UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE MEDICINA VETERINÁRIA
EMBRAPA AMAZONIA ORIENTAL
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZONIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

JOELMA KYONE SILVA DE OLIVEIRA

USO DE EXTRATOS VEGETAIS A BASE DE TANINOS E SAPONINAS NA SUBSTITUIÇÃO DA MONENSINA EM DIETA DE BOVINOS DE CORTE TERMINADOS A PASTO

Belém, PA
2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE MEDICINA VETERINÁRIA
EMBRAPA AMAZONIA ORIENTAL
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZONIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

JOELMA KYONE SILVA DE OLIVEIRA

USO DE EXTRATOS VEGETAIS A BASE DE TANINOS E SAPONINAS NA SUBSTITUIÇÃO DA MONENSINA EM DIETA DE BOVINOS DE CORTE TERMINADOS A PASTO

Tese apresentada para integralização curricular do grau de Doutor em Ciência Animal. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural. Universidade Federal do Pará. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Amazônia Oriental. Universidade Federal Rural da Amazônia.
Área de concentração: Produção Animal.
Orientador: Prof. Dr. Aníbal Coutinho do Rêgo.
Coorientadores: Prof. Dr. Flávio Dutra de Resende e Prof. Felipe Nogueira Domingues.

Belém, PA
2019

Joelma Kyone Silva de Oliveira

Uso de extratos vegetais a base de taninos e saponinas na substituição da monensina em dieta de bovinos de corte terminados a pasto

Tese apresentada para integralização curricular do grau de Doutor em Ciência Animal. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural. Universidade Federal do Pará. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Amazônia Oriental. Universidade Federal Rural da Amazônia.
Área de concentração: Produção Animal.

Belém - PA: 27/02/2020.

Banca Examinadora

_____
Prof. D. Sc. Flávio Dutra de Resende (Coorientador)
Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios – Apta

_____
Prof. D. Sc. Felipe Nogueira Domingues (Coorientador)
Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM

_____
D. Sc. Ivanna Moraes de Oliveira (Membro Titular)
Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios – Apta

_____
D. Sc. Marcelo Manella (Membro Titular)
SilvaFeed Brazil

_____
D. Sc. André Guimarães Maciel e Silva (Membro Titular)
Universidade Federal do Pará – UFPA

À luz da minha vida, Joaquim Alcântara de Oliveira, meu sobrinho que trouxe alegria e amor para nossos corações, dedico.

Agradecimentos

Aos meus avós Marta e Geraldo Oliveira e em especial a ela, Dona Marta, que me ensinou a ser esta mulher, que me ensinou o significado de nunca desistir e o comprometimento com nossas palavras e ações.

Aos meus pais, pela força e auxílio em diversos momentos cruciais nessa jornada. Agradeço os cuidados, conselhos e orações.

Aos meus irmãos, Maria Clara e Felipe Oliveira, em especial ao meu irmão que esteve do meu lado sempre e que nunca me abandonará. Você cuidou de mim em todos os momentos, nas doenças, nas alegrias, nas lágrimas e como você diz: “nós só temos a nós”.

A toda minha família Oliveira, em especial a Alanna Oliveira, Enne Madeira, Mariselma Oliveira e Keyse Alcântara.

Ao Marcos Cunha, que esteve comigo nessa jornada e foi paz nos momentos de guerra, foi apoio nos momentos de queda e principalmente foi luz nos momentos de trevas.

Ao Felipe Nascimento, a amizade mais improvável que a vida me proporcionou. Você esteve comigo em cada lágrima e cada sorriso, você me ajudou a estar bem mentalmente e suportar todos os intempéries da minha jornada na APTA.

Ao Maxwelder Soares, meu baiano, essa experiencia não teria sido a mesma sem você, obrigada por ter me dado meu maior presente, minha afilhada Cecília. Você tem a capacidade de me fazer acreditar que tudo vai dar certo.

A Ivanna Oliveira, mulher mais inspiradora que tive o prazer de conhecer e que levarei para todo o sempre, foi com ela que tive os meus maiores crescimentos pessoais e profissionais.

A Aline Moreira, amiga mais que fiel, melhor conselheira e acolhedora mulher dessa vida e das outras. Você me mostrou que mesmo longe, amizades verdadeiras podem se sustentar.

Ao meu “rivoTRIO” Luciana Melo e Valquíria Alencar, que moraram e compartilharam comigo os sabores e dissabores da convivência, obrigada por todos os momentos que tivemos juntas, adoro vocês! Lu, você foi meu alicerce durante a fase mais crítica do meu experimento, obrigada por ser incansável, responsável e comprometida com o trabalho.

As grandes amigas Laura Prados, Danúbia Nogueira, Verônica Mota, Naira Caixeta e Cleisy Ferreira vocês sacudiram meus conceitos pessoais e profissionais, as experiencias e conversas que tive com vocês foram únicas, foi com vocês que descobri a sororidade.

Ao professor Felipe Domingues, você foi e continuará sendo meu pai na pesquisa, alguém que soube exatamente como me guiar nos caminhos certos e sempre me incentivou a ser e estar melhor como pessoa.

Ao professor Flávio Resende, uma das pessoas mais excepcionais que tive o prazer de trabalhar e conviver nessa vida, e digo nessa vida porque o Sr. sabe, antes mesmo de nós, nosso destino e enxerga em muito além de pós-graduandos, enxerga humanos com todas as complexidades, obrigada!

Ao Professor Gustavo Siqueira, acredito que você seja a pessoa mais inteligente e brilhante que eu compartilhei momentos na Zootecnia, você sabe exatamente como nos colocar para pensar “fora da caixa”.

Aos professores e profissionais que me deram todo suporte até aqui e que com todo prazer compartilharam comigo seus conhecimentos, Aníbal Coutinho, André Guimarães, Regina Kitagawa, Rodolfo Toga, Rafael Mezzomo, Cristian Faturi e Ricardo Reis.

Aos amigos que convivi, troquei conhecimento e tive momentos de descontração na APTA de Colina Bia Vellini, William Souza, Iorrano Cidrini, Laylles Araújo, Luís Cursino, Eduarda Mariano, Willian Foresto, Rebeca Garcia, Jéssica Rocha, Jéssica Pinheiro, Hugo Issa, Paloma Gonçalves, Carol Silva, Henrique Terra, Thais Guerra e Jaqueline Trivelato.

Aos amigos que a Grande Colina me deu, Maria José Bonardi, Jonathan Alves, Leandro Sousa (Tartaruga), Tatiana Alves, Wellington Bispo e Camila Dalpim. Em especial ao Leandro e a equipe TAE de corrida que em muitos momentos me abraçaram como um refúgio seguro contra os maus pensamentos.

Aos funcionários da fazenda, sem vocês nada disso existiria!! Antonio e Sueli Machado, Lori, Seu João e Seu Alcino, Deley, Miltinho, Antonio Carlos, Juninho e Dona Flora. Entre esses, em especial ao campeiros Luizinho e Roberto, primeiro desculpa dar tanto trabalho e segundo obrigada pelas disponibilidade sempre. Luizinho e Lourdes, obrigada por me aceitar em seu convívio familiar!

As amigas irmãs, Lívia Fonseca, Alaid Lameira e Ana Paula Presley! Obrigada por me aturarem nos piores momentos e por me estarem comigo há tantos anos, vocês são parte de mim e não existiriam amigas melhores que vocês nesse mundo.

Aos amigos que me proporcionaram momentos de reflexão e boas conversas: Katsu Abe, Juliana Pitirini, Mário Mendes, Rita Mendonça, Deyvison Medrado, Andrei Rodrigues, Regiane Feitosa, Samanta Martins, Antonio Lúcio Fonseca, Yan Marques e Roberto Tavares.

Ao Marcelo Manella e a equipe da Silva Team, vocês foram os responsáveis por realizar um sonho, são atitudes assim que fazem toda a diferença no mundo, sempre vai ser muito além da pesquisa.

Por fim, mas não menos importantes, aos meus animais que foram sementes para que novos conhecimentos fossem produzidos.

A UFPA, UFRA, EMPRAPA, UNESP - Jaboticabal, APTA que foram pontes para que eu alcançasse mais essa conquista.

Ao PROCAD, projeto XXX, número XXX

A CAPES pela concessão da bolsa de estudo.

Aos que por esquecimento do momento não citei, mas que fizeram parte dessa história agradeço de coração.

RESUMO

OLIVEIRA, J. K. S. de. Uso de extratos vegetais a base de taninos e saponinas na substituição da monensina em dieta de bovinos de corte terminados a pasto. 2020. 96f. Tese (Doutorado em Ciência Animal), Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural, Universidade Federal do Pará, Castanhal, 2020.

Dois ensaios (metabolismo e desempenho) foram realizados com o intuito de utilizar um *blend* com extratos de tanino e saponinas na substituição de monensina em animais nelore terminados intensivamente a pasto. No primeiro ensaio, o objetivo foi avaliar o efeito dessa substituição na fermentação ruminal. Os tratamentos utilizados foram: CN - controle sem aditivo, 25T - inclusão de 0,25% do *blend* na matéria seca, 50T - inclusão de 0,50% do *blend* na matéria seca e MN - inclusão de 30 ppm de monensina na matéria seca. Foram utilizados 8 animais canulados no rúmen alocados em 8 piquetes junto a outros animais testes sob o mesmo sistema alimentar, arraçoados rigorosamente as 8h da manhã. O delineamento experimental se deu em um duplo quadrado latino. O pH e a quantificação de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) foram mensurados nas horas 0, 6, 12 e 18 após o fornecimento da alimentação. O nitrogênio amoniacal ($N\text{-}NH_3$) foi quantificado nas horas 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 e 21 pós alimentação. Os metabólitos sanguíneos foram verificados nas horas 0, 2, 4 e 6 após alimentação. Foram utilizados indicadores externos de consumo para determinar as quantidades ingeridas de pasto e suplemento, bem como coletas fecais entra o 15º e 18º dia do período e coleta de urina no 16º dia do período para determinar absorção e excreção de nutrientes. No 19º, após quatro horas do fornecimento do trato foram coletadas amostras ruminais para a determinação da população de protozoários. Foram encontradas diferenças ($P < 0,05$) para pH, AGCC e $N\text{-}NH_3$ e parâmetros sanguíneos apenas nas horas de coleta. Houve tendência ($P < 0,10$) para o consumo no %PC e diferença ($P < 0,05$) para o consumo de forragem, mas não para o consumo de suplemento ($P > 0,05$). Apena uma espécie, *Isotricha*, apresentou diferença para o tratamento aplicado. Como aditivo alternativo, e em virtude da semelhança entre os tratamentos é possível o uso de tanino na substituição da monensina em dietas onde os animais são terminados intensivamente a pasto. No segundo ensaio, a proposta foi a inclusão desse mesmo *blend* no desempenho e características de carcaça e carne dos bovinos. Para isso, foram utilizados 64 bovinos nelore, machos não

castrados, com peso inicial de 381±13 e com idade em torno de 22 meses. Um delineamento em blocos ao acaso foi utilizado para distribuir os animais em 16 piquetes de *Urochloa brizantha* cv. Marandú (4 piquetes por tratamento e 4 animais por piquete) e o peso utilizado como fator de blocagem. Os tratamentos foram os mesmos do primeiro ensaio. Os animais foram pesados ao início do experimento, após 28 dias de adaptação e ao final do confinamento (100 dias) para a determinação dos resultados produtivos como peso corporal final, ganho médio diário (GMD), conversão e eficiência alimentar. A cada pesagem foram feitas coletas de sangue para quantificação dos metabólitos sanguíneos. Ao final do experimento, todos os animais foram abatidos, no abate foram obtidos os pesos de carcaça quente e o grau de acabamento de todos os animais. Foram coletadas amostras de 32 animais para estimativa de composição corporal e qualidade da carne, uma amostra entre a 9ª e 11ª costelas e uma amostra na altura da 12ª costela para determinação da área de olho de lombo, espessura de gordura subcutânea e outras amostras para composição química, força, capacidade de retenção e coloração. As variáveis de peso corporal final e ganho médio diário não apresentaram diferença ($P > 0,05$), bem como as características de carcaça. Conversão alimentar ($P < 0,10$) e eficiência alimentar ($P < 0,10$) apresentaram tendência para o uso de monensina. Eficiência biológica apresentou resultado significativo para o uso do antibiótico ($P < 0,05$). Para as características de carne somente colágeno apresentou diferença significativa ($P < 0,05$) para o uso de tanino quando comparado ao controle. A albumina apresentou efeito para o tratamento aplicado ($P < 0,05$). Os dados sugerem que o uso de tanino pode substituir a monensina como um aditivo alternativo.

Palavras-chave: aditivo natural, antibiótico, fermentação ruminal, qualidade de carne.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1. Considerações gerais **10**
1 INTRODUÇÃO GERAL 10
2 OBJETIVO 12
3 HIPÓTESE 12
4 REVISÃO DE LITERATURA 12
4.1 Monensina, manipulação da fermentação ruminal e resistência aos antibióticos 12
4.2 Taninos condensados e hidrolisáveis 15
4.3 Saponinas 18
5 REFERÊNCIAS 20
CAPÍTULO 2 – Efeitos do uso de extratos vegetais e monensina sobre os parâmetros metabólicos de bovinos terminados a pasto 25
1. Introdução 27
2. Material e métodos 28
2.1 Localização e clima 28
2.2 Área experimental e protocolo sanitário 29
2.3 Delineamento experimental, tratamentos e dieta 29
2.4 Protocolo de adaptação 31
2.5 Avaliação da forragem e composição morfológica do pasto 31
2.6 Avaliação do valor nutritivo da forragem 33
2.7 Estimativa do consumo de suplemento e pasto 34
2.9 Produção de proteína microbiana e nitrogênio total na urina 37
2.10 Balanço de nitrogênio 37
2.11 Parâmetros sanguíneos 38
2.12 Microbiota ruminal: protozoários 39
3. Procedimento estatístico 39
4. Resultados 40
4.1 Consumo de suplemento e pasto 40
4.2 Parâmetros ruminais e sanguíneos 41
4.3 Protozoários 47
5. Discussão 47
6. Referências 54

CAPÍTULO 3 – Efeitos do uso de extratos vegetais e monensina sobre o desempenho e a qualidade de carne de bovinos terminados a pasto 59
1. Introdução 60
2. Material e métodos 62
2.1 Localização e clima 62
2.2 Área experimental e protocolo sanitário 63
2.3 Delineamento experimental, tratamentos e dieta 63
2.4 Protocolo de adaptação 65
2.5 Avaliação da forragem e composição morfológica do pasto 65
2.6 Determinação do valor nutritivo da forragem 67
2.7 Confinamento no pasto 68
2.8 Avaliação do desempenho animal 69
2.9 Evolução do consumo ao longo do dia 69
2.10 Parâmetros sanguíneos 69
2.11 Abates 70
2.12 Composição e qualidade da carne 70
2.13 Papilas ruminais 71
3. Procedimento estatístico 72
4. Resultados 72
5. Discussão 79
6. Referências 85

CAPÍTULO 1. Considerações gerais

1 INTRODUÇÃO GERAL

O grande destaque da produção pecuária brasileira se dá pela criação a pasto. Utilizar o recurso forrageiro é a decisão mais sábia para o pecuarista, uma vez que incontestavelmente é o alimento que fornece energia, advinda da fibra, com custo mais baixo (Souza et al., 2010). Não é de hoje que os animais

brasileiros são terminados a pasto, entretanto o tempo que se leva para alcançar tal meta é o que difere se há ou não incorporação de tecnologias.

Através da incorporação de tecnologias, a pecuária brasileira tem se mostrado cada vez mais competitiva e a diferenciação na remuneração pela produção, bem como por qualidade pressiona o produtor a melhorar seus resultados no campo e na indústria, buscar sustentabilidade, eficiência produtiva e intensificar seu sistema para encontra um equilíbrio entre os gastos e lucros. Da mesma forma o consumidor, que aumentou seu poder aquisitivo e ficou mais exigente em relação a qualidade da carne que consome (Hocquette et al., 2005).

Os dados do IBGE (2019) mostram que o total de cabeças abatidas chegou a 44,23 milhões, sendo que 12,6% desses animais foram terminados em confinamento. Tais números só foram possíveis graças a uma melhora nos pilares que regem a produção animal, principalmente nutrição. Na terminação, para uma melhor eficiência alimentar a manipulação da fermentação ruminal dos ruminantes se torna essencial, já que algumas técnicas de confinamentos utilizam dietas de alto grão, como é o caso da terminação intensiva a pasto, caracterizada pelo fornecimento da dieta do confinamento convencional sendo fornecida no pasto.

O uso de aditivos é preponderante nessa fase, pela rota da fermentação ruminal que envolve aumento da degradação de amido, aumento da produção de propionato, diminuição da produção de metano, diminuição do pH ruminal e estabilização da concentração de lactato (Calsamiglia et al., 2007). Para Fereli et al. (2010) a monensina sódica é uma ferramenta para incrementar o ganho, em função da modificação do processo de fermentação ruminal através da dieta visando melhorar o desempenho animal. Usada há pelo menos quatro décadas a monensina é classificada como um ionóforo capaz de modificar a dinâmica da fermentação ruminal através da inibição do crescimento de bactérias gram-positivas, estas por sua vez, produzem a maior parte do acetato, lactato e hidrogênio ruminal (Weimer et al., 2008). Nesse âmbito, mesmo diante de um composto amplamente estudado, como a monensina sódica, existe uma preocupação muito grande com sua classificação como antibiótico e a real existência de uma possível resistência por parte de algumas bactérias (Wong, 2019; Nawab et al., 2019) que faz com que haja restrições de

mercado quanto ao seu uso e incentivem estudos de novos compostos alternativos, como o tanino.

Taninos e saponinas são compostos secundários de plantas, ou seja, não interferem no metabolismo vital das plantas, e podem ser encontrados nas folhas, casca, fruto, sementes e seiva, mas principalmente nos vacúolos das células (Kumar; Vaithiyanathan, 1990). Quando utilizados na alimentação animal podem se ligar, de forma reversível, a proteínas e outras moléculas maiores que se desfazem dependendo do pH onde esses complexos formados estejam (Min et al., 2003).

Sendo assim, os extratos vegetais apresentam potencial para serem usados como aditivos em substituição a monensina, no entanto são dose dependentes, e nas quantidades corretas podem prevenir distúrbios metabólicos sem interferir na ingestão (Molina-Botero et al., 2019), contribuir com o aumento do fluxo de aminoácidos para o duodeno (Waghorn et al., 1987), reduzir a produção de nitrogênio amoniacal ruminal, diminuir a proteína microbiana e consequente aumento do desempenho (Mezzomo et al., 2011; Aboagye et al., 2018) e diminuir a produção de metano (Molina-Botero et al., 2019).

2 OBJETIVO

Avaliar o uso de extratos vegetais (SilvaFeed BX®) em substituição a monensina na terminação intensiva de bovinos a pasto.

3 HIPÓTESE

A substituição de monensina sódica por extratos vegetais a base de tanino e saponina beneficiará os parâmetros ruminais de bovinos terminados intensivamente a pasto sem prejuízos nas características de desempenho, carcaça e qualidade de carne.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Monensina, manipulação da fermentação ruminal e resistência aos antibióticos

A dieta dos animais de terminação tem como principal fonte de energia o milho, logo, o uso preponderante de aditivos se faz necessário para essa fase, uma vez que a alta degradação ruminal do amido diminui rapidamente o pH e pode causar distúrbios metabólicos, tal fato prejudica o desempenho e taxa de

ganho desses animais. O uso de aditivos, como a monensina, faz com o que o pH caia mais devagar e os nutrientes das dietas sejam aproveitados em sua maior parte (Duffield; Bagg, 2000).

A monensina sódica é um antibiótico e inicialmente era utilizada como coccidicida na avicultura, entretanto desde a década de 80 se faz presentes nos confinamentos norte americanos como promotora de crescimento, esse aditivo possui a capacidade de prevenir desordens metabólicas, como a acidose ruminal (Millen, 2008). Incluída no grupo dos ionóforos, ou seja, antibióticos sem função terapêutica, a monensina tem como principal função destruir as bactérias gram-positivas (proteolíticas em formadoras dos ácidos acético e lático), além de aumentar as concentrações de propionato. As gram-positivas são mais sensíveis a esse tipo de antibiótico, uma vez que possuem apenas uma membrana celular, enquanto as gram-negativas além da membrana interna possuem uma externa e isso a torna mais resistente a ação do antibiótico.

O modo de ação dos ionóforos se dá pelo carreamento de íons, agindo principalmente na permeabilidade celular das bactérias, esse transporte de forma desordenada acaba desencadeando um desequilíbrio osmótico inibindo ou até destruindo a célula (Rangel et al., 2008).

A monensina quando se liga a membrana celular, transporta rapidamente potássio (K^+) para fora da célula e hidrogênio (H^+) para o interior da célula, esse acúmulo de H^+ ocasiona uma diminuição do pH interno, desencadeando uma segunda reação, a entrada de sódio (Na^+) por meio do cátion de maior afinidade pela monensina, já que no meio extracelular o Na^+ está em maior concentração que o K^+, o mesmo se encontra predominante no interior da célula, somente; essas mudanças são capazes de acabar com a força motriz do próton e assim a monensina consegue fazer um controle da população bacteriana (Russell, 1987).

Sob a prerrogativa de melhorar a eficiência produtiva animal a manipulação da fermentação ruminal busca o fornecimento de energia e nitrogênio ao animal (Hernandez-Sanabria et al., 2010). Com a diminuição das bactérias gram-positivas, há um favorecimento das bactérias gram-negativas e por consequência aumento da produção de propionato no rúmen (Guan et al.,

2006) aumentando a gliconeogênese no fígado, melhorando o aporte energético dos ruminantes (Aschenbach et al., 2011).

A obtenção de energia para os animais ruminantes só é possível pela existência de uma relação simbiótica entre microrganismos existentes no rúmen, estes por sua vez precisam de substrato para a sua sobrevivência (Berchielli et al., 2011). Fungos, protozoários e bactérias atuam na digestão de carboidratos e produzem metabólitos nutricionais (Ácidos Graxos Voláteis – AGV e proteína microbiana – PM) para os ruminantes. Os estudos feitos com doses de monensina mostram resultados positivos para o uso do aditivo, Duffield et al. (2012) em uma metanálise com 69 artigos e 169 ensaios mostrou que a monensina aumentou o ganho médio diário (GMD) e diminuiu a ingestão de matéria seca (IMS) em todos os ensaios. Hales et al. (2017) terminando 199 novilhos com 430±1,9 kg com 400 mg/dia de monensina apresentaram peso final 1,9% maior que animais que não receberam aditivo, não apresentando diferença para a IMS.

Em experimento com novilhas suplementadas a pasto, Bodine et al. (2001) constatou ganhos médios diários superiores entre as suplementações contendo o aditivo quando comparadas a ausência desse. Vendramini et al. (2017) constatou que a adição de monensina em suplemento de melaço de cana pode diminuir o consumo, mas não afetar o ganho médio diário de novilhas suplementadas a pasto.

As características de carcaça, geralmente, não apresentam efeito para o uso da monensina. Meyer et al. (2009) testando óleos essenciais, tilosina e monensina em um confinamento de 468 animais (398±34 kg PC inicial), não observaram diferença entre os tratamentos para as características de carcaça. Swyers et al. (2014) usaram 252 novilhos para testar o uso de leveduras contra o antibiótico, sobre o desempenho e características de carcaça, entretanto não foram observadas diferenças sobre a 12ª costela e outas características de carcaça. Mesmo com associações como a tilosina, as características e carcaça não apresentam diferença para peso de carcaça quente, ou nas avaliações da 12ª costela e músculo do *longissimus* (Ran et al., 2018; Shen et al., 2019).

Ogunade et al. (2018) confirmam que a monensina afeta fermentação ruminal dos bovinos que possuem forragem em sua alimentação, uma vez que modulam a microbiota ruminal e reduzem a degradação de aminoácidos. Jião

et al. (2019) em ensaios *in vitro* utilizando a monensina como controle positivo observou que maiores produções de gás e relação acetato:propionato foram observadas quando o antibiótico não foi utilizado. O uso de doses de monensina também é eficaz na redução de bactérias metanogênicas em animais ruminantes (McGervey et al., 2019).

Mesmo com todos esses benefícios, há uma baixa aceitação dos antibióticos pela sociedade, uma vez que, mesmo não sendo utilizados em seres humanos pela toxicidade, podem apresentar risco devido a possibilidade de resistência cruzada ou co-seleção (Wong, 2019) e transferência de genes de resistência entre espécies bacterianas contraídas por humanos através da cadeia alimentar (Cheney et al., 2015).

