lana  
(Orientador)

A Deus,  
por ser o meu guia em todos os passos de minha vida.

A João e Alice (meus pais), Rodrigo e Paulo (meus irmãos), Ana Carolina  
(minha namorada), familiares e amigos,  
que sempre me deram amor, carinho e amizade.

## **AGRADECIMENTO**

A Deus, por ser a luz que nos permite seguir nosso caminho e a força maior que nos protege.

À Universidade Federal de Viçosa, através do Departamento de Zootecnia (DZO), pela oportunidade de realização deste curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao professor Rogério de Paula Lana, pela orientação e amizade.

Aos conselheiros Antônio Bento Mâncio e José Maurício de Sousa Campos, pelo auxílio, pelas críticas e pelas sugestões durante a realização deste trabalho.

Aos professores Gulab Newandram Jham, Augusto César de Queiroz e Arnaldo Chaer Borges, pela colaboração na elaboração desta tese.

Aos colegas de república, Francisco, Paulo, Hugo, Róbson, Rodolfo, Evandro, Felipe, Gil e Breno, pela amizade, pelo coleguismo e pela irmandade formada.

À imensa lista de amigos que consegui em Viçosa.

À professora Melba Gastal e aos técnicos de nível superior José Francisco da Silva (Juquinha) e Orlando Marcelo Vendramini, pela amizade e pelos ensinamentos.

A todos os funcionários do estábulo, em especial a Belmiro, José Antônio, Paulinho, Zinho, Gaguinho e Ataíde, pela ajuda inestimável.

A todos os funcionários do laboratório de Microbiologia, em especial a José Carlos (esquilo), Rita, Arlindo e às meninas da Secretaria, pela ajuda inestimável.

A todos os funcionários do Laboratório de Nutrição Animal, em especial a Fernando, Sérgio, Vera, Monteiro e Valdir, pela ajuda inestimável e pelo auxílio durante minhas análises.

A todos os funcionários do Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais, em especial ao Eduardo e à Mirtes, pela ajuda inestimável e por todas as noites e, todos os finais de semana que foram sacrificados por mim.

A todos os funcionários da Fábrica de Ração, em especial ao Mauro, por me salvar toda vez que a ração acabava fora de hora.

Aos estagiários Márcio, Chico, Rodrigo, Leonardo, Isabelle, Danilo, Maurício, Marcelo, Ricardo, Sávio, Gilberto, Marccone, Juliana e Lorena, pelo auxílio e pela grande amizade que nasceu deste trabalho.

Aos “manos” André, Natália, Vidal, Acyr e Marcus, pela amizade.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desta tese.

## **BIOGRAFIA**

LUIZ HENRIQUE VARGAS, filho de João Henrique Vargas e Alice Cândida Vargas, nasceu em Patrocínio, Minas Gerais, em 17 de abril de 1973.

Em dezembro de 1995, concluiu o curso de graduação em Agronomia na Universidade Federal de Mato Grosso, em Cuiabá -MT.

De janeiro de 1996 a janeiro de 1998, trabalhou na firma Tec-Agro – Representação e Consultoria Agronômica.

Em março de 1998, iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa - Minas Gerais, realizando seus estudos na área de Nutrição de Ruminantes.

## CONTEÚDO

	Página
EXTRATO .....	viii
ABSTRACT .....	x
INTRODUÇÃO .....	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	5
Adição de lipídios na ração de vacas leiteiras: parâmetros fermentativos ruminais, produção e composição do leite .....	8
RESUMO .....	8
ABSTRACT.....	9
Introdução .....	10
Material e métodos .....	14
Resultados e discussão .....	20
Conclusões .....	25
Referências bibliográficas.....	25
Influência de rumensin <sup>®</sup> , óleo de soja e níveis de concentrado sobre o consumo e os parâmetros fermentativos ruminais em bovinos .....	31
Resumo.....	31
ABSTRACT .....	32
Introdução .....	33
Material e métodos.....	36

	Página
Resultados e discussão .....	41
Conclusões .....	49
Referências bibliográficas.....	49

## EXTRATO

VARGAS, Luiz Henrique, M.S., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2000. **Influência de lipídios, monensina e níveis de concentrado sobre a fermentação ruminal e desempenho em bovinos.** Orientador: Rogério de Paula Lana. Conselheiros: Antônio Bento Mâncio e José Maurício de Sousa Campos.

O trabalho foi composto por dois experimentos, realizados no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa. O primeiro teve o objetivo de avaliar o efeito de dois níveis de lipídios (3 e 7%) na dieta de vacas em lactação e, dentro do nível de 7%, o de duas de fontes de lipídios (grão de soja moído e óleo de soja) sobre a produção e composição do leite, os parâmetros ruminais, como ácidos graxos voláteis (AGV), pH ruminal e amônia, a atividade de produção de amônia pela população microbiana ruminal e o consumo de MS. Foram usadas seis vacas multíparas com grau de sangue variando de ½ holandês-zebu até HPC, com aproximadamente 30 dias pós-parto, peso vivo médio de 500 kg e produção média de 20 litros de leite/dia, distribuídas em dois quadrados latinos 3 x 3. Cada período experimental teve duração de 23 dias, e as vacas tiveram 16 dias para adaptação à dieta e sete para coleta de amostras ruminais. A produção de leite foi medida diariamente duas vezes, durante os períodos de coleta do 15<sup>o</sup> ao 23<sup>o</sup> dia de cada período experimental, fazendo-se uma amostragem do leite para análises de proteína e gordura. Para determinação da concentração de amônia, pH e AGV do líquido ruminal, as amostras foram coletadas manualmente, através de

sonda esofágica, e filtradas em gaze. O pH foi determinado através de potenciômetro, as análises de amônia foram analisadas por colorimetria e os ácidos graxos voláteis por cromatografia gasosa. As produções de leite e leite corrigido para 4%, proteína, gordura, lactose, sólidos totais, sólidos desengordurados e densidade não foram afetadas pelo aumento de lipídios na dieta e nem pelas diferentes fontes de lipídios. Houve efeito depressivo do aumento de lipídios sobre a porcentagem de butirato e o consumo de MS, sendo o óleo de soja o que causou maior efeito. O pH sofreu acréscimo somente com a inclusão de grão de soja moído na dieta. Os níveis de acetato, propionato, A:P, isobutirato, isovalerato, amônia e atividade de produção de amônia também não sofreram efeito dos lipídios na dieta. O segundo experimento buscou avaliar a inclusão de óleo de soja (500 ml/animal/dia) e Rumensin<sup>®</sup> (3 g/animal/dia) na dieta de animais que receberam níveis crescentes de concentrado (0, 25, 50 e 75%), tendo cana-de-açúcar como volumoso. Foram avaliados os efeitos sobre os parâmetros ruminais, como ácidos graxos voláteis (AGV), pH ruminal e amônia, a atividade de produção de amônia e o consumo de MS. Foram utilizados quatro bovinos 7/8 holandês-zebu, com peso vivo médio de 400 kg, fistulados no rúmen. Cada um dos quatro períodos teve duração de 15 dias, sendo 12 para adaptação à dieta e três para coletas de amostras. A determinação do consumo foi feita pesando-se as dietas fornecidas e as sobras no dia seguinte. A determinação da concentração de amônia, pH e AGV do líquido ruminal foi feita em amostras coletadas através da fístula e filtradas em gaze, nos tempos de 0, 3 e 6 horas após a alimentação. A leitura do pH foi feita com potenciômetro, as análises de amônia foram feitas por colorimetria, e as de ácidos graxos voláteis, por cromatografia gasosa. O teor de acetato decresceu, mas os teores de isobutirato, isovalerato e amônia e o consumo de matéria seca aumentaram com o aumento do nível de concentrado. O propionato aumentou e a relação acetato:propionato diminuiu com a presença de monensina. O óleo aumentou o butirato quando a dieta continha somente volumoso e diminuiu com o aumento de concentrado. O pH diminuiu com o tempo de coleta, e a atividade de produção de amônia decresceu com o aumento do nível de concentrado e aumentou na presença de óleo.

## ABSTRACT

VARGAS, Luiz Henrique, M.S., Universidade Federal de Viçosa, August of 2000. **Influence of Rumensin, soybean oil and levels of concentrate on the consumption and parameters of rumen fermentation in bovines.** Adviser: Rogério de Paula Lana. Commilttee Members: Antônio Bento Mâncio and José Maurício de Sousa Campos.

The experiment performed in the Departament of Zootechny at the Universidade Federal de Viçosa. The objective is evaluate the effect of two levels of lipids (3% and 7%) on the diet of cows in lactation, and within the level evaluate two the lipids sources (ground soybeans grain and soybean oil), on the production and composition of milk, the rumen parameters, such as, volatile fatty acids (VFA), rumen pH and ammonia, The ammonia production activity by the rumen microbial population and the comsumption of DM. Six multiparous cows were used, having blood degreesvarying from ½ Holstein-Zebu to **HPC**, at approximately 30 days after giving birth, with average live weight of 500kg and average production of 20 litres of milk/day, distributed in two 3x3 latin square. Each experimental period was of a 23-day duration, such that the cow had 16 days for adaptation to the diet and seven days for the collection of rumen samples. Milk production was measured twice daily during the collection periods from the 15<sup>th</sup> to the 23<sup>rd</sup> day of each experimental period, with samples taken for protein and fat analyses. To determine the ammonia, pH and VFA concentration of the rumen liquid, the samples were collected manually, through esophageal

fistula and filtered through gauze. The pH was determined using a potentiometer, the ammonia analyses were analyzed through colourimetry and the volatile fatty acid by gas chromatography. Milk production and milk corrected to 4%, proteins, fats, lactose, total solids, non-fatty solids and density were not affected by the increase of lipids in the diet and neither by the different lipid sources. There was a depressive effect of the lipids increase upon the butyrate percentage and consumption of DM, with the soybean oil causing the greater effect. The pH showed no increase only with the inclusion of the ground soybeans grains in the diet. The levels of acetate, propionate, A:P, isobutyrate, isovalerate, ammonia and ammonia production activity also revealed no effect from the lipids in the diet.

## INTRODUÇÃO

A pesquisa científica tem obtido grandes avanços no campo da nutrição animal. Esta evolução deve-se principalmente à descoberta de nutrientes essenciais. Como a descoberta de novos nutrientes é incerta, o novo enfoque das pesquisas está no estudo dos processos fisiológicos e na maioria como são afetados por diferentes fatores. Estes estudos estão levando à descoberta de compostos que controlam o metabolismo, aumentando a eficiência de utilização dos alimentos e, finalmente, aumentando a produção dos animais.

Apesar de os herbívoros se alimentarem de vegetais ricos em celulose e hemicelulose, eles são incapazes de sintetizar enzimas responsáveis pela digestão destes compostos. Para contornar este problema, eles desenvolveram associações simbióticas com microrganismos que desempenham essa função. Os ruminantes, herbívoros com fermentação pré-gástrica, proporcionam à microbiota ruminal condições ideais, como temperatura, pH e anaerobiose, para a fermentação. Os microrganismos, em contrapartida, suprem os animais com AGV, proteína microbiana, vitaminas, etc.

Apesar de os microrganismos ruminais serem benéficos ao hospedeiro, a produção de metano é responsável por perda energética de até 10% em relação ao alimento ingerido, sendo um dos responsáveis pelo efeito estufa e pela destruição da camada de ozônio da estratosfera (KIRCHGEBNER et al., 1995). A manipulação da fermentação ruminal tem sido empregada para aumentar a

produtividade animal e reduzir a poluição ambiental, através da maximização da fermentação de compostos celulósicos, redução das perdas por fermentação (metano e amônia) e síntese de proteína microbiana.

Segundo PALMQUIST (1993), a adição de lipídios à dieta de ruminantes sob a forma de gorduras livres, como óleo vegetal ou sebo, provoca diminuição da digestibilidade da fração fibrosa da dieta. Entretanto, experimentos *in vitro* demonstraram aumento na eficiência de síntese microbiana e redução na concentração de amônia ruminal em animais que receberam óleo na dieta. Provavelmente isto ocorre devido ao efeito sobre a defaunação (redução na população de protozoários) e, ou, à redução na população de bactérias desaminadoras (VAN NEVEL e DEMEYER, 1988). Ácidos graxos de cadeia longa inibem, ainda, a produção de metano no rúmen, enquanto, simultaneamente, aumentam as proporções molares do propionato (DEMEYER et al., 1967; DEMEYER et al., 1969).

Portanto, lipídios podem ser usados como manipuladores da fermentação ruminal, podendo, além da possibilidade de aumentar a densidade energética da dieta, permitir aumento do consumo de energia de animais de alta produção com maior demanda de energia (PALMQUIST, 1984). Neste caso, o alto conteúdo de grãos na ração pode ser substituído, evitando os efeitos do consumo de dietas ricas em amido na fermentação ruminal (THOMAS e ROOK, 1977).

A adição de lipídios à dieta, além de fornecer mais energia que carboidratos, melhora a absorção de vitaminas lipossolúveis, diminui a pulverulência do concentrado e aumenta a palatabilidade da ração (ANDRIGUETO et al., 1983). As gorduras e os óleos, quando adicionados de 3 a 5% à ração, aumentam a eficiência de utilização da energia consumida, por demandarem menor incremento calórico no metabolismo lipídico. A diminuição da taxa de passagem causada por lipídios possibilita maior absorção de todos os nutrientes da dieta, devido à maior permanência do alimento no trato gastrointestinal.

Os ionóforos são antibióticos que inibem as bactérias gram-positivas (RUSSELL e STROBEL, 1988), por meio da catalisação das trocas de sódio e

prótons ou prótons e potássio na membrana (PRESSMAN, 1976). Há mais de 70 tipos de ionóforos, mas somente a monensina e a lasalocida foram liberadas para a alimentação animal, sendo comercializadas com o nome de Rumensin<sup>®</sup> e Bovatec<sup>®</sup> (LANA, 1998).

A monensina inibe as bactérias produtoras de hidrogênio, formato, acetato, butirato, lactato e amônia, enquanto as produtoras de succinato e propionato, e utilizadoras de lactato, são resistentes (RUSSELL e STROBEL, 1989). O benefício da monensina sobre o desempenho animal tem sido atribuído ao aumento da eficiência energética, através da melhora da digestibilidade dos alimentos (WEDEGAERTNER e JOHNSON, 1983) e redução da relação acetato:propionato e produção de metano no rúmen (LANA et al., 1998). Um outro importante benefício dos ionóforos é através da redução da perda de aminoácidos por deaminação pelas bactérias ruminais (RUSSELL e STROBEL, 1989).

Um ponto geralmente observado é que, em dietas à base de grãos, os ionóforos diminuem o consumo sem promover diminuição no ganho de peso, melhorando, portanto, a conversão alimentar. Em dietas com maior quantidade de forragem, a conversão alimentar também aumenta, porém por meio do aumento no ganho de peso com o mesmo consumo (NAGARAJA et al., 1981). Estas observações têm sido explicadas através dos mecanismos quimiostáticos e de enchimento físico propostos por MONTGOMERY e BAUMGARDT (1965) e CONRAD (1966). No caso de animais em pastagens, têm sido observados aumentos de ganho de peso da ordem de 10 a 15% (Hill, 1979, citado por MACHADO e MADEIRA, 1990).

