



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**PARAMÊTROS DE FERMENTAÇÃO RUMINAL DE NOVILHOS
EM CONSUMO LIMITADO, RECEBENDO SUPLEMENTO
ACRESCIDO DE ÓLEO DE COPAÍBA (*Copaifera* sp.) EM
SUBSTITUIÇÃO E ASSOCIAÇÃO Á MONENSINA SÓDICA.**

JANAINA APARECIDA DE MELLO LIMA

Trabalho de Conclusão do Curso
de Graduação de Zootecnia da
Universidade Federal da Grande
Dourados, apresentado como
exigência parcial à obtenção do
título de Bacharel em Zootecnia.

Dourados – MS
Novembro – 2015



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**PARAMÊTROS DE FERMENTAÇÃO RUMINAL DE NOVILHOS
EM CONSUMO LIMITADO, RECEBENDO SUPLEMENTO
ACRESCIDO DE ÓLEO DE COPAÍBA (*Copaifera* sp.) EM
SUBSTUIÇÃO E ASSOCIAÇÃO Á MONENSINA SÓDICA.**

JANAINA APARECIDA DE MELLO LIMA

Orientador: Prof. Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes

Trabalho de Conclusão do Curso
de Graduação de Zootecnia da
Universidade Federal da Grande
Dourados, apresentado como
exigência parcial à obtenção do
título de Bacharel em Zootecnia.

Dourados – MS
Novembro – 2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

L732p	<p>Lima, Janaina Aparecida de Mello.</p> <p>Parâmetros de fermentação ruminal de novilhos em consumo limitado, recebendo suplemento acrescido de óleo de copaíba (<i>copaifera</i> sp.) em substituição e associação à monensina sódica. / Janaina Aparecida de Mello Lima. – Dourados, MS : UFGD, 2015.</p> <p>42f.</p> <p>Orientador: Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes.</p> <p>Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Zootecnia) – Universidade Federal da Grande Dourados.</p> <p>1. Fermentação. 2. Aditivo. 3. <i>Copaifera</i> sp. 4. Ruminantes. I. Título.</p> <p>CDD – 636.215</p>
-------	---

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.

©Todos os direitos reservados. Permitido a publicação parcial desde que citada a fonte.

“PARAMÊTROS DE FERMENTAÇÃO RUMINAL DE NOVILHOS EM CONSUMO LIMITADO, RECEBENDO SUPLEMENTO ACRESCIDO DE ÓLEO DE COPAÍBA (*Copaifera* sp.) EM SUBSTITUIÇÃO E ASSOCIAÇÃO Á MONENSINA SÓDICA.”


por

JANAINA APARECIDA DE MELLO LIMA

Trabalho apresentado à banca examinadora, como parte dos requisitos para obtenção da graduação em Bacharel em Zootecnia.

Aprovado em 04/11/15


Prof. Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes
UFGD/FCA


Jefferson Rodrigues Gandra
UFGD/FCA


Maria Gizelma de Meneses Gressler
UFGD/FCA

Ah o tempo faz, tempo desfaz

E vai além sempre...

A vida vem lá de longe

É como se fosse um rio

Pra rio pequeno canoa

Pros grandes rios navios

E bem lá no fim de tudo

Começo de outro lugar

Será como Deus quiser

Como o destino mandar

No rastro da lua cheia

Se chega em qualquer lugar!

(No Rastro da Lua Cheia. Almir Sater)

Á DEUS por me dar forças durante toda minha caminhada,
Aos meus Pais José Teixeira Lima e Jocelia Aparecida de Mello Lima, pelo
Amor e dedicação e exemplos, ao meu irmão José Teixeira Lima Junior
Ao meu noivo Adriano Bruno por estar sempre ao meu lado
A todos os meu amigos e familiares por sempre me apoiarem.

Dedico...

AGRADECIMENTOS

A Deus por sempre me guiar, e me dar forças a cada dia para que eu pudesse conquistar mais essa etapa de minha vida.

Ao meu pai e minha mãe, pelo amor e dedicação e por sempre me apoiarem e me darem todo o suporte necessário para alcançar meus objetivos;

À minha avó, por todo carinho e compreensão e por sempre me apoiar.

Aos meus familiares e que sempre apoiaram e confiaram em mim.

Ao meu orientador prof. Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes, pela atenção e paciência, pelo seu exemplo e amizade.

Ao prof. Dr. Jefferson Rodrigues Gandra, ao prof. Dr. Euclides Reuter de Oliveira, e a todos os professores que me ajudaram nesta caminhada.

A todos os meus colegas de turma, pelo companheirismo e por me ajudar a manter o foco.

Aos amigos que fiz e quero levar para sempre Paulo Alves, Flávia Azevedo, Lucas de Oliveira, Miriã Medina, Luiz Henrique, pela amizade e apoio durante essa etapa.

À minha parceira no projeto Maiara Flores, por me apoiar e me ajudar durante todas as etapas desta jornada.

Aos integrantes do Grupo de Estudos em Nutrição e Produção de Ruminantes (NERU), Charles Jhonnatan, Heitor Paz, Maykon Brites, Miriã Medina, Etelvitor Leite, Mayara Mitiko, Luiz Henrique Xavier, Maiara Flores, Paulo Alves, Raquel Tenório, Luciana Rodrigues, Eviliane Furini, Thays Moura, Thaiza Vanzin, Bruno Gomes, Elbio Neto, Flavia Azevedo, Gislaine Ribeiro, Gleidson Martins, Gustavo Porangaba e Adele Orosimbo. E aos demais colegas de Graduação em Zootecnia, pelo auxílio na realização dos experimentos.

À Técnica do Laboratório de Nutrição Animal, Maria Gizelma de Menzes Gressler, pela paciência, conselhos e dedicação no auxílio na realização das análises.

A todos que colaboraram direta ou indiretamente na realização de meus estudos e contribuíram para a realização deste trabalho, meu muito obrigado.

SUMÁRIO

Resumo	10
Abstract	11
1.Introdução	12
2. Revisão de Literatura	14
2.1Microbiota Ruminal	14
2.2 Utilização dos Ionóforos	15
2.2.1 Monensina Sódica	16
2.3 Óleos funcionais e essenciais	20
2.4 Óleo de copaíba	23
3. Materiais e Métodos	25
4. Resultados e discussões	29
4.1 pH ruminal	29
4.2 Nitrogênio amoniacal (N-NH ₃) do liquido ruminal	31
5. Conclusão	33
6. Referências	34

LISTA DE TABELAS

1. Composição percentual dos suplementos utilizados.	25
2. Composição bromatológica da silagem de milho utilizada.	26
3. Caracterização química (sesquiterpenos, diterpenos e ácidos graxos) do óleo de copaíba utilizado no experimento.	27
4. Consumo de matéria seca e nutrientes em (g/dia) de novilhos mantidos em confinamento recebendo monensina sódica e óleo de copaíba.	28
5. Valores médios de pH ruminal e seus respectivos coeficientes de variação dos tratamentos avaliados.	29
6. Valores de pH do líquido ruminal em função do tempo de coleta de animais.	30
7. Valores médios de N-NH ₃ e seus respectivos coeficientes de variação dos tratamentos avaliados.	31
8. Valores de N-NH ₃ em função do tempo de coleta	32

LISTA DE FIGURAS

1. Efeito da monensina sódica sobre o fluxo de íons na bactéria ruminal. 17
2. Valores de ph ruminal em função do tempo de coleta. 31
3. Valores de n-nh₃ em função do tempo de coleta. 33

RESUMO

Lima, Janaina Aparecida de Mello, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS, Outubro de 2015. Óleo de copaíba (*copaifera* sp.) em substituição e associação á monensina sódica: parâmetros ruminais Orientador: Prof. Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes.

Objetivou-se com este trabalho avaliar a associação de monensina sódica com óleo de copaíba sobre os parâmetros ruminais em suplementos para bovinos em restrição alimentar. Foram utilizados quatro novilhos, castrados, com peso corporal médio de 300 kg providos de cânula ruminal. Os tratamentos avaliados foram silagem de milho + suplemento (CONT), silagem de milho + suplemento acrescidos de monensina sódica (MON, 0,9g/kg de PV), silagem de milho + suplemento acrescido de óleo de copaíba (COP, 1 ml/kg de PV) e silagem de milho + suplemento acrescido de monensina sódica associada com óleo de copaíba (MC). A mensuração das variáveis avaliadas no líquido ruminal dos animais, foi realizado no 13º dia experimental, através da coleta na interface líquido/sólido do ambiente ruminal, de uma alíquota de 40 mL, imediatamente antes da suplementação e 2, 4, 6, e 8 horas após o fornecimento do suplemento. Não ocorreu efeito da adição de monensina sódica, mas sim para a adição de óleo de copaíba e da associação óleo de copaíba + monensina sódica. A associação apresentou os menores valores de N-NH₃ de 7,51. Para os valores de pH não ocorreu efeito da adição de óleo de copaíba, nem da associação do óleo de copaíba com a monensina sódica. A adição de monensina sódica proporcionou os maiores valores de pH (6,72). Os valores de pH reduziram após a suplementação dos animais, sendo a monensina sódica apresentando maior estabilidade de pH. O delineamento experimental utilizado foi quadrado latino 4x4, com arranjo parcelas subdivididas onde tomava-se o animal como parcela, e o tempo como subparcela. Os efeitos da suplementação foram estudados por análise de variância e de interação segundo pacote estático SAS.