4.2 Taninos condensados e hidrolisáveis

Taninos são considerados compostos do metabolismo secundário das plantas (Patra; Saxena 2010), ou seja, não possuem papel de destaque nos processos vitais das plantas que são crescimento, desenvolvimento e reprodução. A quantidade de taninos nas plantas varia muito com o estágio fisiológico que planta se encontra.

Há uma divisão entre taninos condensados e hidrolisados proposto por Buccioni et al. (2011). Taninos são, de forma conceitual, compostos fenólicos produzidos pelo metabolismo secundário das plantas (Piluzza et al., 2014), ou seja, o metabolismo que origina compostos que não tem distribuição universal, já que não são necessários para todas as plantas. Por serem fenólicos, muito do odor, sabor e cor são gerados por esses compostos.

Taninos hidrolisados são compostos por fenóis simples (Makkar, 2003), e esses taninos podem ser tóxicos se ingeridos em grandes quantidades pelos ruminantes. Já os condensados, possuem estrutura mais complexa e são resistentes a hidrólise (Battestin et al., 2008). Os taninos atuam como agente protetor ao ataque de insetos e herbívoros e variam a concentração e composição no vegetal em função de vários fatores, tais como genética, fertilidade do solo, estágio vegetativo das plantas, estresse hídrico e época do ano (Maass et al., 1996; Lascano, 2001).

O que se conhece, historicamente, dos taninos são seus fatores antinutricionais (Morales; Ungerfeld, 2015) devido à redução de consumo,

associado ao sabor adstringente e segundo Makkar (2003) a restrição no consumo acontece quando há inclusões acima de 3%. Os taninos condensados podem atuar de forma positiva no metabolismo do animal, e isso depende unicamente da quantidade de tanino no alimento, fisiologia do animal e da qualidade da dieta (Naumann et al., 2013). Nesse sentido, a inclusão de níveis baixos de tanino na dieta pode melhorar o desempenho, diminuir a fermentação ruminal, diminuir a produção de metano, reduzir a degradação proteica da dieta e auxiliar na produção de proteína microbiana (PM) (Wanapat et al., 2012; Cobellis et al., 2016).

Inserções de extrato de tanino entre em baixas concentrações (até 3%) apresentam resultados positivos para a redução de $N\text{-}NH_3$ no rúmen, alterações nas rotas de excreção do nitrogênio e aumento da proteína metabolizável (Aboagye et al., 2018).

O uso de taninos apresenta vários benefícios, um dos principais, é a capacidade de ligação com a proteína da dieta, melhorando sua utilização (Buccioni et al., 2015), uma vez que há uma redução da mesma no ambiente ruminal, entretanto efeitos positivos sobre a fibra também podem ser observados, uma vez que os taninos podem formar complexos com a celulose, hemicelulose, pectina e até o amido (Smith et al., 2005).

O efeito do uso de taninos para ruminantes está muito ligado a qualidade da dieta oferecida e ao consumo, regulado, pela dose aplicada (Mezzomo et al., 2011; Ahnert et al., 2015; Ebert et al., 2017). Acredita-se na formação de complexos de proteína e tanino, favorecendo uma diminuição na excreção de nitrogênio (N), via urina, e aumento do N fecal (Mueller-Harvey, 2006), tal modificação, a nível ambiental é de fundamental importância, uma vez que, o nitrogênio urinário é predominantemente ureia que por sua vez é rapidamente convertida em amônia e óxido nitroso, implicando diretamente na poluição ambiental, já o N fecal ficará retido no solo beneficiando o acúmulo de matéria orgânica (Hristov et al., 2013). Ao mesmo tempo, o tanino também é destacado pela sua atividade antioxidante, diminuição da metanogênese e capacidade de atuação ao nível de saúde animal protagonizando atividades anti-helmínticas (Luciano et al., 2011; Liu et al., 2011; Hoste et al., 2012; Zhong et al., 2014; Hoste et al., 2015; Bhatta et al., 2015).

Estudos com tanino se mostram um tanto controversos, porém, o fator deliberativo é o estado fisiológico do animal na variável resposta desses ensaios. Warghorn (2008) observou aumentos de 8–38% no ganho médio diário de cabras, quando as forragens continham tanino condensado quando comparados ao controle, mostrando que estudos com animais mais exigentes em proteína respondem melhor ao excedente de aminoácidos na dieta.

Rivera-Méndez et al. (2017) avaliaram os efeitos do nível de tanino condensado (0%, 0,2%, 0,4% e 0,6% da matéria seca), os resultados mostraram que o tanino aumenta na ordem de 6,5% no ganho de peso e 5,5% a eficiência, mas a fonte do tanino tem efeito mínimo na resposta geral do desempenho usando uma mistura de taninos condensados e hidrolisáveis. Tabke et al. (2017) avaliaram os efeitos de uma mistura de ácido tânico (ByPro; Silvateam® USA, Ontario, CA) adicionada às dietas à base de milho floculado no desempenho do crescimento de bovinos de corte os tratamentos incluíram um controle (CON; sem ByPro) e ByPro alimentados com 30 ou 60 g MS/boi diariamente e constataram o ByPro influenciou positivamente o consumo de matéria seca no início da fase de terminação, mas não alterou o ganho médio diário e eficiência, bem como as característica de carcaça.

Larraín et al. (2009) mostrou que a associação de milho com sorgo de alto taninos promove efeitos positivos. Este mesmo ensaio, ainda mostra que a porcentagem de cortes de varejo desossados foi maior em animais alimentados com sorgo de alto tanino, entretanto com a diminuição do peso de carcaça quente diminui a quantidade estimada desses cortes em relação ao tratamento usando somente milho.

A nível de metabolismo o tanino também se destaca de forma positiva e a intensidade dessa resposta varia dependendo do tipo de tanino utilizado, principalmente na redução da metanogênese (Jayanegara et al., 2015), aumento de PM (Al-Dobaib, 2009) e fluxo de proteína para o duodeno (Mezzomo et al., 2011). Aguerre et al. (2016) afirmam que tanto taninos condensados quanto hidrolisáveis reduzem a concentração de N amoniacal no rúmen, entretanto para Bhatta et al. (2013) a diminuição das concentrações de $N\text{-}NH_3$ foi maior quando o tanino condensado foi utilizado em contrapartida aos hidrolisados. Taninos diminuem a taxa de degradação proteica e desaminação no rúmen e, portanto, há diminuição do nível de $N\text{-}NH_3$ ruminal (Woodward;

Reed, 1989), isso impacta diretamente no aumento da eficiência da ureia reciclada para o rúmen, já que também influenciam no aumento de glicoproteínas e excreção de saliva podendo levar mais N reciclado para o rúmen (Robbins et al., 1997). A diminuição de $N\text{-}NH_3$ com o uso de taninos, comparados com o uso de monensina, também ocorre devido a complexação dos compostos polifenólicos com a proteína da dieta (Makkar et al., 1995), já que ficarão indisponíveis a ação dos microrganismos ruminais.

Existem ainda inconstâncias com os dados usando taninos em dietas de animais ruminantes, por serem compostos inovadores e promissores há necessidade de que sejam realizadas mais pesquisas que possam ponderar seus efeitos a nível de fermentação ruminal e desempenho, principalmente em função das várias fontes e concentrações desses taninos.

4.3 Saponinas

Assim como os taninos as saponinas também são compostos do metabolismo secundário das plantas relacionados, principalmente, com o mecanismo de defesa das mesmas (Patra; Saxena 2010). São encontradas em uma infinidade de plantas, *Yucca shidigera* (natural do México) (Eryavuz; Dehority, 2004), *Quillaja saponária* (natural do Chile) (Patra; Yu, 2014), *Madicago sativa* (alfafa) e *Brachiaria decumbens* são alguns exemplos. Stangarlin et al. (2011) divide as saponinas em três grupos de acordo com sua estrutura, que são triterpenóides, esteroides e glicoalcalóides.

Do latim “sapo”, saponinas significa sabão e há muito tempo plantas que continham saponinas tinham finalidade de limpeza. Sua estrutura química anfifílica possui uma parte hidrofílica (açúcares) e outra parte lipofílica (triterpeno ou esteroides) (Goel; Makkar, 2012), ou seja, a parte hidrofílica interage com a água e a lipofílica tende a repelir a água. Os surfactantes são representantes mais importantes desse tipo de sistemas e para Afrose et al. (2011) na nutrição essas propriedades podem reduzir a tensão superficial nas membranas celulares e ajudar na absorção dos nutrientes.

As pesquisas em torno dessas substâncias giram em torno da inibição do crescimento de protozoários ruminais e modulação da fermentação ruminal em ruminantes, uma vez que os protozoários, no rúmen, são os principais responsáveis pela reciclagem de nitrogênio (N) advindo a quebra de células

bacterianas. Pela ação surfactante, as saponinas atuam como antiprotozoários através da formação de complexo com os colesterol presente na membrana desses microrganismos causando a quebra dessas células (Patra; Saxena 2010). Sua ação, então, acaba sendo menos nas bactérias, porque os procariontes não têm esteróides em suas membranas. A consequência do uso de saponinas na população de protozoários é então, a redução na produção de amônia (Morais; Berchielli; Reis, 2011).

Hess et al. (2003) comparando, *in vitro*, o efeito da inclusão de saponinas na fermentação ruminal observou aumento na produção de propionato e diminuição de acetato e butirato, a redução da população de protozoários chegou a 54% e 20% a menos de libração diária de metano, resultado influenciado grandemente pela defaunação desse microrganismo, mas pela depressão de bactérias metanogênicas também.

Mao et al. (2010) investigando os efeitos das saponinas na produção de metano, fermentação e população dos microrganismos no rúmen observou diminuições diárias de metano 27,7%, aumento da produção de ácidos graxos voláteis, sem diferenças nas proporções de ácidos individuais e redução na população de protozoários. A depressão de protozoários também pode afetar a concentração de amônia no rúmen, em torno de 40% do nitrogênio amoniacal ruminal é produzido por esse microrganismo (Van Soest, 1994), como observado por Hess et al. (2003), o declínio de 17% na concentração de nitrogênio amoniacal ruminal.

Canul-Solis et al. (2014) trabalhando com concentrações crescentes (0, 1,5, 3,0, 4,5 e 6,0) de saponinas (*Yucca schidigera*) em dieta de ovinos sobre o consumo voluntário, fermentação ruminal e produção de metano (CH_4) com dietas a base de *Penisetum purpureum* não observou diferenças para essas variáveis em nenhuma inclusão. Até mesmo a dose de 6 g por dia de saponina não foi suficiente para alterar a produção de metano ruminal, já que, não houve efeito sobre a ingestão e digestibilidade dos nutrientes na dieta.

McMurphy et al. (2014ab) utilizou saponinas (Micro-Aid®) para avaliar parâmetros ruminais e desempenho de bovinos de corte, foi observado que a inclusão de até 2 g por dia (na base da matéria orgânica) aumenta a digestibilidade *in situ* da forragem e FDN no rúmen, mas não é suficiente para influenciar o ganho médio diário (GMD). O uso de 2 g dessa fonte de saponina

aumentou o fluxo de proteína microbiana sem prejuízo nenhum a IMS e diminuiu a população de protozoários (McMurphy et al., 2014a).

Tendo em vista essas informações, podemos reiterar que assim como o tanino, a saponina é dose dependente e seus efeitos ainda necessitam de estudos mais detalhados bem como de novas fontes e concentrações.

5 REFERÊNCIAS

ABOAGYE, I. A. et al. Effects of hydrolyzable tannin with or without condensed tannin on methane emissions, nitrogen use, and performance of beef cattle fed a high-forage diet. **Journal of animal science**, v. 96, n. 12, p. 5276-5286, 2018.

AFROSE, S.; HOSSAIN, M. S.; TSUJII, H. Hypocholesterolemic effect of karaya saponin in Japanese laying quails (Coturnix coturnix japonica). **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 95, n. 6, p. 693-700, 2011.

AGUERRE, M. J. et al. Effect of quebracho-chestnut tannin extracts at 2 dietary crude protein levels on performance, rumen fermentation, and nitrogen partitioning in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 6, p. 4476-4486, 2016.

AHNERT, S. et al. Influence of ruminal Quebracho tannin extract infusion on apparent nutrient digestibility, nitrogen balance, and urinary purine derivatives excretion in heifers. **Livestock Science**, v. 177, p. 63-70, 2015.

AL-DOBAIB, S. N. Effect of different levels of Quebracho tannin on nitrogen utilization and growth performance of Najdi sheep fed alfalfa (Medicago sativa) hay as a sole diet. **Animal Science Journal**, v. 80, n. 5, p. 532-541, 2009.

ASCHENBACH, J. R. et al. Ruminant Nutrition Symposium: Role of fermentation acid absorption in the regulation of ruminal pH. **Journal of animal science**, v. 89, n. 4, p. 1092-1107, 2011.

BATTESTIN, V.; MATSUDA, L. K.; MACEDO, G. A. Fontes e aplicações de taninos e tanases em alimentos. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 15, n. 1, p. 63-72, 2008.

BERCHIELLI, T. T.; VEGAGARCIA, A.; OLIVEIRA, S. G. (Ed.). **Principais técnicas de avaliação aplicadas em estudo de nutrição:** Nutrição de Ruminantes. 2. ed. Jaboticabal: Funep, 2011. p. 415-436.

BHATTA, R. et al. Effect of plant secondary compounds on in vitro methane, ammonia production and ruminal protozoa population. **Journal of applied microbiology**, v. 115, n. 2, p. 455-465, 2013.

BHATTA, R. et al. Effects of graded levels of tannin-containing tropical tree leaves on in vitro rumen fermentation, total protozoa and methane production. **Journal of applied microbiology**, v. 118, n. 3, p. 557-564, 2015.

BODINE, T. N.; PURVIS, H. T.; LALMAN, D. L. Effects of supplement type on animal performance, forage intake, digestion, and ruminal measurements of growing beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 79, n. 4, p. 1041-1051, 2001.

BUCCIONI, A. et al. Effect of chestnut and quebracho tannins on fatty acid profile in rumen liquid-and solid-associated bacteria: an in vitro study. **Animal**, v. 5, n. 10, p. 1521-1530, 2011.

BUCCIONI, A. et al. Milk fatty acid composition, rumen microbial population, and animal performances in response to diets rich in linoleic acid supplemented

with chestnut or quebracho tannins in dairy ewes. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 2, p. 1145-1156, 2015.

CALSAMIGLIA, S. et al. Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. **Journal of dairy science**, v. 90, n. 6, p. 2580-2595, 2007.

CANUL-SOLIS, J. R. et al. Effect of supplementation with saponins from Yucca schidigera on ruminal methane production by Pelibuey sheep fed Pennisetum purpureum grass. **Animal production science**, v. 54, n. 10, p. 1834-1837, 2014.

CHENEY, T. E. A. et al. Cross-sectional survey of antibiotic resistance in Escherichia coli isolated from diseased farm livestock in England and Wales. **Epidemiology & Infection**, v. 143, n. 12, p. 2653-2659, 2015.

COBELLIS, G.; TRABALZA-MARINUCCI, M.; YU, Z. Critical evaluation of essential oils as rumen modifiers in ruminant nutrition: A review. **Science of the Total Environment**, v. 545, p. 556-568, 2016.

DUFFIELD, T. F.; MERRILL, J. K.; BAGG, R. N. Meta-analysis of the effects of monensin in beef cattle on feed efficiency, body weight gain, and dry matter intake. **Journal of Animal Science**, v. 90, n. 12, p. 4583-4592, 2012.

DUFFIELD, T. F.; BAGG, R. N. Use of ionophores in lactating dairy cattle: a review. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 41, n. 5, p. 388, 2000.

EBERT, P. J. et al. Effect of condensed tannin extract supplementation on growth performance, nitrogen balance, gas emissions, and energetic losses of beef steers. **Journal of animal science**, v. 95, n. 3, p. 1345-1355, 2017.

ERYAVUZ, A.; DEHORITY, B. A. Effect of Yucca schidigera extract on the concentration of rumen microorganisms in sheep. **Animal Feed Science and Technology**, v. 117, n. 3-4, p. 215-222, 2004.

FERELI, F. et al. Monensina sódica e Saccharomyces cerevisiae em dietas para bovinos: fermentação ruminal, digestibilidade dos nutrientes e eficiência de síntese microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 1, p. 183-190, 2010.

GOEL, G.; MAKKAR, H. P. S. Methane mitigation from ruminants using tannins and saponins. **Tropical animal health and production**, v. 44, n. 4, p. 729-739, 2012.

GUAN, H. et al. Efficacy of ionophores in cattle diets for mitigation of enteric methane. **Journal of animal science**, v. 84, n. 7, p. 1896-1906, 2006.

HALES, K. E. et al. The effects of monensin in diets fed to finishing beef steers and heifers on growth performance and fecal shedding of Escherichia coli O157: H7. **Journal of animal science**, v. 95, n. 8, p. 3738-3744, 2017.

HERNANDEZ-SANABRIA, E. et al. Correlation of particular bacterial PCRdenaturing gradient gel electrophoresis patterns with bovine ruminal fermentation parameters and feed efficiency traits. **Applied and environmental microbiology**, v. 76, n. 19, p. 6338–50, 1 out. 2010.

HESS, H-D. et al. Saponin rich tropical fruits affect fermentation and methanogenesis in faunated and defaunated rumen fluid. **Animal feed science and technology**, v. 109, n. 1-4, p. 79-94, 2003.

HOCQUETTE, J-F. et al. The future trends for research on quality and safety of animal products. **Italian Journal of Animal Science**, v. 4, n. sup3, p. 49-72, 2005.

HOSTE, H. et al. Direct and indirect effects of bioactive tannin-rich tropical and temperate legumes against nematode infections. **Veterinary Parasitology**, v. 186, n. 1-2, p. 18-27, 2012.

HOSTE, H. et al. Tannin containing legumes as a model for nutraceuticals against digestive parasites in livestock. **Veterinary parasitology**, v. 212, n. 1-2, p. 5-17, 2015.

HRISTOV, A. N. et al. Mitigation of greenhouse gas emissions in livestock production - A review of technical options for non-CO2 emissions, In: Gerber PJ, Henderson B, Makkar HPS (Eds.). FAO Animal Production and Health Paper. 2013 Nº. 177. FAO, Rome, Italy.

IBGE (Instituto Brasileiro de geografia e Estatística). **Brasil – Pesquisa da Pecuária Municipal (PPM).** IBGE 2019. Disponível em: < https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/media/com_mediaibge/arquivos/9130d7d3e67662a2277b97bde61a52d0.pdf>. Acesso em: 10/02/2020.

JAYANEGARA, A. et al. Divergence between purified hydrolysable and condensed tannin effects on methane emission, rumen fermentation and microbial population in vitro. **Animal Feed Science and Technology**, v. 209, p. 60-68, 2015.

JIAO, P. et al. Screening of live yeast and yeast derivatives for their impact of strain and dose on in vitro ruminal fermentation and microbial profiles with varying media pH levels in high-forage beef cattle diet. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 2019.

KUMAR, R.; VAITHIYANATHAN, S. O., nutritional significance and effect on animal productivity of tannins in tree leaves. **Animal feed science and technology**, v. 30, n. 1-2, p. 21-38, 1990.

LARRAÍN, R. E. et al. Finishing steers with diets based on corn, high-tannin sorghum, or a mix of both: Feedlot performance, carcass characteristics, and beef sensory attributes. **Journal of animal science**, v. 87, n. 6, p. 2089-2095, 2009.

LASCANO, C. E.; SCHMIDT, A.; BARAHONA ROSALES, R. Forage quality and the environment. 2001.

LIU, H.; VADDELLA, V.; ZHOU, D. Effects of chestnut tannins and coconut oil on growth performance, methane emission, ruminal fermentation, and microbial populations in sheep. **Journal of dairy science**, v. 94, n. 12, p. 6069-6077, 2011.

LUCIANO, G. et al. Antioxidant status, colour stability and myoglobin resistance to oxidation of longissimus dorsi muscle from lambs fed a tannin-containing diet. **Food chemistry**, v. 124, n. 3, p. 1036-1042, 2011.

MAASS, B. L.; LASCANO, C. E.; CÁRDENAS R, E. A.. La leguminosa arbustiva Codariocalyx gyroides: 2. Valor nutritivo y aceptabilidad en el piedemonte amazónico, Caquetá, Colombia. 1996.

MAKKAR, H. P. S. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. **Small ruminant research**, v. 49, n. 3, p. 241-256, 2003.

MAKKAR, H. P. S.; BLÜMMEL, M.; BECKER, K. Formation of complexes between polyvinyl pyrrolidones or polyethylene glycols and tannins, and their implication in gas production and true digestibility in in vitro techniques. **British Journal of Nutrition**, v. 73, n. 6, p. 897-913, 1995.

MAO, H-L. et al. Effects of addition of tea saponins and soybean oil on methane production, fermentation and microbial population in the rumen of growing lambs. **Livestock Science**, v. 129, n. 1-3, p. 56-62, 2010.

MCGARVEY, J. A. et al. Dosage-dependent effects of monensin on the rumen microbiota of lactating dairy cattle. **MicrobiologyOpen**, v. 8, n. 7, p. e00783, 2019.

MCMURPHY, C. P. et al. Effects of including saponins (Micro-Aid®) in a protein supplement on performance of growing steers and spring-calving cows. **Animal feed science and technology**, v. 190, p. 19-29, 2014b.

MCMURPHY, C. P. et al. Effects of including saponins (Micro-Aid®) on intake, rumen fermentation and digestibility in steers fed low-quality prairie hay. **Animal feed science and technology**, v. 190, p. 47-58, 2014a.

MEYER, N. F. et al. Effect of essential oils, tylosin, and monensin on finishing steer performance, carcass characteristics, liver abscesses, ruminal fermentation, and digestibility. **Journal of animal science**, v. 87, n. 7, p. 2346-2354, 2009.

MEZZOMO, R. et al. Influence of condensed tannin on intake, digestibility, and efficiency of protein utilization in beef steers fed high concentrate diet. **Livestock Science**, v. 141, n. 1, p. 1-11, 2011.

MILLEN, D. D. **Desempenho, avaliação ruminal e perfil metabólico sanguíneo de bovinos jovens confinados suplementados com monensina sódica ou anticorpos policlonais**. 2008. 131f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia e Medicina Veterinária) – Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.

MIN, B. R. et al. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. **Animal feed science and technology**, v. 106, n. 1-4, p. 3-19, 2003.

MOLINA-BOTERO, I. C. et al. Effects of tannins and saponins contained in foliage of *Gliricidia sepium* and pods of *Enterolobium cyclocarpum* on fermentation, methane emissions and rumen microbial population in crossbred heifers. **Animal feed science and technology**, v. 251, p. 1-11, 2019.

MORAIS, A. DA S.; BERCHIELLI, T. T.; REIS, R. A. **Aditivos:** Nutrição de Ruminantes. 2. ed. Jaboticabal: Funep, 2011. p. 565-591.

MORALES, R.; UNGERFELD, E. M. Use of tannins to improve fatty acids profile of meat and milk quality in ruminants: A review. **Chilean journal of agricultural research**, v. 75, n. 2, p. 239-248, 2015.

MUELLER-HARVEY, I. Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, n. 13, p. 2010-2037, 2006.

NAUMANN, H. D. et al. Condensed tannins in the ruminant environment: a perspective on biological activity. **J. Agric. Sci**, v. 1, p. 8-20, 2013.

OGUNADE, I. et al. Monensin Alters the Functional and Metabolomic Profile of Rumen Microbiota in Beef Cattle. **Animals**, v. 8, n. 11, p. 211, 2018.

PATRA, A. K.; SAXENA, J. A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. **Phytochemistry**, v. 71, n. 11-12, p. 1198-1222, 2010.

PATRA, A. K.; YU, Z.. Effects of vanillin, quillaja saponin, and essential oils on in vitro fermentation and protein-degrading microorganisms of the rumen. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 98, n. 2, p. 897-905, 2014.

PILUZZA, G.; SULAS, L.; BULLITTA, S. Tannins in forage plants and their role in animal husbandry and environmental sustainability: a review. **Grass and Forage Science**, v. 69, n. 1, p. 32-48, 2014.

RAN, T. et al. Using ruminally protected and nonprotected active dried yeast as alternatives to antibiotics in finishing beef steers: growth performance, carcass traits, blood metabolites, and fecal Escherichia coli. **Journal of animal science**, v. 96, n. 10, p. 4385-4397, 2018.

RANGEL, A. H. do N. et al. Utilização de ionóforos na produção de ruminantes. **Revista de biologia e ciências da terra**, v. 8, n. 1, p. 264-273, 2008.

RIVERA-MÉNDEZ, C. et al. Effect of level and source of supplemental tannin on growth performance of steers during the late finishing phase. **Journal of applied animal research**, v. 45, n. 1, p. 199-203, 2017.