Outro benefício potencial do fornecimento de monensina está relacionado com o pH ruminal. Em ruminantes alimentados com forragens, o pH ruminal fica próximo da neutralidade, mas, após receberem rações com altos níveis de grãos, ele pode diminuir drasticamente (SLYTER, 1976). A acidose ruminal é associada a aumento de lactato, que é um ácido mais forte que os ácidos graxos típicos. Monensina e lasalocida reduzem a produção de lactato

(NAGARAJA et al.,1982) e inibem o crescimento de *Streptococcus bovis*, bactéria relacionada com acidose aguda no rúmen (RUSSELL, 1996).

CLARY et al. (1993) observaram interação entre lipídios e ionóforos na *performance* alimentar. Quando forneceram monensina mais tilosina ou sebo, a eficiência alimentar aumentou acima de 8%. Entretanto, não houve efeito adicional de monensina mais tilosina quando o sebo estava presente na dieta. Este efeito, associado com redução da relação acetato:propionato em dietas com altos níveis de concentrado, pode explicar por que GOODRICH et al. (1984) e PAUN (1992), citado por LANA et al. (1998), constataram redução do efeito da monensina sobre a eficiência alimentar quando aumentaram a energia digestiva da dieta.

Com base nestas hipóteses, este trabalho, dividido em dois experimentos, foi proposto para avaliar lipídios como suplemento energético e seus efeitos na fermentação ruminal, assim como o produto Rumensin<sup>®</sup>, que possui o antibiótico ionóforo monensina. No primeiro experimento foram utilizadas seis vacas com grau de sangue variando de ½ holandês-zebu a HPC, alimentadas com três dietas (tratamentos), contendo silagem de sorgo como volumoso, controle com 3% de lipídios, e outras tendo a dieta 7%, com uso de grão integral de soja moído ou óleo de soja degomado. No segundo, foram utilizados quatro bovinos fistulados, alimentados com cana-de-açúcar como volumoso e níveis crescentes de concentrado, avaliando-se o fornecimento de 500 ml de óleo de soja e 3 g de Rumensin<sup>®</sup>.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRIGUETO, J. M., PERLY, L., MINARDI, I., FLEMMING, J. S., GEMAEL, A.; SOUZA, G.A., BONA FILHO, A. **Nutrição Animal**, v.2, 1983. 425p.
- CLARY, E. M., BRANDT JUNIOR, R. T., HARMON, D. L., NAGARAJA, T. G. Supplemental fat and ionophores in finishing diets: feedlot performance and ruminal digesta kinetics in steers. **J. Anim. Sci.**, v.71, p.3115-31, 1993.
- CONRAD, H. R. Physiological and physical factors limiting feed intake. In: Symposium on factors influencing the voluntary intake of herbage by ruminants. **J. Anim. Sci.**, v.25, p.227, 1966.
- DEMEYER, D. I., HENDERICKX, H. K., VAN NEVEL, C.J. Influence of pH on fatty acid inhibition of methane production by mixed rumen bacteria. **Arch. Int. Physiol. Biochim.**, v.75, p.555-6, 1967.
- DEMEYER, D. I., VAN NEVEL, C. J, HENDERICKX, H. K., MARTÍN, J. A. The effect of unsaturated fatty acids upon methane and propionic acid in the rumen. In: BLAXTER, K. L. (Ed.). **Energy metabolism of farm animals**. Newcastle-upon-Tyne: Oriel Press, 1969. p.139-47.
- GOODRICH, R. D., GARRETT, J. E., GAST, D. R., KIRICK, M.A., LARSON, D.A., MEISKE, J.C Influence of monensin on the performance of cattle. **J. Anim. Sci.**, v.58, n.6, p.1484-98, 1984.
- KIRCHGEBNER, M., WINDISCH, W., MULLER, H. L. Nutritional factors for the quantification of methane production. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON RUMINANT PHYSIOLOGY, 8, 1995, Stuttgart, Germany. **Proceedings....** 1995. p.333-348.

- LANA, R. P., RUSSELL, J. B., VAN HAMBURGH, M. E. The role of pH in regulating ruminal methane and ammonia production. **J. Anim. Sci.**, v.76, 1998.
- MACHADO, P. F., MADEIRA, H. M. F. Manipulação de nutrientes em nível de rúmen – efeito do uso de ionóforos. In: **Novas tecnologias de produção animal**. Piracicaba: FEALQ, 1990. p.41-58.
- MONTGOMERY, M. J. e BAUNGARD, B. R. Regulation of food intake in ruminants. 1- Pelleted rations varying in energy concentration. **J. Dairy Sci.** v.48, p.569, 1965.
- NAGARAJA, M. J.; AVERY, T. B.; BARTLEY, E. G.; GALITZER, S. J. e DAYTON, A. D. Prevention of lactic acidosis in cattle by lasalocid or monensin. **J. Anim. Sci.**, v.56, p.206, 1981.
- NAGAJARA, T. G.; AVERY, T. B.; BARTLEY, E. E. Effect of lasalocid, monensin, or thiopeptin on lactic acidosis in cattle. **J. Anim. Sci.**, v.54, p.649-58, 1982.
- PALMQUIST, D. L. Use of fats in diets for lactating dairy cows. In: WISEMAN, J. (Ed.). **Fats in animal nutrition**. London: Butterworths, 1984. p.357-81.
- PALMQUIST, D. L. Suplementação de lipídios para vacas em lactação. **Nutrição de bovinos**. Lavras: FEALQ, 1993. p.321-338.
- PRESSMAN, B. C. Biological applications of ionophores. **Ann. Rev. Biochem.**, v.45, p.501-30, 1976.
- RUSSELL, J. B. Bacteria: Mechanisms of ionophore action in ruminal bacteria. Scientific Update on Rumensin/ Tylan/ Micotil for the professional feedlot consultant (internet), Agricultural Research Service, USDA and Section of Microbiology, Cornell University, Ithaca, NY, 14853. 1996.
- RUSSELL, J. B., STROBEL, H. J. Effects of additives on in vitro ruminal fermentation: a comparison of monensin and bacitracin, another gram-positive antibiotic. **J. Anim. Sci.**, v.66, p.552-8, 1988.
- RUSSELL, J. B., STROBEL, H. J. Minireview: effect of ionophores on ruminal fermentation. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.55, p.1-6, 1989.
- SLYTER, L. L. Influence of acidosis on rumen function. **J. Anim. Sci.**, v. 43, p.910-29, 1976.

THOMAS, P. C., ROOK, J. A. F. Manipulation of rumen fermentation. In.: HARESIGN, W., COLE, D. J. A (Eds). **Advances in animal nutrition**, London: Butterworths, 1977. p.157-83.

VAN NEVEL, C. J., DEMEYER, D. I. Manipulation of ruminal fermentation. In: HOBSON, P. N. **The ruminal microbial ecosystem**, Essex, England: Elsevier, 1988. p.387-443.

WEDEGAERTNER, T. C., JOHNSON, D. E. Monensin effects on digestibility, methanogenesis and heat increment of a cracked corn-silage diet fed to steers. **J. Anim. Sci.**, v.57, p.168-77, 1983.

## **Adição de lipídios na ração de vacas leiteiras: parâmetros fermentativos ruminais, produção e composição do leite**

**RESUMO** - O experimento foi realizado no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa. Objetivou-se avaliar o efeito de dois níveis de lipídios (3 e 7%) na dieta de vacas em lactação e, dentro do nível de 7%, o de duas fontes de lipídios (grão de soja moído e óleo de soja) sobre a produção e composição do leite, os parâmetros ruminais, como ácidos graxos voláteis (AGV), pH ruminal e amônia, a atividade de produção de amônia pela população microbiana ruminal e o consumo de MS. Foram usadas seis vacas multíparas com grau de sangue variando de ½ holandês-zebu a HPC, com aproximadamente 30 dias pós-parto, com peso vivo médio de 500 kg e produção média de 20 litros de leite/dia, distribuídas em dois quadrados latinos 3 x 3. Cada período experimental teve duração de 23 dias, e as vacas tiveram 16 dias para adaptação à dieta e sete dias para coleta de amostras ruminais. A produção de leite foi medida diariamente duas vezes, durante os períodos de coleta do 15<sup>o</sup> ao 23<sup>o</sup> dia de cada período experimental, fazendo-se uma amostragem do leite para análises de proteína e gordura. Para determinação da concentração de amônia, pH e AGV do líquido ruminal, as amostras foram coletadas manualmente, através de sonda esofágica, e filtradas em gaze. O pH foi determinado imediatamente por meio de potenciômetro, as análises de amônia foram analisadas por colorimetria, e as de ácidos graxos voláteis, por cromatografia gasosa. As produções de leite e leite corrigido para 4%, proteína, gordura, lactose, sólidos totais, sólidos desengordurados e densidade não foram afetadas pelo aumento de lipídios na dieta e nem pelas diferentes fontes de lipídios. Houve efeito depressivo do aumento de lipídios sobre a porcentagem de butirato e o consumo de MS, e o óleo de soja foi o que causou maior efeito. O pH sofreu acréscimo somente com a inclusão de grão de soja moído na dieta. Os níveis de acetato, propionato, A:P, isobutirato, isovalerato e amônia e a atividade de produção de amônia também não sofreram efeito dos lipídios na dieta.

Palavras-chave: bovinos, nutrição, rumen, fermentação, efeitos de lipídios, ácidos graxos voláteis

## **Addition of lipids in the rations of dairy cows: Rumen fermentation parameters, production and milk composition**

**ABSTRACT** - The experiment performed in the Department of Zootechny at the Universidade Federal de Viçosa. The objective is evaluate the effect of two levels of lipids (3% and 7%) on the diet of cows in lactation, and within the level evaluate two the lipids sources (ground soybeans grain and soybean oil), on the production and composition of milk, the rumen parameters, such as, volatile fatty acids (VFA), rumen pH and ammonia, The ammonia production activity by the rumen microbial population and the consumption of DM. Six multiparous cows were used, having blood degreesvarying from ½ Holstein-Zebu to HPC, at approximately 30 days after giving birth, with average live weight of 500kg and average production of 20 litres of milk/day, distributed in two 3x3 latin square. Each experimental period was of a 23-day duration, such that the cow had 16 days for adaptation to the diet and seven days for the collection of rumen samples. Milk production was measured twice daily during the collection periods from the 15<sup>th</sup> to the 23<sup>rd</sup> day of each experimental period, with samples taken for protein and fat analyses. To determine the ammonia, pH and VFA concentration of the rumen liquid, the samples were collected manually, through esophageal fistula and filtered through gauze. The ph was determined using a potentiometer, the ammonia analyses were analyzed through colourimetry and the volatile fatty acid by gas chromatography. Milk production and milk corrected to 4%, proteins, fats, lactose, total solids, non-fatty solids and density were not affected by the increase of lipids in the diet and neither by the different lipid sources. There was a depressive effect of the lipids increase upon the butyrate percentage and consumption of DM, with the soybean oil causing the greater effect. The pH showed an increase only with the inclusion of the ground soybeans grains in the diet. The levels of acetate, propionate, A:P, isobutyrate, isovalerate, ammonia and ammonia production activity also revealed no effect from the lipids in the diet.

**Key Words:** bovines, nutrition, rumen, fermetation, lipds effects, volatile fatty acids

## Introdução

Após o parto, vacas leiteiras de alta produção demandam grande quantidade de nutrientes para a síntese do leite. Para que esses nutrientes sejam supridos, é necessário que haja elevado consumo de alimentos de boa qualidade e de alta densidade energética. No entanto, nesse momento de maior necessidade, a vaca apresenta menor consumo de matéria seca, o que faz com que sua necessidade seja maior que a ingestão de nutrientes, levando-a a permanecer por longo tempo em balanço negativo de energia. Portanto, uma correta formulação de rações para animais nestas condições é fundamental para o suprimento das exigências energéticas.

A fim de aumentar a concentração energética da dieta, é necessário aumentar a proporção de alimentos concentrados. Contudo, o fornecimento máximo de concentrado deve ser limitado, respeitando a necessidade de um mínimo de fibra para o funcionamento ideal do ambiente ruminal e a manutenção dos teores de gordura do leite. Lipídios (óleo ou gordura) têm sido utilizados para aumentar a densidade energética das dietas, uma vez que a gordura possui 2,25 vezes mais conteúdo energético que os carboidratos (REDDY et al., 1994; SIMAS, 1998).

Várias fontes de lipídios têm sido extensamente pesquisadas, a exemplo da gordura animal e das sementes oleaginosas, como algodão e soja. O grão de soja contém, aproximadamente, 19% de gordura e 39% de proteína bruta (PB) (STERN e ILLG, 1991). Como a soja possui 10% mais energia líquida por quilo de matéria seca que o farelo (National..., 1989) e é cultivada em quase todas as regiões do território nacional, a substituição do farelo de soja pelo grão de soja pode ser vantajosa, desde que não haja diminuição na produção de leite e que o preço seja vantajoso.

O uso de óleo em rações de ruminantes proporciona efeitos desejáveis e indesejáveis. Os efeitos indesejáveis são a redução na digestibilidade da matéria seca (MS), redução na relação acetato:propionato com conseqüente diminuição da gordura do leite, etc. Segundo PALMQUIST (1991), a produção de leite não

foi afetada pela fonte de gordura, porém esta foi mais baixa quando os animais consumiram rações com maior teor de gordura. SCHAUFF et al. (1992), em experimento com grão de soja integral e sebo bovino (2,5 e 4,0%), concluíram que as digestibilidades de MS, MO, celulose, conteúdo celular e PB diminuíram quando gordura foi adicionada à dieta. Entretanto, as digestibilidades de FDA, FDN e hemicelulose não foram afetadas. Lucas e Loosi (1944), Swift et al. (1947 e 1948) e Erwin et al. (1956), citados por SCHNEIDER e FLATT (1975), verificaram que rações contendo gorduras livres (óleos e sebos) promoviam aumento da digestibilidade de vários nutrientes da dieta. No entanto, quando o teor de gordura na MS era superior a 7%, o consumo e a digestibilidade, principalmente da fibra, diminuía tanto que se tornavam inferiores aos da ração controle, que não continha óleo.

Por outro lado, o óleo apresenta uma série de vantagens, como inibição da produção de metano, redução da concentração de  $\text{NH}_3$  ruminal, aumento na eficiência da síntese microbiana e aumento de ácido linoléico conjugado (CLA) no leite, que é um importante agente anticarcinogênico (LIN et al., 1995). Ácido linoléico conjugado é um termo que descreve os isômeros geométricos do ácido linoléico, e o conjugamento da ligação dupla é geralmente na posição 9 e 11 ou 10 e 12, podendo ser configuração cis ou trans (PARODI, 1997). A maioria das substâncias naturais que exibem atividades anticarcinogênicas é originada de planta; entretanto, o ácido linoléico conjugado (CLA) é um ácido graxo formado pelos microrganismos ruminantes como intermediários da não-hidrogenação de ácidos graxos insaturados da dieta (KELLY e BAUMAN, 1996). O conteúdo de CLA em produtos lácteos, tecido adiposo de animais ruminantes e não-ruminantes, óleos vegetais e outros alimentos é relatado por CHIN et al. (1992), FORGETY et al. (1998) e LIN et al. (1995). O aumento significativo no conteúdo de CLA no leite poderia ter impacto positivo nas áreas de pesquisa do câncer e nutrição humana e na imagem dos produtos lácteos (KELLY e BAUMAN, 1996).