Palavras chaves: fermentação, aditivo, *Copaifera* sp, ruminantes.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the association of monensin with copaiba oil on ruminal parameters in supplements for cattle on feed restriction. Four bulls were used, castrated, with average body weight of 300 kg fitted with rumen cannula. The treatments were corn silage + supplement (CONT), corn silage + plus supplement monensin (MON, 0.9g / kg BW), corn silage + plus supplement copaiba oil (COP 1 ml / kg of body weight) and corn silage + plus supplement monensin associated with copaiba oil (MC). The measurement of the variables evaluated in the rumen fluid of animals was held on the 13th experimental day by collecting the liquid / solid interface of the rumen mat, a rate of 40 mL immediately prior to supplementation and 2, 4, 6, and eight hours after delivery of the supplement. There was effect of adding monensin, but for the addition of copaiba oil and copaiba oil association + monensin. The association had the lowest N-NH₃ values of 7.51. For the pH there was no effect of adding copaiba oil, or the Copaiba oil association with monensin. The addition of monensin provided the highest pH (6.72). The pH value decreased after supplementation of animals, and the monensin having greater stability pH. The experimental design was 4x4 Latin square, with arrangement subdividias plots where took up the animal as a percentage, and time as subplots. The effects of supplementation were studied by analysis of variance and interaction seconds SAS static package.

Key words: fermentation, addictive, *Copaifera* sp, ruminants.

1. Introdução

Com a crescente demanda mundial por produtos de origem animal e os níveis de exportações de carne do Brasil subiram consideravelmente nos últimos anos há a necessidade de recursos para atendimento da demanda. Visando melhorar a eficiência dos animais de corte buscaram-se alternativas para melhorar o sistema de produção dentre estas alternativas estão os aditivos alimentares que maximizam a eficiência alimentar em dietas ricas em carboidratos e proteínas. Dentre vários aditivos conhecidos, em bovinos de corte os mais conhecidos são os Antibiótico Ionóforos. Dentre vários antibióticos disponíveis no mercado a monensina sódica e a Lasalocida Sódicas são as mais utilizadas no Brasil.

Os Ionóforos são conhecidos por auxiliar o processo de fermentação ruminal, tem sido bastante difundido e estudo nos últimos tempos por pesquisadores que se dedicam á nutrição animal, antes utilizado na atividade avícola para combate de doenças causadas por bactérias e logo em seguida utilizadas em bovinos, onde se tem o propósito de modificar a fermentação ruminal, proporcionando alterações na população bacteriana ruminal, através da seleção de bactérias Gram negativas em detrimento das bactérias Gram positivas.

Dentre as bactérias Gram negativas estão as bactérias proteolíticas, a monensina atua sobre estas bactérias diminuindo algumas degradações desnecessárias. Assim sendo, proteínas de maior valor biológico que passam pelo rúmen sem serem degradadas, promovem um ganho adicional ao animal, que recebe uma proteína melhor e em maior quantidade em comparação com a proteína bacteriana, uma vez que não existem as perdas do processo de proteólise e síntese proteica bacteriana (ZANINE et al., 2006).

Devido o receio de que os ionóforos- antibióticos possam deixar resíduo na carne ou leite dos animais tratados com estes aditivos e afetar a saúde humana. A união Europeia através do Regulamento nº 1831/2003 determinou a proibição da utilização de antibiótico e coccidiostáticos como aditivos alimentares para bovinos. (GOMES, 2009). Está medida pretende prevenir os efeitos de uma possível relação entre a utilização de antibióticos na nutrição animal e o aumento da incidência de microorganismos resistentes, observada na medicina humana, (MARINO et al.,2008).

Apesar de não haver comprovações científicas sobre o comprometimento da saúde humana com o uso destes aditivos, a população tem procurado alimentos considerados mais saudáveis e naturais. Sendo assim a proibição de antibióticos na alimentação animal é uma tendência e outros países deverão seguir o exemplo da União Europeia. Servindo de incentivo para que os pesquisadores desenvolvessem alternativas com produtos naturais que tivessem efeito semelhante a destes aditivos.

Assim surgiram os estudos de óleos funcionais e essências na nutrição de ruminantes, devido suas propriedades antibacterianas que poderiam selecionar os microorganismos do rumem. Existem a evidência que muitos destes óleos reduzem a taxa de deaminação de aminoácidos, a taxa de produção de amônia e o número de bactérias hiperprodutoras de amônia, com aumento no escape ruminal de N para o intestino (McINTOSH, et al., 2003).

Portanto objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito sobre a produção de N e Potencial hidrogeniônico do rumem, de bovinos mantidos em sistema restrição alimentar suplementados com óleo de copaíba, monensina e a combinação entre os dois tratamentos, para comparação entre ambos.

2. Revisão de Literatura

2.1. Microbiota Ruminal

O rúmen representa um complexo ecossistema composto por microrganismos como bactérias, fungos, protozoários ciliados e flagelados. Esses microrganismos produzem enzimas capazes de degradar a celulose das plantas, o que fornece energia ao seu hospedeiro em uma relação mutualística (ARCURI et al., 2006). Os protozoários ciliados podem variar entre 10⁴ até 10⁶ ciliados por mililitro de conteúdo ruminal (KAMRA, 2005). Diversos fatores influenciam o funcionamento do ambiente ruminal, entre os quais se destacam a dieta e o pH (NOGUEIRA FILHO et al., 2001). A manipulação de dietas com aditivos tem sido foco de estudos para a diminuição da produção do gás metano, sintetizando protozoários ciliados do rúmen de bovinos e bubalinos pelos microrganismos do rumem, para a melhoria do desempenho produtivo de ruminantes (DILorenzo et al., 2006).

A parede celular dos microrganismos ruminais é composta por pseudomureína, proteína, glicoproteína ou heteropolissacarídeos e a sequência de nucleotídeos indica uma evolução inicial distinta das bactérias (ISHINO et al., 1998). Segundo Nagajara et al. (1986), os protozoários ciliados tem um papel significativo no metabolismo ruminal do amido e do ácido lático no rumem. Isso se deve ao uso dos açúcares e amido como substratos pelos protozoários, impedindo que esses produtos sejam utilizados na fermentação microbiana. (NEWBOLD; CHAMBERLAIN, WILLIAMS, 1986). Os protozoários ciliados são mais sensíveis de que as bactérias às flutuações e reduções do pH ruminal, onde a queda no número destes pode ser um indicativo de acidose. (GOAD, GOAD, NAGARAJA, 1998).

De acordo com Fernando et al. (2010), o fornecimento de dietas com elevada proporção de concentrado (60 a 80 %) durante a adaptação ao confinamento aumentou as populações de *megasphaera elsdenii*, *streptococcus bovis* e *selenomonas ruminantium*. Por outro lado, *butyvirio fibrosolvens* e *fibrobacter succinogenes* foram 40 e 20 vezes menores, respectivamente, quando comparadas àquelas encontradas em animais recebendo dieta com alta forragem.

O aumento de carboidratos fermentáveis no rumem leva um aumento na glicose, ou seja, energia (GALYEN; RIVERA, 2003), que quando em excesso, estimulam a produção de lactato, principalmente através das bactérias *streptococcus bovis*.

A presença de glicose no líquido ruminal pode favorecer o crescimento de *Streptococcus bovis* e *Lactobacillus* sp., os quais promovem conversão de glicose/piruvato em ácido láctico, o que afeta o pH ruminal e reduz a adesão dos microrganismos celulolíticos, comprometendo a digestão da fibra em detergente neutro (SANTOS, 2011).

O baixo pH ocorre em casos de acidose clínica, onde há maior acúmulo de ácido láctico, devido ao aumento de atividade de bactérias fermentadoras de ac. Láctico e glicose no rúmen, a concentração de ac. láctico dentro do rumem, não deve exceder 5 mmol/L, considerando o limite para pré-disposição à acidose aguda (OWENS et al., 1998).

As *Archaea* Metanogênicas, responsáveis pela produção de CH₄, formam um grupo distinto de microrganismos, possuindo cofatores (Coenzima M, F420, F430) e lipídeos (ésteres de isopranoil glicerol) únicos. Apesar de várias espécies metanogênicas terem sido isoladas em diversos habitats anaeróbios, somente duas, *Methanobrevibacter ruminantium* e *Methanosarcina* sp foram encontradas em grande número no rumem. A conversão anaeróbia da matéria orgânica em CH₄ no rumem envolve um consórcio de microrganismos ruminais, com a etapa final realizada pelas metanogênicas (McALLISTER et al, 1996). Para Joblin (1999), a gestão do H₂ no rumem é a chave para controlar as emissões de CH₄ pelos ruminantes.

No rumem, as *Archaea* são encontradas associadas a protozoários ciliados e justapostas com bactérias. Espécies metanogênicas tem grande afinidade em sintetizar CH₄ a partir de H₂ e CO₂ para gerar suas necessidades energéticas para o crescimento (MILLER 1995). CH₄ é um subproduto da fermentação ruminal, e sua produção serve como principal “dreno” de hidrogênio (JOHNSON e JOHNSON, 1995).

2.2 Utilização de Ionóforos

Nos últimos anos, diversos aditivos alimentares foram testados, entre eles os ionóforos, que foram originalmente desenvolvidos como coccidiostáticos, amplamente utilizados na avicultura. Os ionóforos são produtos da fermentação de várias espécies de *Streptomyces* (fungo), sendo que os mais empregados na alimentação de ruminantes são: Monensina, Lasalocida, Narasina e Salinomocina.

Os ionóforos tem ação contra bactérias gram positivas, permitindo uma seleção de microrganismos do rumem. A ação dos ionóforos no rumem ocorre pelas mudanças na população microbiana, selecionando as bactérias gram-negativas produtoras de ácido

succínico ou que fermentam ácido láctico e inibindo as gram-positivas produtoras de ácido acético, butírico, láctico e H₂ (REIS et al.,2006).

De acordo com Rizzo (2008) não há resultados conclusivos que comprovem que ao antimicrobianos utilizados nas dietas causam redução na contagem total dos microrganismos no trato digestivo, porém existe evidências que eles são capazes de promover a seleção de organismos adaptados ao ambiente modificado. As alterações na microbiota beneficiam os animais por diferentes mecanismos, tais como: economia de nutrientes, controle de doenças subclínicas, efeito protetor contra a produção de toxinas no trato gastrointestinal e efeito metabólico (SOUZA, 2010).

