



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SAIS SOBRE OS  
PARÂMETROS RUMINAIS DE BOVINOS E CAPRINOS**

**Elizabete Cristina Batista da Costa**

Zootecnista

**AREIA-PB**

**FEVEREIRO-2016**

**ELIZABETE CRISTINA BATISTA DA COSTA**

**EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SAIS SOBRE OS  
PARÂMETROS RUMINAIS DE BOVINOS E CAPRINOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias - Areia, em cumprimento as exigências ao título de Mestre em Zootecnia, Área de concentração: Produção Animal.

**Comitê de Orientação:**

Prof. Dr. Gherman Garcia Leal de Araújo (CPTSA)- Orientador Principal

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Juliana Silva de Oliveira (CCA/UFPB)

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Lara Toledo Henriques (CCA/UFPB)

**AREIA - PB**  
**FEVEREIRO-2016**

Ficha Catalográfica Elaborada na Seção de Processos Técnicos da  
Biblioteca Setorial do CCA, UFPB, Campus II, Areia – PB.

C837e Costa, Elizabete Cristina Batista da.

Efeito de diferentes concentrações de sais sobre os parâmetros ruminais de  
bovinos e caprinos. / Elizabete Cristina Batista da Costa. - Areia: UFPB/CCA, 2016.  
xiv, 60 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Centro de Ciências Agrárias. Universidade  
Federal da Paraíba, Areia, 2016.

Bibliografia.

Orientador: Gherman Garcia Leal de Araújo.

Coorientadores: Juliana Silva de Oliveira e Lara Toledo Henrique.

1. Ruminantes 2. Produção animal 3. Água 4. Minerais 5. Microrganismos ruminais  
I. Araújo, Gherman Garcia Leal de II. Oliveira, Juliana Silva de III. Henrique, Lara  
Toledo IV. Título.

UFPB/CCA

CDU:636.2/.3 (043.3)



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**PARECER DE DEFESA DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO**

**TÍTULO: “Efeito de diferentes concentrações de sais sobre os parâmetros ruminais de bovinos e caprinos”,**

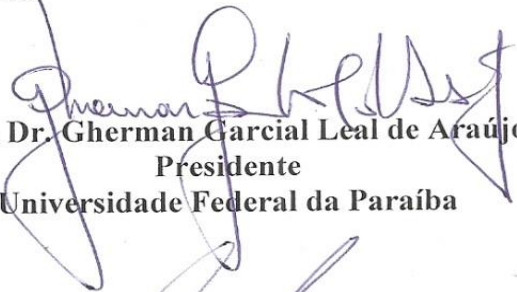
**AUTORA: Elizabete Cristina Batista da Costa**

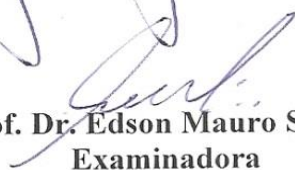
**ORIENTADOR: Prof. Dr. Gherman Garcia Leal de Araújo**

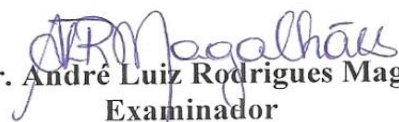
**J U L G A M E N T O**

**CONCEITO: APROVADA**

**EXAMINADORES:**

  
**Prof. Dr. Gherman Garcia Leal de Araújo**  
**Presidente**  
**Universidade Federal da Paraíba**

  
**Prof. Dr. Edson Mauro Santos**  
**Examinadora**  
**Universidade Estadual da Paraíba**

  
**Prof. Dr. André Luiz Rodrigues Magalhães**  
**Examinador**  
**Universidade Federal Rural de Pernambuco - UAG**

**Areia, 26 de fevereiro de 2016**

*Aos meus pais Antônio da Costa e Maria José*

*Meu irmão Israel*

*e meu noivo Rafael Macena.*

*Por todo amor e dedicação*

*Dedico*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a DEUS pelo dom da vida e sabedoria. Aos meus pais Antônio e Maria José por todo amor e carinho a mim dedicados. Ao meu irmão Israel responsável por alegrar todos os dias de minha vida. Ao meu noivo Rafael, por ter me compreendido e me ajudado durante toda a realização do meu experimento, aguentando todo o meu estresse e me cercando de carinho a estes todo o meu amor e admiração.