ROBBINS, C. T. et al. Role of tannins in defending plants against ruminants: reduction in protein availability. **Ecology**, v. 68, n. 1, p. 98-107, 1987.

RUSSELL, J. B. A proposed mechanism of monensin action in inhibiting ruminant bacterial growth: Effects on ion flux and protonmotive force. **Journal of Animal Science**, v. 64, n. 5, p. 1519-1525, 1987.

SHEN, Y. et al. Ruminally protected and unprotected Saccharomyces cerevisiae fermentation products as alternatives to antibiotics in finishing beef steers. **Journal of animal science**, v. 97, n. 10, p. 4323-4333, 2019.

SMITH, T. et al. Dichrostachys cinerea and Acacia nilotica fruits as dry season feed supplements for goats in a semi-arid environment: Summary of a DFID funded project in Zimbabwe. **Animal Feed Science and Technology**, v. 122, n. 1-2, p. 149-157, 2005.

SOUZA, M. A. et al. Intake, digestibility and rumen dynamics of neutral detergent fibre in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogen and/or starch. **Tropical Animal Health and Production**, v. 42, n. 6, p. 1299-1310, 2010.

STANGARLIN, J. R. et al. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 10, n. 1, p. 18, 2011.

SWYERS, K. L. et al. Evaluation of Saccharomyces cerevisiae fermentation product as an alternative to monensin on growth performance, cost of gain, and carcass characteristics of heavy-weight yearling beef steers. **Journal of animal science**, v. 92, n. 6, p. 2538-2545, 2014.

TABKE, M. C. et al. Effects of tannic acid on growth performance, carcass characteristics, digestibility, nitrogen volatilization, and meat lipid oxidation of steers fed steam-flaked corn–based finishing diets. **Journal of animal science**, v. 95, n. 11, p. 5124-5136, 2017.

VENDRAMINI, J. et al. Monensin effects on beef heifers grazing bahiagrass pastures and receiving molasses supplementation. **Journal of Animal Science**, v. 95, p. 134, 2017.

WAGHORN, G. C. et al. The effect of condensed tannins on the site of digestion of amino acids and other nutrients in sheep fed on Lotus corniculatus L. **British journal of nutrition**, v. 57, n. 1, p. 115-126, 1987.

WAGHORN, G. Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production—Progress and challenges. **Animal Feed Science and Technology**, v. 147, n. 1-3, p. 116-139, 2008.

WANAPAT, M. et al. Effects of plants containing secondary compounds and plant oils on rumen fermentation and ecology. **Tropical Animal Health and Production**, v. 44, n. 3, p. 399-405, 2012.
WEIMER, P. J. et al. Effect of monensin feeding and withdrawal on populations of individual bacterial species in the rumen of lactating dairy cows fed high-starch rations. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 80, n. 1, p. 135-145, 2008.
WONG, A. Unknown Risk on the Farm: Does Agricultural Use of Ionophores Contribute to the Burden of Antimicrobial Resistance?. **mSphere**, v. 4, n. 5, p. e00433-19, 2019.
WOODWARD, A.; REED, J. D. The influence of polyphenolics on the nutritive value of browse: a summary of research conducted at ILCA. 1989.
ZHONG, R. Z. et al. Effects of supplementation with dietary green tea polyphenols on parasite resistance and acute phase protein response to Haemonchus contortus infection in lambs. **Veterinary parasitology**, v. 205, n. 1-2, p. 199-207, 2014.

CAPÍTULO 2 – Efeitos do uso de extratos vegetais e monensina sobre os parâmetros metabólicos de bovinos terminados a pasto

RESUMO – O objetivo desse ensaio foi avaliar o efeito uso de extratos vegetais (*blend*) contra a monensina no consumo, fermentação ruminal e parâmetros sanguíneos de bovinos em sistema de terminação intensiva a pasto. Foram utilizados quatro tratamentos: CN - controle sem aditivo, 25T - inclusão de 0,25% do *blend* na matéria seca, 50T - inclusão de 0,50% do *blend* na matéria seca e MN - inclusão de 30 ppm de monensina na matéria seca. Foram utilizados oito bovinos Nelore com 405±13 kg, machos, castrados e canulados no rúmen distribuídos em um duplo quadrado latino analisado estatisticamente por meio de contrastes ortogonais. Foram realizados quatro períodos iguais de 21 dias, sendo 14 para adaptação a nova dieta e sete para coletas. Para estimativa do consumo de suplemento e forragem foram utilizados indicadores externos e coletas de fezes, para o consumo de nutrientes digestíveis totais (NDT) produção microbiana, excreção e retenção de nitrogênio além das

coletas de fezes foram realizadas coletas de urina. As avaliações de pH (0, 6, 12 e 18h), nitrogênio amoniacal (0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 e 21h) e ácidos graxos de cadeia curta (0, 6, 12 e 18h) foram feitas com alíquotas de líquido ruminal sempre após o fornecimento do suplemento. Foram colhidas amostras sanguíneas (0, 2, 4 e 6h) para determinação de ureia no soro, albumina, globulina, proteína total, creatinina e glicose também após o fornecimento do suplemento. Para a análise da população de protozoários ruminais foram coletadas frações sólidas e líquidas de conteúdo ruminal quatro horas após o fornecimento do suplemento. O consumo total e no percentual do peso corporal (%PC) apresentaram tendência ($P < 0,10$) para maior consumo quando os animais consumiram monensina. Animais que receberam extrato vegetal consumiram menos forragem e mais suplemento ($P < 0,05$) quando comparados a ausência de aditivo ou uso de antibiótico. Não houve diferença ($P > 0,05$) para o consumo, excreção e retenção de proteína, bem como o consumo de NTD e produção de proteína microbiana (PBmic). pH e N-NH3 não foram influenciados pelo tratamento ($P > 0,05$), mas foram diferentes entre as horas de coleta ($P < 0,05$), entretanto não houve interação. Apenas isobutirato apresentou tendência ($P < 0,10$) entres os AGCC avaliados. Os metabólitos sanguíneos avaliados só apresentaram diferença ($P < 0,05$) entre as horas de coleta. A avaliação da população de protozoários mostrou diferença ($P < 0,05$) para o uso de extrato natural como aditivo, sendo maiores as quantidades encontradas em comparação ao grupo controle e ao grupo que recebeu antibiótico. Os dados sugerem que o extrato vegetal a base de tanino e saponina pode substituir a monensina como aditivo alternativo sem prejuízo na fermentação ruminal.

Palavras-chave: aditivo, tanino, saponina, rúmen, metabolismo

1. Introdução

Há uma demanda por proteína animal crescente no mundo hoje e é natural que se almeje animais mais eficientes, estratégias nutricionais mais refinadas e com menores riscos para a saúde humana (Richards et al., 2018). O grande problema que encontramos nesse ponto é que a fermentação dos carboidratos no rúmen gera metano e traduz ineficiência para essa produção no tocante ao uso de energia (Millen et al., 2016).

Na busca de novos compostos, em estudos avançados de nutrição os compostos metabólico dos vegetais (taninos, vonoides, saponinas, etc.) foram “redescobertos”, pois por muitos anos foram considerados antinutricionais por supostamente limitar o consumo de suplementos ou uso de nutrientes, por serem prejudiciais à saúde animal e diminuírem a produtividade, entretanto uma gama de estudos recentes mostrou que tais efeitos negativos dependem da origem do composto vegetal, composição química, quantidade a ser utilizada e qualidade do alimento fornecido juntamente com o aditivo (McCann et al., 2017).

O uso de aditivos a base se compostos vegetais contém em sua maioria associação entre taninos e saponinas que possuem função de modulação da fermentação ruminal, ou seja, alteram as quantidades populacionais de bactérias protozoários e archeas (Bodas et al., 2012). MacAdam e Villalba (2015) afirmam que as ligações químicas proporcionadas pela utilização de taninos em dietas são benéficas para animais ruminantes principalmente no tocante a redução de metano entérico e o aumento da quantidade de proteína que é absorvida pelos intestinos.

O objetivo desse estudo foi utilizar extrato vegetal a base de tanino e saponina na substituição da monensina sob a hipótese de que como um aditivo alternativo na terminação intensiva a pasto atua como modificador dos metabolismos de energia e proteína.

2. Material e métodos

O ensaio foi realizado de acordo com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA) e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP – Campus Jaboticabal (SP), com número de protocolo 015981/18.

2.1 Localização e clima

O estudo foi realizado na Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), Polo Regional da Alta Mogiana, localizada na cidade de Colina – SP. O clima da região é do tipo Cwa segundo classificação de Köppen (Alvares et al., 2013), representado por duas estações distintas, uma seca, de abril a setembro e outra chuvosa, de outubro a março, onde a temperatura média do mês mais quente é superior a 22ºC e do mês mais frio inferior a 18ºC (Fig. 1). O solo é classificado como latossolo vermelho escuro, fase arenosa com topografia plana e de boa drenagem (Dos Santos et al., 2018).

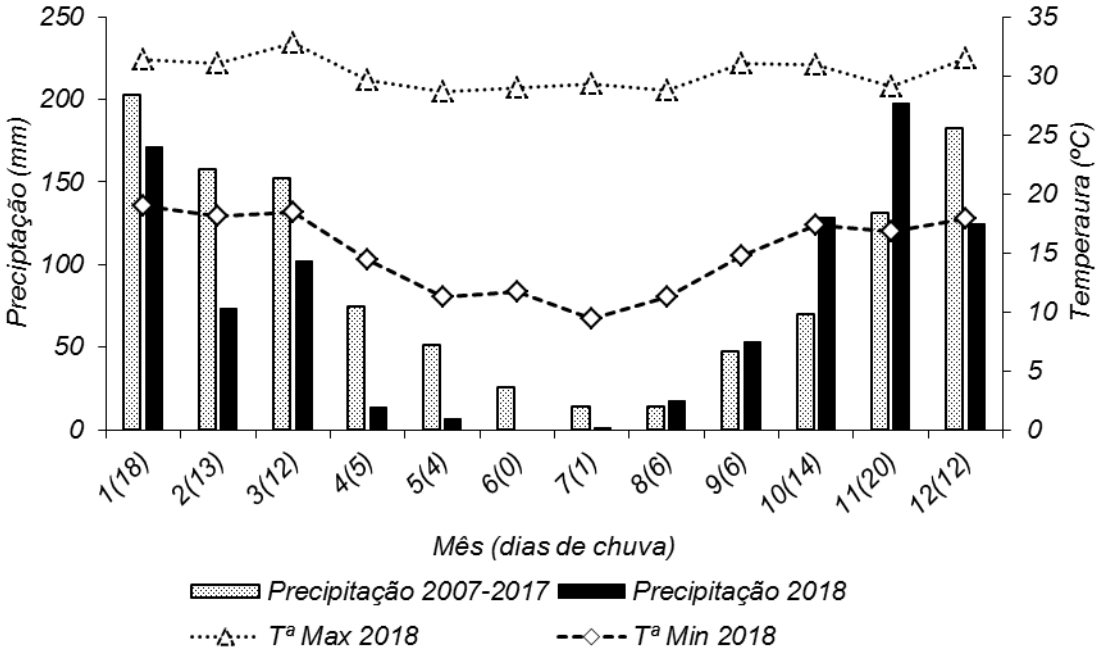

Fig. 1. Dados climáticos (precipitação, temperatura máxima e mínima) registrados no município de Colina – SP.

2.2 Área experimental e protocolo sanitário

Foram utilizados 8 piquetes, de um hectare (ha) cada, formados com uma pastagem de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, providos de bebedouro tipo australiano e cocho coletivo com metragem mínima de 30 cm linear por animal.

Todos os animais foram submetidos a protocolo sanitário ao início do experimento com administração de Ivermectina 1% na dosagem de 1 mL para cada 50 kg de peso corporal. Os animais eram vistoriados diariamente para eventuais problemas sanitários.

2.3 Delineamento experimental, tratamentos e dieta

Foi utilizado um animal por piquete, perfazendo um total de oito bovinos, nelores, castrados e canulados no rúmen, pesando em média 405±13 kg e com

idade de 24 meses. Dentro de cada piquete, além dos animais canulados estavam mais quatro animais de desempenho, mantidos nas condições dos animais de metabolismo. Foram distribuídos em um duplo quadrado latino e quatro períodos de 21 dias. Todos os animais receberam concentrado para fase de terminação, diariamente, na quantidade de 2% do peso corporal (PC).

Foi utilizado um *blend* (BX®) de taninos fornecido pela SilvaFeed®, composto de mistura de extratos de taninos de quebracho e castanheira, hidrolisados e condensados, mais saponinas.

Os tratamentos avaliados foram: ausência de aditivo (controle – CN), inclusão de 0,25% (25T) do *blend* de extratos vegetal na matéria seca (MS), inclusão de 0,50% (50T) do mesmo *blend* e monensina sódica (MN) (aditivo antibiótico ionóforo) na quantidade de 30 ppm/kg de MS (Tabela 1).

Os suplementos foram produzidos em fábricas especializadas e ensacados em embalagens de 50 kg. Durante o experimento, foram armazenados em galpões com cobertura metálica, sobre estrados de madeira, evitando eventuais prejuízos à integridade do produto. O suplemento era fornecido em regime de distribuição diário, durante o período da manhã, entre às 8:00 e 8:30 horas.

Tabela 1. Níveis nutricionais e níveis de garantia, dos suplementos fornecidos no período experimental.

Ingredientes, MS	Unidade	CN	25T	50T	MN
Milho	**g/kg**	**802**	**802**	**802**	**802**
Polpa cítrica	**g/kg**	**100**	**100**	**100**	**100**
Farelo de amendoim	**g/kg**	**60**	**60**	**60**	**60**
Ureia	**g/kg**	**15**	**15**	**15**	**15**
Tanino	**mg/kg**	**0**	**500**	**1000**	**0**
Monensina	**mg/kg**	**0**	**0**	**0**	**30**
Núcleo	**g/kg**	**22**	**22**	**22**	**22**
Composição química[1], MS					
PB	**g/kg**	**162**	**162**	**162**	**162**
EE	**g/kg**	**34,2**	**34,2**	**34,2**	**34,2**
NDT	**g/kg**	**705**	**705**	**705**	**705**
ED	**Mcal/kg**	**3,11**	**3,11**	**3,11**	**3,11**

EM	**Mcal/kg**	**2,55**	**2,55**	**2,55**	**2,55**
ELm	**Mcal/kg**	**1,65**	**1,65**	**1,65**	**1,65**
ELg	**Mcal/kg**	**1,04**	**1,04**	**1,04**	**1,04**

CN = Controle; 25T e 50T = Inclusão na dieta de 0,25% e 0,50% do *blend* vegetal na MS; MN = Monensina; [1]PB = Proteína Bruta; EE = Extrato Etéreo; NDT = Nutrientes digestíveis totais; ED = Energia digestível; EM = Energia metabolizável; ELm = Energia líquida de mantença; ELg = Energia líquida de ganho. Cálculos de energia feitos de acordo com o NRC 2016.

2.4 Protocolo de adaptação

O protocolo de adaptação adotado para este ensaio foi de escada por um período de 27 dias, consistindo no aumento gradativo do fornecido tentando minimizar o impacto negativo da fermentação do suplemento (Owens et al., 1998). Os animais chegaram a 2% do peso corporal com 17 dias (Figura 2).

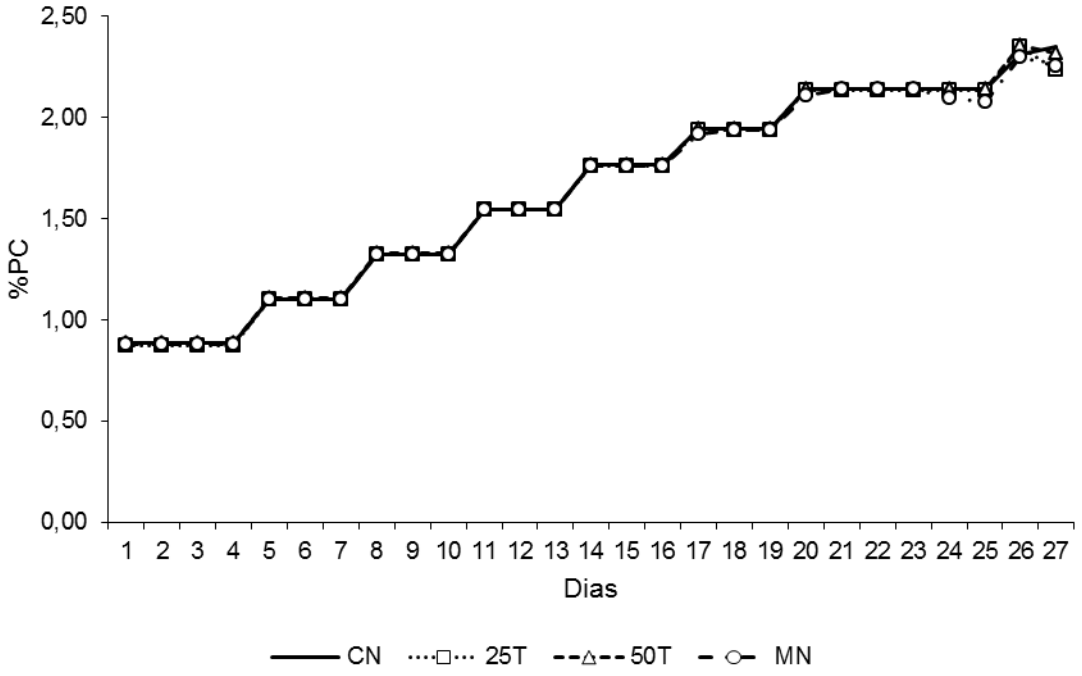

Fig. 2. Protocolo de adaptação de animais terminados a pasto com diferentes aditivos.

2.5 Avaliação da forragem e composição morfológica do pasto

Foi adotado o sistema de lotação contínua com taxa de lotação fixa. Para determinação da massa de forragem foi utilizado o método da dupla amostragem (Sollenberger e Cherney, 1995), onde a massa era associada às leituras de altura do dossel (50 pontos de altura normal e comprimida) pelo uso

do prato ascendente (*rising plate meter*). Em cada piquete, eram selecionados três pontos de altura mínima, média e alta (determinados em função de ± 2 desvios padrões). Uma amostra de forragem de 0,25 m² de cada ponto selecionado era coletada ao nível do solo e, posteriormente, uma sub-amostra era seca em estufa a 55ºC por 72 horas para determinação da massa de forragem (MF). Em seguida, eram estimadas equações de regressão linear, através dos dados de MF e suas respectivas alturas, estabelecendo uma relação entre a altura do dossel e a massa de forragem (Fig. 3):

$$MF\ (kg/ha) = a + b\ x\ h\ (cm)$$

onde: MF = massa de forragem em kg/ha de matéria seca, h = altura do dossel em cm, a = intercepto da regressão e b = coeficiente angular da regressão.

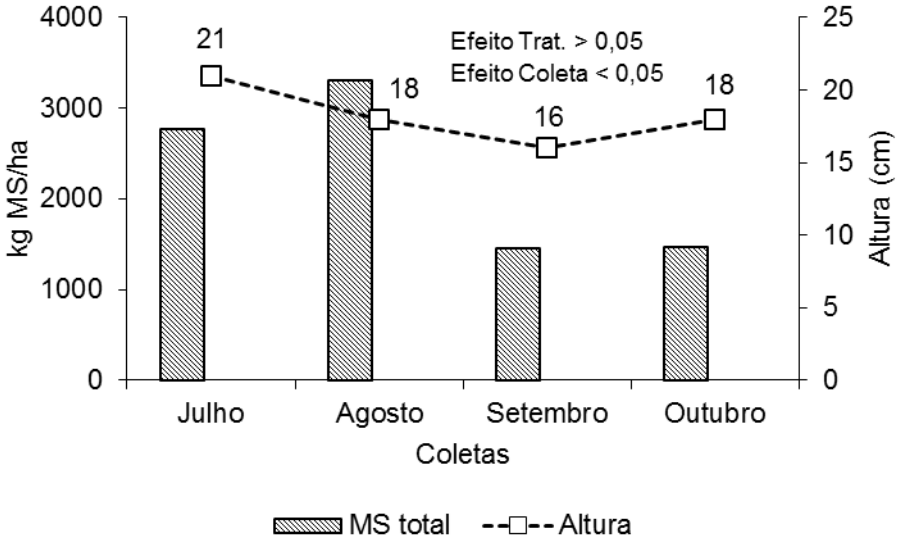

Fig. 3. Oferta de forragem e altura do dossel forrageiro de capim-Marandú durante o período experimental.

Para avaliação dos componentes quantitativos e estruturais do dossel forrageiro foram utilizadas amostras colhidas na altura média de cada piquete. As amostras foram separadas manualmente em lâmina foliar verde, colmo verde, lâmina foliar morta e colmo morto. Após separação, os componentes eram pesados e secos em estufa de 55ºC por 72 horas, para a obtenção da matéria seca e proporção de cada componente no dossel forrageiro (Fig. 4).

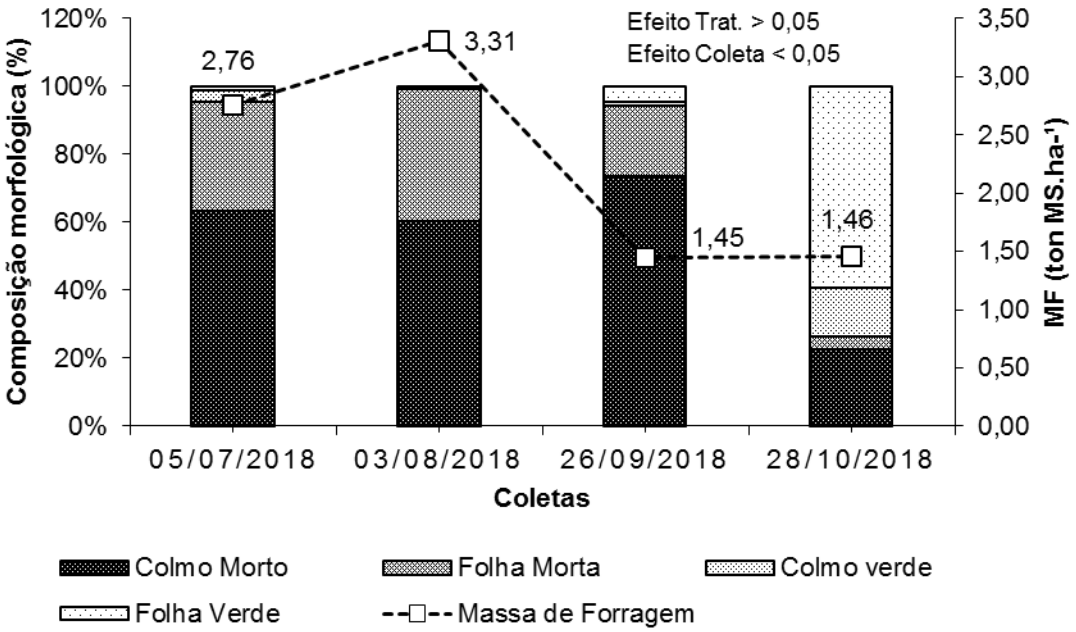

Fig. 4. Composição morfológica de forragem, na altura média dos piquetes de Urochloa brizantha cv. Marandu durante os estudos de metabolismo.

2.6 Avaliação do valor nutritivo da forragem

A determinação do valor nutritivo foi realizada pela amostragem da forragem, via pastejo simulado, método *hand-plucking* (De Vries, 1995). As amostras foram secas em estufa, de circulação de ar a 55ºC, até a estabilização de peso pela perda de água, processo que se deu por volta das 72 horas de secagem. Posteriormente, foram moídas em peneira de malha com crivo de 1 mm.

Foram determinados os teores de matéria seca (método 934.01), material mineral (método 942.05), extrato etéreo (método 920.39) e proteína bruta (método 978.04) (AOAC, 1995). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram determinados conforme metodologia sequencial descrita por Van Soest, Robertson e Lewis (1991) sem sulfito de sódio, a celulose foi solubilizada utilizando ácido sulfúrico a 72%, sendo o resíduo a quantidade de lignina na amostra. A digestibilidade

verdadeira *in vitro* da matéria seca (DIVMS) foi determinada conforme Van Soest e Robertson (1985) (Tabela 2).

Tabela 2. Composição química de pastejo simulado sobre capim-Marandú durante estudo de metabolismo, em função dos tratamentos.