Esta alteração na composição do ambiente ruminal tem como objetivos alguns benéficos ao animal hospedeiro entre eles podemos citar a melhor degradação da fibra, fermentação do lactato e conversão de compostos nitrogenados não proteicos em proteína microbiana, enquanto os processos que deveriam ser minimizados incluem a produção de metano, degradação da proteína e absorção de amônia (NAGARAJA et al., 1997). Estes benefícios surgem em decorrência do aumento da proporção do ácido propiônico em relação aos demais ácidos é explicado pela sua melhor utilização (eficiência) no rumem, que se dá através da redução do metano e também do CO₂, que ocorre somente durante a produção dos outros ácidos.

Os principais efeitos dos ionóforos sobre o desempenho do animal são: melhor eficiência do metabolismo de energia, alterando a produção de ácidos graxos voláteis no rumem (aumento de propionato em relação ao acetato e butirato), proporciona melhor desempenho do animal, pois diminui a energia perdida durante a fermentação ruminal. Reduzem a degradação de proteínas do alimento e podem diminuir a síntese de proteína microbiana, aumentando a proteína de origem alimentar que chega ao intestino delgado. Reduzem a incidência de acidose, pois regula o pH ruminal e inibe bactérias produtoras de ácido láctico, também diminui a incidência de timpanismo e coccidiose.

Através das vantagens relatadas acima é possível dizer que o uso de Ionóforos proporciona ganhos na produção e maior lucratividade ao produtor. Assim sendo a relação custo/benefício do uso de Ionóforos na alimentação animal é viável.

2.2.1 Monensina sódica

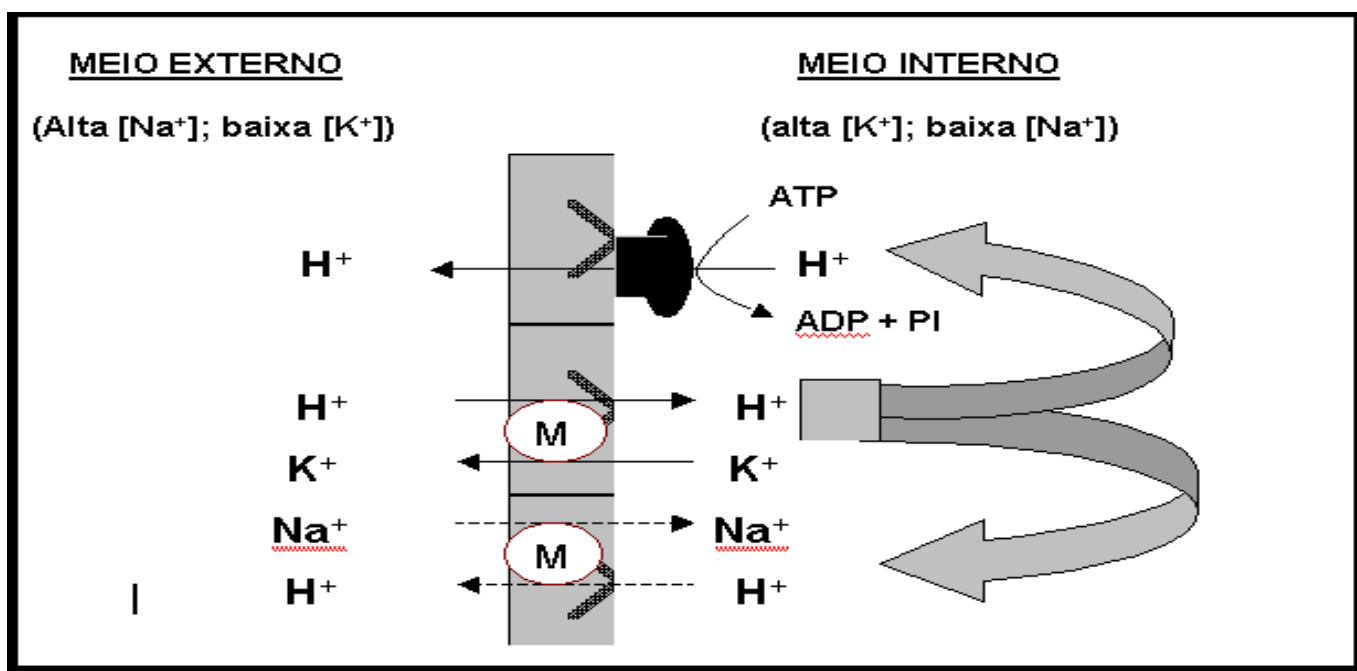
Segundo Zanine (2006) a monensina é um antibiótico utilizado inicialmente como coccidicida em aves nos Estados Unidos e que vem sendo utilizado a pouco

tempo como promotor de crescimento para ruminantes, sendo do grupo dos ionóforos cuja principal ação é destruir as bactérias Gram-positivas. Dentre as bactérias Gram-positivas então as bactérias proteolíticas, as formadoras do ácido acético e as formadoras de ácido láctico. A alimentação com monensina resulta também no aumento das concentrações de propionato.

A Monensina sódica é o Ionóforo mais utilizado no Brasil e por este motivo que existe muitas pesquisas relacionadas ao seu uso. A Monensina é produzida por uma cepa de *Streptomyces cinnamomensis*. Segundo Araujo 2010 a Monensina já é utilizada comercialmente a quatro décadas na produção de ruminantes e seu uso melhora a eficiência alimentar e diminui a produção de metano (RUSSEL; STROBEL,1989).

Seu mecanismo de ação é sobre sua habilidade de alterar o fluxo de cátions através da membrana, alterando o fluxo de íons na bactéria ruminal (Figura 1).

Figura 1. Efeito da monensina sódica sobre o fluxo de íons na bactéria ruminal. *Streptococcus bovis*,



Fonte: Material de aula (GOES), adaptado de Russel e Strobel (1989).

Este modelo visa explicar os efeitos da utilização de monensina sódica sobre o desenvolvimento do *Streptococcus bovis*, uma bactéria gram-positiva do rumem. Primeiramente, a concentração de K^+ intracelular é muito superior à extracelular. Quando a monensina liga-se à membrana celular, a primeira reação que ocorre é a

rápida saída de K^+ e a entrada de H^+ na célula, provocada pela mudança no gradiente iônico externo. O H^+ acumulado no interior da célula ocasiona a diminuição do pH. A célula responde a esta queda do pH com uma segunda reação, exportando H^+ para o meio externo e permitindo a entrada de Na^+ para o seu interior. Outra forma de exportar H^+ é através do mecanismo de “bomba” próton ATPase. Grande parte da energia produzida pela célula é utilizada pelas bombas de Na^+/K^+ e próton ATPase, na tentativa de manter o pH e o balanço iônico celular, de forma que com o passar do tempo, a célula se torne incapaz de manter seu metabolismo energético, diminuindo sua capacidade de crescimento e reprodução, e acaba morrendo ou assume um nicho microbiano sem expressão.

A produção de gás metano está relacionada com a eficiência da fermentação ruminal, consequentemente perda de energia no sistema de produção, o metano é também considerado um dos principais gases de efeito estufa, sendo responsável por cerca de 15% do aquecimento global (COTTON & PIELKE, 1995). Deve-se considerar que os ruminantes respondem pela produção de 22% desse gás através da fermentação entérica e contribuem com 3,3% dos gases de efeito estufa (ZOTTI & PAULINO, 2009), que pode ser considerado um número significativo. Assim a utilização de monensina sódica para minimizar a emissão desses gases na bovinocultura, e diminuir o impacto ambiental causado vem se promovendo cada vez mais, ao passar dos anos (REIS et al., 2006).

A melhoria da utilização de proteína também é associada ao uso de Monensina sódica. Basicamente, tal benefício deve-se ao fato de as bactérias proteolíticas e fermentadoras de aminoácidos serem sensíveis aos Ionóforos, o que diminui a concentração de N-amoniaco no líquido ruminal. (ARAÚJO, 2010).

Em geral, observa-se redução na concentração de amônia ruminal, tanto in vitro com in vivo. Várias pesquisas foram realizadas para caracterizar o efeito da monensina no metabolismo do N chegando a conclusão que quando incubamos o líquido ruminal com a monensina sódica temos o efeito sobre o metabolismo de N, diminuindo a degradação de proteína, o acúmulo de amônia e o N microbiano. (REIS et al, 2006) Duas espécies de bactérias identificadas pela grande capacidade de produção de amônia ruminal (RUSSELL et al., 1988), apesar de gram-negativas, mostraram-se sensíveis a monensina. (REIS et al, 2006).

A digestibilidade in vitro é afetada pela monensina, prejudicando a digestão da matéria orgânica, proteína e celulose, mas quando in vivo a digestibilidade não é

afetada, provavelmente devido ao maior tempo de retenção no rumem. (REIS et al, 2006.). Em ruminantes alimentados com dietas ricas em concentrados, a digestibilidade da fibra frequentemente tem sido aumentada pela monensina e esse aumento pode ser resultado do maior tempo de retenção da fibra no rumem que favorece a digestão microbiana da mesma (MARCUCCI et al., 2014).

O pH ruminal é influenciado principalmente pela produção de saliva. Por isso, animais alimentados com dietas contendo elevada porcentagem de alimentos volumosos normalmente apresentam pH ruminal sempre próximo à neutralidade (OLIVEIRA et. al 2005). Porém dietas ricas em grãos tem menor produção de saliva portanto menor pH o que aumenta a população das bactérias *Streptococcus bovis* o que diminui ainda mais o pH ruminal por produzir ácido láctico, como a monensina inibe a produção desta bactérias, controla a queda de pH evitando problemas de acidose (RUSSELL 1996)

Além disso, existe outros fatores que fazem com que ruminantes alimentados com dietas ricas em concentrados tendam a apresentar diminuição do pH do conteúdo ruminal, podendo ocorrer acidose. Porém os animais suplementados com monensina apresentam aumento do pH ruminal. Salles & Lucci (2000) encontrou em seu trabalho níveis crescentes de pH ruminal ao se aumentar os níveis de monensina incluídos na ração de bezerros Holandeses, resultado semelhante com Nagaraja et al. (1982) o que diminui os riscos de acidose em grandes confinamentos, por exemplo.