Estudos realizados por RABELLO (1995), MORA (1995) e SILVA (1997) mostraram que produção e composição do leite corrigidas para 4% de

gordura, consumos de matéria seca total (MST), matéria seca do concentrado (MSC), matéria orgânica (MO), carboidratos totais (CHOT), nutrientes digestíveis totais (NDT), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), pH, amônia e síntese microbiana não foram afetados pela inclusão de grãos de soja moídos na ração concentrada. No entanto, o consumo de extrato etéreo (EE) aumentou linearmente com o aumento dos níveis de grão de soja, e as taxas de passagem da digesta ruminal diferiram entre si.

MALAFIA (1995), trabalhando com sebo bovino, concluiu que os consumos médios diários de MS, MO, PB, CHOT, FDN e NDT, a produção de leite corrigida para 3,5% de gordura e os teores de proteína bruta e gordura do leite não foram influenciados pela inclusão de sebo no concentrado. O consumo de EE e a produção de leite não-corrigida foram influenciados pela adição de sebo no concentrado. Durante um período de duas a quatro horas após a alimentação, os tratamentos que continham sebo resultaram em menores concentrações de amônia ruminal e maiores valores de pH do líquido ruminal.

BATISTA (1981), trabalhando com soja tratada com 0, 2 e 4% de formaldeído na alimentação de novilhos, concluiu que a liberação de amônia foi superior no tratamento sem formaldeído, em relação aos demais, e que para os níveis de 2 e 4% não houve diferença significativa. As digestibilidades aparentes da MS, MO e PB foram reduzidas com a soja tratada e aumentaram com o maior nível de concentrado na dieta.

MURPHY e MORGAN (1983) utilizaram 20 vacas holandesas, aos 32 dias pós-parto, para testar três concentrados: cevada mais farelo de soja (controle), cevada mais farelo de soja com sebo não-protégido e cevada mais farelo de soja com sebo protégido com formaldeído. O concentrado com sebo não-protégido não obteve efeito significativo sobre a produção de leite e a concentração de gordura e lactose no leite, porém estas foram aumentadas com o sebo protégido; a concentração de proteína diminuiu.

VAN NEVEL e DEMEYER (1988) observaram aumento de eficiência da síntese microbiana e redução da concentração de  $\text{NH}_3$  ruminal em animais que receberam óleo na dieta. Isto ocorreu, provavelmente, devido ao efeito sobre a

defaunação (redução na produção de protozoários) e, ou, à redução na população de bactérias deaminadoras. Estes resultados foram confirmados por LANA e RUSSELL (1996), ao verificarem que o óleo de milho, similarmente aos ionóforos monensina e lasalocida, aumentou a resistência das bactérias ruminais à perda do potássio intracelular quando elas foram submetidas a níveis crescentes de ionóforos *in vitro*.

O grão de soja integral é uma excelente fonte de proteína, semelhante à farinha de linhaça e ligeiramente superior ao farelo de algodão. O grão possui aproximadamente 10% a mais de EL/kg de MS que o farelo (NRC, 1989), sendo, portanto, economicamente viável seu uso em substituição ao farelo de soja, pois normalmente seu preço é inferior.

O fornecimento do grão de soja cru pode elevar a produção total de leite e o teor de gordura. O grão é rico em lipídios, que, adicionados à ração, provocam aumento da energia líquida consumida, o que resulta em aumento na produção de leite, uma vez que o incremento da energia consumida permite melhorar a eficiência de produção (DePETERS e CANT, 1992).

As recomendações da literatura sobre as quantidades de grão de soja cru moído na dieta para vacas lactantes são diversas, podendo variar de 1,8 a 2,5 kg/dia (PALMQUIST e JENKINS, 1980). No entanto, DERERSZ et al. (1996) afirmam que até 5,1 kg/vaca/dia, divididos em três fornecimentos, não afetaram a produção nem a composição do leite. Outra recomendação é de que o concentrado pode conter de 20 a 50% de grão de soja cru (CAMPOS et al., 1995).

Com o intuito de avaliar o consumo de nutrientes e o coeficiente de digestibilidade em vacas lactantes alimentadas com grão de soja moído, PEREIRA et al. (1997) trabalharam com dois tratamentos (0 e 30% de grão de soja moído no concentrado e silagem de milho oferecida à vontade) e observaram redução no consumo para o tratamento com 30% de grão de soja moída no concentrado, não havendo diferença para digestibilidade aparente dos nutrientes. Verificaram também a redução de 24,8 para 19,6 litros na produção de leite corrigida para 3,5% de gordura em vacas que receberam ração concentrada com 30% de grão de soja moída, embora a composição do leite não tenha sido afetada.

O objetivo do trabalho foi verificar os efeitos de níveis e fontes de óleo vegetal na ração de vacas leiteiras em início de lactação sobre os parâmetros de fermentação ruminal, como ácidos graxos voláteis (AGV), pH ruminal e amônia (NH<sub>3</sub>), atividade de produção de amônia pela população microbiana ruminal (AEPA), consumo de MS e composição e produção de leite.

### **Material e métodos**

O experimento foi realizado no setor de bovinos do Departamento de Zootecnia (DZO), e as análises laboratoriais foram feitas no Laboratório de Nutrição Animal (DZO) e no Laboratório de Microbiologia de Anaeróbios do Departamento de Microbiologia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, MG.

A cidade de Viçosa localiza-se na Zona da Mata do Estado de Minas Gerais, a 20°45' de latitude sul e 42°51' de longitude oeste, em altitude de 649 m. De acordo com dados fornecidos pelo Departamento de Engenharia Agrícola da Universidade Federal de Viçosa, o clima de Viçosa é subtropical, com inverno frio e seco e verão quente e úmido, sendo classificado como Cwa subtropical. Apresenta precipitação pluviométrica anual média de 1.342 mm, com 80% das chuvas caindo entre os meses de outubro e março (período chuvoso) e os 20% restantes entre os meses de abril e setembro (período seco). A temperatura média das máximas é de 26,1°C, a média das mínimas, de 14°C, e a umidade relativa do ar, de 80%.

### **Animais e instalações**

Foram utilizadas seis vacas multíparas com grau de sangue variando de ½ holandês-zebu a HPC, aproximadamente 30 dias após o parto, com peso vivo médio de 500 kg e produção média de 20 litros de leite/dia. Os animais

foram mantidos durante o dia em baias individuais cobertas, com piso de concreto, comedouros e bebedouros. À noite elas eram mantidas, das 22 às 6 horas, em um curral, nas dependências do estábulo, com acesso à água.

Antes de iniciar o experimento, todos os animais foram vermifugados, pesados e colocados em baias individuais. A higienização de baias, comedouros e bebedouros foi feita diariamente. Os animais foram alimentados em baias individuais nos horários de 7 e 15 horas, recebendo o concentrado e o volumoso em dieta completa, e ordenhados duas vezes/dia.

## Tratamentos e períodos experimentais

Os animais foram distribuídos em dois quadrados latinos 3 x 3, para recebimento das diferentes dietas. Foram usadas três rações isoprotéicas e isoenergéticas, diferindo-se pela fonte e pelo teor de lipídios. O tratamento 1 (controle) continha 3% de extrato etéreo, e as rações dos demais tratamentos foram balanceadas para atingir um teor de 7% de extrato etéreo, usando soja integral moída (tratamento 2) e óleo de soja degomado (tratamento 3). As rações foram balanceadas, para atender as exigências nutricionais das vacas, de acordo com o NRC (1989). A composição das rações encontra-se na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição da ração total

Ingredientes (%)	Tratamento 1	Tratamento 2	Tratamento 3
Silagem de sorgo	59,5	70,0	74,4
Milho	22,2	5,5	--
Farelo de soja	17,2	--	20,0
Soja em grão	--	23,5	--
Óleo de soja	--	--	4,6
Mistura mineral <sup>1</sup>	1,1	1,0	1,0
NDT	70,0	70,0	70,0
PB	15,0	15,0	15,0
EE	3,0	7,0	7,0

1- 50% de fosfato bicálcico, 49,64% de sal de cozinha (NaCl) e 0,36% de premix.

O experimento foi dividido em três períodos, com duração de 23 dias, sendo 16 dias de adaptação à dieta e sete dias de coletas de dados.

### **Coleta de amostras da ração total**

Diariamente, nos períodos de adaptação e de coletas, foram feitas pesagens e amostragens da silagem, do concentrado oferecido e das sobras. Após a amostragem, o material foi colocado em sacos plásticos, devidamente identificados e congelados a  $-2^{\circ}\text{C}$ ; ao final de cada fase, eles foram descongelados e homogeneizados, a fim de se retirar uma amostra composta por animal/período, para posterior análise de matéria seca, segundo SILVA (1990).

### **Coleta de amostras de leite**

A produção de leite foi medida diariamente duas vezes, durante os períodos de coleta, sendo feita uma amostragem do leite, para análises de proteína e gordura. Foram consideradas, para efeito de avaliação dos dados, apenas as produções de leite do 15° ao 23° dia de cada período experimental. Para corrigir o leite para 4% de gordura, utilizou-se a fórmula (citada pelo NRC, 1989):

$$\text{PLC}_{4\%} = \text{PL} \times [0,4 + (\%G_{\text{leite}} \times 0,15)]$$

### **Análise físico-química do leite**

As análises de proteínas, gordura, lactose e sólidos totais foram determinadas por espectrometria de infravermelho, em um aparelho B 2300 Combi (Bentley).

A densidade das amostras foi determinada pela leitura direta em um termolactodensímetro, corrigindo-se o efeito da temperatura. O teor de

sólidos desengordurados foi obtido pela subtração do percentual de gordura do percentual de sólidos totais.

### **Coleta de amostras de líquido ruminal**

Para determinação da concentração de amônia (N-NH<sub>3</sub>), pH e AGV do líquido ruminal, as amostras foram coletadas manualmente, através de sonda esofágica, e filtradas em gaze. Os tempos de coleta foram de 0, 3 e 6 horas após a alimentação da manhã. Para leitura imediata do pH do líquido ruminal, utilizou-se um potenciômetro. As amostras do líquido ruminal, para a análise de amônia e AGV, foram colocadas em dois tubos eppendorfs de 1,5 ml e centrifugadas a 5.200xg por 10 minutos, retirando-se os sobrenadantes com uma seringa até completar um terceiro tubo eppendorf, para posterior congelamento. Foi feita análise de amônia pelo método colorimétrico de CHANEY e MARBACH (1962), e a análise de AGV foi realizada por meio da modificação do método descrito por ERWIN et al. (1961).

### **Análise de ácidos graxos**

Em tubos eppendorf de 1,5 ml foram colocados 500 µl de amostra do líquido ruminal e 500 µl de ácido fosfórico (25%), que foram homogeneizados e, após 20 min, centrifugados a 13.000 xg por 20 minutos.

As análises dos líquidos sobrenadantes foram realizadas em um cromatógrafo a gás, modelo Shimadzu GC17 A, com auto-injetor Shimadzu AOC17, que, através de um módulo de comunicação Shimadzu CBM-101, foi acoplado a um microcomputador Pentium 100 com o *software* Class – GC10 versão 1.61.

Os AGVs foram separados em uma coluna Nukol™ capilar, de sílica fundida (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm Film Thickness, Supelco, Inc., Bellefonte, PA).

As condições utilizadas para a separação cromatográfica foram:

- Temperatura da coluna: 100°C por 5 min, 185°C por 0 min
- Temperatura do injetor: 220°C
- Temperatura do detector: 250°C
- Tempo total: 13,5 min
- Modo de controle: *Split*
- Pressão na coluna (Kpa): 150
- Fluxo na coluna (ml/min): 1,90647
- Velocidade linear (cm/s): 43,228
- Fluxo total: 113
- Taxa de *split*: 1:40

Os padrões de AGV foram do *kit* de ácidos orgânicos Supelco. A Figura 1 apresenta um cromatograma do líquido de rúmen de animal submetido a ração controle.

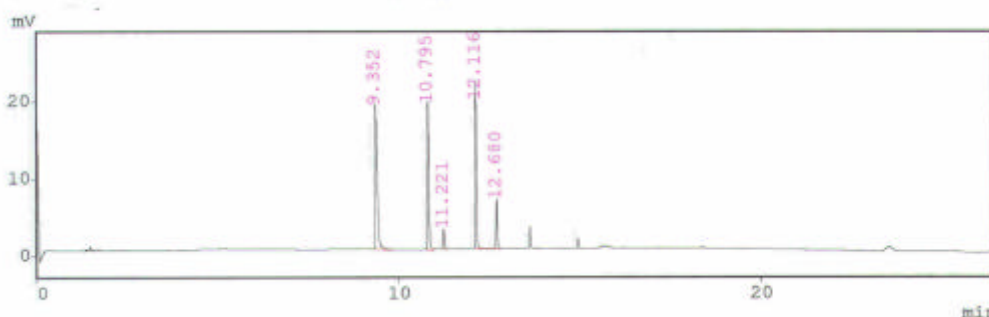


Figura 1 – Cromatograma de líquido ruminal.

### **Atividade específica de produção de amônia (AEPA) por bactérias ruminais**

Para a análise da atividade específica de produção de amônia (AEPA) por bactérias ruminais, amostras separadas de líquido ruminal foram coletadas como descrito anteriormente. Estas amostras foram transportadas para o laboratório a 39°C e centrifugadas anaerobicamente a 500 xg (5 min, 5°C), para eliminar partículas alimentares e protozoários.

A concentração de proteína bacteriana foi determinada por meio do método colorimétrico descrito por LOWRY et al. (1951). Para isso, centrifugou-se 1,5 ml do líquido sobrenadante a 13.000 xg, por cinco minutos, seguindo-se de sucessivas ressuspensões e centrifugações do *pellet* bacteriano em solução de NaCl a 0,9% (p/v), restabelecimento do volume final com a solução fisiológica para 1,5 ml e armazenamento em tubos eppendorf a -15°C, para posterior análise.

Foram transferidos (em triplicata) 9 ml do líquido sobrenadante da centrifugação a 500 xg para tubos Vacuntainer®, que foram preenchidos com CO<sub>2</sub> e vedados com rolha de borracha. No tempo 0, 1 ml de uma solução anaeróbica de TRYPTICASE (BBL Microbiology Systems, Cockeysville, MD) foi adicionado aos tubos (15 g/l de concentração final), sendo estes incubados a 39°C por quatro horas. Foram coletados 2 ml do meio imediatamente antes e após a incubação, fazendo-se a centrifugação a 13.000 xg por cinco minutos, para remoção das bactérias. O líquido sobrenadante foi armazenado a -15°C, para mensuração de amônia pelo método colorimétrico de CHANEY e MARBACH (1962).