Item	Tratamentos				EPM	Contrastes[1]		
	CN	25T	50T	MN		L	Q	C3
MS, %	61,7	59,8	65,1	65,1	15,0	0,19	0,10	0,23
MM, %MS	6,15	6,18	5,23	5,04	1,04	0,03	0,17	0,06
PB, %MS	6,01	7,03	5,27	5,98	2,43	0,26	0,02	0,77
EE, %MS	1,02	1,06	0,88	0,94	0,24	0,34	0,39	0,83
FDN, %MS	74,8	75,0	77,1	75,7	4,85	0,03	0,32	0,64
FDA, %MS	46,7	45,8	48,2	46,7	5,43	0,28	0,17	0,80
Lignina, %MS	7,04	5,96	6,86	6,66	1,06	0,78	0,10	0,66
PIDN, %PB	31,8	33,7	31,6	32,1	1,79	0,93	0,20	0,70
PIDA, %PB	21,9	23,8	24,6	25,1	2,77	0,31	0,80	0,71
DIVMS, %	61,1	62,4	58,6	60,9	0,07	0,17	0,12	0,79

CN = Controle; 25T e 50T = Inclusão na dieta de 0,25% e 0,50% *do* blend *vegetal* na MS; MN = Monensina; MM = Matéria mineral; PB = Proteína bruta; EE = Extrato etéreo; FDN = Fibra em detergente neutro; FDA = Fibra em detergente ácido; PIDN = Proteína insolúvel em detergente neutro; PIDA = Proteína insolúvel em detergente ácido; DIVMS = Digestibilidade in vitro da matéria seca; EPM = erro padrão da média; L = contraste linear; Q = contraste quadrático; C3 = 25T + 50T vs MN. [1]Houve diferença para MM, PB e FDN na composição química.

2.7 Estimativa do consumo de suplemento e da forragem

A excreção fecal e consumo de forragem foram avaliados nos quatro períodos do ensaio.

Para estimativa da excreção fecal foi utilizado o indicador externo óxido de cromo (Cr_2O_3). O indicador foi inserido diretamente no rúmen, na quantidade de 10 g por animal/dia do 10º ou 14º dia experimental, as 07 horas, durante nove dias, para se obter uma excreção constante do indicador. As fezes dos animais eram coletadas diretamente no reto, cinco dias após início do fornecimento do indicador, logo após a defecação, durante quatro dias (15º ao 18º dia), uma vez ao dia e em horários alternados: 16, 13, 10 e 7 horas, respectivamente.

As fezes de cada animal foram pesadas, pré-seca (55 ± 5ºC, até estabilização do peso) e moídas em moinho com peneira de crivo de 1 e 2 mm. A concentração do marcador (óxido crômico) foi obtida por espectrometria de

absorção atômica (Willians et al., 1962). A excreção fecal foi obtida segundo metodologia descrita por Smith e Reid (1955), utilizando a Equação 3:

$$EF\ (g/dia) = \frac{Cr2O3\ fornecido\ (g/dia)}{CIF\ Cr2O3\ (g/g\ MS)}$$

onde: EF = excreção de matéria seca fecal em g/dia; CIF Cr_2O_3 = concentração de óxido cromo nas fezes em %; Cr_2O_3 fornecido = óxido de cromo fornecido em g.dia^{-1}.

Os animais canulados ficaram dispostos em piquetes acompanhados de mais 4 animais de desempenho, e para a estimativa do consumo individual de suplemento, foi utilizado o marcador externo dióxido de titânio (TiO_2). O indicador foi fornecido por mistura no suplemento na concentração de 20 g por animal por dia, durante o mesmo tempo de fornecimento e colheita descrita para o óxido de cromo. A concentração de TiO_2 nas fezes foi determinada a partir da metodologia descrita por Myers et al. (2004). O consumo individual de suplemento foi obtido segundo descrito por Titgemeyer et al. (2001), pela Equação 4:

$$CISupl\ (g/dia) = [(EF(g/dia)\ x\ CIF\ TiO2\ (\%)) \div CIS\ TiO2\ (\%)]$$

onde: CISupl = consumo individual de suplemento em g/dia; EF = excreção de matéria seca fecal em g/dia; CIFTiO_2 = concentração de óxido de titânio nas fezes em %; CISTiO_2 = concentração óxido de titânio no suplemento em %.

Para a estimativa do consumo de matéria seca de forragem foi utilizado o marcador interno fibra insolúvel em detergente neutro (FDNi) (Casali et al., 2008). A estimativa do consumo de matéria seca foi realizada a partir da Equação 5:

$$CIfor\ (g/dia) = \frac{[EF(g/dia)\ x\ CIF\ FDNi(\%) \div 100) - IS\ FDNi(g/dia)]}{CIfor\ FDNi(\%)}\ x\ 100$$

onde: CIfor = consumo individual de forragem em g/dia; EF = excreção fecal em g.dia-¹; CIFFDNi = concentração da FDNi nas fezes em %; ISFDNi = ingestão de FDNi via suplemento em g.dia-¹; CIFORFDNi = concentração da FDNi na forragem em %.

O consumo individual de matéria seca foi obtido pelo somatório do consumo de forragem (CIfor) e pelo consumo de suplemento (CISupl), ficando da forma apresentada na Equação 6:

$$CMS(g/dia) = CIfor(g/dia) + CISupl\ (g/dia)$$

onde: CMS = consumo de matéria seca em g/dia; CIfor = consumo individual de forragem em g/dia; CISupl = consumo individual de suplemento em g/dia.

2.8 Parâmetros ruminais

Foram colhidas amostras representativas do conteúdo ruminal de cada animal via cânula em diferentes horários: 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 horas após suplementação, em dois dias diferentes (18º dia = 0, 6, 12 e 18 horas; 19º dia = 3, 9, 15 e 21 horas). Foram utilizadas as amostras coletadas em todos horários para avaliação do N-NH_3. Para avaliação do pH e AGCC foram utilizadas amostras dos horários de 0, 6, 12 e 18 horas após alimentação.

Após colheita, as amostras (200 mL por animal) foram filtradas e utilizadas para a determinação do pH (DM-22, Digimed, São Paulo, Brasil). Posteriormente, duas alíquotas de 50 mL foram armazenadas em frascos plásticos contendo 1 mL de H_2SO_4 (1:1) cada e congeladas a -20 ºC para análise de N-NH_3. O N-NH_3 foi determinado pelo método colorimétrico fenol-hipoclorito (Weatherburn, 1967).

Uma dupla amostragem de 40 mL de líquido ruminal foi congelada a -20 ºC para análise dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) por meio de cromatografia gasosa (GCMS QP 2010 plus, Shimadzu®, Kyoto, Japan) usando coluna capilar (Stabilwax, Restek®, Bellefonte, EUA; 60 m, 0,25 mm ø, 0,25 µm crossbond carbowax polyethylene glycol) (acetato, propionato, butirato, isobutirato, valerato e isovalerato) (Palmquist et al., 1971).

2.9 Produção de proteína microbiana e nitrogênio total na urina

Para estimativa da produção de proteína microbiana foram utilizados como indicadores os derivados de purinas (DP) na urina dos animais (Fujihara et al., 1987). No 16º dia, aproximadamente quatro horas antes e quatro horas após suplementação foram colhidas amostras *spot* de urina por micção estimulada por massagem da uretra (Chizzotti et al., 2008) e feita uma amostra composta com as urinas coletadas em diferentes horários de cada animal. Alíquotas de 10 mL de urina foram diluídas em 40 mL de H_2SO_4 à 0.0036 N para análises de alantoína por método colorimétrico com espectrofotômetro, segundo Fujihara et al. (1987).

2.10 Balanço de nitrogênio

O N retido foi calculado pela diferença entre o N ingerido e o N excretado. O N ingerido foi calculado pela seguinte equação:

$$NI(g/dia) = [(CIfor(g/dia)\ x\ NF(\%)] + [CISupl(g/dia)\ x\ NS(\%)]$$

onde: NI = nitrogênio ingerido em g/dia; CIfor = consumo individual de forragem em g/dia; NF = N na matéria seca de forragem em %; CISupl = consumo individual de suplemento em g/dia; NS = N no suplemento em %.

Já o N excretado foi calculado conforme a quantidade de N presente nas fezes e urina, determinando possíveis alterações na rota de excreção. A concentração de N total nas fezes foi determinada pelo método de *Kjeldahl* (método 978.04) (AOAC, 1995). A eficiência de utilização do N foi calculada dividindo-se o N retido pelo N consumido.

2.11 Parâmetros sanguíneos

Foram realizadas quatro coletas de sangue nos horários: 0, 2, 4 e 6 horas após suplementação em dois dias diferentes (20º = 0 e 4 horas; 21º = 2 e 6 horas), todas as coletas foram realizadas puncionando veia jugular (sangue venoso) utilizando tubos de vácuo tampa vermelha com ativador de coágulo jateado nas paredes para aceleração do processo de coagulação da amostra para determinação bioquímica em soro e tubos de vácuo tampa cinza (tubos de fluoreto/EDTA), sendo o fluoreto inibidor glicolítico e EDTA preservador da morfologia celular, e foi utilizado apenas para a dosagem de glicose.

Posteriormente, as amostras foram centrifugadas sob refrigeração (Zentrifuge Z 306 – Hermle® LaborTechnik, Wehingen, Alemanha) a uma força de 1470 g por 15 minutos. O soro foi retirado e armazenado a temperatura de -20°C. No soro foram determinados os teores de ureia, albuminas, globulinas e proteínas totais e no plasma foram feitas dosagens de glicose, por meio de kits comerciais de diagnóstico (Laboratório clínico veterinário – FMVZ, Botucatu, São Paulo, Brasil). Utilizou-se parâmetros enzimáticos colorimétricos com leituras realizadas por analisador automatizado de bioquímica do sangue (Laboratório clínico veterinário – FMVZ, Botucatu, São Paulo, Brasil).

2.12 Microbiota ruminal: protozoários

Os protozoários foram coletados através de fistula ruminal nos quatro períodos de avaliação. Foi realizada a coleta da fração sólida + líquida na região central do rúmen dos animais, quatro horas após a alimentação no 19º dia do período de avaliação.

A identificação e a quantificação dos gêneros de ciliados foram feitas em câmara Sedgewick-Rafter, segundo Dehority (1984), sendo que de cada amostra homogeneizada foi pipetado 1 mL de conteúdo e transferido para tubos de ensaio, onde foram acrescentadas três gotas de lugol, em substituição ao verde brilhante conforme modificação proposta por D'Agosto e Carneiro (1999). Após 15 minutos, o conteúdo recebia a adição de 9 mL de glicerina a 30%. Para proceder a quantificação, de cada tubo de ensaio foi pipetado 1 mL do conteúdo para preencher a câmara de Sedgewick-Rafter. Utilizando-se uma grade de contagem, em uma das oculares, foram quantificados os ciliados presentes em 50 campos e, posteriormente, após rotação da câmara em 1800, mais 50 campos. O cálculo do número total de ciliados por mililitro de conteúdo foi feito multiplicando-se os valores encontrados por 80 e por 20. Tais valores correspondem à superfície total da câmara de contagem e à diluição (Dehority, 1984).

3. Procedimento estatístico

O Experimento foi constituído em um duplo quadrado latino (4 x 4), e as variáveis analisadas em cada período pelo modelo: $Y_{ijkl} = \mu + Q_i + A_{j(i)} + P_k + M_l + e_{ijkl}$. Em que μ = média geral; Q_i = efeito de quadrado (i = 1 ou 2); $A_{j(i)}$ = efeito de animal aninhado em quadrado (j = 1 a 8); P_k = efeito de período (k = 1 a 4); M_l = efeito de tratamento (l = CN, 25T, 50T e MN); e_{ijkl} = erro

experimental. Os dados obtidos ao longo do tempo, como amônia (0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 e 21 h), pH ruminais e AGCC (0, 6, 12 e 18 h) e sangue (0, 2, 04 e 6) foram analisados como medidas repetidas no tempo sendo acrescidos os efeitos de tempo e a interação entre tempo e tratamento. As matrizes para cada variável foram escolhidas de acordo com o critério BIC (*Bayesian Information Criteria*). Foram usados contrastes ortogonais polinomiais para testar os efeitos de 1º grau (linear), 2º grau (quadrático) entre o tratamento controle e doses de tanino, e um terceiro contraste das doses de tanino contra a monensina para a avaliação dos parâmetros de consumo e população de protozoários.

Todos os dados foram analisados utilizando o SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC), sob prévia comprovação dos supostos matemáticos de distribuição normal (teste de Shapiro-Wilk) e homocedasticidade das variâncias (teste de Bartlett). O nível de significância foi declarado a 5% de probabilidade e tendência explorada de 5 a 10%.

4. Resultados

4.1 Consumo de suplemento e pasto

Houve tendência (P < 0,10) para o consumo de matéria seca (CMS) no %PC e CMS Total entre os aditivos, animais alimentados com antibiótico apresentaram maior consumo. Não houve diferença no consumo de suplemento (P > 0,05), mas foram observadas diferenças (P < 0,05) no consumo de forragem, animais do grupo controle consumiram mais forragem que animais que receberam o *blend* (Tabela 3). A relação volumoso:concentrado mostrou diferença (P < 0,05) tanto quando o *blend* foi comparado ao controle, quanto em comparação ao antibiótico.

Tabela 3. Consumo de matéria seca total, de suplemento e forragem de animais nelores terminados a pasto, com uso de diferentes aditivos.

Item	Tratamentos				EPM	Contrastes		
	CN	25T	50T	MN		L	Q	C3
CMS, %PC	2,14	1,88	1,99	2,39	0,31	0,56	0,42	0,06
CMS, kg de MS								
Total	10,7	9,67	9,97	11,5	1,55	0,60	0,53	0,09
Suplemento	9,00	8,38	9,23	10,0	1,68	0,84	0,46	0,21
Forragem	1,75	1,29	0,74	1,55	0,61	0,01	0,89	0,11
Volumoso, %	17,2	13,0	7,00	15,3	5,70	<,0001	0,72	0,04
Concentrado, %	82,8	87,0	93,0	84,7	5,70	<,0001	0,72	0,04

CN = Controle; 25T e 50T = Inclusão na dieta de 0,25% e 0,50% do *blend* vegetal na MS; MN = Monensina; CMS = Consumo de Matéria Seca; PC = Peso Corporal; EPM = erro padrão da média; L = contraste linear; Q = contraste quadrático; C3 = 25T + 50T vs MN.

Não houve efeito dos tratamentos para o consumo de NDT e para as variáveis relacionadas ao metabolismo do nitrogênio (P > 0,05) (Tabela 4).

Tabela 4. Consumo de nutrientes digestíveis totais (NDT) e nitrogênio de animais Nelore terminados a pasto com uso de diferentes aditivos.

Item	Tratamentos				EPM	Contrastes		
	CN	25T	50T	MN		L	Q	C3
CN, g	235	232	231	257	41,7	0,89	0,97	0,33
NDT, g/kg	684	689	719	732	30,2	0,27	0,64	0,29
PBmic, g/kg	410	386	331	339	57,7	0,27	0,79	0,73
PBmic/NDTd, g/kg	60,7	69,1	47,5	46,1	11,5	0,42	0,27	0,34
ENF, %CN	27,5	28,2	25,1	23,7	2,49	0,27	0,34	0,12
ENU, %CN	21,1	24,4	22,2	19,5	3,55	0,78	0,42	0,25
RN, g	127	129	127	152	34,8	0,98	0,92	0,26

CN = Controle; 25T e 50T = Inclusão na dieta de 0,25% e 0,50% do *blend* vegetal na MS; MN = Monensina; CSM = Consumo de matéria seca; CSN = Consumo de Nitrogênio; NDT = Nutrientes Digestíveis Totais; PBmic = Proteína Microbiana; ENF = Excreção de Nitrogênio pelas Fezes; ENU = Excreção de Nitrogênio pela Urina; RN = Nitrogênio Retido. EPM = erro padrão da média; L = contraste linear; Q = contraste quadrático; C3 = 25T + 50T vs MN.

4.2 Parâmetros ruminais e sanguíneos

As avaliações de pH e N-NH_3 mostraram diferença (P > 0,05) apenas para os horários, não sendo influenciadas pelo tratamento (Fig. 5 e 6).

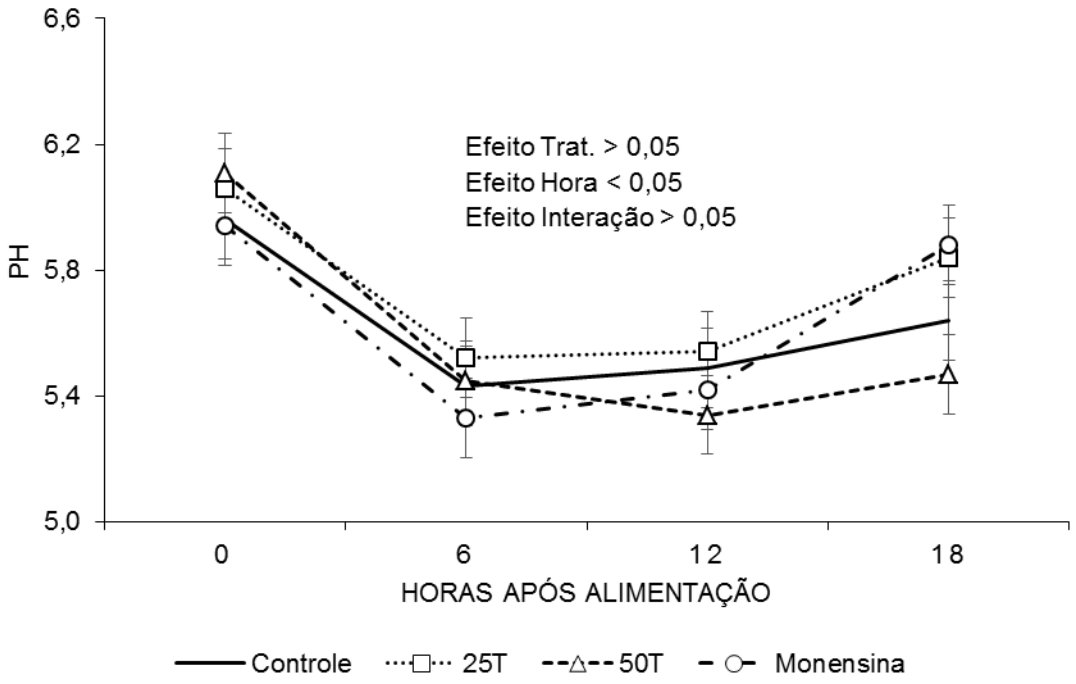

Fig. 5. Comportamento do pH ruminal de animais Nelore terminados a pasto, com uso de diferentes aditivos, sobre as horas após alimentação.

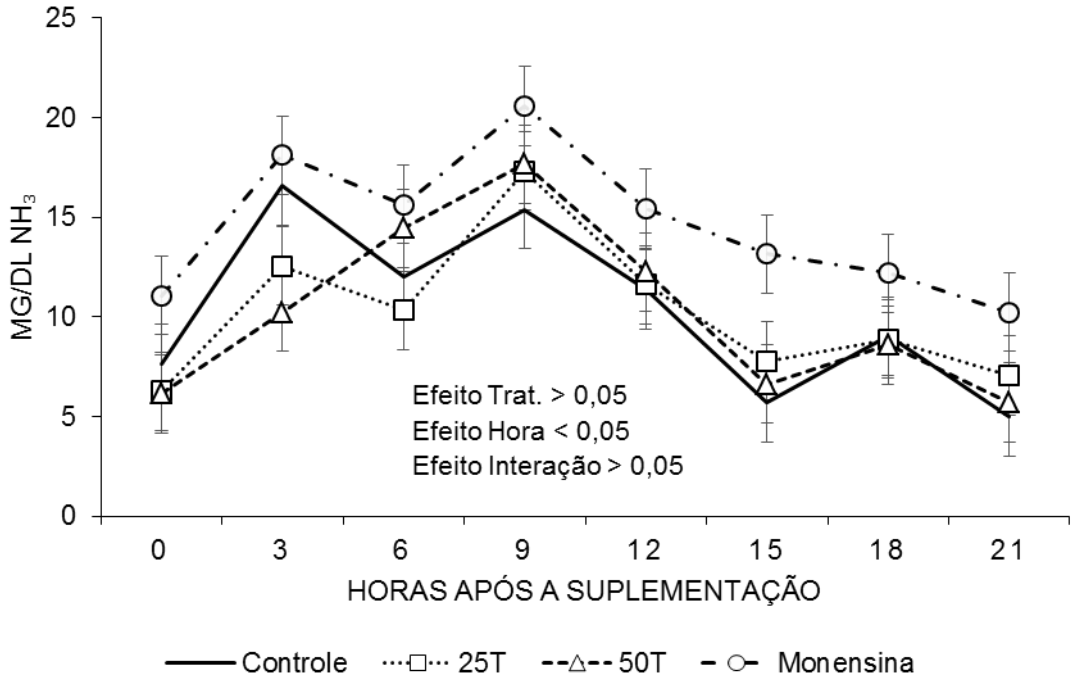

Fig. 6. Comportamento do nitrogênio amoniacal ruminal de animais Nelore terminados a pasto, com uso de diferentes aditivos, sobre as horas após alimentação.

Nas quantificações de AGCC (Tabela 5), não foram observadas diferenças para os tratamentos aplicados. Todos os AGCC foram significativos para o horário de coleta ($P < 0,05$) exceto isovalerato que mostrou apenas tendência ($P < 0,10$).

Tabela 5. ~~Produção~~ proporções molares de AGCC no fluido ruminal de animais Nelore terminado a pasto, com uso de diferentes aditivos, sobre as horas após alimentação.

Item	Tanino				EPM	Hora				EPM	*P-Value*[1]		
	CN	25T	50T	MN		0	6	12	18		Trat	Hora	Trat x Hora
AGCC, mol/100 mol													
Acetato	83,1	87,0	86,5	82,5	7,59	77,0	88,0	94,1	79,9	5,81	0,93	<.0001	0,96
Propionato	44,4	40,82	47,8	43,3	5,94	39,8	43,3	47,6	45,6	6,71	0,58	0,01	0,56
Butirato	12,2	15,9	14,0	14,8	2,39	13,6	14,5	16,1	12,7	1,91	0,54	0,0005	0,73
Isobutirato	0,97	1,02	0,78	1,14	0,14	1,13	0,90	0,96	0,92	0,13	0,10	<.0001	0,40
Valerato	2,49	2,55	2,75	2,41	0,30	2,35	2,55	2,72	2,58	0,29	0,27	0,01	0,74
Isovalerato	2,86	3,00	2,54	3,03	0,51	2,95	2,73	2,93	2,81	0,36	0,84	0,05	0,42
Acet : Prop	2,14	2,27	1,96	2,01	0,32	2,13	2,24	2,12	1,90	0,25	0,79	0,003	0,17
NAR, mg/dL	10,3	10,2	10,2	14,5	1,25	-	-	-	-	-	0,10	<.000	0,77
pH	5,63	5,74	5,59	5,64	0,09	6,02	5,43	5,45	5,71	0,10	0,12	<.0001	0,16

CN = Controle; 25T e 50T = Inclusão na dieta de 0,25% e 0,50% do *blend* vegetal na MS; MN = Monensina; AGCC = Ácidos Graxos de Cadeia Curta; Acet : Prop = Relação Acetato:Propionato; NAR = Nitrogênio Amoniacal Ruminal; pH = Potencial hidrogeniônico.

Não houve efeito da interação para os parâmetros sanguíneos (P> 0,05). Todas as variáveis sanguíneas apresentaram diferença para as horas de coleta (P < 0,05) (Tabela 6).

Tabela 6. Metabólitos do sangue e soro de animais terminados a pasto, durante o ensaio de metabolismo, com uso de diferentes aditivos.

Item	Tratamentos				EPM	Hora				EPM	*P-Value*[1]		
	CN	25T	50T	MN		0	2	4	6		Trat	Hora	Trat x Hora
Ureia no soro, mg/dl	33,5	36,2	33,9	41,6	3,12	33,4	36,0	39,2	36,7	2,48	0,15	<,0001	0,81
Albumina, g/dl	30,3	31,1	29,5	30,1	1,74	29,7	31,0	29,7	30,5	1,73	0,16	0,01	0,30
Globulinas, g/dl	36,9	36,6	36,4	35,8	1,63	35,5	38,0	35,6	36,5	1,63	0,68	<,0001	0,17
Proteínas totais, g/dl	67,2	67,8	65,9	65,9	2,92	65,3	69,1	65,4	67,0	2,99	0,27	<,0001	0,40
Creatinina, mg/dl	1,31	1,31	1,32	1,31	0,04	1,27	1,32	1,32	1,34	0,03	0,97	0,01	0,53
Glicose, mg/dl	70,7	69,8	73,3	69,7	4,05	76,4	71,7	66,2	69,2	4,03	0,20	<,0001	0,16

CN = Controle; 25T e 50T = Inclusão na dieta de 0,25% e 0,50% do *blend* vegetal na MS; MN = Monensina; Trat = tratamento; EPM = erro padrão da média.