Segundo a EMBRAPA gado de corte (2001) deve haver uma adaptação ao consumo de monensina, e as quantidades fornecidas devem estar de acordo com as recomendações do fabricante. Para animais em confinamento, recomenda-se fornecer cerca de 5 g a 10 g de monensina sódica/tonelada de alimento no período inicial, estabilizando a concentração ao redor de 25 g a 30 g/tonelada. Tal procedimento melhora ganho de peso, conversão alimentar e ingestão de alimento, se comparado ao início da suplementação com 30 g/tonelada além de diminuir os riscos de intoxicação do animal. Caso os animais parem de receber a suplementação com monensina por mais de três dias a adaptação deve ser realizada novamente. Além de se ter melhores resultados com o ganho de peso também a adaptação dos animais diminui os riscos de intoxicação pela monensina.

O uso de monensina em sistema de pastejo também melhora o desempenho dos animais, porém assim como no sistema de confinamento é necessário uma adaptação ao consumo começando com uma quantidade de 50mg e aumentar gradativamente até 200 mg/cabeça/dia em 450 g de suplemento (POTTER et al., 1984). Melhora percentual no

desempenho de bovinos suplementados em relação aos não suplementados com monensina.

Apesar de todas as vantagens observadas sobre o uso de monensina sódica na alimentação de ruminantes, existe a preocupação sobre a possibilidade de se deixar resíduo na carne ou no leite de animais alimentados com este aditivo. A monensina é rapidamente excretada após sua ingestão, com mínimo acúmulo nos tecidos animais. Mas existe possibilidade de que a taxa de excreção metabólica seja excedida, e efeitos tóxicos da monensina surjam em animais recebendo dieta com monensina ou em seres humanos consumindo tecidos desses animais (REIS et al.,2006).

Apesar de pesquisas mostrarem que não há motivos para esta preocupação excessiva, e não existirem pesquisas que comprovem o risco de contaminação em humanos. Gandra (2009) observou em seu experimento que ao adicionar níveis crescentes de monensina sódica ate 48mg/kg MS na dieta de vacas leiteiras em lactação, que os resíduos do aditivo detectado no leite estavam dentro dos limites estabelecidos pela FAO/WHO. Santos (2011) ao realizar um trabalho semelhante concluiu que a utilização de monensina sódica na dieta de vacas leiteiras no terço médio da lactação influencia o desempenho produtivo, e não resulta em resíduos no leite independentemente da dose utilizada (GOMES, 2009).

Mesmo com todos estes indicativos que o uso de monensina sódica não traz riscos com a contaminação, a União Europeia por uma medida de precaução através do Regulamento nº 1831/2003 determinou a proibição da utilização de antibiótico e coccidiostáticos como aditivos alimentares para bovinos. Sendo assim também houve proibição da exportação de carne de animais que foram suplementados com este tipo de aditivo. Visto isso houve a necessidade de se utilizar alternativas, para que a exportação da carne brasileira não fosse prejudicada.

A partir dai os pesquisadores têm concentrado esforços na busca de estratégias para evitar o uso de aditivos antibióticos na produção animal. Produtos naturais têm sido estudados para manipular a fermentação ruminal e aumentar a eficiência de produção (REIS et al.,2006).

2.3 Óleos funcionais e essenciais

Os Óleos Essenciais (OES), derivados de plantas utilizadas como condimentos, representam complexas misturas de substâncias naturais, tradicionalmente utilizadas para acentuar gosto ou aroma de alguns alimentos. Constituem-se de substâncias, cujos componentes incluem hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples, aldeídos, cetonas,

fenóis, ésteres, ácidos orgânicos fixos, em diferentes concentrações, em que um composto farmacologicamente ativo é majoritário (SIMÕES & SPITZER, 2000).

Com o desenvolvimento de novas técnicas de produção destes e o desenvolvimento da Química, ocorreu melhoria na obtenção de óleos essenciais e extrato de plantas (RATES, 2001). São descritas como alternativa para o uso de antibióticos promotores de crescimento na indústria de produção animal (CALSAMIGLIA et al. 2007). Em contrapartida óleos essenciais e funcionais variam quanto ao potencial de alterar a fermentação e população microbiana ruminal (PATRA; YU, 2012).

As ações dos óleos essenciais estão associados à membrana celular, como transporte de elétrons e gradiente de íons, translocação de proteínas, fosforilação e outras reações enzimo-dependentes. Como os óleos essenciais tem muitas substâncias químicas em sua composição sua ação microbiana não são exclusivo de uma substância e sim resultados da ação de vários compostos atuando simultaneamente. Por este motivo os mecanismos que conferem aos óleos essenciais suas propriedades antimicrobianas ainda não são bem compreendidos.

Os óleos essenciais são substâncias hidrofóbicas, o que lhes confere a capacidade de interferir com lipídeos da membrana celular e das mitocôndrias das bactérias. Isso ocorre quando o óleo encontra-se sob forma indissociada, o que favorecido pelo baixo pH nas condições ruminais. (CALSAMIGLIA et al., 2007) o fator do óleo ser hidrofóbico esta relacionado com o seu fator antimicrobiano. A interação do óleo com a membrana celular à deixa mais fluidas e permeáveis o que facilita a saída de íons e outros conteúdos citoplasmáticos. Esta perda dos fluidos citoplasmática faz com que a população microbiana em questão diminua no interior do rumem (ARAÚJO 2010).

Os óleos essenciais dos condimentos são misturas complexas de diferentes compostos, que contribuem para as propriedades antimicrobianas bem como dando ao alimento características de sabor a ruma especiais (PARRY, 1962; ARIDOGAN et al., 2002).

Bactérias Gram-positivas são mais susceptíveis a propriedade antibacteriana dos óleos funcionais do que as gram- negativas, pois estas possuem uma membrana externa que contém lipossacarídeos formando uma superfície hidrofílica, isso cria uma barreira à permeabilidade de substâncias hidrofóbicas, como óleos essenciais (DORMAN, DEANS, 2000; BURT, 2004).

Os óleos essenciais caracterizam-se por reduzir a taxa de determinação de aminoácidos, a taxa de produção de amônia e o número de bactérias hiperprodutoras de amônia, com aumento no escape ruminal de N para o intestino (FRANÇA, 2014).

Estudo in vitro de Calsamiglia et al. (2007), evidenciam que o uso de óleos essenciais acima de 500 mg/L tem provocado resultados prejudiciais. Porém, doses moderadas de 50 e 500 mg/L de alguns óleos essenciais e seus componentes ativos são capazes de modificar favoravelmente a fermentação ruminal, alterando o metabolismo de proteínas, perfil de ácidos graxos e a metanogênese.

O uso de óleos funcionais, mistura de óleo de mamona e líquido da casca de caju apresentou o potencial e substituição de ionóforos quando avaliados em bovinos confinados (PUREVJAV et al., 2013), e a concentração de AGCC (WATANABE et al. 2010).

De Wit et al. (1979) estudaram o efeito inibitório dos óleos essenciais de alho e cebola sobre produção da toxina botulínica, verificando que, na concentração de 1500 µg/g, há efeito na produção da toxina botulínica tipo A, mas não na produção das toxinas tipo B e E. Huhtanen (1980) avaliou a inibição do crescimento de *clostridium botulinum* pela ação de 33 extratos alcoólicos de condimentos, demonstrando que louro, pimenta- preta e noz-moscada foram agente antibotulínicos muito eficientes. Garg e Garg (1980) verificaram que, dentre os óleos de gerânio, gengibre, cedro e citronel, os dois primeiros foram os mais eficientes contra nove espécies de bactérias patogênicas.

Os estudos envolvendo extratos de plantas na alimentação animal aumentaram significativamente na Europa devido à busca de alternativas que substituam os antibióticos como melhoradores de desempenho. No Brasil, porém o assunto ainda é recente e o número de trabalhos é escasso (RIZZO, 2008).

Além da atividade antimicrobiana, outras propriedades biológicas dos extratos de plantas tendem a ser exploradas. Dentre elas, as vantagens, com o fato de que determinados óleos essenciais melhoram a digestibilidade devido a efeitos na atividade de enzimas digestivas ou na concentração de sucos gástricos. (SCHEUERMANN; CUNHA JUNIOR, 2005).

Torna-se evidente, portanto, a necessidade de estudos de produtos alternativos que possam substituir os antibióticos na alimentação animal, sem causar perdas produtivas e qualidade dos produtos finais. Os prováveis substitutos promotores de crescimento devem manter as ações benéficas de antibióticos e eliminar as indesejáveis, como a resistência bacteriana (LODDI et al.,2000)

Os extratos são provenientes de produtos vegetais isolados ou em misturas isentas de matérias estranhas, utilizados como temperos, flavorizantes e aromatizantes de alimentos. Os extratos vegetais normalmente são utilizados na dieta de animais na forma de óleoresina ou óleos essenciais. O óleoresina é obtido por percolação com a utilização de solventes e resulta numa substância líquida ou pastosa constituída por resina e substâncias químicas e orgânicas, que dão ao extrato coloração e viscosidades específicas. (RIZZO, 2008).

Estudos fitoquímicos recentes mostram que os óleos de copaíba verdadeiros são essencialmente de sesquiterpenos e diterpenos, sendo o ácido copálico e os sesquiterpenos β - cariofileno e α - copaeno e os principais componentes do óleo (BIAVATTI et al, 2006).