A AEPA foi determinada medindo-se a quantidade de NH<sub>3</sub> produzida por mg de proteína bacteriana por minuto (LANA e RUSSELL, 1997), conforme a fórmula a seguir:

$$AEPA = \frac{\mu\text{NH}_3 \times 1.000.000}{\text{Proteína microbiana (mg)} \times \text{Tempo (min)}} \text{ dado em nmol NH}_3/\text{mg proteína/minuto}$$

em que

$\mu\text{NH}_3$  = concentração final – inicial de amônia (mM); e

Proteína microbiana = concentração inicial.

### **Análise estatística**

Os dados do experimento foram analisados em quadrado latino 3 x 3. Cada animal, em cada período, correspondeu a uma unidade experimental. O modelo estatístico incluiu efeitos de animal, período e tratamentos. Os efeitos de tratamento foram comparados por contrastes ortogonais completos: 1- controle vs. outros; e 2- óleo de soja vs. soja integral moída. As análises estatísticas foram feitas usando o procedimento GLM do MINITAB (1994) em nível de 5% de probabilidade; quando houve efeito significativo dos tratamentos, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade (STEEL e TORRIE, 1960). Foram também traçadas as correlações entre acetato, propionato, butirato, relação acetato:propionato (A:P), isobutirato, isovalerato, pH e amônia.

### **Resultados e discussão**

As produções de leite e leite corrigido para 4% de gordura não foram afetadas ( $P > 0,05$ ) pela inclusão de lipídios na dieta dos animais, com valores médios de 20,0 e 18,9 kg/dia, respectivamente. Esses resultados são similares aos encontrados por LARSON e SCHULTZ (1970), GRANT e WEIDNER (1992), RABELLO (1995), McGUIRE et al. (1996) e PINTO (1995), utilizando lipídios não-protetidos nas dietas de vacas leiteiras.

Segundo PALMQUIST (1991), a produção de leite com e sem correção para 4% não sofre efeito da inclusão de gordura na ração, principalmente quando esta não se encontra na forma protegida. Entretanto, PINTO (1995) obteve melhora na produção de leite em dieta contendo gordura protegida (Magnapac),

comparado ao óleo de soja, ambos a 7% de lipídios, e em relação ao controle, com 4% de lipídios.

Os tratamentos não afetaram a composição do leite, apresentando teores médios de 3,02% de proteína e 3,64% de gordura. Esses efeitos são semelhantes aos obtidos por PALMQUIST (1991), WU et al. (1994), MALAFAIA (1995), RABELLO (1995), McGUIRE et al. (1996) e SILVA (1997), porém contrários aos obtidos por CHOW et al. (1990), CANT et al. (1991), POLAN e FISHER (1993) e VILLELA (1995), que constataram redução na proteína do leite.

O uso de lipídios também não afetou outros dados de composição do leite, como lactose, sólidos totais, sólidos desengordurados e densidade, apresentando dados médios de 4,45%, 12,2%, 8,56% e 1,03 kg/l, respectivamente; outros autores (WU et al., 1994; SILVA, 1997; PINTO, 1995) obtiveram dados semelhantes quando suplementaram a ração de vacas lactantes com lipídios.

Tabela 2 – Efeito de fontes de lipídios para atingir 7% de EE na ração de vacas leiteiras sobre porcentagem de ácidos graxos voláteis, relação acetato:propionato, amônia e pH do líquido ruminal, atividade específica de produção de amônia pela população microbiana ruminal “*in vitro*” (AEPA) e consumo de MS

Parâmetros	Tratamento			Erro padrão
	Controle	Grão	Óleo	
Consumo kg/dia	14,3 <sup>a</sup>	11,3 <sup>b</sup>	11,0 <sup>c</sup>	0,69
Acetato%	62,3	62,8	63,4	0,74
Propionato%	20,2	20,8	21,7	0,46
A:P	3,09	3,06	2,93	0,09
Butirato%	9,65 <sup>a</sup>	7,99 <sup>b</sup>	7,70 <sup>b</sup>	0,33
Isobutirato%	3,11	3,77	3,26	0,16
Isovalerato%	4,74	4,68	3,97	0,41
Amônia (mM)	5,16	4,58	4,60	0,24
PH	6,26 <sup>b</sup>	6,50 <sup>a</sup>	6,37 <sup>b</sup>	0,03
AEPA	22,8	18,9	24,6	2,95

Médias seguidas por mesmas letras, na mesma linha, não diferem ( $p > 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Lipídios insaturados inibem as bactérias ruminais gram-positivas e estimulam aquelas produtoras de propionato, causando decréscimo na relação acetato:propionato e produção de metano (RICHARDSON et al., 1976; CHALUPA et al., 1984). O aumento da proporção molar de propionato é devido ao aumento da produção, com concomitante redução da produção de acetato e butirato (VAN NEVEL e DEMEYER, 1988).

A redução das perdas gasosas tem sido usada para explicar o efeito negativo sobre o consumo de matéria seca pelos inibidores microbianos, como os lipídios e ionóforos (GOODRICH et al., 1984). Entretanto, neste experimento houve efeito depressor dos lipídios sobre o consumo de matéria seca, sem contudo afetar os parâmetros ruminais, com exceção do butirato e pH (Tabela 2).

O efeito depressor dos lipídios sobre o consumo de matéria seca deve estar relacionado à inibição do crescimento microbiano e, conseqüentemente, à fermentação da fibra, reduzindo, assim, a taxa de passagem da digesta pelo trato gastrintestinal. Esta inibição pode ser direta, conforme mencionado anteriormente, ou indireta, através da substituição do carboidrato por lipídio, mantendo-se as dietas isocalóricas. Neste caso, possivelmente os lipídios não são fonte de energia para o crescimento microbiano.

De modo semelhante aos resultados desta pesquisa (Tabela 2), a maioria dos trabalhos pesquisados sobre o uso de lipídios saturados e insaturados tem demonstrado pequenos ou insignificantes efeitos sobre os parâmetros ruminais. LARSON e SCHULTZ (1970) não encontraram efeito na proporção dos ácidos acético, propiônico e butírico ao compararem dietas contendo ou não óleo de soja para vacas em lactação. SCHAUFF et al. (1992), testando soja integral e, ou, sebo bovino em dietas para vacas em lactação, observaram que a proporção molar de acetato e a relação acetato:propionato tenderam a decrescer nas dietas que contenham lipídios. O pH, as proporções molares de butirato e isovalerato e a concentração de amônia não foram alterados pelos tratamentos. Resultados similares foram encontrados por STERN et al. (1985), quando soja integral foi fornecida para vacas em lactação, e por STORRY et al. (1973), PALMQUIST e CONRAD (1978), PALMQUIST e CONRAD (1980), PALMQUIST et al. (1986,

1993) e PALMQUIST (1991), que usaram várias quantidades de sebo bovino na dieta.

Por outro lado, BALIEIRO NETO e MELLOTI (1998), em dietas com 6% de sebo bovino, verificaram redução dos protozoários totais, redução na proporção molar dos ácidos acético e butírico e aumento do ácido propiônico com a adição de sebo, embora não tenha havido efeito sobre a ingestão de MS e concentração de N amoniacal. SHAW e ENSOR (1959) forneceram 150 ml de óleo de fígado de bacalhau duas vezes por dia para vacas leiteiras e constataram decréscimo da proporção de ácido acético, com correspondente aumento em ácido propiônico.

CHRISTENSEN et al. (1994) não observaram efeito de dietas suplementadas com óleo de milho e sebo bovino sobre o pH ruminal, mas as concentrações de amônia foram reduzidas e as de isovalerato tenderam a reduzir. Neste experimento, houve aumento do pH pela fonte de lipídio, especialmente grão de soja, e tendência ( $P < 0,10$ ) à redução na produção de amônia e isovalerato. O aumento do pH foi provavelmente devido à queda no consumo de matéria seca e à menor fermentação ruminal, que proporciona menor acúmulo de ácidos graxos voláteis, principal fator de redução do pH.

A concentração ruminal de amônia e dos ácidos graxos voláteis de cadeia ramificada, como isovalerato, isobutirato e 2-metil butirato, é indicativo da fermentação ruminal de aminoácidos. A Tabela 2 demonstra boas correlações entre os níveis ruminais de isovalerato, isobutirato e amônia ( $r \geq 0,50$ ), confirmando essa observação. A inibição no acúmulo de amônia e do isovalerato pelas fontes de lipídios (Tabela 2) pode ser devido ao efeito depressor dos lipídios insaturados sobre a população de bactérias gram-positivas, fermentadoras obrigatórias de aminoácidos, para suprir suas necessidades energéticas e protéicas (RUSSELL et al., 1988; CHEN e RUSSELL, 1989). Ainda não foi demonstrado o efeito direto dos lipídios sobre essas bactérias, mas, uma vez que os ácidos graxos insaturados apresentam propriedades similares às dos ionóforos, como natureza apolar, inibição das bactérias ruminais em nível de membrana e

alteração dos parâmetros de fermentação (CHALUPA et al., 1986), pode-se chegar a essa conclusão.

A atividade específica de produção de amônia pela população microbiana ruminal *in vitro* dá uma idéia sobre a população de microrganismos fermentadores de aminoácidos predominante no rúmen em função da dieta. Três espécies de bactérias ruminais com alta capacidade de produção de amônia foram isoladas na década de 80 (RUSSELL et al., 1988; CHEN e RUSSELL, 1989), usando-se meios de cultura com alta concentração de peptídeos.

A população de bactérias especializadas em desaminar aminoácidos é estimulada pelo aumento de proteína degradável na dieta e inibida pelos ionóforos (LANA e RUSSELL, 1997) e pelo abaixamento do pH ruminal (LANA et al., 1998). Tendo em vista que os lipídios têm modo de ação sobre a população microbiana ruminal semelhante ao dos ionóforos (LANA e RUSSELL, 1996), era de se esperar redução na atividade de desaminação na presença dos lipídios.

Entretanto, nas condições deste experimento, não foi verificado efeito dos lipídios sobre a desaminação (AEPA) (Tabela 2), assim como na maioria dos parâmetros de fermentação avaliados.

Foi verificada correlação positiva ( $r = 0,50$ ) entre o pH e a relação acetato:propionato (Tabela 3). A relação inversa do nível de concentrado sobre a taxa de acetato:propionato foi explicada pelo aumento da população de bactérias amilolíticas em detrimento das celulolíticas, sendo estas especializadas em produzir propionato e acetato, respectivamente (BLAXTER, 1962). LANA et al. (1998), no entanto, verificaram maior correlação entre o pH que o nível de concentrado com a relação acetato:propionato.

Tabela 3 - Coeficientes de correlações lineares entre os parâmetros ruminais, em vacas lactantes que receberam grão de soja ou óleo de soja para atingir 7% de lipídios na ração total

item	Acetato	Propionato	Butirato	A:P	Isobutirato	Isovalerato	pH
Propionato	0,928						
Butirato	0,831	0,788					
A:P	-0,096	-0,446	-0,106				
Isobutirato	0,743	0,804	0,755	-0,397			
Isovalerato	0,649	0,712	0,778	-0,324	0,746		
pH	-0,035	-0,190	0,075	0,503	-0,060	-0,100	
Amônia	0,377	0,303	0,696	0,071	0,499	0,609	0,149

### Conclusões

As fontes de lipídios reduziram em 20% o consumo de matéria seca, sem contudo afetar a produção e composição do leite e os parâmetros fermentativos ruminais.

### Referências bibliográficas

- BALIEIRO NETO, G., MELLOTI, L. Efeitos de diferentes níveis de sebo sobre a fermentação ruminal, contagem de protozoários, proporção de ácidos graxos voláteis e degradabilidade in situ do farelo de soja e do feno de tifton (*Cynodon dactylon*). In: CONGRESSO NORDESTINO DE PRODUÇÃO ANIMAL, 1, 1998, Fortaleza, CE. **Anais...**, 9p. 1998.
- BATISTA, A. M. V. **Soja integral tratada com formaldeído, na alimentação de novilhos**. Viçosa, MG: UFV, 1981. 48p. Dissertação (Mestrado em...). Universidade Federal de Viçosa, 1981.
- BLAXTER, K. L. **The energy metabolism of ruminants.**, Springfield, IL: Charles C. Thomas, 1962.
- CAMPOS, O. F., LIZIEIRE, R. S., DAYRELL, M. S., OLIVEIRA, J. S. **Características e composição de alguns alimentos concentrados utilizados na alimentação de bovinos de leite**. Coronel Pacheco, MG: EMBRAPA/CNPGL. 1995. (Circular Técnica, 38).

- CANT, J. P., DePETERS, E.J., BALDWIN, R. L. Effect of dietary fat and postruminal casein administration on milk composition of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.211-219. 1991.
- CHALUPA, W., RICKABAUGH, B., KRONFELD, D. S., SKAN, D. Rumen fermentation *in vitro* as influenced by long chain fatty acids. **J. Anim. Sci.**, v.67, 1439p. 1984.
- CHALUPA, W., VECCHIARELLI, B., ELSER, A. E., KRONFELD, D. S., SKLAN, D., PALMQUIST, D. L. Ruminant fermentation *in vitro* as influenced by long-chain fatty acids. **J. Dairy Sci.**, v.69, n.5, p.1293-1301, 1986.
- CHANEY, A. L., MARBACH, E. P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clin. Chem.**, v.8, p.130-132, 1962.
- CHEN, M., RUSSELL, J. B. More monensin-sensitive, ammonia-producing bacteria from the rumen. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.55, 1052p. 1989.
- CHIN, S. F., LIU, W., STORKSON, J. M., HA, Y. L., PARIZA, M. W. Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognised class of anticarcinogens. **J. Food Comp. Anal.**, v.5, p.185-97. 1992.
- CHOW, J. M., DEPETERS, E.J., BALDWIN, R. L. Effect of rumen-protected methionine and lysine on casein in milk when diets high in fat or concentrate are fed. **J. Dairy Sci.**, v.73, n.4, p.1051-1061, 1990.
- CHRISTENSEN, R. A., CAMERON, M. R.; CLARK, J. H.; DRACKLEY, J. K.; LYNCH, J. M.; BARBANO, D. M. Effects of amount of protein and ruminally protected amino acids in the diet of dairy cows fed supplemental fat. **J. Dairy Sci.**, v.77, n.6, p.1618-1629, 1994.
- DePETERS, E. J., CANT, J. T. Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk. **J. Dairy Sci**, v.75, n.8, p.2043-2070, 1992.
- DERERSZ, F., FERNANDES, A. M., MATOS, L. L., TEIXEIRA, J. C. Utilização de soja grão crua na alimentação de vacas leiteiras de alta produção. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.25, n.1, 1996.
- ERWIN, E. S., MARCO, G. J., EMERY, E. M. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. **J. Dairy Sci.**, v.44, n.9, p.1768-1771. 1961.