4.3 Protozoários

Somente três gêneros de protozoários foram encontrados de forma predominantes para a contabilização, sendo eles *Entodinium*, *Dasytricha* e *Isotricha*. Houve efeito dos tratamentos (P < 0,05) apenas para a *Isotricha*, animais que receberam tanino tiveram um aumento linear na população deste protozoário como também apresentaram 65% mais *Isotricha* que os animais que receberam monensina (Tabela 7).

Tabela 7. Concentração média (por mL de conteúdo ruminal) e composição da população de protozoários ciliados em animais Nelore terminados a pasto.

Protozoários, $\times 10^4$/mL	Tratamentos				EPM	Contrastes		
	CN	25T	50T	MN		L	Q	C3
Total								
Entodinium	52,3	131	95,6	65,0	34,7	0,35	0,16	0,22
Dasytricha	1,33	2,60	2,56	2,65	0,91	0,13	0,32	0,92
Isotricha	2,16	3,76	3,78	2,28	0,74	0,03	0,19	0,02

CN = Controle; 25T e 50T = Inclusão na dieta de 0,25% e 0,50% do *blend* vegetal na MS; MN = Monensina; EPM = erro padrão da média; L = contraste linear; Q = contraste quadrático; C3 = 25T + 50T vs MN.

5. Discussão

Quando se trabalha com suplementação a pasto o consumo é totalmente influenciado pela estrutura do pasto (Poppi et al., 1987), pastos com alta proporção de colmo morto e baixa densidade (Fig. 4) caracterizam prejuízos ao pastejo, Siqueira et al. (2013) afirmam que com o uso da técnica de terminação no pasto o consumo está muito relacionado a oferta e qualidade do volumoso, desta forma, devido à grande quantidade de suplemento oferecido, os animais limitaram a ingestão de volumoso, onde o tratamento 50T alcançou a maior proporção de concentrado na dieta (Tabela 3).

Foi esperado que o consumo de animais que aditivados com monensina fosse menor (Maturana Filho et al., 2010; Duffield et al., 2012; Abrão et al., 2012) o que não foi confirmado por esse ensaio, já que o consumo no %PC e o consumo total apresentaram tendência para que o uso de antibiótico tenha

maior consumo (Tabela 3). O maior consumo pelos animais que receberam monensina pode ser justificado pela maior concentração de N-NH_3 no rúmen desses animais, uma vez que, para Leng (1990), concentrações superiores a 20 mg/dL de N-NH_3 promove consumo máximo de matéria seca em condições tropicais, valor esse próximo dos encontrados pelo tratamento MN neste ensaio (Fig. 6). O uso de monensina é dose-dependente, o efeito relacionado a diminuição do consumo e aumento da eficiência alimentar está ligado a dose fornecida (Oliveira et al., 2005; Duffield et al., 2012) e ao sistema de criação dos animais, uma vez que animais mantidos a pasto não apresentam redução de consumo (Morais et al., 2011).

O consumo de suplemento não foi afetado pelos aditivos ($P > 0,05$), entretanto o consumo de forragem dos animais controle foi maior que dos animais que receberam *blend* ($P < 0,05$) (Tabela 3). Com o intuito de manter a saúde ruminal, os animais que não receberam *blend*, aumentaram o consumo de volumoso na tentativa de ampliar a ruminação e consequentemente acrescer a produção de saliva, e desta forma manter o pH ruminal similar aos animais que receberam o *blend* (Fig. 5).

O *blend* vegetal ajudou na manutenção do pH ruminal, porque mesmo os animais consumindo uma quantidade inferior de forragem (Tabela 3), eles apresentaram pH ruminal similar aos demais animais do experimento (Fig. 5).

O *blend* vegetal reduziu o consumo de forragem e não alterou o consumo de suplemento, consequentemente, alterando a relação volumoso:concentrado. E já no caso do contraste entre aditivos, animais que receberam monensina consumiram maior proporção de volumoso. Os dados de Neto et al. (2017) corroboram o consumo de suplemento, já que mostrou

consumo em 87% quando usou tanino na terminação, sem indícios de redução de consumo, ou seja, não houve limitação por parte do aditivo utilizado. O mesmo aconteceu com Marino et al. (2011) e Júnior et al. (2017) que em seus trabalhos com vacas de leite não observaram redução no consumo quando inseriram doses de até 0,6% de tanino. Valencia-Salazar et al. (2018) e Molina-Botero et al. (2019) utilizando taninos condensados e saponinas em seu ensaio não observaram alterações no CMS, suplementar ruminantes com taninos e saponinas só promovem alterações no consumo quando as doses ultrapassam 50 g/kg de MS (Patra e Saxena, 2009). Dosagens muito altas promovem restrições de consumo e tais restrições estão ligadas principalmente a sua adstringência sobre a aceitabilidade dos animais a dieta (Kumar; Vaithiyanathan, 1990; Frutos et al., 2002; Makkar, 2003; Dschaak et al., 2011).

Um dos objetivos do uso do *tanino* na suplementação de ruminantes é a modulação do metabolismo de nitrogênio no rúmen, os taninos, em específico, possuem a capacidade de complexar as proteínas da dieta em pH na faixa de 6,0 a 6,5 (Leinmüller et al., 1991), no entanto este objetivo não foi alcançado no presente estudo, porque conforme a Figura 5, o pH ruminal dos animais que receberam tanino sempre estiveram abaixo de 6, por isso não houve diferença na excreção de nitrogênio pela urina e pelas fezes (Tabela 4). Isso nos leva a acreditar na possibilidade de novos trabalhos, se consorciarmos o tanino com aditivos que sejam capazes de manter o pH ruminal acima de 6 e assim conseguir melhor efeito do tanino na modulação do metabolismo de nitrogênio no rúmen.

No tocante ao uso da monensina, ela pode diminuir a excreção de N (Oliveira et al., 2005), entretanto tais resultados não foram encontrados nesse

experimento, logo a dosagem de ambos aditivos pode não ter sido suficiente para uma amplitude maior de resposta.

Não foram reportadas diferenças para os tratamentos (P > 0,05) quando o pH foi mensurado. Geralmente dietas de alto concentrado apresentam altas quantidades de ácidos graxos no rúmen e baixo pH (Calsamiglia et al., 2012), em tese o uso do aditivos limitaria a queda desse pH (Reis et al., 2011, Oliveira; Millen, 2014), entretanto o efeito esperado não foi confirmado e como foram observados diminuição no pH para todos os tratamentos podemos atribuir a queda somente ao processo fermentativo como descrito por Mezzomo et al. (2011). Inclusões de taninos e saponinas não foram suficientes para alterar de forma drástica a salivação e permitiu a baixa do pH (Roehe et al., 2016).

Os valores aqui reportados para os horários 6, 12 e 18 horas pós alimentação mostram que o pH estava em níveis não desejáveis para a sanidade ruminal, já que para Penner et al. (2007) valores em torno de 5,8 caracterizam casos de acidose ruminal subaguda. Apenas na hora 0 houve indicativos que o rúmen se encontrava em condições saudáveis (6,0-6,2) (Penner e Beauchemin, 2010).

Os níveis de proteína da dieta total (pasto e suplemento) e suas frações proteicas é que influenciam nos níveis de N-NH_3 ruminal (Oliveira et al., 2014), neste ensaio não foram observadas diferenças (P < 0,05) para os níveis de N-NH_3 com aplicação de aditivos, somente foram encontrados efeitos das horas pós alimentação. Detmann et al. (2009) afirma que a concentração mínima para que não haja problema na degradação da fibra é 8 mg/dL e 15 mg/dL garante a otimização da ingestão. A média dos valores ficou em 11,3 mg/dL,

dentro de uma faixa recomendada por Leng (1990), encontramos neste experimento a quantidade mínima de 5,01 mg/dL, concentração esta que para Satter e Styler (1974) seria a limite para atender as demandas dos microrganismos; em contrapartida Van Soest (1994) indica concentrações ótimas de 10 mg/dL de líquido ruminal. Mesmo sem efeito do aditivo, de um modo geral a dieta supriu a demanda de $N\text{-}NH_3$ para produção de proteína microbiana (Fig. 6). Entretanto, podemos afirmar que os dados encontrados para esse estudo com a maior dose do *blend* sobre a menor produção de isovalerato infere que houve um decréscimo na degradação de proteína ruminal, e através desses dados podemos, em parte, explicar os menores valores de $N\text{-}NH_3$ encontrado para o uso do *blend*.

A ausência de efeito dos tratamentos sobre os ácidos graxos e as principais proporções (acetato e propionato) indica que os aditivos não foram efetivos na digestibilidade ruminal da dieta, dados semelhantes foram encontrados por Rira et al. (2015). A tendência sobre a diminuição do isovalerato com o uso do *blend* pode ser explicada pela formação dos complexos entre taninos e as proteínas, tais ligações fornecem aminoácidos para os microrganismos, como a leucina, que ao ser deaminada libera isovalerato, um ácido graxo de cadeia ramificada, entretanto o pH reportado nesse ensaio não permitiu tais complexos e para a maior dose do *blend* foi observado menor valor desse ácido (Aboagye et al., 2018).

A inserção de compostos secundários, como taninos e saponinas, na nutrição animal modificam o padrão fermentativo ruminal alterando a população de microrgânicos ou a taxa de passagem da dieta pelo rúmen, esses eventos

indicam que a utilização do *blend* com a diminuição da relação de acetato:propionato favoreceu o processo de fermentação (Liu et al., 2019).

Neste ensaio os níveis de $N\text{-}NH_3$ sempre se mantiveram acima dos valores considerados mínimos para o ambiente ruminal, o que corrobora para que haja tendência nos resultados de ureia no sangue (Tabela 6) para o tratamento com inclusão de monensina reforçando a ideia que ureia facilita perdas de $N\text{-}NH_3$ nas primeiras horas pós suplementação aumentando a mobilização de nitrogênio via catabolismo tecidual (Li et al., 2019), já que, a degradação de proteínas pelos microrganismos é absorvida pela corrente sanguínea e metabolizada pelo fígado via sistema porta hepático, e dessa forma a ureia pode vir a ser excretada pela urina ou reciclada via saliva para o rúmen (Firkins et al., 2007).

Usa-se na avaliação do status proteico alguns metabólitos sanguíneos como proteínas totais e albuminas (Payne e Payne, 1987). A albumina é a principal proteína plasmática contribuído para osmolaridade do plasma sanguíneo e reserva proteica e tem sido bastante utilizada nas investigações das complexações tanino-proteína (Dobreva et al., 2011).

Isso porque, taninos possuem maior afinidade com proteínas globulares, como a albumina, e existem quantidades ideais de compostos fenólicos que podem se ligar a albumina (Sasongko et al., 2010). Valores entre 30,3 e 35,5 g/L são considerados ideais para bovinos, já que reduções desse metabólito indicam deficiências de proteínas prejudicando parâmetros produtivos (Payne e Payne, 1987). As variáveis sanguíneas não foram influenciadas pelos tratamentos ($P > 0,05$), entretanto estão dentro dos parâmetros considerados normais, semelhantes aos resultados encontrados por Buccioni et al. (2015).

A população de protozoários ciliados dentro do rúmen varia de 10^5 a 10^6 células/g de conteúdo ruminal, sendo as espécies mais abundantes pertencendo ao gênero *Isotricha* e *Entodinium* (Herdt, 2008). Dehority (2003) afirma que em predominância a população de *Entodinium* atinge 80-90% do total, situação semelhante a que encontramos neste ensaio.

Animais que receberam *blend* apresentaram população de protozoários do gênero *Isotricha* superior aos demais tratamentos (Tabela 7), dados corroborados por Rira et al. (2015), que trabalhando com ovinos e plantas ricas em tanino também encontrou em abundância essa mesma espécie, tais espécies possuem características ligadas a degradação de dipeptídeos e peptídeos (Hartinger et al., 2018). O uso de saponina pode aumentar a população de protozoários (Santoso et al., 2007), como são aditivos dose-dependentes o efeito negativo sobre a membrana dos protozoários não foi encontrado.

A diminuição da população de *Isotricha* está ligada ao uso do antibiótico, uma vez que Júnior et al. (2017) observou redução dessa população com o uso de monensina, através da morte dos protozoários, uma vez que que a monensina possui a capacidade de ligação com as membranas celulares dos protozoários e facilita o movimento dos cátions através dessa membrana causando desequilíbrio iônico e aumento da pressão osmótica. Essas afirmações estão refletidas nos resultados encontrados por este ensaio, uma vez que o tanino não possui ação antibiótica, e seu foco é a complexação com moléculas proteicas para que essas sejam levadas ao duodeno (Butler, 1992; Makkar, 2003).

Protozoários do gênero *Isotricha* possuem atividade proteolítica em menor intensidade (Lockwood et al., 1988), com o uso do *blend* na dieta há uma diminuição na taxa de degradação ruminal, o que significa melhor sincronização da liberação de nutrientes e consequentemente melhoria da eficiência na síntese microbiana (Getachew et al., 2000) favorecendo a atuação dessa espécie.

Em conclusão, as variáveis mostram resultados semelhantes entre os tratamentos com e sem aditivos, o uso de tanino pode substituir o antibiótico como aditivo alternativo.

6. Referências

Aboagye, I.A., Oba, M., Castillo, A.R., Koenig, K.M., Iwaasa, A.D., & Beauchemin, K.A. 2018. Effects of hydrolyzable tannin with or without condensed tannin on methane emissions, nitrogen use, and performance of beef cattle fed a high-forage diet. Journal of animal science, 96(12), 5276-5286.

Abrão, F.O., Pessoa, M.S., Freitas, C.E.S., & Robson, E., 2012. Potencialidade e limitações da utilização de aditivos na produção de bovinos de corte. Cad. Ciên. Agrár, 4, 49-60.

Alvares, C.A., Stape, J.L., Sentelhas, P.C., de Moraes, G., Leonardo, J., & Sparovek, G., 2013. Köppen's climate classification map for Brazil. Meteorologische Zeitschrift, 22(6), 711-728.

AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. 16th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Gaithersburg, MD.

Bodas, R., Prieto, N., García-González, R., Andrés, S., Giráldez, F.J., & López, S. 2012. Manipulation of rumen fermentation and methane production with plant secondary metabolites. Animal Feed Science and Technology, 176(1-4), 78-93.

Buccioni, A., Pauselli, M., Viti, C., Minieri, S., Pallara, G., Roscini, V., ... & Mele, M., 2015. Milk fatty acid composition, rumen microbial population, and animal performances in response to diets rich in linoleic acid supplemented with chestnut or quebracho tannins in dairy ewes. Journal of Dairy Science, 98(2), 1145-1156.

Butler, L.G., 1992. Antinutritional effects of condensed and hydrolyzable tannins. In Plant polyphenols (pp. 693-698). Springer, Boston, MA.

Calsamiglia, S., Blanch, M., Ferret, A., & Moya, D., 2012. Is subacute ruminal acidosis a pH related problem? Causes and tools for its control. Animal feed science and technology, 172(1-2), 42-50.

Casali, A.O., Detmann, E., Valadares Filho, S.D.C., Pereira, J.C., Henriques, L.T., Freitas, S.G.D., & Paulino, M.F., 2008. Influence of incubation time and particles size on indigestible compounds contents in cattle feeds and

feces obtained by in situ procedures. Revista Brasileira de Zootecnia, 37(2), 335-342.

Chizzotti, M.L., de Campos Valadares Filho, S., Valadares, R.F.D., Chizzotti, F.H.M., & Tedeschi, L.O., 2008. Determination of creatinine excretion and evaluation of spot urine sampling in Holstein cattle. Livestock Science, 113(2-3), 218-225.

D'Agosto, M., & Carneiro, M.E., 1999. Evaluation of lugol solution used for counting rumen ciliates. Revista Brasileira de Zoologia, 16(3), 725-729.

De Vries, M.W. 1995. Estimating forage intake and quality in grazing cattle: a reconsideration of the hand-plucking method. Rangeland Ecology & Management/Journal of Range Management Archives, 48(4), 370-375.

Dehority, B.A., 1984. Evaluation of subsampling and fixation procedures used for counting rumen protozoa. Appl. Environ. Microbiol., 48(1), 182-185.

Dehority, B.A., 2003. Rumen Microbiology. Nottingham University Press, Nottingham, UK.

Detmann, E., Paulino, M.F., Mantovani, H.C., Valadares Filho, S.D.C., Sampaio, C.B., Souza, M.A., Lazzarini, I., Detmann, K.S., 2009. Parameterization of ruminal fibre degradation in low-quality tropical forage using Michaelis–Menten kinetics. Livestock Science, 126(1-3), 136-146.

Dobreva, M.A., Frazier, R.A., Mueller-Harvey, I., Clifton, L.A., Gea, A., & Green, R.J., 2011. Binding of pentagalloyl glucose to two globular proteins occurs via multiple surface sites. Biomacromolecules, 12(3), 710-715.

Dos Santos, H.G., Jacomine, P.K.T., dos Anjos, L.H.C., de Oliveira, V.A., Lumbreras, J.F., Coelho, M.R., Almeida, J.A. de, Araújo Filho, J.C. de, Oliveira, J.B. de, Cunha, T., 2018. Sistema brasileiro de classificação de solos. Brasília, DF: Embrapa.

Dschaak, C.M., Williams, C.M., Holt, M.S., Eun, J.S., Young, A.J., & Min, B.R., 2011. Effects of supplementing condensed tannin extract on intake, digestion, ruminal fermentation, and milk production of lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 94(5), 2508-2519.

Duffield, T.F., Merrill, J.K., & Bagg, R.N., 2012. Meta-analysis of the effects of monensin in beef cattle on feed efficiency, body weight gain, and dry matter intake. Journal of Animal Science, 90(12), 4583-4592.

Firkins, J.L., Yu, Z., Morrison, M., 2007. Ruminal nitrogen metabolism: perspectives for integration of microbiology and nutrition for dairy. Journal DairySciency. 90(E. Suppl):E1–E16.

Frutos, P., Hervás, G., Ramos, G., Giráldez, F.J., & Mantecon, A.R., 2002. Condensed tannin content of several shrub species from a mountain area in northern Spain, and its relationship to various indicators of nutritive value. Animal Feed Science and Technology, 95(3-4), 215-226.

Fujihara, T., Ørskov, E.R., Reeds, P.J., & Kyle, D.J., 1987. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. The Journal of Agricultural Science, 109(1), 7-12.

Getachew, G., Makkar, H.P.S., Becker, K., 2000. Tannins in tropical browses: effects on in vitro microbial fermentation and microbial protein synthesis in media containing different amounts of nitrogen. J. Agr. Food Chem. 48, 3581–3588

Hartinger, T., Gresner, N., & Südekum, K.H., 2018. Does intra-ruminal nitrogen recycling waste valuable resources? A review of major players and their manipulation. Journal of animal science and biotechnology, 9(1), 33.

Herdt, T.H., 2008. Digestão: Processos Fermentativos. IN: CUNNINGHAM, J.G.; KLEIN B. G. Tratado de Fisiologia Veterinária. Rio de Janeiro: Elsevier, 368-369p.

Junior, F.P., Cassiano, E.C.O., Martins, M.F., Romero, L.A., Zapata, D.C.V., Pinedo, L.A., ... & Rodrigues, P.H.M., 2017. Effect of tannins-rich extract from Acacia mearnsii or monensin as feed additives on ruminal fermentation efficiency in cattle. Livestock science, 203, 21-29.

Kumar, R., & Vaithiyanathan, S., 1990. Occurrence, nutritional significance and effect on animal productivity of tannins in tree leaves. Animal feed science and technology, 30(1-2), 21-38.

Leinmüller, E., Steingass, H., Menke, K., 1991. Tannin in ruminant feedstuffs. Anim. Res. Dev. 33, 9–62.

Leng, R.A., 1990. Factors affecting the utilization of "poor-quality" forages by ruminants particularly under tropical conditions. Nutr. Res. Rev. 3, 277–303.

Li, M.M., Titgemeyer, E.C., & Hanigan, M.D., 2019. A revised representation of urea and ammonia nitrogen recycling and use in the Molly cow model. Journal of dairy science, 102(6), 5109-5129.

Liu, Y., Ma, T., Chen, D., Zhang, N., Si, B., Deng, K., ... & Diao, Q. 2019. Effects of tea saponin supplementation on nutrient digestibility, methanogenesis, and ruminal microbial flora in Dorper crossbred ewe. Animals, 9(1), 29.

Lockwood, B.C., Coombs, G.H., & Williams, A.G., 1988. Proteinase activity in rumen ciliate protozoa. Microbiology, 134(9), 2605-2614.

MacAdam, J.W., & Villalba, J.J., 2015. Beneficial effects of temperate forage legumes that contain condensed tannins. Agriculture, 5(3), 475-491.

Makkar, H.P.S., 2003. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. Small ruminant research, 49(3), 241-256.

Marino, C.T., Otero, W.G., Rodrigues, P.H.M., Dicostanzo, A., Millen, D.D., Pacheco, R.L.D., Dilorenzo, N., Martins, C.L., Arrigoni, M.D.B., 2011. Effects of adding polyclonal antibody preparations on ruminal fermentation patterns and digestibility of cows fed different energy sources. J. Anim. Sci. 89, 3228–3235.

Maturana Filho, M., Oliveira, M.G., Del Claro, G.R., Oliveira, H.P.Q., Saran Netto, A., Correia, L.B., Porcionato, M.A.F., Zanetti, M.A., 2010. Parâmetros sanguíneos e desempenho de bovinos de corte em confinamento, submetidos a diferentes fontes de ionóforos. Revista Brasileira de Saúde Produção Animal, 11(3):772-782.

McCann, J.C., Elolimy, A.A., & Loor, J.J., 2017. Rumen microbiome, probiotics, and fermentation additives. Veterinary Clinics: Food Animal Practice, 33(3), 539-553.

Mezzomo, R., Paulino, P.V.R., Detmann, E., Valadares Filho, S.C., Paulino, M.F., Monnerat, J.P.I.S., ... & Moura, L.S., 2011. Influence of condensed tannin on intake, digestibility, and efficiency of protein utilization in beef steers fed high concentrate diet. Livestock Science, 141(1), 1-11.

Millen, D.D., Pacheco, R.D.L., da Silva, L., Cursino, L.L., Watanabe, D.H.M., Rigueiro, A.L.N., 2016. Ruminal Acidosis. In: Millen D., De Beni, M., Lauritano, R. (Eds) Rumenology. Springer International Publishing., Brasil, pp127-156.

Molina-Botero, I.C., Arroyave-Jaramillo, J., Valencia-Salazar, S., Barahona-Rosales, R., Aguilar-Pérez, C.F., Burgos, A.A., ... & Ku-Vera, J.C. 2019. Effects of tannins and saponins contained in foliage of Gliricidia sepium and pods of Enterolobium cyclocarpum on fermentation, methane emissions and rumen microbial population in crossbred heifers. Animal feed science and technology, 251, 1-11.

Morais, J.A.S., Berchielli, T.T., Reis, R.A., 2011. Aditivos. In: Nutrição de ruminantes. Ed.2, Jaboticabal: FUNEP, p. 565-591.

Myers, W.D., Ludden, P.A., Nayigihugu, V., & Hess, B.W. 2004. A procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. Journal of Animal Science, 82(1), 179-183.

Neto, A.S., de Azambuja Ribeiro, E.L., Mizubuti, I.Y., Ferreira, E.S., Cunha, G.E., da Silva, L.D.D.F., Junior, V.H.B., 2011. Performance and carcass characteristics of feedlot Nellore bulls receiving high concentrate diets with different tannin levels. Semina: Ciências Agrárias, 32(3), 1179-1190.

NRC. 2000. Nutrient requirements of beef cattle. Update. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.

Oliveira, C.A., & Millen, D.D., 2014. Survey of the nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists in Brazil. Animal Feed Science and Technology, 197, 64-75.

Oliveira, I.M., Moretti, M.H., Moreira, A.D., Alves Neto, J.A., Fernandes, R.M., Goncalves, P.H., Alves, M.A.P., Berti, G.F., G.R. Siqueira and F.D. Resende. 2014. Impact of supplementation during the dry season on performance of Young Nellore bulls in the post-weaning phase on pasture in the wet season. Proc. Joint Annual Meeting Animal Science, Kansas City, 92, 797-797.

Oliveira, M.V.M., Lana, R.P., Freitas, A.W.P., Eifert, E.C., Pereira, J.C., Valadares Filho, S.C., Pérez, R.O., 2005. Parâmetro ruminal, sanguíneo, urinário e digestibilidade de nutrientes em novilhas leiteiras recebendo diferentes níveis de monensina. Rev. Bras. Zootecn. 34, 2143–2154.

Owens, F.N., Secrist, D.S., Hill, W.J., & Gill, D.R. (1998). Acidosis in cattle: a review. Journal of animal science, 76(1), 275-286.

Palmquist, D.L., & Conrad, H.R. 1971. Origin of plasma fatty acids in lactating cows fed high grain or high fat diets. Journal of Dairy science, 54(7), 1025-1033.