2.4 Óleo de Copaíba.

A copaíba (*Copaifera* sp) é a árvore produtora do óleo de copaíba. É uma árvore de grande porte sendo o seu nome relacionado com a língua indígena tupi “cupa-yba” que significa a árvore que tem depósito, se referindo ao óleo guardado no interior do seu tronco (BRAGGIO, 2003). A copaíba é uma árvore nativa da região tropical da América Latina podendo ser encontrada no México e no norte da Argentina e também da África Ocidental (VEIGA JR. & PINTO, 2002). Conhecido pelo seu poder fitoterápico, sua extração é feita através de furos no tronco da árvore até atingir o cerne (Amazonlink.org), processo semelhante à retirada de Látex na seringueira.

O óleo de copaíba tem grande importância econômica e cultural para povos indígena da Região Amazônica, segundo a revista online ALIMENTAÇÃO VIVA E SUSTETÁVEL, há registros do uso da copaíba na época de descobrimento do Brasil, onde missionários descreviam seu uso pelos indígenas e seu poder de cura.

A média de extração do óleo, por vez, de cada árvore, varia em torno de 0,3 a 3,0 litros, conforme a espécie e as condições em que está submetida, e algumas copaibeiras podem chegar a fornecer até 30 litros em uma única retirada. Não existem estudos definitivos sobre o período de tempo que é necessário para que uma árvore de copaíba possa recompor o óleo extraído. Não se retira óleo de todas as árvores, porém, não existem trabalhos precisos da média de árvores que realmente produzem o óleo, o que pode mudar segundo as características do solo, clima, espécie da *Copaifera* e época seca ou chuvosa (RIGAMONTE-AZEVEDO et al., 2004).

O óleo de copaíba é um líquido transparente de viscosidade variável e coloração variada do amarelo ao marrom. (Abreu, 2014). Seus óleos apresentam grande quantidade de sesquiterpenos (mais de 40) e diterpenos (28 no total) (VEIGA JR.; PINTO; PATITUCCI, 1997; VIEGA JR. & PINTO, 2002). O principal composto do óleo de copaíba é o transcariofileno (ARAUJO, 2010). Os sesquiterpenos possuem duas características fundamentais: têm baixa solubilidade em água e em soluções alcoólicas diluídas e têm propensão para oxidarem rapidamente. Segundo Maciel et al. (2002), suas atividades anti-inflamatórias são maiores quando comparada ao demais grupos presentes. Já um diterpeno que está presente em todas as variedades de óleo de copaíba comercializado é o ácido copálico. (VIEGA JR et al., 1997). E o transcariofileno é um constituinte largamente utilizado para dar aroma aos cosméticos e sabonetes, além de muitas outras preparações técnicas, sendo comprovada sua ação antimicrobiana e anti-inflamatória. (SILVA, 2010).

Mesmo sabendo de seu alto potencial como anti-inflamatório, antibacteriano, antifúngico e antisséptico, como citado anteriormente. Seus estudos para nutrição animal são recentes e escassos. O óleo de copaíba começou a ser estudado na nutrição animal com o início de pesquisas de óleos funcionais em substituição de aditivos nutricionais.

Em nutrição de aves quando comparado com promotores de crescimento o óleo de copaíba apresentou resultados satisfatórios. Souza (2010) ao comparar diferentes níveis do óleo com o promotor de crescimento virginiamicina para avaliar o desempenho produtivo de frangos de corte concluiu que a utilização da copaíba uma alternativa promissora como aditivo de crescimento. Na Universidade Federal de Goiás estão sendo realizados vários testes com a copaíba e outras plantas medicinais do cerrado na produção animal.

Ao avaliar o desempenho de cordeiros suplementados com o óleo de copaíba, Abreu (2014) conclui que a inclusão de até 1,5g/kgMS-1 de óleo de copaíba na dieta para cordeiros melhora a digestibilidade in vivo da matéria seca e a digestibilidade in vitro da fibra em detergente neutro, não afetando o consumo e a digestão dos nutrientes, nas duas formas de fornecimento.

Estes estudos indicam que o óleo de copaíba é uma alternativa viável na substituição dos ionóforos e que apesar das informações escassas sobre o assunto, os resultados obtidos mostram eficiência do bioproduto, na produção animal.

3. Materiais e Métodos.

O experimento foi realizado no setor de nutrição de ruminante e no Laboratório de Nutrição Animal nas dependências do setor de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados Localizada em Dourados, Mato Grosso do Sul, com latitude de 22^o14'S. Longitude de 54^o 49'W e altitude de 450m, entre os meses de outubro á dezembro de 2013, totalizando 60 dias experimentais.

Foram utilizado quatro novilhos da raça Jersey, castrados e com o peso corporal variando entre um peso médio de 212 ± 20 kg providos de cânula ruminal. Os animais foram mantidos em baias individuais de 2x4m (8m²) cobertas, contendo comedouro e bebedouros individuais. Os animais receberam água à vontade e foram mantidos em sistema de restrição alimentar, apenas recebendo o suficiente para sua manutenção. Sendo mantido um manejo higiênico/sanitário rigoroso das instalações. Todos os animais foram vacinados e receberam aplicação de anti-helmínticos antes do início do período experimental.

Foram avaliados quatro tratamentos: Tratamento 1: silagem de milho + suplemento proteico (CONT), Tratamento 2: Silagem de milho + suplemento proteico acrescido de monensina (MON), Tratamento 3: silagem de milho + suplemento proteico acrescido de óleo de copaíba (COP) e Tratamento 4: silagem de milho + suplemento proteico acrescido com monensina associada ao óleo de copaíba (MC). A composição do suplemento utilizado no experimento é apresentada na Tabela 1.

Tabela 1. Composição percentual dos suplementos utilizados.

Composição	Percentual (%MS)
Milho Grão	40,00
Farelo de Soja	9,00
Ureia	11,00
Mistura Mineral	40,00

O período experimental foi de 15 dias e os animais receberam diariamente 300 g de suplemento proteico com 38% de proteína bruta (PB). Todos os animais receberam silagem de milho como volumoso. A composição da silagem de milho é apresentada na Tabela 2.

Tabela 2. Composição bromatológica da silagem de milho utilizada

Ingredientes (%MS)	MS	PB	EE	FDN	FDA	MM
Silagem de milho	28,73	5,96	2,61	44,64	24,53	5,41

MS = Matéria seca, PB = proteína bruta, EE = extrato etéreo, FDN = fibra em detergente neutro, FDA = fibra em detergente ácido, MM = matéria mineral.

A quantidade de monensina sódica inclusa na ração segue a recomendação de Bretschneider, et al (2008), de 0,9 mg/kg PV. A quantidade usada de óleo de copaíba foi de 1,0 g/Kg de PV, (conforme utilizado por Lima 2015) sendo adicionado na forma de spray. Como o óleo de copaíba apresenta uma alta densidade foi diluído em álcool isopropílico em uma proporção de 0,5g de óleo de copaíba para 7 mL de álcool com pH neutro (ABREU, 2014), para uma melhor pulverização. O óleo de copaíba (Tabela 3) foi pulverizado na ração diariamente, no momento do fornecimento do tratamento.

Tabela 3- Caracterização química (sesquiterpenos, diterpenos e ácidos graxos) do óleo de copaíba utilizado no experimento.

Sesquiterpenos	%
β -cariophileno	9,78
β - bisaboleno	8,15
α - humuleno	8,08
β -Selineno	7,76
α -bisabolol	7,14
β -elemeno	6,19
γ - cadineno	5,98
α -cadinol	5,67
Diterpenos	%
Ácido Hardwíckico	5,78
Colavenol	3,03
Ácido Copaífero	2,99
Ácido Copaiferólico	2,65
Ácido Calavênico	2,34
Ácido Patagônico	2,22
Ácido Copálico	2,03
Ácidos Graxos	%
14:0	1,67
16:0	3,67
18:0	2,98

Fonte: Abreu, 2014.

Durante todo o período experimental os animais foram mantidos em uma dieta de nutrientes fixos, ou seja, era fornecida a mesma quantidade de concentrado e volumoso diariamente (Tabela 4).

Tabela 4. Consumo de matéria seca e de nutrientes em (g/dia) de novilhos mantidos em confinamento recebendo monensina e óleo de copaíba

<i>Nutriente</i>	<i>Silagem</i>	<i>Suplemento</i>	<i>Total</i>
MS	1359,75	261,99	1631,74
PB	320,25	114,00	434,25
FDN	1649,04	95,34	1744,38
EE	853,50	5,70	859,2
CHO Total	1085,49	72,93	1158,42
<i>MO</i>	<i>1324,40</i>	<i>189,90</i>	<i>1514,3</i>

O líquido ruminal era coletado no 13^o dia de período experimental em cinco horários distintos 0:00 (7:00h), 2:00 (9:00h), 4:00 (11:00h), 6:00 (13:00h) e 8:00 (15:00h) a coleta era realizada na interface líquido/sólido do ambiente ruminal. A leitura do pH era realizada logo após a coleta com auxílio de pHmetro digital portátil. Logo após a alíquota foi filtrada em camada tripla de gaze alocada em potes plásticos com tampa, para a determinação do nitrogênio amoniacal, foi separada uma alíquota de 40 mL, fixada com 1 ml de HCL 1:1, a -20°C para posterior análise no Laboratório de Nutrição Animal.

Ao final do experimento, as amostras de líquido ruminal foram descongeladas a temperatura ambiente, imediatamente centrifugado a 3000 rpm por 10 min., onde foi recolhido o sobrenadante para a quantificação dos teores de nitrogênio amoniacal pelo método Micro-Kjedhal, com destilação com hidróxido de potássio (KOH) 2 N e recebido em ácido bórico 2% e feita titulação com ácido clorídrico a 0,005 N segundo o a técnica de Campos et al., (2004).