- FORGETY, A. C., FORD, G. L., SVORONOS, D. Octadeca-9, 11-dienoic acid in foodstuffs and in the lipids of human blood and breast milk. **Nutr. Rep. Intl.**, v.38, p.937-944. 1988.
- GOODRICH, R. D., GARRETT, J.E., GAST, D.R., KIRICK, M.A., LARSON, D.A., MEISKE, J.C. Influence of monensin on the performance of cattle. **J. Anim. Sci.**, v.58, 1484p. 1984.
- GRANT, R. J., WEIDNER, S. J. Effect of fat from whole soybeans on performance of dairy cows fed rations differing in the fiber level particle size. **J. Dairy Sci.**, v.75, n.10, p.2742-2751, 1992.
- HARRISON, J. H., KINCAID, R. L., McNAMARA, J. P. Effect of fat from whole cottonseeds and calcium salts of long chain fatty acids on performance of lactating dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v.78, n.1, p.181-193. 1995.
- KELLY, M. L., BAUMAN, D. E. Conjugated linoleic acid: a potent anticarcinogen found in milk fat. CORNELL NUTRITION. CONFERENCE, 1996, Ithaca NY. **Proceedings ...**, 1996. p.68-74.
- 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. **J. Anim. Sci.**, v.75, p.224-229, 1997.
- LANA, R. P., RUSSELL, J. B. Use of potassium depletion to assess adaptation of ruminal bacteria of ionophores. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.62, n.12, p.4499-4503, 1996.
- LANA, R. P., RUSSELL, J. B.; VAN AMBURG, M. E. The role of pH in regulating ruminal methane and ammonia production. **J. Anim. Sci.**, v.76. 1998.
- LARSON, S. A., SCHULTZ, L. H. Effects of soybeans compared to soybeans oil and meal in the ration of dairy cows. **J Dairy Sci.**, v.53, n.9, p.1233-1240, 1970.
- LIN, H., BOYSLON, T. D., CHANG, M. J., LUEDECKE, L. O., SHULTZ, T.D. Survey of the conjugated linoleic acid contents of dairy products. **J. Dairy Sci.**, v.78, n.11, p.2358-2365, 1995.
- LOWRY, O. H., ROSEBROUGH, N. J., FARR, A. L., RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **J. Biol. Chem.**, v.193, 265p. 1951.

- MALAFAIA, P. A. M. **Consumo e digestão dos nutrientes, eficiência microbiana, produção e composição do leite em vacas alimentadas com rações contendo sebo bovino.** Viçosa, MG: UFV, 1995. 95p. Dissertação (Mestrado em...) - Universidade Federal de Viçosa, 1995.
- McGUIRE, M. A., McGUIRE, M. K., GUY, M. A. SANCHEZ, W. K., SHULTZ, T. D., HARRISON, L. Y., BAUMAN, D. E., GRINARI, J. M. Effect of dietary lipid concentration on content of conjugated linoleic acid (CLA) in milk from dairy cattle. **J. Animal Sci.** v.74 (Suppl. 1), p.266, 1996.
- MINITAB®. **Reference Manual**, PC Version, Release 10.1.Minitab Inc., State College, PA. 1994.
- MORA, P. J. G. **Utilização de diferentes níveis de grão de soja (*Glycine max* L.) cru moído em rações concentradas e determinação da energia líquida da silagem de milho (*Zea mays* L.) para vacas em lactação.** Viçosa, MG: UFV, 1995. 104p. Dissertação (Mestrado em...) – Universidade Federal de Viçosa, 1995.
- MURPHY, J. J., MORGAN, D. J. Effect of inclusion of protected and unprotected in the supplement on the performance of lactating dairy cows. **Animal Production**, v.37, p.203-10. 1983.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle.** 6 ed. Washington, DC: Nat. Acad. Sci., 1989. 158p.
- PALMQUIST, D. L., JENKINS, T. C. Fat in lactation rations: review. **J. Dairy Sci.**, v.63, n.1, p.1-14, 1980.
- PALMQUIST, D. L., JENKINS, T. C., JOYNER JUNIOR, A. E. Effect of dietary fat and calcium source on insoluble soap formation in the rumen. **J. Dairy Sci.**, v.69, n.4, p. 1020-5, 1986.
- PALMQUIST, D. L., WEISBJERG, M. R., HVELPLUND, T. Ruminant, intestinal, and total digestibilities of nutrients in cows fed diets high in fat and undegradable protein. **J. Dairy Sci.**, v.76, n.5, p.1353-64. 1993.
- PALMQUIST, D.L. Influence of source and amount of dietary fat on digestibility in lactating cows. **J. Dairy Sci.**, v.74, n.4, p.1354-60. 1991.
- PALMQUIST, D. L., CONRAD, H. R. High fat rations for dairy cows. Effects on feed intake, milk and fat production, and plasma metabolites. **J. Dairy Sci.**, v.61, n.7, p.890-901, 1978.

- PALMQUIST, D. L., CONRAD, H. R. High fat rations for dairy cows. Tallow and hydrolyzed blended fat at two intakes. **J Dairy Sci.**, v.63, n.3, p.391-395, 1980.
- PARODI, P. W. Cow's milk fat components as potential anticarcinogenic agent. **J. Nutr.**, v.127, p.1055-1060. 1997.
- PEREIRA, C. M. A., SILVA, J. F. C., VALADARES FILHO, S. C., CAMPOS, J. M. CASTRO, A. C. G. Consumo e digestibilidade dos nutrientes para vacas em lactação alimentadas com grão de soja moído no concentrado. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 34, 1997, Juiz de Fora, MG. **Anais...**, Juiz de Fora, p.262-264.
- PINTO, S. M. **Produção e composição química do leite de vacas holandesa no início da lactação alimentadas com diferentes fontes de lipídeos.** Lavras, MG: UFLA. 1997. 114p. Dissertação (Mestrado em...) – Universidade Federal de Viçosa, 1995.
- POLAN, C.E., FISHER, R.J. Nutrition can affect concentration of milk protein. **Feedstuffs**, v.65, n.4, p.15-21, 1993.
- RABELLO, T. M. **Grão de soja moído na alimentação de vacas lactantes.** Viçosa, MG: UFV, 1995. 114p. Dissertação (Mestrado em...) – Universidade federal de Viçosa, 1995.
- REDDY, P. V., MORRIL, J. L., NAGARAJA, T.G. Release of fatty acids from raw or processed soybeans and subsequent effects on fiber digestibilities. **J. Dairy sci.**, n.77, p.341-348. 1994.
- RICHARDSON, L. F., RAUN, A. P., POTTER, E. L., COOLEY, C. O., RATHMACHER, P. Effect of monensin on ruminal fermentation *in vitro*. **J. Anim. Sci.**, v.43, 657p. 1976.
- RUSSELL, J. B. et al. the Enrichment and isolation of a ruminal bacterium with a very high specific activity of ammonia production. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.54, p.872-877. 1988.
- SCHAUFF, D. J., ELLIOTT, J. P., CLARK, J. H., DRACKLEY, J. K. Effects of feeding lactating dairy cows diets containing soybeans and tallow. **J Dairy Sci.**, v.75, p.1923-1935, 1992.
- SCHNEIDER, B. H., FLATT, W. P. **The evaluation of feeds through digestibility experiments.** 1975. 423p.

- SHAW, J.C., ENSOR, W. L. Effect of feeding cod-liver oil and unsaturated fatty acids on rumen volatile fatty acids and milk fat content. **J. Dairy Sci.**, v.42, 1238p. 1959.
- SILVA, C. M. A. P. **Produção e composição do leite, variação de peso corporal e digestibilidade em vacas alimentadas com ração contendo grão de soja moído no concentrado.** Viçosa, MG: UFV. 1997. 72p. Dissertação (Mestrado em...) – Universidade Federal de Viçosa, 1997.
- SILVA, D. J. **Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos).** Viçosa, MG: UFV, 1990. 165p.
- SIMAS, J. M. C. Como utilizar gordura em dieta de vacas leiteiras. **Rev Balde Branco**, v. 34, Ano XXXIV, n.401, p.26-30, 1998.
- STEEL, R. G. D., TORRIE, J. H. **Principles and procedures of statistics: a biometrical approach** (2<sup>nd</sup> Ed.). McGraw – Hill Publishing Co., New York. 1980.
- STERN, M. D., ILLG, D. J. Empleo de soya integral e la alimentación de ruminantes. **Soya Not.**, v.20, n.277, p.14-20. 1991.
- STERN, M. D., SANTOS, H. A., SATTER, L. D. Protein degradation in rumen and amino acid absorption in small intestine of lactating dairy cattle fed heat-treated whole soybeans. **J. Dairy Sci.**, v.68, 45p. 1985.
- STORRY, J. E., HALL, A. J., JOHNSON, V. W. The effects of increasing amounts of dietary tallow on milk-fat secretion in the cow. **J. Dairy Res.**, v.40, 293p. 1973.
- VAN NEVEL, C. J., DEMEYER, D. I. Manipulation of ruminal fermentation. In: HOBSON, P. N. (ed). **The ruminal microbial ecosystem.** Essex, England: Elsevier, 1988. p.387-443.
- VILLELA, S. D. J. **Utilização do caroço de algodão na alimentação de vacas em lactação.** Viçosa, MG: UFV, 1995. 85p. Dissertação (Mestrado em...) – Universidade Federal de Viçosa, 1995.
- WU, Z., HUBER, J. T., CHAN, S. C., SIMAS, J. M., CHEN, K. H., VARELA, J. C., SANTOS, F., FONTES, C., YU, P. Effect of source and amount of supplemental fat on lactation and digestion in cows. **J. Dairy Sci.**, v.77, n.6, p. 1644-1651. 1994.

## **Influência de Rumensin<sup>®</sup>, óleo de soja e níveis de concentrado sobre o consumo e os parâmetros fermentativos ruminais em bovinos**

**Resumo** - O experimento foi realizado no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, buscando-se avaliar a inclusão de óleo de soja (500 ml/animal/dia) e Rumensin<sup>®</sup> (3 g/animal/dia) na dieta de animais que receberam níveis crescentes de concentrado (0, 25, 50 e 75%), tendo a cana-de-açúcar como volumoso. Foram avaliados os efeitos sobre os parâmetros ruminais, como ácidos graxos voláteis (AGV), pH ruminal e amônia, a atividade de produção de amônia e o consumo de MS. Foram utilizados quatro bovinos 7/8 holandês-zebu, com peso vivo médio de 400 kg, fistulados no rúmen, distribuídos em um quadrado latino 4 x 4, em que cada período teve duração de 15 dias, sendo 12 para adaptação à dieta e três para coletas de amostras. A determinação do consumo foi feita pesando-se as dietas fornecidas e as sobras, no dia seguinte. A determinação da concentração de amônia, pH e AGV do líquido ruminal foi feita em amostras coletadas através da fístula e filtradas em gaze, nos tempos de 0, 3 e 6 horas após a alimentação. A leitura do pH foi feita com potenciômetro, as análises de amônia foram feitas por colorimetria, e as de ácidos graxos voláteis, por cromatografia gasosa. O teor de acetato decresceu, mas os teores de isobutirato, isovalerato e amônia e o consumo de matéria seca aumentaram com o aumento do nível de concentrado. O propionato aumentou e a relação acetato:propionato diminuiu com a presença de monensina. O óleo aumentou o butirato quando a dieta continha somente volumoso e diminuiu com o aumento de concentrado. O pH diminuiu com o tempo de coleta, e a atividade de produção de amônia decresceu com o aumento do nível de concentrado e aumentou na presença de óleo.

Palavras-chave: bovinos, nutrição, rúmen, fermentação, efeitos de monensina, níveis de concentrado, confinamento.

## **Influence of Rumensin<sup>®</sup>, soybean oil and levels of concentrate on the consumption and parameters of rumen fermentation in bovines**

**ABSTRACT** - The experiment performed in the Department of Zootechny at the Federal University of Viçosa sought to evaluate the inclusion of soybean oil (500ml/animal/day) and Rumensin<sup>®</sup> (3g/animal/day) in the diet of animals receiving rising levels of concentrate (0, 25, 50, 75%), having sugar cane as voluminous. The effects on rumen parameters were evaluated, such as volatile fatty acids (VFA), rumen pH and ammonia, ammonia production activity and DM consumption. Four 7/8 Holstein-Zebu bovines were used, with an average live weight of 400kg, fistulated in the rumen. Each of the four periods had a duration of 15 days, with 12 days for adaptation to the diet and three days for sample collection. Determination of consumption was done by weighing the supplied diets and the remainders on the following day. Determination of ammonia concentration, pH and VFA of the rumen liquid was done on samples collected through fistula and filtered through gauze, at 0, 3 and 6 hours after feedings. Potentiometers were used to read pH, ammonia analyses were done by colourimetry and volatile fatty acids were measured by gas chromatography. The acetate declined, but the isobutyrate, isovalerate and ammonia content, as well as the consumption of dry matter, increased with rising concentrate level. The propionate increased and the acetate:propionate relation reduced with the presence of Rumensin<sup>®</sup>. The oil increased the butyrate when the diet contained only voluminous and diminished with then increased of concentrate. The pH diminished over the collection time and the ammonia production activity declined with the increase in concentrate level and increased in the presence of the oil.

**Key Words:** bovines, nutrition, rumen, fermentation, monensin effects, concentrate levels, feedlot.

## Introdução

Os ionóforos são produtos da fermentação de vários actinomicetos, sendo a monensina um composto ionóforo produzido por linhagens de *Streptomyces cinnamonensis*, originalmente utilizada como agente coccidiostático em dietas de aves (RICHARDSON et al., 1976). A partir de 1967, com a observação de que possuía atividade moderada contra microrganismos gram-positivos (HANEY e HOEHN, 1967), ela passou a ser testada sobre microrganismos do rúmen. Existem mais de 70 tipos diferentes de ionóforos, porém apenas a monensina e a lasalocida, comercializadas como Rumensin<sup>®</sup> e Bovitec<sup>®</sup>, respectivamente, foram aprovadas para serem utilizadas na alimentação de bovinos, tendo como principal objetivo aumentar a eficiência alimentar (LANA, 1998).

O aumento no desempenho dos animais é atribuído principalmente à melhora da eficiência energética, devido a aumento da digestibilidade dos alimentos, aumento da produção do ácido propiônico, redução da relação acetato/propionato, diminuição da produção de metano, diminuição da produção de ácido lático e redução nas perdas de aminoácidos que seriam potencialmente fermentados no rúmen (RUSSEL e STROBEL, 1989).

Os ionóforos modificam o movimento dos íons através das membranas celulares, afetando, assim, o desenvolvimento dos microrganismos. Quando fornecidos aos ruminantes, vão atuar sobre organismos bacterianos e coccidianos do rúmen e intestino, respectivamente. Os ionóforos podem favorecer o desenvolvimento de certas bactérias em relação a outras, e o metabolismo da bactéria beneficiada pode afetar o desempenho do animal hospedeiro, proporcionando vantagens metabólicas ou nutricionais em relação ao animal não-suplementado (McGuffey, 1995, citado por BAGG, 1997).

Mesmo com mais de 20 anos de utilização de ionóforos para bovinos, seu mecanismo de atuação ruminal não está completamente elucidado. O mecanismo de ação e os efeitos dos ionóforos sobre a população microbiana têm sido normalmente baseados em experimentos com culturas puras, extrapolando-

se esses dados para as condições *in vivo*. Desse modo, a ação dos ionóforos sobre o desempenho animal ainda permanece discutível (LANA, 1997).