Patra, A.K., & Saxena, J. 2009. The effect and mode of action of saponins on the microbial populations and fermentation in the rumen and ruminant production. Nutrition Research Reviews, 22(2), 204-219.

Payne, J.M., Payne, S., 1987. The Metabolic Profile Test. Oxford University Press. New York.

Penner, G.B., Beauchemin, K.A., 2010. Variation among cows in their susceptibility to acidosis: challenge or opportunity? Adv. Dairy Technol. 22, 173–187.

Penner, G.B., Beauchemin, K.A., Mutsvangwa, T., 2007. Severity of ruminal acidosis in primiparous Holstein cows during the periparturient period. J. Dairy Sci. 90, 365–375.

Poppi, D.P., Hughes, T.P., L'huillier, P.J., 1987. Intake of pasture by grazing ruminants. Livestock feeding on pasture. Hamilton: New Zealand Society of Animal Production, 7, 55-64.

Reis, R.A., OLIVEIRA, A.D., Siqueira, G.R., & Gatto, E., 2011. Semiconfinamento para produção intensiva de bovinos de corte. Simpósio Matogrossense de Bovinocultura de Corte, Anais... Cuiabá, 195-224.

Richards, M.B., Wollenberg, E., & Van Vuuren, D. 2018. National contributions to climate change mitigation from agriculture: allocating a global target. Climate Policy, 18(10), 1271-1285.

Rira, M., Morgavi, D.P., Archimède, H., Marie-Magdeleine, C., Popova, M., Bousseboua, H., & Doreau, M. 2015. Potential of tannin-rich plants for modulating ruminal microbes and ruminal fermentation in sheep. Journal of animal science, 93(1), 334-347.

Roehe, R., Dewhurst, R.J., Duthie, C.A., Rooke, J.A., McKain, N., Ross, D.W., ... & Wallace, R.J. 2016. Bovine host genetic variation influences rumen microbial methane production with best selection criterion for low methane emitting and efficiently feed converting hosts based on metagenomic gene abundance. PLoS genetics, 12(2).

Santoso, B., Kilmaskossu, A., & Sambodo, P. (2007). Effects of saponin from Biophytum petersianum Klotzsch on ruminal fermentation, microbial protein synthesis and nitrogen utilization in goats. Animal feed science and technology, 137(1-2), 58-68.

Sasongko, W.T., Yusiati, L.M., & Bachruddin, Z., 2010. Optimalisasi Pengikatan Tanin Daun Nangka dengan Protein Bovine Serum Albumin (Optimalisation Binding of Jackfruit Leaves Tannin with Bovine Serum Albumin Protein). Buletin Peternakan, 34(3), 154-158.

Satter, L.D., Slyter, L.L., 1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. British journal of nutrition, 32(2), 199-208.

Siqueira, G.R., Moretti, M.H., Fernandes, R.M., Roth, M.T.P., Resende, F.D., Santos Júnior, A.I., 2013. Associação pasto-confinamento na produção intensiva de carne bovina. II SIMBOV – II Simpósio Matogrossense de Bovinocultura de Corte.

Smith, A.M., & Reid, J.T., 1955. Use of chromic oxide as an indicator of fecal output for the purpose of determining the intake of pasture herbage by grazing cows. Journal of Dairy Science, 38(5), 515-524.

Sollenberger, L.E., Cherney, D.J.R., 1995. Evaluating forage production and quality. In: BARNES, R.F.; MILLER, D.A.; NELSON, C.J. (Eds.) Forages: the Science of grassland agriculture. Ames: University Press, v.2, p.97-110.

Titgemeyer, E.C., Armendariz, C.K., Bindel, D.J., Greenwood, R.H., & Löest, C.A., 2001. Evaluation of titanium dioxide as a digestibility marker for cattle. Journal of Animal Science, 79(4), 1059-1063.

Valencia-Salazar, S.S., Vázquez, A.T.P., Botero, I.C.M., Balbuena, F.J.L., Narváez, J.J.U., Campos, M.R.S., ... & Vera, J.C.K. 2018. Potential of Samanea saman pod meal for enteric methane mitigation in crossbred heifers fed low-quality tropical grass. Agricultural and forest meteorology, 258, 108-116.

Van Soest, P.J., & Robertson, J.B. (1985). Analysis of forages and fibrous foods. Cornell University. 202p.

Van Soest, P.J., 1994. Nutritional ecology of the ruminants. 2 ed. Ithaca: Cornell University Press. 476p.

Van Soest, P.V., Robertson, J.B., & Lewis, B.A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of dairy science, 74(10), 3583-3597.
Weatherburn, M.W., 1967. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. Analytical chemistry, 39(8), 971-974.
Williams, C.H., David, D.J., & Iismaa, O., 1962. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. The Journal of Agricultural Science, 59(3), 381-385.

CAPÍTULO 3 – Efeitos do uso de extratos vegetais e monensina sobre o desempenho e a qualidade de carne de bovinos terminados a pasto

RESUMO – Objetivou-se avaliar os efeitos da substituição da monensina por um *blend* vegetal a base de tanino e saponina sobre o desempenho e características de carcaça de bovinos terminados intensivamente a pasto. Foram distribuídos 64 animais da raça Nelore, machos não-castrados, com peso corporal inicial 381±13 kg e idade média de 22 meses. Foram utilizados quatro tratamentos: CN - controle sem aditivo, 25T - inclusão de 0,25% do *blend* na matéria seca, 50T - inclusão de 0,50% do *blend* na matéria seca e MN - inclusão de 30 ppm de monensina na matéria seca. Os animais foram distribuídos em blocos completos ao acaso ao longo de 16 piquetes formados de *Urochloa brizantha* cv. Marandú, sendo o peso inicial utilizado como fator de blocagem, permanecendo confinados a por 100 dias. Ao final do ensaio todos os animais foram abatidos. A evolução do consumo ao longo do tempo foi influenciada pelas horas ($P < 0,05$) mas não pelo tratamento ($P > 0,05$). Foram observadas tendências ($P < 0,10$) para o ganho médio diário (GMD), eficiência alimentar (EA) e eficiência biológica (EB) com melhores resultados para os

animais que foram aditivados com o antibiótico. Por outro lado, não foram encontradas diferenças (P > 0,05) nas características de carne e estimativa da composição química da carcaça. No tocante as variáveis de qualidade da carne o percentual de perdas por cocção (%PC) e a coordenada a* de luz vermelha apresentaram tendências para melhores resultados quando os animais consumiram o *blend*. O metabólitos sanguíneos avaliados mostraram que animais recebendo o *blend* vegetal apresentaram diferença (P < 0,05) com maiores valores de albumina, todos os metabólitos, com exceção da globulina apresentaram diferença (P < 0,05) para as coletas, e apenas ureia no soro e glicose apresentaram interação (P < 0,05) para o tratamento e as coletas. As características de papilas ruminais mostraram que a área de superfície absortiva da papila (ASA) apresentou tendência (P < 0,10) a melhores resultados quando os animais receberam antibiótico. A altura das papilas foi maior (P < 0,05) quando o *blend* foi comparado a ausência de aditivo e a área média da papila apresentou tendência (P < 0,10) para o *blend* contra o controle também e menores resultados (P < 0,05) quando comparado contra o aditivo. Os dados sugerem que a utilização de um *blend* com extratos vegetais a base de tanino e saponina podem ser utilizados como um aditivo alternativo ao uso de antibióticos.

1. Introdução

O confinamento no pasto é um conceito caracterizado pelo fornecimento da mesma quantidade de ração que os animais receberiam no confinamento convencional só que no pasto. É uma técnica bastante viável por sua praticidade, por promover diminuição no manejo geral da propriedade e se mostrar como uma alternativa para o tradicional confinamento. Mas, para que

essa quantidade de ração seja fornecida para os animais é fundamental a presença de aditivos, uma vez que dietas de alto consumo promovem alta fermentação do ingrediente energético, no caso o milho, deixando os animais susceptíveis a distúrbios metabólicos. Quase sua totalidade o aditivo utilizado pelos produtores é a monensina sódica (Oliveira e Millen, 2014). Usar aditivos hoje nas dietas de terminação é preponderante para que se alcance resultados positivos, principalmente pela importância dessa fase no ciclo produtivo.

O grande problema do uso da monensina é a falta de aceitação social pela caracterização da mesma como antibiótico, a preocupação com a resistência de algumas bactérias que podem ser passadas para os seres humanos via consumo de carne é real (Wong, 2019; Nawab et al., 2019) e por isso se torna imperativo a pesquisa de novas fontes de aditivos, principalmente com bases naturais, já que o que os fatores que aumentam o consumo de carne vão muito além do econômico, e a estratificação do mercado inclui uma parcela de consumidores realmente preocupados com a qualidade, fatores que vão desde o manejo dentro da fazenda até o frigorífico.

Dito isso, a competitividade dos mercados e o aumento da demanda por alimentos vêm pressionando os produtores a intensificar a cadeia produtiva da carne e uma das alternativas aos antibióticos são extratos de plantas que podem exercer funções semelhantes aos promotores de crescimento e dentre esses extratos podemos destacar os taninos e as saponinas. O uso de compostos com bases naturais podem ser utilizados como moduladores da fermentação ruminal em situações onde as requisições de proteína sejam altas, padronização do consumo em confinamentos ou em sistemas de pastagens quando manejadas de forma mais intensiva ou não visando atender mercados

mais restritivos e exigentes em relação ao uso de antibióticos na produção de carne.

Objetivamos com este ensaio substituir o uso da monensina por um *blend* de extratos vegetais a base de tanino e saponina como aditivo alternativo sem prejuízos nas características de desempenho, carcaça e qualidade de carne.

2. Material e métodos

Os ensaios foram realizados de acordo com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA) e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP – Campus Jaboticabal (SP), com número de protocolo 015981/18.

2.1 Localização e clima

O estudo foi realizado na Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), Polo Regional da Alta Mogiana, localizada na cidade de Colina-SP. O clima da região é do tipo Cwa segundo classificação de Köppen (Alvares et al., 2013), representado por duas estações distintas, uma seca, de abril a setembro e outra chuvosa, de outubro a março, onde a temperatura média do mês mais quente é superior a 22ºC e do mês mais frio inferior a 18ºC (Fig. 1). O solo é classificado como latossolo vermelho escuro, fase arenosa com topografia plana e de boa drenagem (Dos Santos et al., 2018).

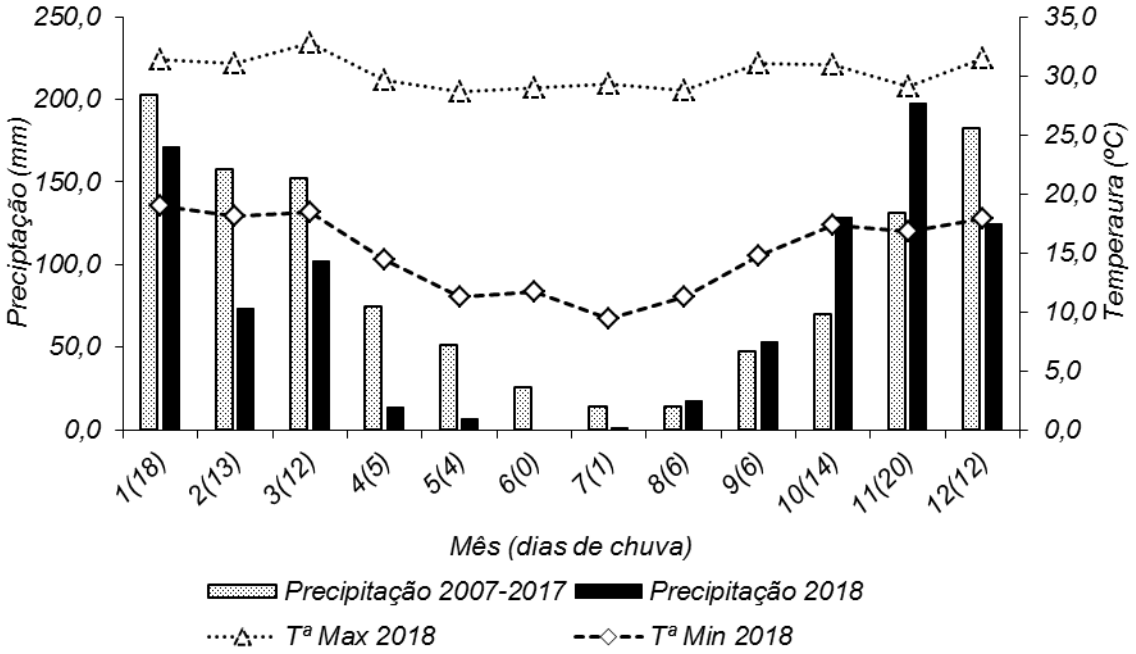

Fig. 1. Dados climáticos (precipitação, temperatura máxima e mínima) registrados no município de Colina – SP.

2.2 Área experimental e protocolo sanitário

Foram utilizados 16 piquetes, de um hectare (ha) cada, formados com *Urochloa brizantha* cv. Marandu, providos de bebedouro tipo australiano e cocho coletivo com metragem mínima de 30 cm linear por animal. Todos os animais foram submetidos a protocolo sanitário ao início do experimento com administração de Ivermectina 1% na dosagem de 1 mL para cada 50 kg de peso corporal. A fazenda dispunha de vistorias diárias para eventuais problemas sanitários.

2.3 Delineamento experimental, tratamentos e dieta

Foram utilizados quatro animais por piquete e um total de 16 piquetes com metragem de 1 ha cada, perfazendo um total de 64 bovinos, nelores, não-castrados, pesando em média 381±13 kg e com idade de 22 meses. Foram distribuídos em blocos completos ao acaso e o fator de blocagem utilizado foi o peso inicial. Todos os animais receberam concentrado para fase de

terminação, diariamente, na quantidade de 2% do peso corporal (PC) e permaneceram confinados por 100 dias sendo submetidos as três pesagens ao longo do ensaio (inicial, final da adaptação e final do ensaio).

Foi utilizado um *blend* (BX®) de taninos fornecido pela SilvaFeed®, composto de mistura de extratos de taninos de quebracho e castanheira, hidrolisados e condensados, mais saponinas.

Os tratamentos avaliados foram: ausência de aditivo (controle – CN), inclusão de 0,25% (25T) do *blend* de extratos vegetal na matéria seca (MS), inclusão de 0,50% (50T) do mesmo *blend* e monensina sódica (MN) (aditivo antibiótico ionóforo) na quantidade de 30 ppm/kg de MS (Tabela 1).

Os suplementos foram produzidos em fábricas especializadas e ensacados em embalagens de 50 kg. Durante o experimento, foram armazenados em galpões com cobertura metálica, sobre estrados de madeira, evitando eventuais prejuízos à integridade do produto. O suplemento era fornecido em regime de distribuição diário, durante o período da manhã, entre às 8:00 e 8:30 horas.

Tabela 8. Níveis nutricionais e níveis de garantia, dos suplementos fornecidos no período experimental.

Ingredientes, MS	Unidade	CN	25T	50T	MN
Milho	**g/kg**	**802**	**802**	**802**	**802**
Polpa cítrica	**g/kg**	**100**	**100**	**100**	**100**
Farelo de amendoim	**g/kg**	**60**	**60**	**60**	**60**
Ureia	**g/kg**	**15**	**15**	**15**	**15**
Tanino	**mg/kg**	**0**	**500**	**1000**	**0**
Monensina	**mg/kg**	**0**	**0**	**0**	**30**
Núcleo	**g/kg**	**22**	**22**	**22**	**22**
Composição química[1], MS					
PB	**g/kg**	**162**	**162**	**162**	**162**
EE	**g/kg**	**34,2**	**34,2**	**34,2**	**34,2**
NDT	**g/kg**	**705**	**705**	**705**	**705**
ED	**Mcal/kg**	**3,11**	**3,11**	**3,11**	**3,11**
EM	**Mcal/kg**	**2,55**	**2,55**	**2,55**	**2,55**
ELm	**Mcal/kg**	**1,65**	**1,65**	**1,65**	**1,65**
ELg	**Mcal/kg**	**1,04**	**1,04**	**1,04**	**1,04**

CN = Controle; 25T e 50T = Inclusão na dieta de 0,25% e 0,50% do *blend* vegetal na MS; MN = Monensina; [1]PB = Proteína Bruta; EE = Extrato Etéreo; NDT = Nutrientes digestíveis totais; ED = Energia digestível; EM = Energia metabolizável; ELm = Energia líquida de mantença; ELg = Energia líquida de ganho. Cálculos de energia feitos de acordo com o NRC 2016.

2.4 Protocolo de adaptação pré adaptação

O protocolo de adaptação adotado para este ensaio foi de escada por um período de 27 dias, consistindo no aumento gradativo do fornecido tentando minimizar o impacto negativo da fermentação do suplemento (Owens et al., 1998). Os animais chegaram a 2% do peso corporal com 17 dias (Figura 2).

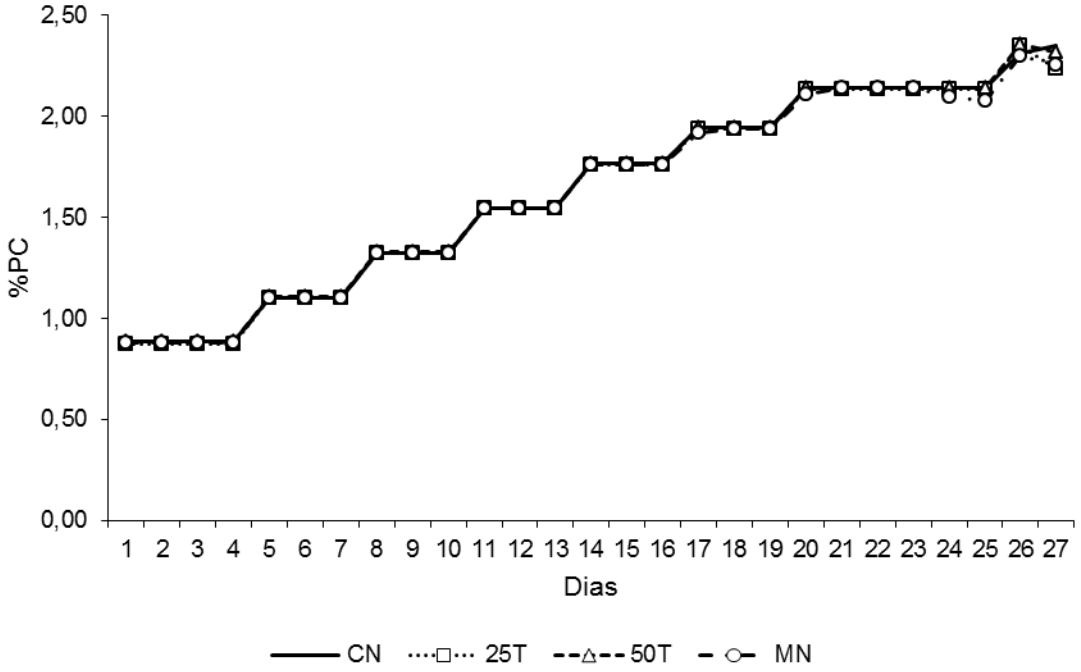

Fig. 7. Protocolo de adaptação de animais terminados a pasto com diferentes aditivos.

2.5 Avaliação da forragem e composição morfológica do pasto

Foi adotado o sistema de lotação contínua com taxa de lotação fixa e para determinação da massa de forragem foi utilizado o método da dupla amostragem (Sollenberger; Cherney, 1995), onde a massa era associada às leituras de altura do dossel (50 pontos de altura normal e comprimida) pelo uso do prato ascendente (*rising plate meter*). Em cada piquete, eram selecionados

três pontos de altura mínima, média e alta (determinados em função de ± 2 desvios padrões). Uma amostra de forragem de 0.25 m² de cada ponto selecionado era coletada ao nível do solo e, posteriormente, uma sub-amostra era seca em estufa a 55ºC por 72 horas para determinação da massa de forragem (MF). Em seguida, eram estimadas equações de regressão linear, através dos dados de MF e suas respectivas alturas, estabelecendo uma relação entre a altura do dossel e a massa de forragem:

$$MF\ (kg/ha) = a + b\ x\ h\ (cm)$$

onde: MF = massa de forragem em kg/ha de matéria seca, h = altura do dossel em cm, a = intercepto da regressão e b = coeficiente angular da regressão.

A caracterização do pasto e da oferta aos animais, ao longo do ensaio, foi realizada através de 4 coletas (Fig. 3).

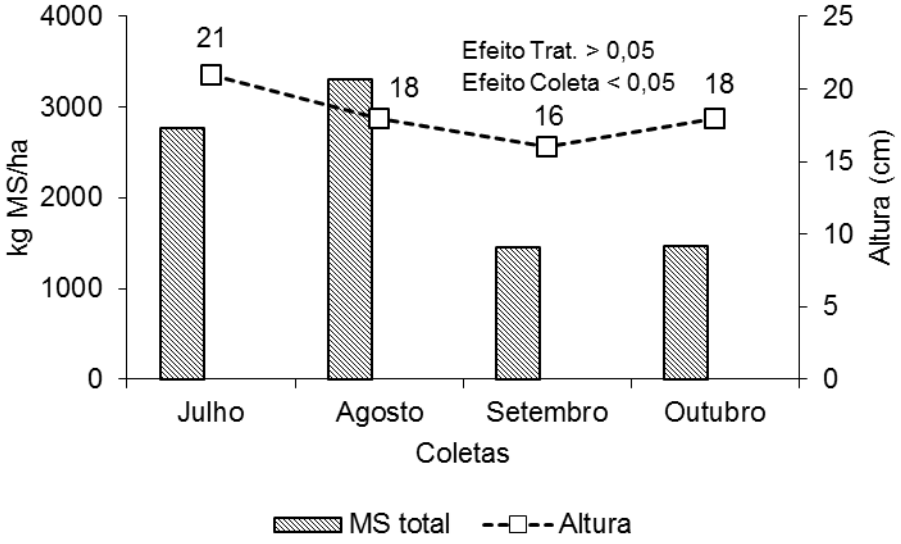

Fig. 3. Oferta de forragem e altura do dossel forrageiro de capim-Marandú durante o período experimental.

Para avaliação dos componentes quantitativos e estruturais do dossel forrageiro foram utilizadas amostras colhidas na altura média de cada piquete.

As amostras foram separadas manualmente em lâmina foliar verde, colmo verde, lâmina foliar morta e colmo morto. Após separação, os componentes eram pesados e secos em estufa de 55ºC por 72 horas, para a obtenção da matéria seca e proporção de cada componente no dossel forrageiro. Os dados obtidos de composição morfológica do pasto, ao longo do estudo, são apresentados na Fig. 4.

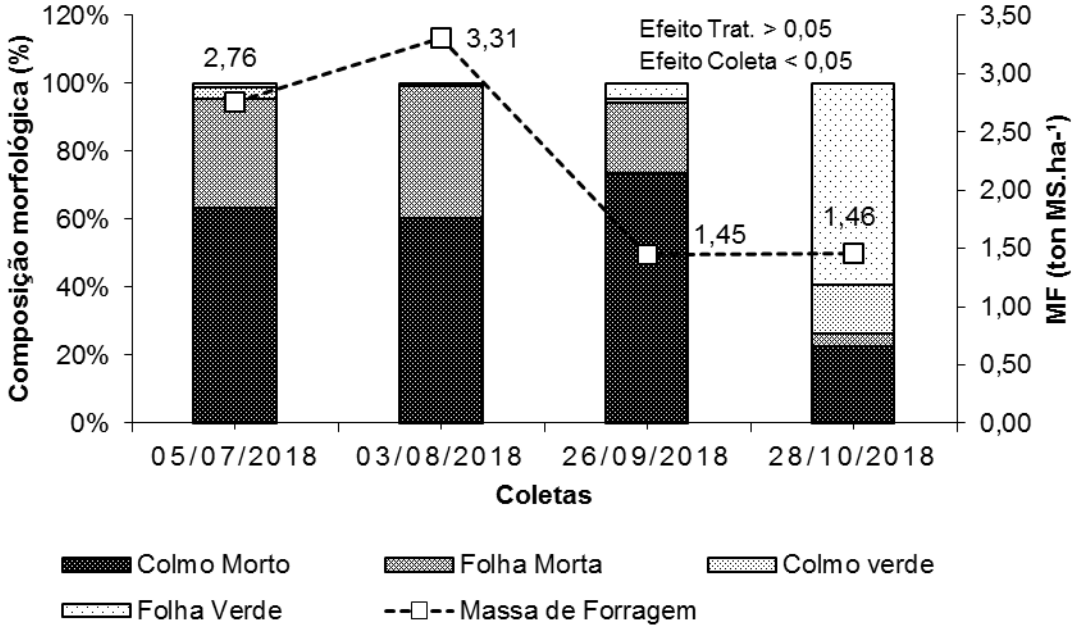

Fig. 4. Composição morfológica de forragem, na altura média dos piquetes de Urochloa brizantha cv. Marandu durante os estudos de desempenho.