O delineamento experimental utilizado foi quadrado latino 4x4, com arranjo parcelas subdivididas onde tomava-se o animal como parcela, e o tempo como subparcela. Os dados obtidos foram submetidos ao SAS (Version 9.1.3, SAS Institute, Cary, NC 2004), verificando a normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias pelo PROC UNIVARIATE. Os dados foram analisados, pelo PROC MIXED com mediadas repetidas no tempo de acordo com a seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + P_j + Q_l + G_m + Q_l(G_m) + e_{ijklm}$$

onde: Y_{ijk} = variável dependente, μ = média geral, A_i = efeito de animal ($j = 1$ a 4), P_j = efeito do período ($y = 1$ a 4), Q_l = efeito de copaíba ($l = 1$ a 2), G_m = efeito de monensina ($m = 1$ a 2), $Q_l(G_m)$ = efeito de interação e e_{ijklm} = erro. O efeito aleatório do modelo (random) foi caracterizado por: A_i e P_j . Os graus de liberdade foram corrigidos por DDFM = kr. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo

comando PROC MIXED do SAS, versão 9.0 (SAS, 2009), adotando-se nível de significância de 5%.

4. Resultados e discussões.

4.1 pH ruminal.

Não ocorreu efeito da adição do óleo de copaíba e nem de sua associação com a monensina sódica. A adição da monensina sódica proporcionou os maiores valores de pH (Tabela 5), o que pode interferir na fermentação.

Tabela 5. Valores médios de pH ruminal e seus respectivos coeficientes de variação dos tratamentos avaliados.

Item	Dieta				EPM ²	Valor de P		
	CONT	MON	COP	MC		MON	COP	Interação
pH	6.58	6.72	6.53	6.63	0,902	0.049	0.313	0.783

Os graus de liberdade foram corrigidos por DDFM= kr. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo comando PROC MIXED do SAS, versão 9.0 (SAS, 2009), adotando-se nível de significância de 5%.

Lima (2015) que trabalhou com diferentes níveis de óleo de copaíba para suplementação de bovinos a pasto encontrou valores de pH próximos a 6.8 o que esta mais próximo do efeito causado pela monensina. Gandra (2009) ao trabalhar com diferentes níveis de monensina sódica para vacas leiteiras confinadas, com silagem de milho como volumoso, encontrou valores médio de pH para as diferentes suplementações de 6.78. Os valores de pH encontrado para monensina sódica estão de acordo com a literatura que mostra que o uso da monensina controla o pH ruminal deixando-o próximo a neutralidade.

O valor médio de pH mostra o que já foi relatado na literatura, que animais com dietas ricas em volumoso tendem a apresentar pH ruminal próximos a neutralidade. Isto se da devido à produção de saliva, segundo Oliveira (2005) a produção de saliva é o que mais influencia no pH, ao ingerir maior quantidade de volumoso a produção de saliva é maior, mantendo o pH próximo a neutralidade.

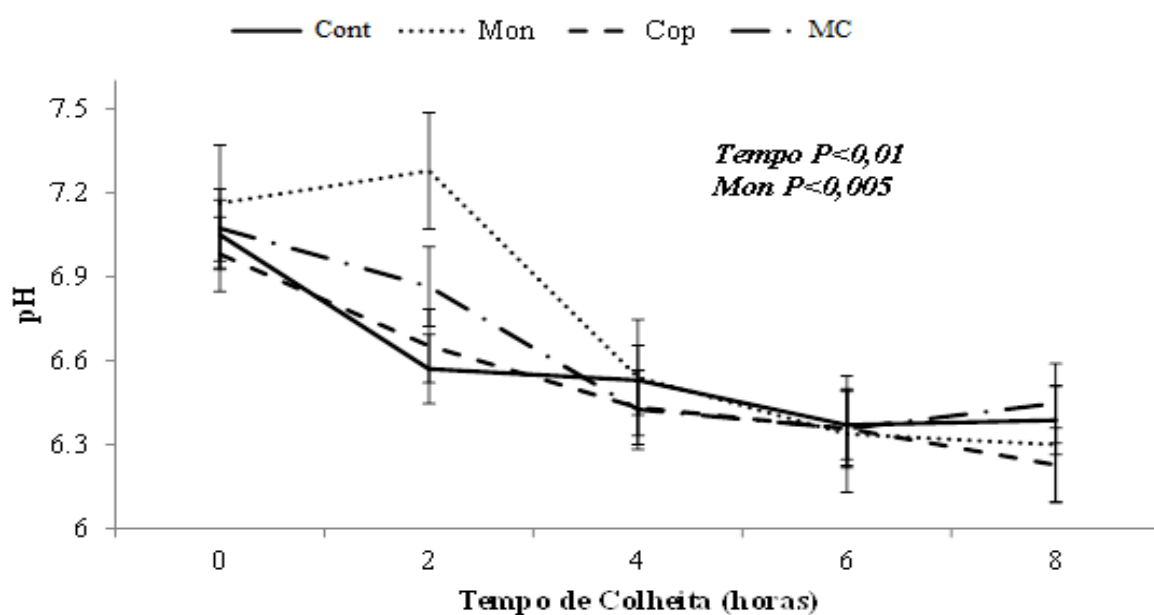
Ocorreu efeito do tempo de coleta para todos os tratamentos avaliados (Tabela 6, Figura 2), onde se nota a redução do pH após a suplementação dos animais, sendo a monensina sódica apresentando maior estabilidade de pH nas primeiras horas após o fornecimento do suplemento. Ortolan (2010) ao trabalhar com levedura, virginiamicina e bicarbonato de sódio em uma dieta composta por 30% de volumoso e 70% de concentrado para bovinos machos castrados da raça nelore, também observou queda do pH logo após a suplementação. Segundo ela está queda esta diretamente relacionada com a produção de saliva.

Tabela 6. Valores de pH do líquido ruminal em função do tempo de coleta de animais.

	Horas após a alimentação				
	0:00	2:00	4:00	6:00	8:00
CONT	7,05	6,57	6,53	6,37	6,37
MON	7,06	6,73	6,50	6,44	6,34
COP	6,98	6,65	6,43	6,35	6,22
MC	7,07	6,85	6,42	6,38	6,44

Mesmo ocorrendo queda no pH do líquido ruminal, os valores encontrados são superiores ao limite de 6,2, proposto por Russel & Wilson (1996), como sendo o limite mínimo para que não ocorra redução da síntese microbiana e inibição da degradação da FDN; valores inferiores a este acarretam redução significativa do processo de degradação do alimento.

Figura 2. Valores de pH ruminal em função do tempo de coleta.



4.2. Nitrogênio amoniacal (N-NH₃) do líquido ruminal.

Não ocorreu efeito da adição de monensina sódica (Tabela 7), mas para a adição de óleo de copaíba e da associação óleo de copaíba + monensina sódica, houve efeito.

Tabela 7. Valores médios de N-NH₃ e seus respectivos coeficientes de variação dos tratamentos avaliados.

Item	Dieta				EPM ²	Valor de P		
	CONT	MON	COP	MC		MON	COP	Interação
N-NH ₃	10.14	11.32	11.12	7.51	0,174	0.147	0.047	0.005

Os graus de liberdade foram corrigidos por DDFM= kr. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo comando PROC MIXED do SAS, versão 9.0 (SAS, 2009), adotando-se nível de significância de 5%.

Lima (2015) ao utilizar diferentes níveis do óleo de copaíba obteve valores semelhantes ao tratamento apenas de copaíba + suplemento. Zervoudakis et.al, (2002) também encontrou valores próximos a 10 mg/dL de N-NH₃ ao suplementar a pasto novilhas mestiças Holandês/Zebu com Sal mineral, suplementos à base de milho e farelo de glúten de milho e farelo de soja. Para o tratamento de monensina sódica em

associação ao óleo de copaíba, houve interação negativa, pois esta abaixo do valor de N-NH₃ adequado para o crescimento da microbiota ruminal que é de 10 mg/dL proposto por Detmann et al., (2007).

O valor para o máximo de consumo de matéria seca que é de 20mg/dL, não foi obtido neste experimento devido os animais estarem em restrição alimentar. Porém com exceção do último tratamento os valores são superiores ao mínimo exigido.

A proteína é o nutriente mais requerido pelos ruminantes, ocorrendo redução no consumo quando os níveis atingem menos de 7% de PB na MS, neste trabalho o volumoso apresentou valores inferiores a este limite, com isso as exigências mínimas dos microrganismos do rumem, não foram atendidas. A deficiência de nitrogênio limita o crescimento microbiano, reduz a digestibilidade da parede celular, o consumo e o desempenho animal.

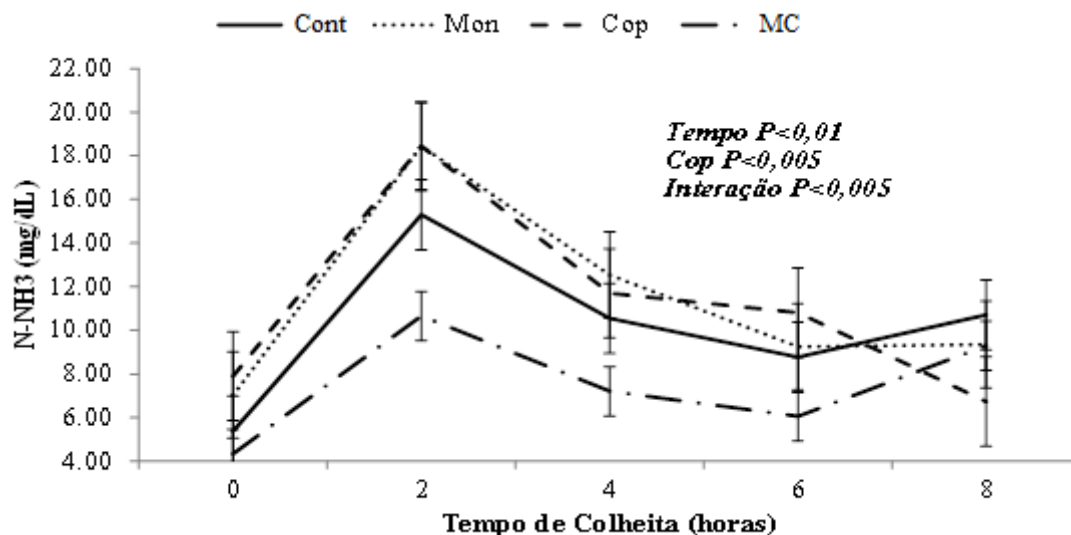
Ocorreu efeito de tempo de coleta para todos os tratamentos avaliados (Tabela 8), onde nota-se que a concentração N-NH₃, atinge o pico máximo após duas horas de suplementação. Os valores obtidos após suplementação podem ser decorrentes da solubilidade dos suplementos utilizados, principalmente pela utilização da ureia, na composição dos suplementos utilizados.