Uma nova técnica para avaliação *in vivo* de ionóforos foi desenvolvida por LANA e RUSSELL (1996), com base na determinação da capacidade das bactérias ruminais em resistir à perda de potássio intracelular quando submetidas a níveis crescentes do ionóforo. Por meio desta técnica será possível a avaliação de novos ionóforos, assim como da população microbiana efetiva do rúmen.

A aplicação da técnica citada permitiu obter alguns dados interessantes. LANA e RUSSELL (1996) observaram que a adição de óleo de milho à ração aumentou a resistência das bactérias ruminais à perda do potássio intracelular, quando foram submetidas a níveis crescentes de monensina e lasalocida no laboratório. Esse resultado, juntamente com a redução na relação acetato:propionato pelo óleo de milho (modo de ação semelhante ao dos ionóforos), pode explicar a falta de efeito da monensina + tilosina no desempenho alimentar quando a dieta continha gordura, conforme observado por CLARY et al. (1993).

Os ácidos graxos insaturados de cadeia longa reduzem a digestibilidade e a relação acetato:propionato, inibem a produção de metano e alteram a resistência das bactérias ruminais aos ionóforos, como comentado anteriormente. Experimentos *in vitro* demonstraram aumento na eficiência de síntese microbiana e redução na concentração de amônia ruminal, em animais que receberam óleo na dieta (VAN NEVEL e DEMEYER, 1988). Isto ocorreu, provavelmente, devido ao efeito sobre a defaunação (redução na população de protozoários) e, ou, à redução na população de bactérias deaminadoras.

São poucas as pesquisas que buscam avaliar os efeitos da monensina sobre a produção e composição do leite. TURNER et al. (1980) e CLANTON et al. (1981) avaliaram o efeito da adição de monensina (0, 50, 200 e 300 mg/cabeça/dia) na produção e no desempenho de vacas de corte com cria. Os autores verificaram que, reduzindo o fornecimento de 10 a 13% na alimentação, não houve queda no desempenho das vacas. O peso dos bezerros ao nascer e posteriormente não foi afetado. A produção e composição do leite de vacas que

receberam monensina e alimentação à vontade não foram alteradas, porém causaram aumento no ganho de peso dos bezerros criados com as vacas (RANDELL e ROUQUETTE, 1976; LEMENAGER et al., 1978; SPROTT et al., 1981). BROWN e HOGUE (1985) não obtiveram efeito na produção de leite de cabras com a adição de 18 e 33 ppm de monensina na dieta, porém houve redução de 5 e 15% no teor de gordura e de 10% na proteína do leite.

ANDRADE et al. (1996) utilizaram monensina na terminação de novilhos mestiços, em três tratamentos: T1 - controle; T2 - 300 mg de monensina/cabeça/dia adicionada ao suplemento mineral; e T3 - idem ao T2 mais 300 mg de levedura de cana-de-açúcar. Estes autores não obtiveram diferença nos ganhos de peso entre os animais que recebiam o T1 e o T2, contrariando BOLING et al. (1977) e PARROT et al. (1990), que observaram elevação do ganho de peso com a adição de monensina na dieta de animais alimentados com altas proporções de volumosos. O fato de a monensina funcionar como inibidor de apetite, em razão do seu gosto amargo, sugere que houve inibição do consumo. Ao se adicionar levedura de cana como palatilizante (T3) à dieta, houve aumento no ganho de peso em relação aos demais grupos, sugerindo aumento de consumo com conseqüente aproveitamento da proteína do suplemento, o que está de acordo com GOODRICH et al. (1984) e MULLER et al. (1986).

Há várias interações da monensina e possivelmente de outros ionóforos com a alimentação, e algumas ainda são desconhecidas pelos nutricionistas. GOODRICH et al. (1984) verificaram, em um trabalho de revisão de literatura, que a monensina teve melhor efeito sobre a conversão alimentar de bovinos em pastagens que em confinamento (13% vs, 7,5%). LANA et al. (1997) observaram, em dietas ricas em concentrado, que a monensina melhorou a conversão alimentar em 6% quando a ração era suplementada com proteína verdadeira (farelo de soja), mas não houve efeito quando era nitrogênio não-protéico (uréia). CLARY et al. (1993) verificaram que monensina mais tilosina ou 4% de gordura animal aumentaram a eficiência alimentar em 8%, porém não

houve nenhum efeito adicional dos ionóforos quando a gordura já estava presente na ração, conforme mencionado anteriormente.

Como os ionóforos e os ácidos graxos insaturados apresentam propriedades similares, como natureza apolar, inibição de bactérias ruminais e alterações dos parâmetros ruminais de fermentação, os lipídios, em dietas de ruminantes, além da utilização como fonte de energia, podem ser usados para manipular a fermentação ruminal. Este trabalho foi conduzido a fim de se avaliarem os efeitos de óleo de soja e Rumensin<sup>®</sup> em animais submetidos a níveis crescentes de concentrado. Foram avaliados o consumo de MS e os parâmetros de fermentação ruminal, como ácidos graxos voláteis (AGV), pH ruminal e amônia (NH<sub>3</sub>), bem como a atividade específica de produção de amônia (AEPA).

### **Material e métodos**

O experimento foi realizado no setor de bovinos do Departamento de Zootecnia (DZO), e as análises laboratoriais foram feitas no Laboratório de Nutrição Animal (DZO) e no Laboratório de Microbiologia de Anaeróbios do Departamento de Microbiologia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, MG.

A cidade de Viçosa localiza-se na Zona da Mata do Estado de Minas Gerais, a 20°45' de latitude sul e 42°51' de longitude oeste, em altitude de 649 m. De acordo com dados fornecidos pelo Departamento de Engenharia Agrícola da Universidade Federal de Viçosa, o clima de Viçosa é subtropical, com inverno frio e seco e verão quente e úmido, sendo classificado como Cwa subtropical. Apresenta precipitação pluviométrica anual média de 1.342 mm, com 80% das chuvas caindo entre os meses de outubro e março (período chuvoso) e os 20% restantes entre os meses de abril e setembro (período seco). A temperatura média das máximas é de 26,1°C, a média das mínimas, de 14°C, e a umidade relativa do ar, de 80%.

## Animais e instalações

Foram utilizados quatro bovinos 7/8 holandês-zebu, com peso vivo médio de 400 kg, fistulados no rúmen, segundo as técnicas descritas por LEÃO e SILVA (1980). Os animais foram mantidos confinados em baias individuais cobertas com piso de concreto, com comedouros e bebedouros.

Antes de iniciar o experimento, todos os animais foram vermifugados, pesados e colocados em baias individuais. A higienização de baias, comedouros e bebedouros foi feita diariamente. Os animais foram alimentados nos horários de 7 e 15 horas, recebendo o concentrado juntamente com o volumoso em dieta completa.

## Tratamentos e períodos experimentais

Foram utilizados na dieta cana-de-açúcar 4% de PB e um concentrado com 55,3% de milho, 42,3% de farelo de soja e 2,4% de mistura mineral. Este experimento contou com a inclusão de óleo de soja (500 ml/animal/dia) e Rumensin<sup>®</sup> (3 g/animal/dia) na dieta de animais que receberam níveis crescentes de concentrado (0, 25, 50 e 75%), conforme Tabela 1, tendo cana-de-açúcar como volumoso.

Tabela 1 - Distribuição dos animais e dos períodos dentro do delineamento estatístico

Animal	Períodos			
	1- 0% de conc	2- 25% de conc.	3- 50% de conc.	4- 75% de conc.
1	D	B	A	C
2	A	C	B	D
3	C	A	C	B
4	B	D	D	A

A (controle); B (Rumensin<sup>®</sup>); C (óleo de soja); D (Rumensin<sup>®</sup>+óleo de soja).

O experimento foi dividido em quatro períodos com duração de 15 dias, sendo 12 de adaptação à dieta e três de coletas de amostras.

### **Coleta de amostras da ração total**

Diariamente, nos períodos de adaptação e de coletas foram feitas pesagens e amostragens da silagem, do concentrado oferecido e das sobras. Após a amostragem, o material foi colocado em sacos plásticos, devidamente identificados e congelados a  $-2^{\circ}\text{C}$ ; ao final de cada fase, eles foram descongelados e homogeneizados, a fim de se retirar uma amostra composta por animal/período, para posterior análise de matéria seca, segundo SILVA (1990).

### **Coleta de amostras de líquido ruminal**

Para determinação da concentração de amônia ( $\text{N-NH}_3$ ), pH e AGV do líquido ruminal, as amostras foram coletadas manualmente, através de sonda esofágica, e filtradas em gaze. Os tempos de coleta foram de 0, 3 e 6 horas após a alimentação da manhã. Para leitura imediata do pH do líquido ruminal, utilizou-se um potenciômetro. As amostras do líquido ruminal, para a análise de amônia e AGV, foram colocadas em dois tubos eppendorfs de 1,5 ml e centrifugadas a 5.200 xg por 10 minutos, retirando-se os sobrenadantes com uma seringa até completar um terceiro tubo eppendorf, para posterior congelamento. Foi feita análise de amônia pelo método colorimétrico de CHANEY e MARBACH (1962), e a análise de AGV foi realizada através da modificação do método descrito por ERWIN et al. (1961).

## **Análise de ácidos graxos**

Em tubos eppendorf de 1,5 ml, foram colocados 500 µl de amostra do líquido ruminal e 500 µl de ácido fosfórico (25%), que foram sendo homogeneizados e, após 20 min, centrifugados a 13.000 xg por 20 minutos.

As análises dos líquidos sobrenadantes foram realizadas em um cromatógrafo a gás, modelo Shimadzu GC17 A, com auto-injetor Shimadzu AOC17, que, através de um módulo de comunicação Shimadzu CBM-101, foi acoplado a um microcomputador Pentium 100 com o *software* Class – GC10 versão 1.61.

Os AGVs foram separados em uma coluna Nukol™ capilar (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm Film Thickness, Supelco, Inc., Bellefonte, PA).

As condições utilizadas para a separação cromatográfica foram:

- Temperatura da coluna: 100<sup>0</sup>C por 5 min, 185<sup>0</sup>C por 0 min
- Temperatura do injetor: 220<sup>0</sup>C
- Temperatura do detector: 250<sup>0</sup>C
- Tempo total: 13,5 min
- Modo de controle: *Split*
- Pressão na coluna (Kpa): 150
- Fluxo na coluna (ml/min): 1,90647
- Velocidade linear (cm/s): 43,228
- Fluxo total: 113
- Taxa de *split* (1:x): 40

Os padrões de AGV foram do *kit* de ácidos orgânicos Supelco. A Figura 1 apresenta um cromatograma do líquido de rúmen de animal submetido ao tratamento controle com 75% de concentrado.

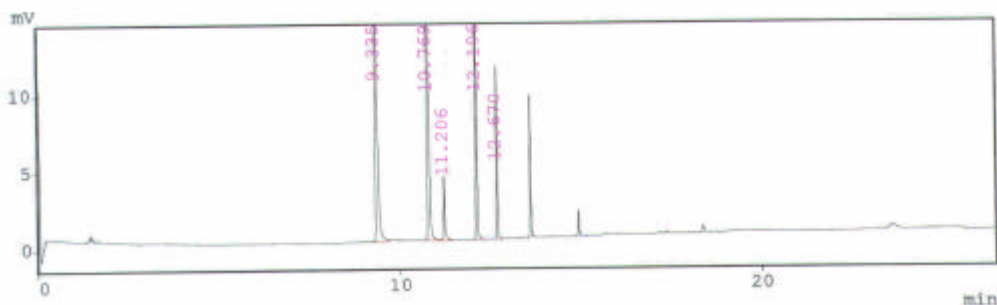


Figura 1 - Cromatograma de líquido ruminal.

### **Atividade específica de produção de amônia (AEPA) por bactérias ruminais**

Para a análise da atividade específica de produção de amônia (AEPA) por bactérias ruminais, amostras separadas de líquido ruminal foram coletadas do rúmen, como descrito anteriormente. Estas amostras foram transportadas para o laboratório a 39°C e centrifugadas anaerobicamente a 500 xg (5 min, 5°C), para eliminar partículas alimentares e protozoários. A concentração de proteína bacteriana foi determinada centrifugando-se 10 ml do líquido sobrenadante a 13.000 xg, por 5 min, seguida de sucessivas ressuspensões e centrifugações do *pellet* bacteriano em solução de NaCl a 0,9% (p/v) e armazenamento em tubos eppendorf a -15°C; através do método colorimétrico descrito por LOWRY (1951), foi realizada a análise.

Do sobrenadante da centrifugação a 500 xg, 9 ml do líquido foram transferidos em triplicata para tubos de 18 mm x 150 mm, os quais foram preenchidos com CO<sub>2</sub>, vedados com rolha de borracha e selados com capas de alumínio. No tempo 0, 1 ml de uma solução anaeróbica de TRYPTICASE (BBL Microbiology Systems, Cockeysville, MD) foi adicionado aos tubos (15 g/l de concentração final). Os tubos foram incubados a 39 °C por quatro horas. Antes e após a incubação, 2 ml do meio foram centrifugados (13.000 xg, 5 min), para remoção das bactérias. O líquido sobrenadante foi armazenado separadamente a -15 °C, para mensuração de amônia pelo método colorimétrico de CHANEY e MARBACH (1962).

A AEPA foi determinada medindo-se a quantidade de NH<sub>3</sub> produzida por mg de proteína bacteriana por minuto (LANA e RUSSELL, 1997), conforme a fórmula a seguir:

$$AEPA = \frac{\mu\text{NH}_3 \times 1.000.000}{\text{Proteína microbiana (mg)} \times \text{Tempo (min)}}, \text{ dado em nmol NH}_3/\text{mg proteína/minuto},$$

### **Análise estatística**

Cada animal, em cada período, correspondeu a uma unidade experimental. Nas análises que incluíram efeito de tempo, cada tempo de coleta de cada animal em cada período, correspondeu a uma unidade experimental. O modelo estatístico incluiu efeitos de nível de concentrado, Rumensin<sup>®</sup>, óleo de soja, tempo de coleta (quando pertinente, em parcela subdividida) e todas as interações possíveis. As análises estatísticas foram feitas usando-se o método de regressão do MINITAB (1994). Os efeitos foram considerados significativos a 5 %, com tendência estatística de 10% de probabilidade.

### **Resultados e discussão**

O consumo de matéria seca aumentou linearmente com a elevação do nível de concentrado, mas a monensina interagiu com este, reduzindo-o mais intensamente à medida que se elevava o nível de concentrado (P<0,01) (Figura 2). Também, o óleo reduziu o consumo em 26% (de 6,39 para 4,72 kg/animal/dia), independentemente do nível de concentrado (P<0,05). O reduzido consumo de matéria seca observado em baixos níveis de concentrado deve estar relacionado ao insignificante nível de amônia ruminal. Como a fibra proveniente da cana é de baixa qualidade, pois contém elevado nível de lignina, associado com deficiência de nitrogênio ruminal, que

não estimula a fermentação da fibra, provavelmente houve redução da taxa de passagem da cana pelo sistema digestivo e conseqüente redução no consumo.