Ao meu orientador Dr. Gherman Garcia Leal de Araújo, pela sua orientação. A professora Juliana, por ter me orientado nesta longa jornada, idealizado todo o experimento e ajudando na realização do mesmo. A professora Lara pelas contribuições intelectuais nessa pesquisa. Aos professores; Edson Mauro, Severino Gonzaga, Ariosvaldo, Marcelo, Mailson e Walter Esfrain pela colaboração nesta pesquisa. A minha equipe de pesquisa, Victoria, Antônio (Rabosa) e Adelson. Aos meus amigos, Antônio Costa, Rogério, Marilania, Kletiane, Alessandra, Eriane, Vanessa, Vinicius, Ricardo, Paulo peças fundamentais para o desenvolvimento desta pesquisa.

A equipe do laboratório de Nutrição Animal, Marquinhos, Duelo, Antônio da Costa (Papai), Roberto, por ter nós ajudado durante as análises laboratoriais.

Ao funcionário de laboratório de Forragicultura Gilson. Minha turma do PPGZ os homogêneos sentirei saudades.

A Universidade Federal da Paraíba e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia pela oportunidade de realização do curso.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

As funcionárias do PPGZ Maria das Graças S. C. Medeiros, D. Carmem e Sr. Damião, por todos os momentos vividos e pela disposição em ajudar-nos sempre que precisamos. Ana Paula Maia e Ana Paula Gomes pelos ensinamentos diários das técnicas laboratoriais.

*Muito obrigada!!*

## SUMÁRIO

	Páginas
<i>Listas de Tabelas</i> .....	vii
<i>Lista de abreviaturas</i> .....	x
<i>Resumo</i> .....	xi
<i>Abstract</i> .....	xii
<b>Capítulo I</b> – Referencial Teórico.....	1
Fontes de água para o consumo animal.....	1
Qualidade da água no Nordeste.....	2
Qualidade da água e sua composição para ruminantes.....	3
Efeito da água salina sobre o desempenho de ruminantes.....	5
Sais e Homeostase microbiana.....	7
Os substratos e o crescimento microbiano.....	9
Referências Bibliográficas.....	11
<b>Capítulo II</b> – Efeito de diferentes concentrações de sais sobre os parâmetros ruminais de bovinos	20
Resumo.....	21
Abstract.....	22
Introdução.....	23
Material e Métodos.....	24
Resultados e Discussão.....	26
Conclusões.....	37
Referências Bibliográficas.....	38
<b>Capítulo III</b> – Efeito de diferentes concentrações de sais sobre os parâmetros ruminais de caprinos	40
Resumo.....	41
Abstract.....	42
Introdução.....	43
Material e Métodos.....	44
Resultados e Discussão.....	46
Conclusões.....	56
Considerações Finais.....	57
Referências Bibliográficas.....	58