2.6 Determinação do valor nutritivo da forragem

A determinação do valor nutritivo foi realizada pela amostragem da forragem, via pastejo simulado, método *hand-plucking* (De Vries, 1995). As amostras foram secas em estufa, de circulação de ar a 55ºC, até a estabilização de peso pela perda de água, processo que se deu por volta das 72 horas de secagem. Posteriormente, foram moídas em peneira de malha com crivo de 1 mm.

Foram determinados os teores de matéria seca (método 934.01), material mineral (método 942.05), extrato etéreo (método 920.39) e proteína

bruta (método 978.04) (AOAC, 1995). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram determinados conforme metodologia sequencial descrita por Van Soest, Robertson e Lewis (1991) sem sulfito de sódio, a celulose foi solubilizada utilizando ácido sulfúrico a 72%, sendo o resíduo a quantidade de lignina na amostra. A digestibilidade verdadeira *in vitro* da matéria seca (DIVMS) foi determinada conforme Van Soest e Robertson (1985) (Tabela 2).

Tabela 2. Composição química, via pastejo simulado, do capim-Marandu durante estudo o estudo de desempenho.

Item	Coletas de forragem				EPM	*P-Value*[1]
	05/07	03/08	26/09	28/10		
MS, %	89,0	89,4	44,4	22,0	0,96	<,0001
MM, %MS	5,88	5,74	5,73	8,40	0,19	<,0001
PB, %MS	3,20	3,10	7,26	12,3	0,23	<,0001
EE, %MS	0,87	0,91	1,38	1,51	0,08	<,0001
FDN, %MS	74,9	80,4	75,1	61,1	0,62	<,0001
FDA, %MS	44,3	46,3	45,0	31,7	0,55	<,0001
Lignina, %MS	4,44	5,44	6,24	3,72	0,33	<,0001
PIDN, %PB	34,0	27,6	34,2	26,3	1,45	<,0001
PIDA, %PB	25,3	25,5	20,6	17,6	1,10	<,0001
DIVMS, %	63,8	62,7	61,6	82,9	0,00	<,0001

[1]Houve efeito entre as coletas nas variáveis apresentadas (P < 0.05), mas não para os tratamentos impostos; MS = Matéria Seca; MM = Matéria mineral; PB = Proteína bruta; EE = Extrato etéreo; FDN = Fibra em detergente neutro; FDA = Fibra em detergente ácido; PIDN = Proteína insolúvel em detergente neutro; PIDA = Proteína insolúvel em detergente ácido; DIVMS = Digestibilidade in vitro da matéria seca; EPM = erro padrão da média.

2.7 Confinamento no pasto

O confinamento a pasto durou em torno de 100 dias, entre os meses de julho e outubro de 2018. Houve uma adaptação à dieta de 28 dias. Foram realizadas três pesagens ao longo do ensaio: início e final do período de adaptação, e ao final do período de confinamento, antes dos animais serem transportados para o abate; sendo considerado o último dia experimental. Foram selecionados 64 animais da raça Nelore, machos não castrados, com peso corporal médio de 381±13 kg para a avaliação. Diariamente, antes do fornecimento do suplemento, os cochos eram avaliados quanto as sobras e a quantidade de suplemento ajustada para o dia posterior.

2.8 Avaliação do desempenho animal

O desempenho dos animais foi avaliado pelo ganho médio diário (GMD, kg) determinado pela diferença entre o peso corporal em jejum final (PCf; restrição de sólidos e líquidos por 16 horas) e o peso corporal em jejum inicial (PCi) dividido pelo total de dias de cada período experimental, conforme a Equação 2:

$$GMD\ (kg/dia) = \frac{PCf - PCi}{nº\ de\ dias\ do\ periodo}$$

onde: GMD = ganho de peso médio diário em kg; PCf = peso corporal final em kg; PCi = peso corporal inicial.

2.9 Evolução do consumo ao longo do dia

A cada 30 dias, era realizada a pesagem do suplemento a cada três horas, após fornecimento da suplementação, para verificar o tempo que demorava para o suplemento ser consumido, procedimento este realizado em 24 horas consecutivas.

2.10 Parâmetros sanguíneos

Foram realizadas três coletas de sangue nos animais após jejum de 16 horas de sólidos e líquidos, concomitante as pesagens desses animais. Todas as coletas foram realizadas puncionando a veia jugular (sangue venoso) utilizando tubos de vácuo tampa vermelha com ativador de coágulo jateado nas paredes para aceleração do processo de coagulação da amostra para determinação bioquímica em soro e tubos de vácuo tampa cinza (tubos de fluoreto/EDTA), sendo o fluoreto inibidor glicolítico e EDTA preservador da morfologia celular, e foi utilizado apenas para a dosagem de glicose.

Posteriormente, as amostras foram centrifugadas sob refrigeração (Zentrifuge Z 306 – Hermle© LaborTechnik, Wehingen, Alemanha) a uma força

de 1470 g por 15 minutos. O soro foi retirado e armazenado a temperatura de -20°C. Foram determinados os teores de ureia, albumina, globulina, proteínas totais e glicose, por meio de kits comerciais de diagnóstico (Bioclin Testes, Belo Horizonte, Minas Gerais) no Laboratório clínico veterinário – FMVZ, Botucatu, São Paulo, Brasil. Utilizou-se parâmetros enzimáticos colorimétricos com leituras realizadas por analisador automatizado de bioquímica do sangue (Bioclin Testes, Belo Horizonte, Minas Gerais) no Laboratório clínico veterinário – FMVZ, Botucatu, São Paulo, Brasil.

2.11 Abates

Ao final do experimento, todos os animais foram abatidos em abatedouro específico, seguindo os procedimentos de insensibilização utilizando pistola pneumática de dardo cativo com penetração (Gregory; Shaw, 2000). No abate foram obtidos os pesos de carcaça quente e o grau de acabamento de todos os animais. O peso inicial de carcaça foi estimado com base em equações calibradas com o banco de dados de abates anteriores de animais similares criados na mesma estação experimental.

2.12 Composição e qualidade da carne

Foram coletadas amostras, após o abate, de dois animais por unidade experimental, perfazendo um total de 32 animais, as carcaças foram resfriadas a 6°C durante 24 horas e posteriormente de cada meia-carcaça esquerda foi retirada uma amostra da costela, compreendida entre a 9ª e 11ª costelas (sessão HH) conforme recomendação de Hankins e Howe (1946) para a estimativa da composição química da carcaça, foi retirada também amostra na altura da 12ª costela, no músculo *longissimus*, para determinação área de olho

de lombo e espessura de gordura de cobertura. Outras três amostras do músculo foram retiradas para determinação da força de cisalhamento, capacidade de retenção de água, perda de líquido durante o cozimento e coloração realizados na Agência Paulista de tecnologia dos Agronegócios – APTA (Unidade São José do Rio Preto, SP).

Uma última amostra foi retirada para determinação da composição química do bife, as amostras foram analisadas, moídas e sem a cobertura de gordura (Anderson, 2007), com um espectrômetro de infravermelho próximo FoodScan™ (FOSS, HillerØd, Dinamarca). As análises realizadas de umidade, proteína, gordura, matéria mineral e colágeno total foram feitas no Laboratório de Tecnologia dos Produtos de Origem Animal da Unesp na Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" – Campus Botucatu, SP.

2.13 Papilas ruminais

Foi coletado uma fragmento no recesso do rúmen, entre 15 e 20 cm ventralmente ao pilar cranial de 32 animais *testers* de desempenho. Esse fragmento foi mantido imerso em solução tampão fosfato (PBS) em geladeira por 24 h para medidas macroscópicas com *scanner*. Foi medido número de papilas/cm² de parede, superfície média de cada papila, estimando-se a participação das papilas na superfície absortiva do rúmen.

Em cada fragmento foi contado o número total de papilas e selecionadas 12 papilas representativas do fragmento. A base do fragmento e as 12 papilas foram escaneadas com uma escala de referência de 1 cm. Os dados foram processados pelo *software* ImageJ®.

3. Procedimento estatístico

O Experimento foi delineado em blocos completos ao acaso, e as variáveis foram analisadas pelo modelo: $Yij = \mu + Mi + Bj + eij$. Em que μ = média geral; Mi = efeito de tratamento (i = CN, 25T, 50T e MN); Bj = efeito do bloco (j = 1 a 4); eij = erro experimental. Foram usados contrastes ortogonais polinomiais para testar os efeitos de 1º grau (linear), 2º grau (quadrático) entre o tratamento controle e doses de tanino, e um terceiro contraste das doses de tanino contra a monensina. Os dados de parâmetros sanguíneos foram rodados como medidas repetidas no tempo para testar efeitos dos tratamentos, hora de coleta e interação tratamento x coleta.

Todos os dados foram analisados utilizando o PROC MIXED do SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC), sob prévia comprovação dos supostos matemáticos de distribuição normal (teste de Shapiro-Wilk) e homocedasticidade das variâncias (teste de Bartlett). O nível de significância foi declarado a 5% de probabilidade e tendência explorada de 5 a 10%.

4. Resultados

A evolução do consumo ao longo do dia foi influenciada pelas horas ($P < 0,05$), mas não pelo tratamento imposto ($P > 0,05$). A maior taxa de consumo se concentrou nas 9 primeiras horas (Fig. 5) após o fornecimento do trato.

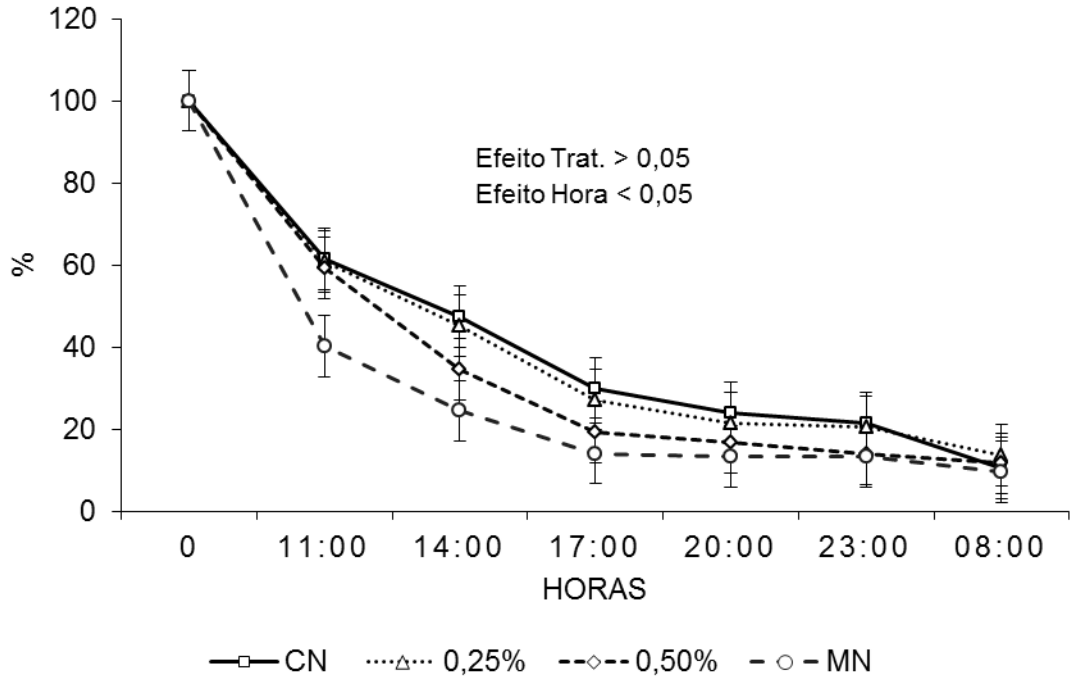

Fig. 5. Taxa de desaparecimento em diferentes horas após alimentação de animais terminados a pasto com diferentes aditivos.

As variáveis corporais PCi, PCf, GMD e as variáveis de carcaça PCari, PCQ, RC, RG, Dianteiro, Traseiro e Ponta de agulha especial foram semelhantes entre os tratamentos (P > 0,05) (Tabela 3).

Foi observado que apenas a eficiência biológica, que seria o consumo de MS por dia sobre o ganho em carcaça por dia, apresentou diferença (P < 0,05) quando comparamos o *blend* contra a monensina, vemos que animais que receberam monensina foram 7% mais eficientes. Conversão alimentar e eficiência alimentar apresentaram tendência (P < 0,10) para o mesmo contraste, significando que animais que receberam o antibiótico foram mais eficientes na relação consumo, conversão de peso e carcaça.

Tabela 3. Desempenho de bovinos nelores terminados a pasto.

Item	Tanino				EPM	Contrastes		
	CN	25T	50T	MN		L	Q	C3

CORPORAL								
PCi, kg	381	381	382	381	13,5	-	-	-
PCf, kg	515	520	517	524	17,3	0,79	0,56	0,42
GMD, kg	1,32	1,38	1,34	1,42	0,07	0,82	0,55	0,37
CA, kg	6,18	5,91	6,33	5,71	0,23	0,53	0,12	0,07
EA	0,16	0,16	0,15	0,17	0,00	0,51	0,11	0,06
CARCAÇA								
PCari, kg	190	190	191	190	6,75	-	-	-
PCQ, kg	294	294	296	301	12,1	0,71	0,83	0,29
EB	119	118	121	111	3,31	0,73	0,66	0,03
RC, %	57	56	57	57	0,55	0,66	0,22	0,34
RG, %	77	74	74	77	2,42	0,71	0,10	0,70
Dianteiro, %	42	42	42	42	0,40	0,81	0,38	0,60
Traseiro, %	45	46	45	45	0,37	0,95	0,45	0,93
P.A., %	11	11	10	11	0,22	0,53	0,81	0,31

CN = Controle; 25T e 50T = Inclusão na dieta de 0,25% e 0,50% *do blend* vegetal na MS; MN = Monensina; PCi = peso corporal inicial; PCari = peso de carcaça inicial; PCf = peso corporal final; GPC = ganho de peso corporal; CMS = consumo de suplemento na matéria seca; GMD = ganho médio diário; CA = conversão alimentar; EA = eficiência alimentar; EB = eficiência biológica; PCQ = peso de carcaça quente; RC = rendimento de carcaça; G_Car = ganho em carcaça; RG = rendimento do ganho; EPM = erro padrão da média; L = contraste linear; Q = contraste quadrático; C3 = 25T + 50T *vs* MN.

Para as características de carne e carcaça (Tabela 4), apenas colágeno apresentou diferença significa (P < 0,05) quando comparamos o controle contra as doses do *blend*, o uso de compostos vegetais apresentou 8,4% a mais de colágeno que o controle. EGS, AOL, pH, percentuais de gordura, proteína, umidade e cinzas não apresentaram diferenças para o uso de aditivos (P > 0,05).

Tabela 4. Características de carne (longissimus) e carcaça de bovinos Nelore terminados a pasto.

Item	Tanino				EPM	Contrastes		
	CN	25T	50T	MN		L	Q	C3
EGS, mm	3,86	3,37	3,91	3,49	0,44	0,94	0,37	0,78
AOL, cm^2	80,8	74,4	76,1	76,8	3,32	0,19	0,18	0,60

AOL, cm2/100kgcar	27,4	25,3	25,7	25,4	0,79	0,14	0,21	0,93
pH	5,70	5,63	5,65	5,71	0,03	0,28	0,32	0,14
Colágeno total, %	1,25	1,30	1,41	1,39	0,02	0,03	0,47	0,25
Gordura %	1,63	1,78	1,54	1,59	0,13	0,54	0,22	0,74
Proteína, %	22,4	22,7	22,5	22,5	0,16	0,76	0,23	0,48
Umidade, %	73,6	73,1	73,4	73,4	0,20	0,64	0,12	0,49
Cinzas, %	1,12	1,12	1,15	1,12	0,03	0,54	0,86	0,61

CN = Controle; 25T e 50T = Inclusão na dieta de 0,25% e 0,50% do *blend* vegetal na MS; MN = Monensina; EGS = espessura de gordura subcutânea; AOL = área de olho de lombo; pH = potencial hidrogeniônico; EPM = erro padrão da média; L = contraste linear; Q = contraste quadrático; C3 = 25T + 50T vs MN.

A estimativa da composição química da carcaça (percentuais de água, mineral, proteína e gordura) dos animais não foi alterada (P > 0,05) em função dos tratamentos (Tabela 5).

Tabela 5. Estimativa da composição química da carcaça, a partir da sessão HH, de bovinos Nelore terminados a pasto.

Item	Tanino				EPM	Contrastes		
	CN	25T	50T	MN		L	Q	C3
Água, %	62,0	60,7	61,0	61,6	0,43	0,15	0,21	0,18
Mineral, %	5,51	5,83	5,60	5,81	0,26	0,82	0,40	0,77
Proteína, %	17,2	18,5	17,7	17,8	0,54	0,49	0,16	0,62
Gordura, %	15,3	14,9	15,6	14,7	0,57	0,68	0,43	0,45

CN = Controle; 25T e 50T = Inclusão na dieta de 0,25% e 0,50% do *blend* vegetal na MS; MN = Monensina; EPM = erro padrão da média; L = contraste linear; Q = contraste quadrático; C3 = 25T + 50T vs MN. Valores calculados de acordo com Marcondes et al. 2009.

Animais que receberam o *blend* apresentaram tendência a carnes mais vermelhas (P < 0,10) que animais que receberam monensina (Tabela 6), e tendem a perder menos água durante o processo de cocção que animais que não recebem aditivo – controle (P < 0,10).

Os dados de pH, FC, L* e b* não apresentaram diferença (P > 0,05) sob os tratamentos impostos.

Tabela 6. Características de luz e qualidade dos bifes de animais Nelore terminados a pasto.

Propriedades	Tanino				EPM	Contrastes		
	CN	25T	50T	MN		L	Q	C3
pH	5,52	5,55	5,67	5,63	0,09	0,22	0,67	0,79
FC	7,24	7,24	6,59	6,96	0,63	0,48	0,68	0,95
PC, %	39,4	38,8	33,6	38,2	2,37	0,07	0,38	0,43
COR								
L*	34,2	35,5	34,7	33,7	1,01	0,72	0,34	0,22
a*	17,6	17,5	18,1	17,3	0,28	0,14	0,19	0,09

b*	12,8	13,1	13,3	13,0	0,46	0,46	0,99	0,72

CN = Controle; 25T e 50T = Inclusão na dieta de 0,25% e 0,50% do *blend* vegetal na MS; MN = Monensina; L* = luminosidade; a* = coordenada vermelho; b* = coordenada amarelo; pH = potencial hidrogeniônico; FC = força de cisalhamento; PC = perdas por cocção; EPM = erro padrão da média; L = contraste linear; Q = contraste quadrático; C3 = 25T + 50T vs MN.

Houve interação entre o tratamento e a coleta para ureia no soro e glicose (P < 0,05). Todos os parâmetros sanguíneos dos animais de desempenho apresentaram diferença entre as coletas (P < 0,05), exceto globulinas (P > 0,05). A albumina foi o único parâmetro sanguíneo que apresentou efeito de tratamento (P < 0,05) quando o *blend* foi comparado ao controle (Tabela 7).

O desdobramento da interação para ureia no soro e glicose está apresentado nas fig. 6 e 7, para ureia no soro o controle mostrou diferença na segunda coleta.

Tabela 7. Metabólitos do sangue e soro de animais terminados a pasto, durante o ensaio de desempenho, com uso de diferentes aditivos.

Item	Tanino				EPM	Coletas			EPM	*P-Value*[1]		
	CN	25T	50T	MN		13/07	10/08	24/10		Trat	Col	Trat x Col
Ureia no soro, mg/dl	19,4	21,4	22,4	23,1	1,07	12,9	20,2	31,6	0,74	0,10	<,0001	0,00
Albumina, g/dl	30,9	33,6	30,8	32,2	0,67	31,4	30,3	33,9	0,58	0,02	0,00	0,47
Globulinas, g/dl	35,7	34,7	38,2	35,9	1,84	35,9	35,5	37,1	1,27	0,49	0,22	0,34
Proteínas totais, g/dl	67,9	68,4	69,1	68,2	1,32	67,3	66,8	71,0	0,99	0,92	0,00	0,23
Creatinina, mg/dl	1,66	1,62	1,65	1,72	0,05	1,90	1,48	1,60	0,03	0,64	<,0001	0,60
Glicose, mg/dl	79,7	85,7	82,4	86,4	4,00	79,4	83,3	87,9	2,31	0,61	0,00	0,01

CN = Controle; 25T e 50T = Inclusão na dieta de 0,25% e 0,50% do *blend* vegetal na MS; MN = Monensina; Col = coleta; Trat = tratamento; EPM = erro padrão da média.

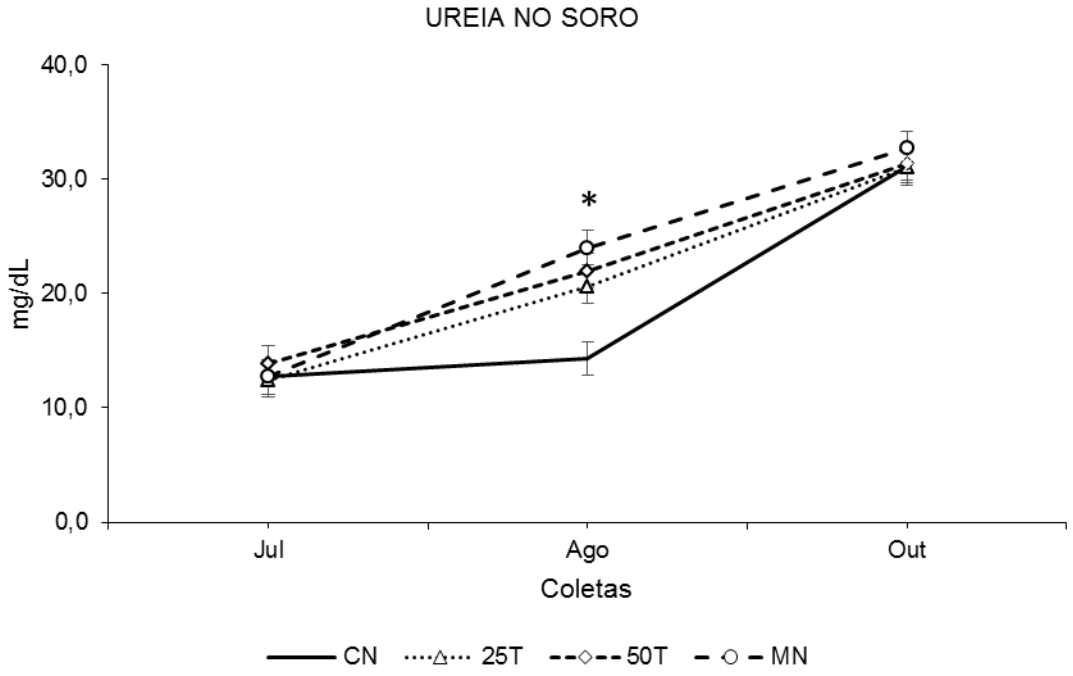

Fig. 6. Desdobramento da interação coleta x tratamento para o parâmetro sanguíneo ureia no soro de bovinos nelores terminados a pasto com diferentes aditivos.

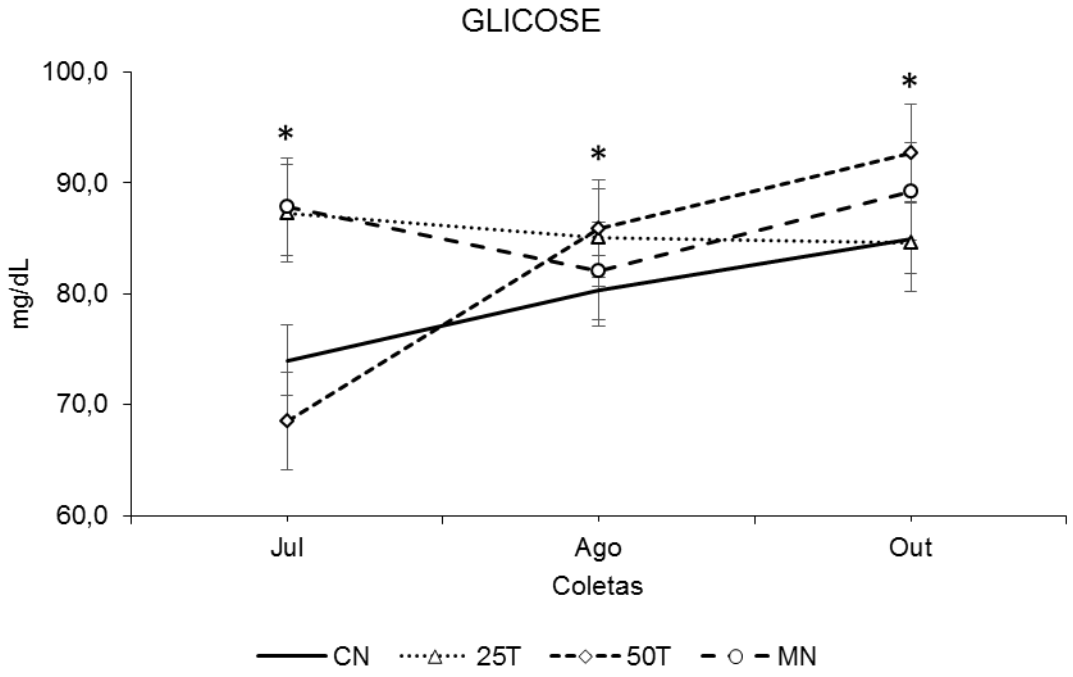

Fig. 7. Desdobramento da interação coleta x tratamento para o parâmetro sanguíneo glicose de bovinos nelores terminados a pasto com diferentes aditivos.