O maior efeito depressivo da rumensina sobre o consumo de matéria seca em alto nível de concentrado concorda com GOODRICH et al. (1984), que observaram decréscimo de 6,4% no consumo de dietas contendo concentrado, sem afetar o consumo de pastagem, o que se deve ao fato de o efeito físico estar limitando o consumo de animais em dietas de volumoso. No caso de animais em confinamento, em que o nível de energia (efeito fisiológico) regula o consumo, o aumento da eficiência energética, pelo decréscimo das perdas de metano, favorece a redução do consumo de alimentos para satisfazer as necessidades nutricionais.

O efeito negativo do óleo sobre o consumo foi também verificado no experimento anterior e por JENKINS e PALMQUIST (1984). Isto ocorre devido ao fato de o óleo e a monensina serem tóxicos às bactérias gram-positivas (RUSSELL e WALLACE, 1997) e ao efeito de barreira física da película formada por este sobre a fibra do alimento (TEIXEIRA, 1992), impedindo a adesão e multiplicação da população de bactérias celulolíticas, responsáveis pela fermentação da fibra, reduzindo dessa forma a passagem do alimento pelo sistema digestivo e, conseqüentemente, o consumo.

BROOKS et al. (1954) demonstraram reduções de 40% na digestibilidade da celulose, quando de 10 a 170 mg de óleo de milho foram adicionados a 1 g de matéria seca contendo 50% de celulose, em experimentos *in vitro*. Portanto, segundo MACZULAK et al. (1981), esta redução no consumo é comumente atribuída a uma combinação do decréscimo da atividade celulolítica, da barreira física da fibra e da taxa de passagem dos alimentos no rúmen.

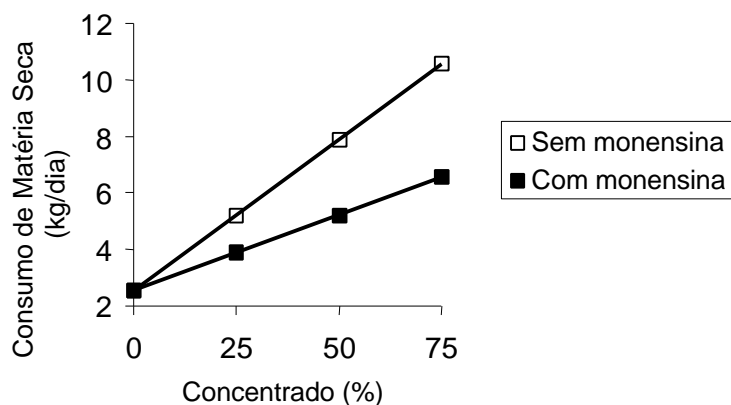


Figura 2 - Efeito da presença ou não da monensina na dieta sobre o consumo de matéria seca, em níveis crescentes de concentrado.

O teor de acetato no AGV total decresceu linearmente com aumento do nível de concentrado ( $P < 0,01$ ) (Figura 3a). O propionato aumentou (de 22,7 para 27,5%) e a relação acetato:propionato diminuiu na presença da monensina ( $P < 0,05$ ). A relação acetato:propionato tendeu, ainda, a diminuir linearmente em função do nível de concentrado ( $P < 0,10$ ) (Figura 3b).

O decréscimo de acetato e da relação acetato:propionato pelo nível de concentrado tem sido explicado pela tendência de bactérias fibrolíticas em produzir acetato, e das amilolíticas, em produzir propionato (BLAXTER, 1962). O efeito inibidor da monensina sobre a produção de acetato e o estímulo à produção de propionato foi explicado por BERGEN e BATES (1984) como sendo devido à resistência a monensina proporcionada pela enzima fumarato redutase, comum nas bactérias ruminais produtoras de propionato. Entretanto, RUSSELL e STROBEL (1988) verificaram que a resistência à monensina estava mais relacionada com a presença da membrana externa nas bactérias gram-negativas, que agem como barreira protetora ao acesso dos ionóforos e de outras macromoléculas à membrana celular.

Houve tendência de interação entre os níveis de concentrado e óleo sobre o teor de butirato no AGV total, em que o óleo aumentou o butirato quando a dieta continha somente volumoso e diminuiu em 75% de concentrado ( $P < 0,10$ ) (Figura 3c). CLARY et al. (1993), utilizando sebo (0 e 4%), monensina e

lasalocida, não encontraram efeito da suplementação de lipídios e ionóforos sobre a proporção molar de butirato. Geralmente a proporção de butirato pode ou não ser diminuída por ionóforos (FULLER e JOHNSON, 1981; RICKE et al., 1984).

O isobutirato e o isovalerato aumentaram linearmente com o nível de concentrado ( $P < 0,05$ ) (Figuras 4a, b). A amônia aumentou linearmente com o nível de concentrado e decresceu linearmente em função do tempo de coleta do líquido de rúmen ( $P < 0,05$ ) (Figura 5a, b). O efeito do nível de concentrado sobre o aumento de isobutirato, isovalerato e amônia foi provavelmente devido ao aumento de consumo de PB, uma vez que o concentrado apresentou alto nível de PB em relação ao volumoso (cana-de-açúcar).

No caso de dietas isoprotéicas, era de se esperar o contrário, pois, com aumento do concentrado, haveria decréscimo no pH ruminal, que inibiria a fermentação de aminoácidos no rúmen (LANA et al., 1998) e a conseqüente produção de amônia (CAMERON et al., 1991; GRIGSBY et al., 1993; LANA et al., 1998) e ácidos graxos voláteis de cadeia ramificada. A redução na concentração de amônia ruminal com o aumento do nível do concentrado tem sido também justificada pelo aumento na disponibilidade de energia ruminal, que possibilita maior utilização da amônia para o crescimento microbiano (ANNISON, 1956). Entretanto, estudos *in vitro* indicam que a eficiência de síntese de proteína microbiana pode diminuir significativamente quando o pH é menor que 6 (STROBEL e RUSSELL, 1986).

Também, era de se esperar redução de isobutirato, isovalerato e amônia na presença da rumensina, que contém o antibiótico monensina, responsável pela inibição da população bacteriana altamente fermentadora de aminoácidos (RAUN et al., 1976; RICHARDSON et al., 1976; RICKE et al., 1984; RUSSELL e MARTIN, 1984). CLARY et al. (1993), utilizando sebo (0 e 4%), monensina e lasalocida, não encontraram efeito da suplementação de lipídios e ionóforos sobre a proporção molar de isobutirato e valerato, mas houve redução de isovalerato com a adição de ionóforos nas dietas sem lipídios.

Os tratamentos contendo 50 e 75% de concentrado apresentaram níveis de amônia superior a 5 mg/100 mL de líquido de rúmen, nível mínimo necessário para estimular a fermentação da fibra (SLYTER, 1976). Entretanto, a dieta contendo exclusivamente cana-de-açúcar praticamente não proporcionou a produção de amônia no rúmen, provavelmente devido ao baixo nível de PB em sua constituição.

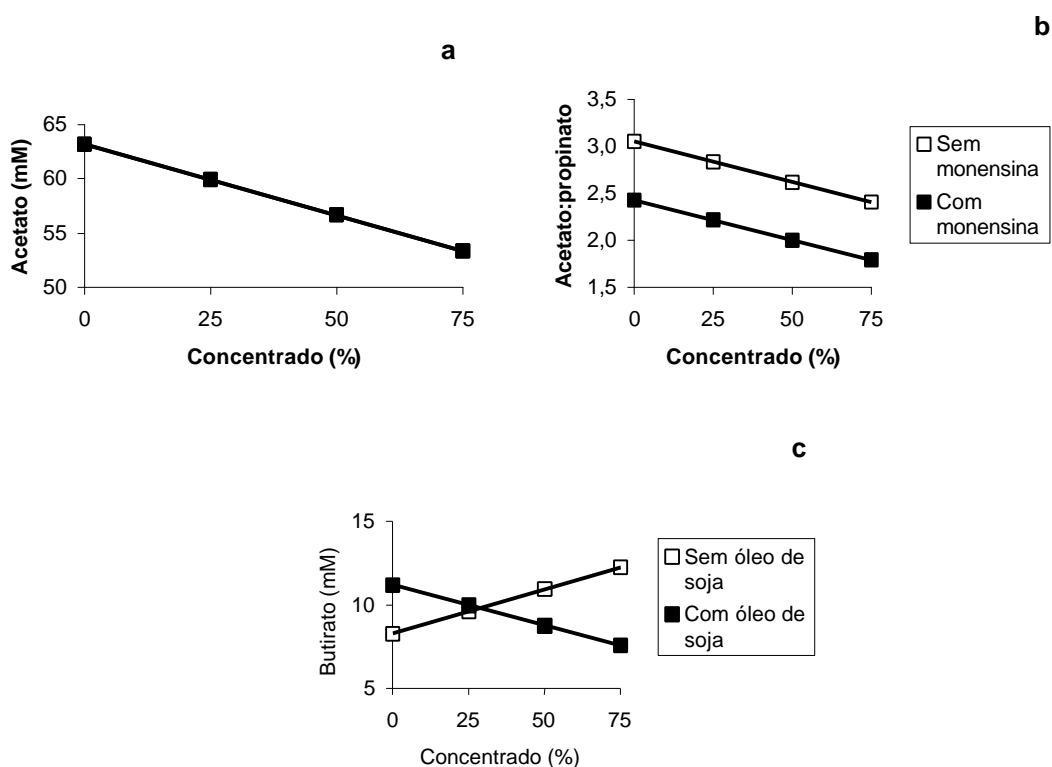


Figura 3 - Efeito da presença ou não de monensina e óleo sobre o acetato (a), a relação acetato:propionato (b) e o butirato (c), em níveis crescentes de concentrado.

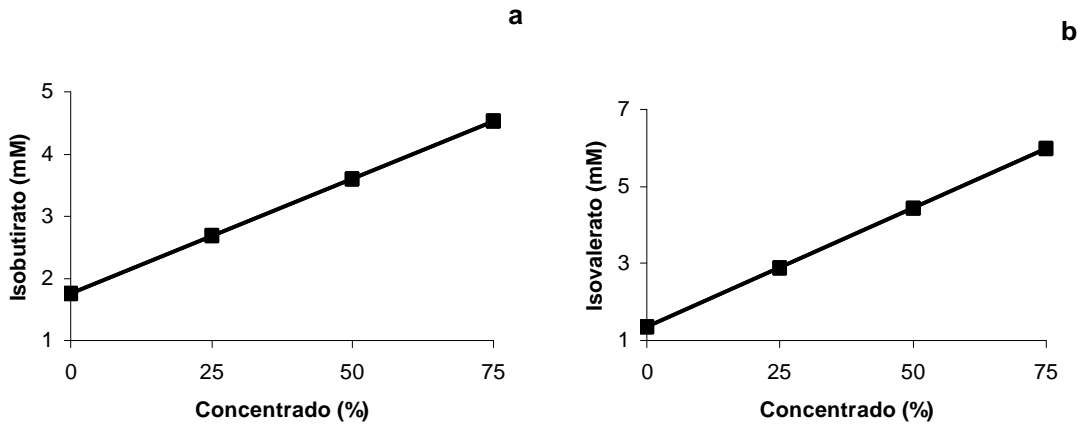


Figura 4 - Efeito da presença ou não de óleo sobre o isobutirato (a) e o isovalerato (b), em níveis crescentes de concentrado.

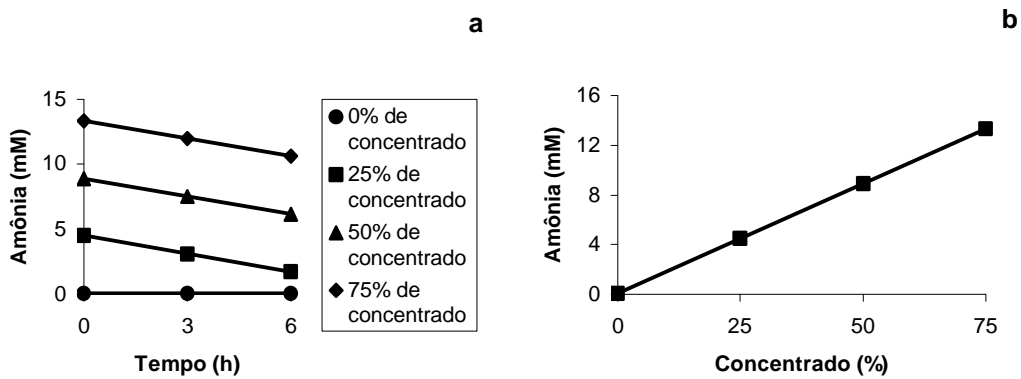


Figura 5 - Efeito dos níveis de concentrado sobre a concentração de amônia, em diferentes tempos de coleta (a), e os níveis de amônia em níveis crescentes de concentrado (b).

O pH ruminal diminuiu linearmente em função do tempo de coleta do líquido de rúmen ( $p < 0,05$ ), sem contudo ocorrer interação do tempo com tratamentos (Figura 6a). O tempo após a alimentação, quando o pH é mais baixo, situa-se entre 0,5 e 4 horas e reflete o balanço entre as taxas de produção de ácidos graxos voláteis, o influxo de tampões por meio da saliva e a presença ou liberação de tampões ou bases do alimento (OWENS e GOETSCH, 1988).

ØRSKOV (1986), por sua vez, relata que o abaixamento do pH ruminal ocorre, principalmente, após a ingestão rápida de alimento, por causa de uma rápida taxa de fermentação. Relata, ainda, que a alimentação com grãos de

cereais moídos resulta em alguns problemas, entre os quais encontram-se a inadequada secreção de saliva para manter o pH entre 6 e 7 e a inadequada estrutura física para estimular a mobilidade ruminal. O consumo de alimento é reduzido quando o pH do líquido ruminal cai abaixo de 5,5 (FULTON et al., 1979).

OWENS e GOETSCH (1988) reportam que o pH do fluido ruminal varia de 5,5 a 6,5 para dietas concentradas e de 6,2 a 7,0 para dietas constituídas exclusivamente de volumosos. Entretanto, neste experimento, os valores de pH geralmente mantiveram-se acima de 6,2, mesmo em níveis elevados de concentrado, nível este mínimo necessário para manutenção da atividade fermentativa das bactérias celulolíticas ruminais (GRANT e WEIDNER, 1992).

Houve interação entre óleo e nível de concentrado sobre o pH médio ruminal, em que o óleo diminuiu o pH em dieta contendo somente cana-de-açúcar e aumentou em dieta com altos níveis de concentrado ( $P < 0,05$ ) (Figura 6b). Não houve efeito de rumensina sobre o pH ruminal ( $P > 0,10$ ), semelhantemente ao resultado de COE et al. (1996). Alguns autores afirmam que a monensina causa ligeiro aumento na concentração de lactato (BEEDE e FARLIN, 1977; BARTLEY et al., 1979), sem causar mudança no pH do líquido ruminal quando bovinos são alimentados com baixas taxas de carboidratos (DINIUS et al., 1976). Entretanto, com altas taxas de carboidratos em estudos *in vitro* com líquido de rúmen, a monensina produziu significativo aumento no pH e redução na concentração de lactato (DENNIS et al., 1980).