## LISTA DE TABELAS

<b>CAPÍTULO 2</b>	Efeito de diferentes concentrações de sais sobre os parâmetros ruminais de bovinos.	20
<b>Tabela 1</b>	Valores de condutividade elétrica (dS/m) dos meios de cultura, em zero hora de incubação em diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl), cloreto de magnésio (MgCl <sub>2</sub> ), cloreto de cálcio (CaCl <sub>2</sub> ).	26
<b>Tabela 2</b>	Valores de condutividade elétrica (dS/m) dos meios de cultura, em 48 horas de incubação em diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl), cloreto de magnésio (MgCl <sub>2</sub> ), cloreto de cálcio (CaCl <sub>2</sub> ) no líquido ruminal.	27
<b>Tabela 3</b>	Valores de proteína microbiana (mg/dL), em 48 horas de incubação, em diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl), cloreto de magnésio (MgCl <sub>2</sub> ) e cloreto de cálcio (CaCl <sub>2</sub> ) no líquido ruminal.	28
<b>Tabela 4</b>	Valores de nitrogênio amoniacal (mM) em 48 horas de incubação, em diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl), cloreto de cálcio (CaCl <sub>2</sub> ) e cloreto de magnésio (MgCl <sub>2</sub> ) no líquido ruminal.	30
<b>Tabela 5</b>	Valores de acetato (mM), em 48 horas de incubação, em diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl) no líquido ruminal.	31
<b>Tabela 6</b>	Valores de acetato (mM), em 48 horas de incubação, em diferentes concentrações de cloreto de magnésio (MgCl <sub>2</sub> ) e cloreto de cálcio (CaCl <sub>2</sub> ) no líquido ruminal.	31
<b>Tabela 7</b>	Valores de propionato (mM), em 48 horas de incubação, em diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl) no líquido ruminal.	31
<b>Tabela 8</b>	Valores de propionato (mM), em 48 horas de incubação, em diferentes concentrações de cloreto de magnésio (MgCl <sub>2</sub> ) e cloreto de cálcio (CaCl <sub>2</sub> ) no líquido ruminal.	32
<b>Tabela 9</b>	Valores de butirato (mM), em 48 horas de incubação, em diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl) no	

	líquido ruminal.	33
<b>Tabela 10</b>	Valores de butirato (mM), em 48 horas de incubação, em diferentes concentrações de cloreto de magnésio ( $MgCl_2$ ) no líquido ruminal.	33
<b>Tabela 11</b>	Valores de butirato (mM), em 48 horas de incubação, em diferentes concentrações de cloreto de cálcio ( $CaCl_2$ ) no líquido ruminal.	34
<b>Tabela 12</b>	Valores de pH, em 48 horas de incubação, em diferentes concentrações de cloreto de sódio ( $NaCl$ ), cloreto de magnésio ( $MgCl_2$ ) e cloreto de cálcio ( $CaCl_2$ ) no líquido ruminal.	34
<b>CAPÍTULO 3</b>	Efeito de diferentes concentrações de sais sobre os parâmetros ruminais de caprinos.	40
<b>Tabela 1</b>	Valores de condutividade elétrica (dS/m) dos meios de cultura, em zero hora de incubação em diferentes concentrações de cloreto de sódio ( $NaCl$ ), cloreto de magnésio ( $MgCl_2$ ), cloreto de cálcio ( $CaCl_2$ ).	46
<b>Tabela 2</b>	Valores de condutividade elétrica (dS/m) dos meios de cultura, em 48 horas de incubação em diferentes concentrações de cloreto de sódio ( $NaCl$ ), cloreto de magnésio ( $MgCl_2$ ), cloreto de cálcio ( $CaCl_2$ ) no líquido ruminal.	47
<b>Tabela 3</b>	Valores de proteína microbiana (mg/dL), em 48 horas de incubação, em diferentes concentrações de cloreto de sódio ( $NaCl$ ), cloreto de magnésio ( $MgCl_2$ ) e cloreto de cálcio ( $CaCl_2$ ) no líquido ruminal.	48
<b>Tabela 4</b>	Valores de nitrogênio amoniacal (mM) em 48 horas de incubação, em diferentes concentrações de cloreto de sódio ( $NaCl$ ), cloreto de cálcio ( $CaCl_2$ ) e cloreto de magnésio ( $MgCl_2$ ) no líquido ruminal.	50
<b>Tabela 5</b>	Valores de acetato (mM), em 48 horas de incubação, em diferentes concentrações de cloreto de sódio ( $NaCl$ ), cloreto de magnésio ( $MgCl_2$ ) e cloreto de cálcio ( $CaCl_2$ ) no líquido ruminal.	51