Tabela 8. Valores de N-NH₃ em função do tempo de coleta.

	Horas após a alimentação				
	0:00	2:00	4:00	6:00	8:00
CONT	5,38	15,3	10,55	8,78	10,7
MON	6,94	18,43	12,54	14,82	9,35
COP	8,70	18,44	11,70	10,80	6,74
MC	4,3	10,57	7,2	6,06	9,30

O efeito do tempo de coleta também ocorreu em demais trabalhos, tanto na utilização do óleo de copaíba, quanto apenas utilizando a monensina sódica, onde atinge o pico máximo de produção de N-NH₃ duas horas após o fornecimento da ração (Figura 3).

Figura 3. Valores de N-NH₃ em função do tempo de coleta de animais em restrição alimentar.



A copaíba apresentou o mesmo comportamento para os teores de NH₃ que o tratamento com monensina, o que não ocorreu com associação dos aditivos avaliados. Os Ionóforos diminuem a degradação de proteína ruminal, sem reduzir ou pouco afetando a proteólise. Resultando em uma menor produção de amônia e maior escape de peptídeos do rúmen.

A associação monensina com a copaíba apresentou os menores valores de NH₃ possivelmente potencializando os efeitos dos ionóforos com vantagens equivalentes ao escape da proteína da fermentação ruminal, sendo absorvidos pelas células como aminoácidos. Este efeito possui pequena ação sobre bovinos alimentados com grãos, mas para animais alimentados com forragens o efeito é maximizado. (STOCK & MADER,1999).

5. Conclusão.

O óleo de copaíba teve efeitos satisfatórios na substituição da monensina sódica, apresentando pH neutro e valores significativos de N-NH₃ no líquido Ruminal sua associação com mesma teve interação negativa. Mais trabalhos devem ser realizados utilizando este bioproduto na nutrição de ruminantes, para que hajam resultados mais

elucidados, e chegar-se a conclusão da viabilidade da substituição da monensina sódica pelo óleo de copaíba.

6. REFERÊNCIAS.

ABREU, F. S. S. Degradabilidade e digestibilidade de diferentes dietas para cordeiros confinados utilizando níveis crescentes de óleo de copaíba (copaifera SP.), **Dissertação-(mestrado)**, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS, 2014.

ARAUJO, R. C., Óleos essenciais de plantas brasileiras como manipuladores da fermentação ruminal in vitro. **Tese-(Doutorado)**, Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba-São Paulo, 2010.

ARIDOGAN, B.C; BAYDAR,H.; KAYA, S.; DEMIRCI, M.; OZBASAR, D.; MUMCU, E. Antimicrobial activity and chemical composition of some essential oils. **Archives Pharmacal Research**, Seoul, v. 25, n.6, p. 860-864, Dec. 2002.

BALBUENO, M. A. F., et al. Monensina sódica associada ao óleo de copaíba, para bovinos em sistema de restrição alimentar: nitrogênio amoniacal. **8º ENEP UFGD, 5º ENEPEX UEMS**, UFGD, Dourados-MS, 2014.

BIAVATTI, M.W.; DOSSIN, D.; DESCHAMPS, F.C.; LIMA, M.P. Análise de óleos-resinas de copaíba: contribuição para o seu controle de qualidade. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v.16, n.2, p.230-235, 2006

BRAGGIO,M. M. Plasta medicinais: noções básicas e aplicações na agropecuária. **Instituto Biológico**. V.65, n1/2, p 45-46, 2003.

BRETSCHNEIDER, G.; ELIZALDE, J.C; PEREZ, F.A. The effect of feeding antibiotic growth promoters on the performance of beef cattle consuming forage-based diets: a review. **Livestock Science**, v. 114, n. 2/3, Abril 2008, p. 135-149.

CALSAMIGLIA, S.; BUSQUET, M.; CARDOZO, P.W.; CASTILLEJOS, L.; FERRET, A. Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n.6, p. 2580- 2595, 2007.

CAMPOS, F. P.; NUSSIO, C. M. B.; NUSSIO, L. G. Métodos de análise de alimentos. **FEALQ**, 135p. 2004.

CARVALHO, D. C. O., et al. Composição Química e Energética de Amostras de Milho Submetidas a Diferentes Temperaturas de Secagem e Períodos de Armazenamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.2, p.358-364, 2004.

COSTA, L. B., et al., Extratos vegetais como alternativas aos antimicrobianos promotores de crescimento para leitões recém-desmamado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.3, p.589-595, 2007.

COTTON, W.R.; PIELKE, R.A. Human impacts on weather and climate. **Cambridge: Cambridge University Press**, 1995. 288p.

DE WIT, J.C. ET AL;. Effects of garlic and onion oil on toxin production by *C.botulinum* in meat slurry. **Journal food Protection**, Ames v. 42, p. 222-224, 1979.

DORMAN, H.J.D.; DEANS, S.G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oil. *Journal of Applied Microbiology*, v. 83, p. 308- 316, 2000.

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.

FERNANDO, S. Et al. Rumen micorbial population dynamics during adaption to highgrain diet **Appled and Environmental microbiology**. v. 76, p. 7482-7490, 2010.

FRANÇA, E.;P. Extratos de plantas como manipuladores de fermentação ruminal. **Trabalho de conclusão de curso**, Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO, 2014.

GALYEN, M.; RIVERA, J. Nuntritionally related disodres affecting feedlot cattle. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 83, p. 13-20, 2003.

GANDRA, J. R. Avaliação do uso de monensina sódica em rações de vacas leiteiras: desempenho produtivo e resíduos no leite. **Dissertação (mestrado)**, USP-Pirassununga, 2009.

GARCIA & COAN. Utilização de aditivos ionóforos na produção de bovinos em confinamento. Boletim informativo. **Coan Consultoria avançada em pecuária**.

GARG, S.C; GARG, D.C. In vitro antibacterial activity of some essential oils. **Parfum Kosmet**, Berlin, v.61, p. 212-220,1980.

GOAD, D.; GOAD, C.; NAGARAJA, T. Ruminant microbial and fermentative changes associated with experimentally induced subacute acidosis in steers. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 234-241, 1998.

GOMES. C.T. , Aditivos (monensina sódica, levedura e probióticos) para bovinos da raça Nelore terminados com concentrado rico em co-produtos. **Dissertação-(mestrado)** Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba- SP, 2009.

GOMES. I. P. O., Uso de ionóforos na alimentação de ruminantes. Professor do Dep. de Produção Animal e Alimentos, **CAV/UDESC** – Lages-SC .

HUHTANEN, C. N. Inhibition of Clostridium botulinum by Spice extracts and aliphatic alcohols. **Journal Food Protect**, Ames, N.3, V.43, p195-196, Mar.1980.

JOBLIN, K.N. Rumen acetogens and their potential to lower ruminant methane emissions. **Australian Journal of Agricultural Research**, 50:1307-1313, 1999.

JOHNSON K.A.; JOHNSON D.E. Methane emissions from Cattle. **Journal of Animal**

JORGE, J. R. V., et al. Substituição do Milho pela Farinha de Varredura (*Manihot esculenta*, Crantz) na Ração de Bezerros Holandeses. 2. Digestibilidade e Valor Energético. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.1, p.205-212, 2002.

LIMA, F. E. O. óleo de copaíba (*copaifera* sp.) como aditivo para bovinos suplementados à pasto. **Dissertação (mestrado)**, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS, 2015.

LIMA, J, A, M., et al. Monensina sódica associada ao óleo de copaíba, para bovinos em sistema de restrição alimentar: potencial hidrogeniônico. **8º EENEPE UFGD, 5º ENEPEX UEMS**, UFGD, Dourados-MS, 2014.

LODDI, M.M.; GONZALES, E.; TAKITA, T.S. et. al. Uso de probiótico e antibiótico sobre o desempenho, o rendimento e a qualidade de carcaça de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.4, p.1124-1131, 2000.

MACIEL, M. A. M., et al. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Quimica nova**, vol. 25, No. 3, 429-438, 2002.

MACIEL, M.A. et al. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v.25, n.3, p.429-38, 2002.

MAGLIOCCA, F. C., et al. Efeito da Niacina e da Monensina sódica no desempenho de novilhos em confinamento. *Pesq. Agropec.* v. 29, n.6, p. 983-988, Brasília-DF, 1994.

MARCUCCI, M. T., et al. EFEITO DO ADITIVO MONENSINA SÓDICA NO METABOLISMO RUMINAL DE BOVINOS DE CORTE. **REVISTA CIENTÍFICA DE MEDICINA VETERINÁRIA**-ISSN:1679-7353 Ano XII-
Número 22, 2014.

MARINO. C. T. , Efeito do preparado de anticorpos policlonais sobre o consumo alimentar, fermentação ruminal e digestibilidade in vivo de bovinos suplementados com três fontes energéticas. Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação. Universidade Estadual Paulista Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia Campus de Botucatu, Botucatu-SP, 2008.