Não foram encontradas diferenças (P > 0,05) para NMP, NMP/cm², %PSA e largura das papilas. A área média da papila (AMP) mostrou diferença (P < 0,05) entre os aditivos, animais que receberam monensina tiveram AMP 27% maior que os animais que consumiram o *blend*. Houve tendência (P < 0,10) para que a AB dos aninais que receberam o *blend* seja superior aos animais do tratamento controle e para que os animais que receberam monensina apresentem maior área de superfície absortiva (ASA) que animais que receberam o *blend*. Houve efeito quadrático (P < 0,05) para a altura das papilas. Os dados de altura de papila mostraram diferença (P < 0,05), já que animais que consumiram o *blend* apresentaram papilas mais altas que animais do grupo controle sob um comportamento quadrático, onde a dose 50T apresentou maiores valores (Tabela 8).

Tabela 8. Características de papilas ruminais de animais nelores terminados a pasto.

Item	Tratamentos				EPM	Contrastes		
	CN	25T	50T	MN		L	Q	C3
MORFOLOGIA								
NMP, número	80,5	77,8	86,4	86,8	5,43	0,44	0,39	0,47
NMP/cm², número	45,8	52,2	59,8	60,5	6,33	0,13	0,93	0,56
ASA, cm²	39,6	45,1	36,0	51,9	4,89	0,61	0,25	0,09
PSA, %	97,7	97,6	97,8	98,1	0,25	0,86	0,68	0,25
HISTOLOGIA								
Altura, mm	10,2	13,5	9,92	12,6	0,90	0,82	0,00	0,38
Largura, mm	2,88	2,66	2,35	2,64	0,20	0,10	0,85	0,60
AB, cm²	1,80	1,51	1,48	1,50	0,12	0,10	0,41	0,95
AMP, cm²	0,48	0,54	0,40	0,60	0,04	0,26	0,07	0,04

CN = Controle; 25T e 50T = Inclusão na dieta de 0,25% e 0,50% do *blend* vegetal na MS; MN = Monensina; NMP = número médio de papilas; AMP = área média das papilas; AB = área da base; NMP/cm = número médio de papilas por centímetro quadrado de parede; ASA = área total de superfície absortiva por centímetro quadrado de parede; PSA = participação das papilas ruminais na área total de superfície absortiva; EPM = erro padrão da média; L = contraste linear; Q = contraste quadrático; C3 = 25T + 50T vs MN.

5. Discussão

O comportamento de consumo dos animais é dinâmico e muda conforme as condições de pasto e conforme as horas. Lima (2014) fornecendo suplementação de alto consumo para tourinhos nelore terminados a pasto, com alta e baixa oferta de forragem, observou que na alta oferta de forragem o consumo era menor a cada intervalo e o cocho

chegava a 0% às 24 h, enquanto que na baixa oferta de forragem o cocho chegava a 0% 16 h após o fornecimento do trato, sendo assim, em virtude da baixa oferta de forragem durante o ensaio (fig. 3) e alta proporção de componentes morfológicos de menor aceitabilidade (fig. 4) observamos uma concentração de consumo nas primeiras 9 horas, coincidindo também com o pico de N-NH3 da hora 9 (Fig 6 – Capítulo 2). A terminação a pasto permite ao animal que consiga alternar momentos de pastejo e de alimentação no cocho, a busca por momentos de pastejo são refletidas no aumento do pH ruminal após as 9 horas do fornecimento do suplemento (Fig 5 – Capítulo 2).

Compostos secundários vegetais em concentrações baixas a médias beneficiam a eficiência da produção, uma vez que reduzem a degradação de proteína no rúmen, aumentando a quantidade de proteína dietética para o intestino delgado (Wang et al., 1996; Patra e Saxena, 2010), entretanto neste estudo não foram relatados resultados semelhantes. Doses de tanino em torno de 20 g/kg de MS podem promover aumento do desempenho (Min et al., 2003), quando em quantidades maiores os resultados não se mostram tão promissores, já que Koenig et al. (2018) trabalhando com doses crescentes de tanino não observou diferenças no ganho médio diário, semelhante ao que reportamos aqui neste experimento (Tabela 3).

Dados de ganho de peso são explicados, quase que em sua totalidade pelo consumo, não houve diferença nesse ensaio para esta variável (Tabela 4 – Capítulo 2), sendo coerente não apresentar diferença no desempenho, a falta de resultados no consumo com uso de monensina também foi descrita nos trabalhos de Oliveira et al. (2005), Beauchemin et al. (2007) e Marino et al. (2011).

É importante pontuar que as variáveis respostas sobre o ganho com o uso de monensina é controverso (Barreras et al., 2013), uma vez que, assim como o tanino e as saponinas, depende da dose utilizadas (Duffield et al. 2012). Os dados de eficiência biológica são favoráveis para o uso do antibiótico, uma vez quem existem dados que comprovam que o uso de monensina aumenta a eficiência de utilização da energia sem necessidade de aumentar o consumo (Barreras et al., 2013; Montano et al., 2015).

A melhora na eficiência biológica (Tabela 4) está de acordo com Garcia et al. (2015), uma vez que com o uso de monensina e simbióticos obteve melhores resultados para EA e EB; neste ensaio houve um acréscimo de 7,65% a mais em eficiência para o uso do antibiótico. Para Millen et al. (2013) dietas de confinamento com uso de monensina parecem ter menores variações no consumo e maior frequência de idas ao cocho durante o dia, sendo assim o aproveitamento dos nutrientes acaba sendo melhor e isso implica diretamente na eficiência biológica.

A ausência de respostas significativas para a variáveis de desempenho foram reflexo da tendência ao menor consumo de suplemento com o uso do *blend* (Tabela 4 – Capítulo 2). Entretanto, a EB foi positiva para o tratamento com antibiótico, uma vez que houve maior produção de carcaça por kg de MS consumido.

No tocante as características de carcaça, para este ensaio, os valores encontrados para o uso de aditivos se mostraram próximos ao tratamento controle, podemos inferir que o desempenho esteve mais ligado a dieta que ao uso dos aditivos, semelhante ao que foi reportado por Larraín et al. (2009) que não encontrou diferenças nas características de carcaça quando utilizou um efeito associativo do milho e sorgo de alto tanino. Quando ao uso de saponinas, seus efeitos acabam se limitando ao rúmen não

influenciando a digestibilidade no resto do sistema digestório, geralmente são transportadas ao longo do sistema digestivo e eliminadas nas fezes (Wina et al., 2005)

Animais que consumiram *blend* tiveram uma quantidade de colágeno superior aos animais controle (P < 0,05) (Tabela 4), apesar do aumento do colágeno comprometer a maciez da carne segundo Dhanda et al. (2003), a FC não foi alterada (P > 0,05) (Tabela 6) comprovando que o aumento no colágeno na carne dos animais que consumiam *blend* não foi suficiente para comprometer a maciez da carne.

Não houve diferença para a estimativa da composição corporal dos animais e dessa forma, entende-se que os aditivos não são preponderantes nas alterações dessas características (Zanine et al., 2006), que se traduz para a estimativa da composição corporal (Tabela 5), onde não foram encontradas diferenças para os percentuais de água, minerais, proteína e gordura, indicando que os aditivos exercem influência mínima sobre as características da carne e carcaça.

A cor da carne, medida por colorímetro, pode ser traduzida em três variáveis L* (luminosidade), a* (cor vermelho) e b* (cor amarelo). As carnes são consideradas escuras quando apresentam valores de L*, a* e b* por volta de 30, 14,5 e 3,5, respectivamente (Abularach et al., 1998), sendo assim independente do tratamento todas as carnes avaliadas nesse ensaio podem ser classificadas como escuras, já que apresentaram valores acima de 30 para a variável L*. Os animais que receberam *blend* tenderam a possuir carnes mais vermelhas quando comparados ao uso de monensina (Tabela 6).

Quimicamente os taninos presentes no *blend* possuem alta afinidade com moléculas de ferro (Bele et al., 2010) a absorção do ferro pode alterar a quantidade de hemoglobina no sangue (Priolo et al., 2000) fazendo com que a essa tendência na

frequência de luz seja observada, ou seja, através da ação dos antioxidantes fenólicos (Liu et al., 2016) como sequestradores de radicais e quelante de metais (Shahidi et al., 1992). Isso pode ser justificado pela diminuição da biossíntese de vitamina B12 precursores dos pigmentos hemínico (Priolo e Vasta, 2007), uma vez que a deficiência dessa vitamina é responsável por transtornos hematológicos (Lopes et al., 2019).

A adição de compostos secundários vegetais possuem ação antioxidante, nas dietas de ruminantes e pode aumentar a vida de prateleira das carnes sem comprometer a qualidade, isso confere um maior poder atrativo de consumo da carne resfriada para a congelada (Moreno et al., 2016), mesmo diante dessa afirmativa não foram encontradas diferenças no pH dos bifes, força, perdas por cocção, L* e b*. A tendência para maior perda por cocção foi relatada para ausência de aditivos na dieta.

O nitrogênio amoniacal é um dos principais indicadores de conversão de N em proteína microbiana (Firkins et al., 2007), e ureia sanguínea indica o status proteico do animal (Kohn et al., 2005) e a glicose indica o status energético do animal (Ran et al., 2018). O aumento nas concentrações de ureia sanguínea (tabela 7) pode indicar que houve aumento da absorção intestinal de aminoácidos, uma vez que o tratamento com o uso de antibiótico apresentou maiores valores de $N\text{-}NH_3$.

As maiores concentrações de glicose no sangue para o tratamento com antibiótico (tabela 7) podem ser atribuídas a uma maior digestibilidade intestinal da matéria orgânica (Jiao et al., 2017). Se há aumento da digestão de amido no intestino delgado, maiores quantidades de glicose líquida podem chegar ao fígado e por consequência no sangue. Esse aumento pode ser corroborado com os dados de eficiência biológica, já que o

tratamento com antibiótico obteve melhor resultado para o consumo, dados semelhantes aos encontrados por Ran et al. (2018).

A albumina como proteína tem afinidade de ligação com os taninos e saponinas e é muito utilizada para as investigações dessas complexações (Dobreva et al., 2011; Sasongko et al., 2010). Resultado semelhante foi descrito no capítulo 2 desse manuscrito. Os parâmetros glubulinas, proteínas totais e creatinina não foram influenciados pelos tratamentos, mas encontram-se dentro da normalidade (Buccioni et al., 2015).

NMP, AB, PSA e largura de papilas não foram influenciadas pelo uso de aditivo. Entretanto, a AMP (cm^2) foi superior para os animais que receberam monensina (Tabela 8). Dado esse que influencia diretamente na absorção de AGCC. Os dados histológicos e morfológicos das papilas mostraram resultados em consonância, uma vez que animais que receberam monensina como aditivo apresentaram tendência em possuir maior ASA.

Os resultados relacionados as papilas são explicadas pela ação da monensina sódica na dieta, o uso desse ativo favorece a produção de propionato via fermentação ruminal e o propionato em associação com o Butirato são os maiores responsáveis pelo crescimento das papilas (Costa et al., 2008; Gorka et al., 2009). Entretanto, neste ensaio esses ácidos não foram influenciados pelo tratamento.

Dados relacionados a área da base ($P < 0,10$) e altura ($P < 0,05$) das papilas foram favorecidos pelo uso do *blend*, indicam indiretamente que esse crescimento está ligado a absorção de ácidos graxos voláteis pela parede ruminal (Rezende Júnior et al., 2006), é possível que o uso de aditivos tenha melhorado a saúde do rúmen. Esses dados são corroborados por Lila et al. (2003) que usando doses crescentes de saponinas observou que maiores doses promoveram maiores quantificações de ácidos graxos.

Em conclusão, as variáveis mostram resultados semelhantes ao tratamento controle entretanto de uma forma geral, as diferenças pontuais encontradas nesses estudo para a monensina não imprimi o descarte do uso do *blend* no confinamento a pasto, sendo um possível substituto natural para o uso de antibióticos na dieta de terminação, principalmente para atender uma exigência de mercado no tocante a restrição ao uso de antibióticos.

6. Referências

Abularach, M.L.S., Rocha, C.E., & de FELÍCIO, P.E., 1998. Características de qualidade do contrafilé (m. L. dorsi) de touros jovens da raça Nelore. Food Science and Technology, 18(2), 205-210.

Alvares, C.A., Stape, J.L., Sentelhas, P.C., de Moraes, G., Leonardo, J., & Sparovek, G., 2013. Köppen's climate classification map for Brazil. Meteorologische Zeitschrift, 22(6), 711-728.

AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. 16th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Gaithersburg, MD.

Barreras, A., Castro-Pérez, B.I., López-Soto, M.A., Torrentera, N.G., Montaño, M.F., Estrada-Angulo, A., Zinn, R.A., 2013. Influence of ionophore supplementation on growth performance, dietary energetics and carcass characteristics in finishing cattle during period of heat stress. Asian-Australasian journal of animal sciences 26(11), 1553.

Beauchemin, K.A., McGinn, S.M., Martinez, T.F., McAllister, T.A., 2007. Use of condensed tannin extract from quebracho trees to reduce methane emissions from cattle. J. Anim. Sci. 85, 1990–1996.

Bele, A.A., Jadhav, V.M., & Kadam, V.J., 2010. Potential of tannnins: A review. Asian Journal of Plant Sciences, 9(4), 209.

Buccioni, A., Pauselli, M., Viti, C., Minieri, S., Pallara, G., Roscini, V., ... & Mele, M., 2015. Milk fatty acid composition, rumen microbial population, and animal performances in response to diets rich in linoleic acid supplemented with chestnut or quebracho tannins in dairy ewes. Journal of Dairy Science, 98(2), 1145-1156.

Costa, S.F., Pereira, M.N., Melo, L.Q., Resende Júnior, J.C., & Chaves, M.L., 2008. Alterações morfológicas induzidas por butirato, propionato e lactato sobre a mucosa ruminal e a epiderme de bezerros: I. Aspectos histológicos. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec, 60(1), 1-9.

De Vries, M.W. 1995. Estimating forage intake and quality in grazing cattle: a reconsideration of the hand-plucking method. Rangeland Ecology & Management/Journal of Range Management Archives, 48(4), 370-375.

Dhanda, J.S., Taylor, D.G., & Murray, P.J., 2003. Part 1. Growth, carcass and meat quality parameters of male goats: effects of genotype and liveweight at slaughter. Small Ruminant Research, 50(1-2), 57-66.

Dobreva, M.A., Frazier, R.A., Mueller-Harvey, I., Clifton, L.A., Gea, A., & Green, R.J., 2011. Binding of pentagalloyl glucose to two globular proteins occurs via multiple surface sites. Biomacromolecules, 12(3), 710-715.

Dos Santos, H.G., Jacomine, P.K.T., dos Anjos, L.H.C., de Oliveira, V.A., Lumbreras, J.F., Coelho, M.R., Almeida, J.A. de, Araújo Filho, J.C. de, Oliveira, J.B. de, Cunha, T., 2018. Sistema brasileiro de classificação de solos. Brasília, DF: Embrapa.

Duffield, T.F., Merrill, J K., & Bagg, R.N., 2012. Meta-analysis of the effects of monensin in beef cattle on feed efficiency, body weight gain, and dry matter intake. Journal of Animal Science, 90(12), 4583-4592.

Firkins, J.L., Yu, Z., Morrison, M., 2007. Ruminal nitrogen metabolism: perspectives for integration of microbiology and nutrition for dairy. Journal Dairy Sciency. 90(E. Suppl):E1–E16.

Garcia, F.R., Jorge, A.M., de Lima Francisco, C., de Castilhos, A.M., Pariz, C.M., & da Silva, M.B., 2015. Simbióticos e monensina sódica no desempenho e na qualidade da carne de novilhas mestiças Angus confinadas. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 50(10), 958-966.

Gorka, P., Kowalski, Z.M., Pietrzak, P., Kotunia, A., Kiljanczyk, R., Flaga, J., ... & Zabielski, R., 2009. Effect of sodium butyrate supplementation in milk replacer and starter diet on rumen development in calves. development, 4(5), 10-11.

Gregory, N., & Shaw, F., 2000. Penetrating captive bolt stunning and exsanguination of cattle in abattoirs. Journal of Applied Animal Welfare Science, 3(3), 215-230.

Hankins, O.G., & Howe, P.E., 1946. Estimation of the composition of beef carcasses and cuts (Nº 926). US Department of Agriculture.

Jiao, P.X., Wei, L.Y., Walker, N.D., Liu, F.Z., Chen, L.Y., Beauchemin, K.A., & Yang, W.Z., 2017. Comparison of non-encapsulated and encapsulated active dried yeast on ruminal pH and fermentation, and site and extent of feed digestion in beef heifers fed high-grain diets. Animal Feed Science and Technology, 228, 13-22.

Koenig, K.M., Beauchemin, K.A., & McGinn, S.M., 2018. Feeding condensed tannins to mitigate ammonia emissions from beef feedlot cattle fed high-protein finishing diets containing distillers grains. Journal of animal science, 96(10), 4414-4430.

Kohn, R.A., Dinneen, M.M., & Russek-Cohen, E., 2005. Using blood urea nitrogen to predict nitrogen excretion and efficiency of nitrogen utilization in cattle, sheep, goats, horses, pigs, and rats. Journal of Animal Science, 83(4), 879-889.

Larraín, R.E., Schaefer, D.M., Arp, S.C., Claus, J.R., & Reed, J.D., 2009. Finishing steers with diets based on corn, high-tannin sorghum, or a mix of both: Feedlot performance, carcass characteristics, and beef sensory attributes. Journal of animal science, 87(6), 2089-2095.

Lila, Z.A., Mohammed, N., Kanda, S., Kamada, T., & Itabashi, H. 2003. Effect of sarsaponin on ruminal fermentation with particular reference to methane production in vitro. Journal of Dairy Science, 86(10), 3330-3336.

Lima, B.D.S., 2014. Suplementação de alto consumo na terminação de tourinhos Nelore em pastagem de b. brizantha cv. Marandu. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de São Paulo – Júlio Mesquita Filho (Unesp, Jaboticabal). 85f.

Lopes, S.C., Gadelha, D.D., de Carvalho, M.D., de Oliveira, V.F., Junior, R.M.M. 2019. Vitamin B12 deficiency: metabolic effects, clinical evaluation, and treatment. Revista de Medicina da UFC, 59(2), 40-49.

Millen, D.D., Ronchesel, J.R., Parra, F.S., Pacheco, R.D.L., Martins, C.L., & Arrigoni, M.D.B., 2013. Anticorpos policlonais em dietas com alta inclusão de concentrado para bovinos confinados. Ciência Rural, 1660-1667.

Min, B.R., Barry, T.N., Attwood, G.T., & McNabb, W.C., 2003. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. Animal feed science and technology, 106(1-4), 3-19.

Montano, M.F., Manriquez, O.M., Salinas-Chavira, J., Torrentera, N., Zinn, R.A., 2015. Effects of monensin and virginiamycin supplementation in finishing diets with distiller dried grains plus solubles on growth performance and digestive function of steers. Journal of applied animal research, 43(4), 417-425.

Moreno, G.M.B., Lima Júnior, D.M. de, Souza, N.O.B., Cirne, L.G., Boaventura Neto, O., Souza, S.F. de, 2016. Qualidade da carne de cordeiros: genótipo e manejo nutricional. Ciências Veterinárias no Trópicos. 19(3), 18-129.

Nawab, A., Li, G., An, L., Nawab, Y., Zhao, Y., Xiao, M., ... & Sun, C. 2020. The potential effect of dietary tannins on enteric methane emission and ruminant production; as an alternative to antibiotic feed additives–a review. Annals of Animal Science.

Oliveira, C.A., & Millen, D.D., 2014. Survey of the nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists in Brazil. Animal Feed Science and Technology, 197, 64-75.

Oliveira, M.V.M., Lana, R.P., Freitas, A.W.P., Eifert, E.C., Pereira, J.C., Valadares Filho, S.C., Pérez, R.O., 2005. Parâmetro ruminal, sanguíneo, urinário e digestibilidade de nutrientes em novilhas leiteiras recebendo diferentes níveis de monensina. Rev. Bras. Zootecn. 34, 2143–2154.

Owens, F.N., Secrist, D.S., Hill, W.J., & Gill, D.R. 1998. Acidosis in cattle: a review. Journal of animal science, 76(1), 275-286.

Priolo, A., Waghorn, G.C., Lanza, M., Biondi, L., & Pennisi, P., 2000. Polyethylene glycol as a means for reducing the impact of condensed tannins in carob pulp: effects on lamb growth performance and meat quality. Journal of Animal Science, 78(4), 810-816.

Priolo, Q., & Vasta, V., 2007. Effects of tannin-containing diets on small ruminant meat quality. Italian Journal of Animal Science, 6(sup1), 527-530.

Ran, T., Shen, Y., Saleem, A.M., AlZahal, O., Beauchemin, K.A., & Yang, W., 2018. Using ruminally protected and nonprotected active dried yeast as alternatives to antibiotics in finishing beef steers: growth performance, carcass traits, blood metabolites, and fecal Escherichia coli. Journal of animal science, 96(10), 4385-4397.

Resende Junior, J.C. de, da Silva Alonso, L., Pereira, M.N., Magallanes, M.G.R., Duboc, M.V., de Oliveira, E.C., & de Melo, L.Q., 2006. Effect of the feeding pattern on rumen wall morphology of cows and sheep. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, 43(4), 526-536.

Sasongko, W.T., Yusiati, L.M., & Bachruddin, Z., 2010. Optimalisasi Pengikatan Tanin Daun Nangka dengan Protein Bovine Serum Albumin (Optimalisation Binding of Jackfruit Leaves Tannin with Bovine Serum Albumin Protein). Buletin Peternakan, 34(3), 154-158.

Shahidi, F., Janitha, P.K., & Wanasundara, P.D., 1992. Phenolic antioxidants. Critical reviews in food science & nutrition, 32(1), 67-103.

Sollenberger, L.E., Cherney, D.J.R., 1995. Evaluating forage production and quality. In: BARNES, R.F.; MILLER, D.A.; NELSON, C.J. (Eds.) Forages: the Science of grassland agriculture. Ames: University Press, v.2, p.97-110.

Van Soest, P.J., & Robertson, J.B. 1985. Analysis of forages and fibrous foods. Cornell University. 202p.

Van Soest, P.V., Robertson, J.B., & Lewis, B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of dairy science, 74(10), 3583-3597.

Wang, Y., Waghorn, G.C., McNabb, W.C., Barry, T.N., Hedley, M.J., & Shelton, I.D. 1996. Effect of condensed tannins in Lotus corniculatus upon the digestion of methionine and cysteine in the small intestine of sheep. The Journal of Agricultural Science, 127(3), 413-421.

Wina, E., Muetzel, S., & Becker, K. 2005. The impact of saponins or saponin-containing plant materials on ruminant production A Review. Journal of agricultural and food chemistry, 53(21), 8093-8105.

Wong, A., 2019. Unknown Risk on the Farm: Does Agricultural Use of Ionophores Contribute to the Burden of Antimicrobial Resistance?. mSphere, 4(5), e00433-19.

Zanine, A., Oliveira, J., & Santos, E., 2006. Importância, uso, mecanismo de ação e retorno econômico dos ionóforos na nutrição de ruminantes. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária, Ano III, (06).

Declaração de responsabilidade

Eu, Joelma Kyone Oliveira, brasileira, solteira e portadora do CPF 961.974.122-68 declaro ciência de todas a informações, hipóteses e conclusões expressas nesse material, assumo autoria do que foi escrito e recomendado e deixo claro que não refletem, necessariamente, a visão da FAPESPA e da CAPES.