<b>Tabela 6</b>	Valores de propionato (mM), em 48 horas de incubação, em diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl), cloreto de magnésio (MgCl <sub>2</sub> ) e cloreto de cálcio (CaCl <sub>2</sub> ) no líquido ruminal.	52
<b>Tabela 7</b>	Valores de butirato (mM), em 48 horas de incubação, em diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl), cloreto de magnésio (MgCl <sub>2</sub> ) e cloreto de cálcio (CaCl <sub>2</sub> ) no líquido ruminal.	53
<b>Tabela 8</b>	Valores de pH, em 48 horas de incubação, em diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl), cloreto de magnésio (MgCl <sub>2</sub> ) e cloreto de cálcio (CaCl <sub>2</sub> ) no líquido ruminal.	54

**LISTA DE ABREVIATURAS**

<b>AGV</b>	Ácido graxo volátil
<b>ATP</b>	Adenosina trifosfato
<b>CaCl<sub>2</sub></b>	Cloreto de cálcio
<b>CE</b>	Condutividade elétrica
<b>N-NH<sub>3</sub></b>	Nitrogênio amoniacal
<b>NaCl</b>	Cloreto de sódio
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	Cloreto de magnésio
<b>mg/dL</b>	Miligrama por decilitro mg/dL
<b>SDT</b>	Sólidos dissolvidos totais

## RESUMO GERAL

Objetivou-se avaliar o efeito de diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl), cloreto de magnésio (MgCl<sub>2</sub>) e cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>) sobre a condutividade elétrica, fermentação e crescimento de microrganismos celulolíticos, glicolíticos e amilolíticos advindas de líquido ruminal de bovinos e caprinos. Foram utilizados líquidos ruminais de um bovino e um caprino, fistulados no rúmen para obtenção do inóculo. Avaliaram-se seis níveis de NaCl, MgCl<sub>2</sub> e CaCl<sub>2</sub> (0 mg/dL, 100 mg/dL, 200 mg/dL, 400 mg/dL, 800 mg/dL e 1600 mg/dL) e três substratos (amido, celulose e glicose), em delineamento inteiramente casualizado, no esquema fatorial 6 x 3 para determinação dos parâmetros de crescimento microbiano. Nos experimentos com bovinos, obteve-se efeito quadrático dos níveis de CaCl<sub>2</sub> sobre a concentração de proteína microbiana nos meios com amido, e efeito quadrático para o MgCl<sub>2</sub> quando no meio com celulose. Ocorreu efeito quadrático dos níveis de NaCl, MgCl<sub>2</sub> e CaCl<sub>2</sub> sobre a concentração de proteína microbiana nos meios com glicose. A concentração de N-NH<sub>3</sub> cresceu linearmente com o aumento dos níveis de NaCl e CaCl<sub>2</sub>, no meio contendo celulose. Já as concentrações de acetato decresceram linearmente em função do aumento do NaCl nos meios contendo amido, celulose e glicose. Obteve-se efeito quadrático para o substrato amido e celulose sobre as concentrações de propionato nos níveis de NaCl. Nos experimentos com caprino, as concentrações de proteína microbiana aumentaram linearmente com o aumento dos níveis do NaCl, MgCl<sub>2</sub> e CaCl<sub>2</sub>, quando o substrato foi o amido. Ocorreu efeito quadrático do CaCl<sub>2</sub> sobre a concentração de proteína microbiana quando o substrato foi a celulose. Contudo, nos níveis de CaCl<sub>2</sub> sobre a concentração de N-NH<sub>3</sub> existiu efeito linear crescente para amido. Em relação ao MgCl<sub>2</sub>, possuiu efeito linear sobre a concentração de N-NH<sub>3</sub> quando o substrato foi a celulose. Observou-se efeito quadrático dos níveis de NaCl no meio contendo amido sobre a concentração de acetato. Houve efeito linear decrescente dos níveis de CaCl<sub>2</sub> no meio contendo celulose sobre a concentração de acetato. Obteve-se efeito linear decrescente dos níveis de NaCl e MgCl<sub>2</sub> no meio contendo amido sobre a concentração de propionato. Obteve-se efeito linear decrescente nos níveis de NaCl, MgCl<sub>2</sub> e CaCl<sub>2</sub> no meio contendo amido sobre a concentração de butirato, e ocorreu efeito linear decrescente do MgCl<sub>2</sub> no meio contendo glicose. Concluindo-se que os microrganismos advindos de bovino na presença do sal NaCl e do CaCl<sub>2</sub> até 1600 mg/dL ou condutividade elétrica de 34,81dS/m e de 22,95dS/m não afetam a eficiência microbiana