McALLISTER, E.K. et al. Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. **Canadian Journal of Animal Science**, v.76, p.231-243, 1996.

McALLISTER, T.A. et al. Digestion of barley, maize, and wheat by selected species of ruminal bacteria. **Applied and environmental microbiology**, v. 56, p. 3146-3153, 1990.

McINTOSH, F.M. et al. Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism. **Applied and Environmental Microbiology**, v.69, p. 5011–5014, 2003.

MENDONÇA, A. T. Efeito dos óleos essenciais de condimentos sobre o crescimento de *staphylococcus aureus* em ricota cremosa. **Tese (Doutorado)**, Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 2004.

MOURA, L. V. Óleo de copaíba (copaifera sp.) na alimentação de cordeiros confinados. **Dissertação (mestrado)**, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS, 2015.

NAGARAJA, T.G et al. Effect of lasalocid, monensin and thiopeptin of lactate production from in vitro rumen fermentation of starch. **Canadian Journal of Animal Science**, v.66, p. 129- 139, 1986.

NAGARAJA, T.G., AVEY, T.B., BARTLEY, E.E. 1982. Effect of lasalocid, monensin or thiopeptin on lactic acidosis in cattle. **J. Anim. Sci.**, 54(3):649-658.

NAGARAJA, T.G.; NEWBOLD, C.J.; VAN NEVEL, C.J. et al. Manipulation of ruminal fermentation In: HOBSON, N.P. (Ed). **Rumen microbial ecosystem**. London: Blackie, 1997. p.523-631

NEWBOLD, C. J; CHAMBERLAIN, D.G.; WILLIAMS, A.G. The effects of defaunation on the metabolism of lactic acid in the rumen. **Journal of the science of food and Agriculture**, v. 37, p. 1083-1090, 1986.

NICODEMO, M.L.F., Uso de Aditivos na Dieta de Bovinos de Corte. Documento **EMBRAPA** gado de corte, ISSN 15 17-3747, Campo Grande- MS, 2001.

NUSSIO, C. M . B. Processamento de milho e suplementação com monensina para bezerros leiteiros pré e pós desmama precoce. **Tese (doutorado)**, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, USP, Piracicaba-SP, 2002.

OLIVEIRA, M. V. M., et al. Influência da Monensina no Consumo e na Fermentação Ruminal em Bovinos Recebendo Dietas com Teores Baixo e Alto de Proteína. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.5, p.1763-1774, 2005.

OLIVEIRA, M. V. M., et al. Parâmetros Ruminal, Sangüíneo e Urinário e Digestibilidade de Nutrientes em Novilhas Leiteiras Recebendo Diferentes Níveis de Monensina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.2143-2154, 2005.

ORTOLAN, J. E. Efeito de aditivos no metabolismo ruminal e parâmetros sanguíneos em bovinos. Tese (Doutorado), Faculdade de Zootecnia e Engenharia de alimentos, USP, Pirassununga, 2010.

OWENS, F. et al. acidosis in cattle: a review. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 275- 286, 1998.

PARRY. J.W. Spices: morfology, histology, chemetry. New York: Chemical, 1962. V2, 183p.

- PIERI, F. A., et al. Óleo de copaíba (*Copaifera* sp.): histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.11, n.4, p.465-472, Botucatu-SP, 2009.
- POTTER, E. L.; VANDUYN, R. L. ; COOLEY, C. O. Monensin toxicity in cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 58, n. 6, p. 1499-1511, 1984.
- REIS, D. C. evidências científicas da atividade antibacteriana de plantas medicinais contra *salmonella* spp. **Dissertação (mestrado)**, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro-RJ, 2013.
- REIS. R. A. , et al. ADITIVOS ALTERNATIVOS PARA A ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES. II Congresso Latino-Americano de Nutrição Animal (II CLANA) **Palestra Técnica Realização: CBNA - AMENA**– São Paulo, SP. Ingredientes destinados à Nutrição Animal. São Paulo- SP, 2006.
- RIGAMONTE-AZEVEDO, O.C.; WADT P.G.S.; WADT L.H.O. Copaíba: ecologia e produção de óleo-resina. **EMBRAPA, MAPA**, Rio Branco, AC, 2004. 28p.
- RIGOBELLO, E .C., et al. Efeito da utilização de próbióticos em dietas para bovinos nelore terminados em confinamento. **ARS VETERINARIA**, v.30, n.1, 057-062, Jaboticabal- SP, 2014.
- RÍSPOLI, T. B., et al. Protozoários ciliados do rúmen de bovinos e bubalinos alimentados com dietas suplementadas com monensina ou própolis. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.44, n.1, p.92-97, jan. 2009
- RIZZO, P.V. Misturas de extratos vegetais como alternativas ao uso de melhoradores de desempenho nas dietas de frango de corte. **Dissertação (mestrado)**- Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo. 69 p. 2008.
- RIZZO. P. V., et al. Extratos vegetais em dietas para frangos de corte. **R. Bras. Zootec.**, v.39, n.4, p.801-807, 2010.
- RUSSEL, J. B. et al. Enrichment and isolation of a ruminal bacterium with a very high specific activity of ammonia production. **Applied and Environmental Microbiology**, v.54, p.872-877, 1988.

RUSSEL, J.B.; STROBEL, H.J. Effects of ionophores on ruminal fermentation. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.55, n.1, p. 1-6, 1989.

RUSSELL, J.B. Bactéria. “Mechanisms of ionophore action in ruminal bacteria”. Symposium Sponsored by: Elanco Animal Health. **Scientific Update** “ On rumensin / Tylan/ Micotil for the professional feedlot consultant”, Amarillo– TX, august, p.E1-E19, 1996.

SALLES & LUCCI. Monensina para Bezerros Ruminantes em Crescimento Acelerado. 2. Digestibilidade e Parâmetros Ruminais. **Rev. bras. zootec.**,2000.

SALMAN, A. K. D., et al. Metodologias para avaliação de alimentos para ruminantes domésticos. **EMBRAPA Doc.** 136, Porto Velho-RO, 2010.

Santos, J.E.P. Distúrbios Metabólicos. In: BERCHIELLI, T.T., PIRES, A.V.; OLIVEIRA S.G. (Eds). **Nutrição de Rumimantes**. Jaboticabal, SP: funep, 2011. p. 439- 520.

SANTOS, M. C. B. Desempenho produtivo e resíduos no leite de vacas suplementadas com monensina sódica nas Rações. **Dissertação (mestrado)**, USP, Pirassununga-SP, 2011.

SANTURIO, D. F., et al Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos frente a amostras de Escherichia coli isoladas de aves e bovinos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.41, n.6 , p.1051-1056, junho, 2011.

SCHALCH Jr, F. J., et al. Efeito da suplementação com aditivos nutricionais sobre características de crescimento de bovinos da raça Nelore em Testes de Desempenho de Touros Jovens. **Anais da 49a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia** A produção animal no mundo em transformação Brasília – DF, 2012.

SCHEUERMANN, G.N.; CUNHA JUNIOR, A. A perspectiva para a utilização de produtos de origem vegetal como aditivos alternativos na alimentação de aves. Disponível em: www.engormix.com/perspectivas_a_utilização_produtos_p_artigos_16_AVG.htm> acesso em 19.02.2009.

Science, v.73, p.2483-2492, 1995.

SILVA, L. P. Ação antiespasmódica do transcariofileno e o bloqueio de canais para Ca^{2+} em músculo liso traqueal de rato. **Dissertação (mestrado)**, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza-CE, 2010.

SIMÕES, C.M.O.; SPITIZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre/ Florianópolis: **UFRGS/UFSC**, 2000. Cap. 18, 2000.

SOUZA, T. C. Estabilidade oxidativa da carne de frango pré-cozida contendo bioprodutos do cerrado. **Trabalho de Conclusão de Curso**, Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília-DF, 2013.

Souza. V. P., Uso de óleo essencial de copaíba sobre o desempenho produtivo de frangos de corte. Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal, Programa de Pós- Graduação em Ciência Animal, Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural. Universidade Federal do Pará. Belém-PA 2010.

STOCK, R. E MADER, T. Feed Additives for Beef Cattle. Cooperative Extension, Institute of Agriculture and Natural Resources, University of Nebraska-Lincoln. 1999. <http://www.fanr.unl.edu/POBS/beef/g761.htm>. 1999.

VEIGA JR., V.F; PINTO, A.C.; PATITUCCI, M.L. Controle de autenticidade de óleo de copaíba comerciais por cromatografia gasosa de alta resolução. **Química Nova**, São Paulo, v.20, n.6, p. 612-615, 1997.

VEIGA JR.,V.F.; PINTO , A.C . O gênero Copaifera L. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 2, p273-286, 2002.

VIEIRA, L. L. R. EXTRATO DE PLANTAS COMO ADITIVO NA NUTRIÇÃO DE RUMINANTES. **TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**, Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia-Go, 2014.

YAMAMOTO, S. M., et al. Fontes de Óleo Vegetal na Dieta de Cordeiros em Confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.2, p.703-710, 2005.

ZANINE. A. D., et al. Importância, uso, mecanismo de ação e retorno econômico dos ionóforos na nutrição de ruminantes. **Revista científica eletrônica de medicina**

veterinária - issn 1679-7353 publicação científica da faculdade de medicina veterinária e zootecnia de garça/famed ano iii, número, janeiro de 2006.

ZERVOUDAKIS, J. T., et al. Desempenho de Novilhas Mestiças e Parâmetros Ruminais em Novilhos, Suplementados durante o Período das Águas. **R. Bras. Zootec.**, v.31, n.2, p.1050-1058, 2002 (suplemento).

ZOTTI, C. A. & PAULINO, V. T. Metano na produção animal: Emissão e minimização de seu impacto. **Instituto de Zootecnia**, APTA/SA, 2009.