A atividade específica de produção de amônia pela população microbiana mista ruminal decresceu linearmente com o aumento do nível de concentrado na dieta e aumentou na presença de óleo ( $P < 0,05$ ) (Figura 7). Apesar de não ter sido verificada redução do nível de amônia *in vitro* com o aumento do nível de concentrado, devido ao aumento no consumo de proteína, conforme visto anteriormente, verifica-se claramente que o pH é um importante fator inibidor da atividade desaminadora, conforme observado anteriormente por LANA et al. (1998). Esperava-se efeito inibidor da rumensina sobre a capacidade microbiana ruminal em desaminar aminoácidos, segundo SCHELLING (1984).

Corroborando o resultado observado, também não foi verificado efeito de rumensina sobre o teor de ácidos graxos voláteis de cadeia ramificada no AGV total.

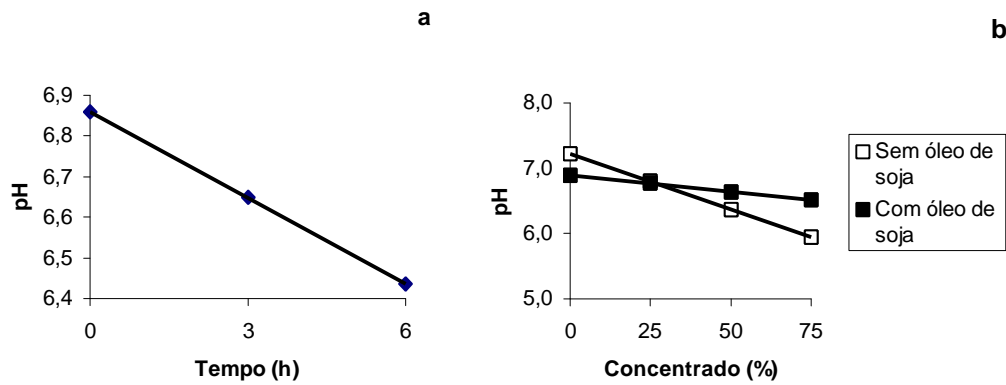


Figura 6 - Efeito do tempo de coleta sobre o pH ruminal (a) e da adição ou não de óleo na dieta (b) em níveis crescentes de concentrado.

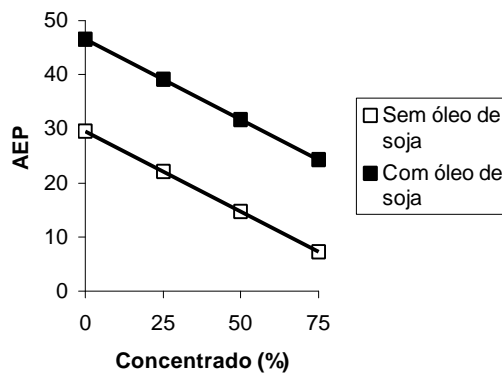


Figura 7 - Efeito da presença ou não de óleo na dieta sobre a atividade específica de produção de amônia por bactérias ruminais, em níveis crescentes de concentrado.

## Conclusões

Com base nos resultados obtidos, chegou-se às seguintes conclusões:

- 1- O nível de concentrado afetou mais o consumo de matéria seca e os parâmetros ruminais que Rumensin<sup>®</sup> e óleo de soja.
- 2- Rumensin<sup>®</sup> reduziu o consumo de matéria seca à medida que aumentou o nível de concentrado e diminuiu a relação acetato:propionato, independentemente do nível de concentrado
- 3- O óleo somente aumentou o pH em altos níveis de concentrado e aumentou a atividade de produção de amônia pela população microbiana ruminal, independentemente do nível de concentrado.

## Referências bibliográficas

- ANDRADE, V. J., CORDEIRO, J. S., FERREIRA, M. B. D., NORTE, A. L. Monensina na terminação de novilhos mestiços zebu x angus, a pasto. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 33, 1996, Fortaleza, CE. **Anais ...** Fortaleza, CE, 1996, v.3, p.23-25.
- ANNISON, E. F. Nitrogen metabolism in the sheep. **Biochem. J.**, v.64, p.705-714, 1956.
- BAGG, R. Mode of action of ionophores in lactating dairy cattle. Usefulness of ionophores in lactating dairy cattle. **Proceedings of a Symposium Held.** Ontário Veterinary College, jun, 1997.
- BARTLEY, E. E., HEROD, E. L., BECHTLE, R. M., SAPIENZE, D. A. BRENT, B. E., DAVIDORICH, D. Effect of monensin, lasalocid, or a new polyether antibiotic with and without niacin or amicloral on rumen fermentation *in vitro* and *in vivo* on heifer growth and feed efficiency. **J. Anim. Sci.**, v.49, 1066p. 1979.
- BEEDE, D. K. FARLIN, S.D. Effects of antibiotics on apparent studies. **J. Anim. Sci.**, v.45,385p. 1977.
- BERGEN, W. G., BATES, D. B. Ionophores: their effect on production efficiency and mode of action. **J. Anim. Sci.**, v.58, p.1465-1483, 1984.

- BLAXTER, K. L. **The energy metabolism of ruminants**. Springfield, IL: Charles C. Thomas, 1962.
- BOLING, J. A., BRADLEY, N. M., CAMBELL, L. D. Monensin levels for growing and finishing steers. **J. Anim. Sci.**, v.68, n.5, p.867-871, 1977.
- BROOKS, C. C., GARNER, G. B., GEHRKE, C. W. The effect of added fat on the digestion of cellulose and protein by ovine rumen microorganisms. **J. Anim. Sci.**, v.13, p.758-764, 1954.
- BROWN, H.; HOGUE, L. Effects of feeding monensin sodium to lactating goats: milk composition and ruminal volatile fatty acids. **J. Anim. Sci.**, v.68, 1141p. 1985.
- CAMERON, M. R., KLUSMEYER, T. H., LYNCH, G. L. Effect of urea and starch on rumen fermentation, nutrient passage to the duodenum, and performance of cows. **J. Dairy Sci.**, v.74, p.1321-1336, 1991.
- CHANEY, A. L., MARBACH, E. P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. **Clin. Chem.**, v.8, p.130-132, 1962.
- CLANTON, D. C., ENGLAND, M. E., PARROT, J. C. Effect of monensin on efficiency of production in beef cows. **J. Anim. Sci.**, v.53, 873p. 1981.
- CLARY, E. M., BRANDT JR, R. T., HARMON, D. L., NAGARAJA, T. G. Supplemental fat and ionophores in finishing diets: feedlot performance and ruminal digesta kinetics in steers. **J. Anim. Sci.**, v.71, p.3115-3131, 1993.
- COE, M. L., SUN, Y., NAGARAJA, T. G., WALLACE, N., TOWNE, G., KEMP, K. E., HUTCHESON, J. Virginiamycin and ruminal fermentation in cattle. **J. Anim. Sci.**, v.74 (Suppl 1), 272p. 1996.
- DENNIS, S. M., NAGARAJA, T. G., BARTLEY, E. E. Effect of lasalocid or monensin on lactic acid production by rumen bacteria. **J. Anim. Sci.**, v.51, (Suppl. 1), 96p. 1980.
- DINIUS, D. A., SIMPSON, M. S.; MARSH, P. B. Effect of monensin fed with forage on digestion and the ruminal ecosystem of steers. **J. Anim. Sci.**, v.42, 229p. 1976.
- ERWIN, E. S., MARCO, G. J., EMERY, E. M. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. **J. Dairy Sci.**, v.44, p.1768-1771, 1961.

- FULLER, J. R., JOHNSON, D. E. Monensin and lasalocid affects on fermentation in vitro. **J. Anim. Sci.**, v.53, 1574p. 1981.
- FULTON, W. R., KLOPFENSTEIN, J. J., BRITON, A. Adaptation to high concentrate diets by beef cattle. II. Effect of ruminal pH alteration on rumen fermentation and voluntary intake of wheat diets. **J. Anim. Sci.**, v.49, p.785-789, 1979.
- GOODRICH, R. D., GARRETT, J.E., GAST, D.R., KIRICK, M.A., LARSON, D.A. MEISKE, J.C. Influence of monensin on the performance of cattle. **J. Anim. Sci.**, v.58, n.6, 1484p. 1984.
- GRANT, R. J., WEIDNER, S. J. Digestion kinetics of fiber: influence of *in vitro* buffer pH varied within observed physiological range. **J. Dairy Sci.**, v.75, n.4, p.1060-1068, 1992.
- GRIGSBY, K. N., KERLEY, M. S., PATERSON, J. A. Combinations of starch and digestible fiber in supplements for steers consuming a low-quality Bromegrass hay diet. **J. Anim. Sci.**, v.71, n.4, p.1057-1064, 1993.
- HANEY JUNIOR, M. E., HOEHN, M. M. Monensin, a new biologically active compound. I. Discovery and isolation. *Antimicrob. Agents Chemother.* 349p, 1967.
- JENKINS, T. C., PALMQUIST, D. L. Effect of fatty acids or calcium soaps on rumen and total nutrient digestibility of dairy rations. **J. Dairy Sci.**, v.67, p.978-986, 1984.
- LANA, R. P. Effects of monensin on ruminal bacteria, ruminal fermentation and feedlot performance. Local: University Cornell, 1997. 87p. These (Doctor of Philosophy) - University Cornell, 1997.
- LANA, R. P. Microbiologia aplicada à nutrição de ruminantes. In: CONGRESSO NACIONAL DE ESTUDANTES DE ZOOTECNIA, 1998, Viçosa-MG. **Anais...** Viçosa, MG: UFV, 1998. p.125-138.
- LANA, R. P., RUSSELL, J. B. Use of potassium depletion to asses adaptation of ruminal bacteria of ionophores. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.62, n.12, p.4499-4503, 1996.
- LANA, R. P., RUSSELL, J. B., VAN AMBURG, M. E. The role of pH in regulating ruminal methane e ammonia production. **J. Anim. Sci.**, v.76, 1998.

- LEÃO, M. I., SILVA, J. F. C. Técnica de fistulação de abomaso em bezerros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA. 1. REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 1980, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza., 3p. 1980.
- LEMENAGER, R. P., OWEENS, F. N., SHOCKEY, J., LUSBY, K. S., TOTUSEK, R. Monensin effect on rumen turnover rate, twenty-four hour VFA pattern, nitrogen components and cellulose disappearance. **J. Anim. Sci.**, v.47, 255p. 1978.
- LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **J. Biol. Chem.**, v.193, 265p. 1951.
- MACZULAK, A. E.; DEHORITY, B. A.; PALMQUIST, D. L. Effects of long-chain fatty acids on growth of rumen bacteria. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.42, p.856-862, 1981.
- MINITAB®. Reference Manual, PC Version, Release 10.1. Minitab Inc., State College, PA. 1994.
- MULLER, R. D. E., POTTER, M. I., WRAY, L. R. Administration of monensin in self fed (sal limiting), dry supplements or on an alternate day feeding schedule. **J. Anim. Sci.**, v.62, n.2, 593p. 1986.
- ØRSKOV, E. R. Starch digestion and utilization in ruminants. **J. Anim. Sci.**, v. 63, n.5, p.1624-1633. 1986.
- OWENS, F. N, GOESTSCH, A. L. Ruminant fermentation. In: CHURCH, D. C. **The ruminant animal digestive physiology and nutrition**. Englewood cliffs: O & Books Inc., 1988. p.146-171.
- PARROT, C. J., CONRAD, M. J., BASSON, P. R. The effect of a monensin ruminal delivery device on performance of cattle grazing pasture. **J. Anim. Sci.**, v.68, n.7, p.2614-2621. 1990.
- RANDELL, R. D., ROUQUETTE, F. M. Effect of monensin on lactation in beef cows. **J. Anim. Sci.**, v.43, 232p. 1976.
- RAUN, A. P., COOLEY, C. O., POTTER, E. L., RATHMACHER, R. P., RICHARDSON, L. F. Effect of monensin on feed efficiency of feedlot cattle. **J. Anim. Sci.**, v.43, 670p. 1976.

- RICHARDSON, L. F., RAUN, A. P., POTTER, E. L., COOLEY, C. O., RATHMACHER, R. P. Effect of monensin on ruminal fermentation *in vitro* and *in vivo*. **J. Anim. Sci.**, v.43, p.657-664. 1976.
- RICKE, S. C., BERGER, L. L., VAN DER AAR, P. J., FAHEY JUNIOR, G. C. Effects of lasalocid and monensin on nutrient digestion, metabolism and rumen characteristics of sheep. **J. Anim. Sci.**, v.58, 194p. 1984.
- RUSSELL, J. B., MARTIN, S. A. Effects of various methane inhibitors on the fermentation of amino acids by mixed rumen microorganisms *in vitro*. **J. Anim. Sci.**, v.59, 1329p. 1984.
- RUSSELL, J. B., STROBEL, H. J. Effects of additives on *in vitro* ruminal fermentation: a comparison of monensin and bacitracin, another gram-positive antibiotic. **J. Anim. Sci.**, v.66, p.552-558, 1988.
- RUSSELL, J. B., STROBEL, H. J. Minireview. Effect of ionophore on ruminal fermentation. **Applied and Environmental Microbiology**, p.1-6, 1989.
- RUSSELL, J. B., WALLACE, R. J. Energy-yielding and energy-consuming reactions. In HOBSON, P. N. (Ed). **The ruminal microbial ecosystem**. 2 ed Essex, England: Elsevier Science, 1997. p.267-268.
- SCHELLING, G. T. Monensin mode of action in the rumen. **J. Anim. Sci.**, v.58, p.1518-1527, 1984.
- SLYTER, L. L. Influence of acidosis on rumen function. **J. Anim. Sci.**, v.43, p.910-929. 1976.
- SPROTT, L. R., CORAH, L. R., RILEY, J. G., KIRACOFFE, G. H. The effects of rumensin and two levels of energy prior to calving on reproductive performance of first calf heifers. **Kansas Agr. Exp. Sta. Rep. of Prog.** 394. 44p. 1981.
- STEEL, R. G. D., TORRIE, J. H. **Principles and procedures of statistics: a biometrical approach** (2<sup>nd</sup> Ed.). McGraw – Hill Publishing Co., New York. 1980.
- STROBEL, H. J., RUSSELL, J. B. Effect of pH and energy spilling on bacterial protein synthesis by carbohydrate limited cultures of mixed rumen bacteria. **J. Anim. Sci.**, v.69, n.10, 2947p. 1986.
- TEIXEIRA, J. C. **Nutrição de ruminantes**. Lavras, MG: ESAL/FAEPE. 1992. 239p.

TURNER, H. A., YOUNG, D. C., RALEIGH, R. J., ZOBELL, D. Effect of various levels of monensin on efficiency and production of beef cows. **J. Anim. Sci.**, v.50, 385p. 1980.

VAN NEVEL, C. J., DEMEYER, D. I. Manipulation of ruminal fermentation. In HOBSON, P. N. (Ed). **The ruminal microbial ecosystem**. Essex, England: Elsevier Science, 1988. p.387-443.