das bactérias fermentadoras de amido, celulose e glicose. O  $MgCl_2$  também não afeta a eficiência microbiana das bactérias fermentadoras de celulose e glicose ao nível de até 1600 mg/dL ou condutividade elétrica de 24,11dS/m. Entretanto, a eficiência microbiana das bactérias fermentadoras de amido é inibida a níveis acima de 800 mg/dL ou com condutividade 18,22dS/m. Entretanto, os microrganismos advindos de caprino na constituição do sal NaCl e do  $CaCl_2$  até 1600 mg/dL ou condutividade elétrica de 34,81dS/m e de 22,95dS/m não afetam a eficiência microbiana das bactérias fermentadoras de amido, celulose e glicose. O  $MgCl_2$  também não afeta a eficiência microbiana das bactérias fermentadoras de celulose e glicose ao nível de até 1600 mg/dL ou condutividade elétrica de 24,11dS/m. Entretanto, a eficiência microbiana das bactérias fermentadoras de amido é inibida a níveis acima de 800 mg/dL ou com condutividade 18,22dS/m.

**Palavras chave:** Água, minerais, microrganismos ruminais, ruminantes

## ABSTRACT

The objective was to evaluate the effect of sodium chloride (NaCl), magnesium chloride (MgCl<sub>2</sub>) and calcium chloride (CaCl<sub>2</sub>) different concentrations on the electrical conductivity, growth and fermentation of cellulolytic, glycolytic and amylolytic bacterias, resulting from cattle and goats. Were used cattle and goats rumen liquid, from rumen cannulated animals to obtain the inoculum. Was evaluated six levels of NaCl, MgCl<sub>2</sub> and CaCl<sub>2</sub> (0 mg/dL, 100 mg/dL, 200 mg/dL, 400 mg/dL, 800 mg/dL and 1600 mg/dL) and three substrates (starch, cellulose and glucose) in a completely randomized delineation in a factorial 6 x 3 to microbial growth parameters determination. In the cattle experiments, was obtained a CaCl<sub>2</sub> quadratic effect levels on microbial protein concentration in the starch medium, and an MgCl<sub>2</sub> quadratic effect in the cellulose medium. Occurred a quadratic levels effect of NaCl, MgCl<sub>2</sub> and CaCl<sub>2</sub> on the microbial protein concentration in glucose medium. While acetate concentrations decreased linearly with the increase of NaCl in starch, cellulose and glucose containing medium. Was obtained a quadratic effect to starch and cellulose medium, above the propionate concentrations in NaCl levels. However in goat experiments the microbial protein concentrations increased linearly with NaCl, MgCl<sub>2</sub> and CaCl<sub>2</sub> increasing levels, in starch medium. Occurred a quadratic effect of CaCl<sub>2</sub> concentration on the microbial protein in cellulose medium . However, at CaCl<sub>2</sub> levels on N-NH<sub>3</sub> concentration existed a linear increasing effect for starch. Regarding MgCl<sub>2</sub>, happened a linear effect on the NH<sub>3</sub> concentration in cellulose medium. Was observed a quadratic effect levels of NaCl in starch containing medium on the acetate concentration. There was a decreasing linear effect of CaCl<sub>2</sub> levels in cellulose containing medium on the acetate concentration. Was obtained a NaCl and MgCl<sub>2</sub> linear effect levels in starch containing medium on propionate concentration. Was obtained a NaCl, MgCl<sub>2</sub> and CaCl<sub>2</sub> linear decrease levels in starch containing medium on the butyrate concentration and was MgCl<sub>2</sub> declining linear effect on glucose containing medium. Concluding that the bovine bacteria in NaCl presence above of 400 mg/dL reduced the cellulose fermenting bacteria efficiency. While glucose fermenting bacteria are tolerant to NaCl concentrations supporting levels of up to 800 mg/dL and the amylolytic bacteria tolerate levels up to 1600 mg/dL. However, the MgCl<sub>2</sub> salt at levels of 1600 mg/dL does not affect the efficiency of starch and glucose fermenting bacteria, on the other hand, the cellulose fermentative bacteria have shown to be less tolerant to levels above 400 mg/dL.

However, the  $\text{CaCl}_2$  at the level of 1600 mg/dL does not affect the efficiency of starch, cellulose and glucose microbial fermenting bacteria. However, the goats bacteria in the constitution of NaCl salt to 1600 mg/dL does not affect the efficiency of starch, cellulose and glucose microbial fermenting bacteria. At the same way  $\text{MgCl}_2$  did not affected the cellulose and glucose fermenting microbial efficiency at the level up to 1600 mg/dL. However, the microbial efficiency of starch fermenting bacteria is inhibited at levels above 800 mg /dL. The  $\text{CaCl}_2$  up to 1600 mg /dL does not affect the microbial efficiency of starch, cellulose and glucose fermenting bacteria.

**Keywords:** Mineral, rumen microorganisms, ruminants, water

## CAPÍTULO I

---

### **Referencial Teórico**

**Efeito de diferentes concentrações de sais de sais sobre os parâmetros  
ruminais de bovinos e caprinos**

## 1. REFERENCIAL TEÓRICO

### 1.1 Fontes de água para o consumo animal

A água é um recurso natural fundamental para produção animal, devendo estar disponível em quantidade e qualidade. Ela deve ser limpa, inodora, incolor, insípida e abundante. Ela é utilizada na dessedentação dos animais (PEREIRA et. al., 2009). Em animais de climas quentes, tem efeito direto no conforto térmico pelo resfriamento, desde que a água se encontre em temperatura inferior à do corpo, e serve como veículo primário de transferência de calor através da evaporação cutânea e respiratória (BEEDE et. al., 1986).

A água pode ser obtida pelos animais a partir de três fontes: a água de beber, a água contida nos alimentos e a água metabólica da oxidação de reservas energéticas (ESMINGER et. al., 1990). A água a ser fornecida aos animais pode ter origem de fontes naturais (represas, lagos e córregos) ou artificiais (bebedouros). Em ambos os casos deve-se evitar a presença de agentes contaminantes químicos (sulfatos, amônia, nitritos, nitratos e restos de defensivos) ou microbiológicos (*coliformes estreptococos fecais*, *salmonelas* e outros) (NCR, 2001; ARAÚJO et al., 2011).

A ingestão de água pelo animal pode estar relacionada a diferentes variáveis tais como: massa corporal, consumo de matéria seca, gasto de energia, efeitos das estações do ano (temperatura, radiação e umidade), efeito da privação (disponibilidade e espaço para o acesso nas fontes), da qualidade da água, das espécies, das raças e dos diferentes estágios fisiológicos do animal: crescimento, gestação e lactação (NRC, 2007).

A baixa ingestão de água aumenta os valores de hematócrito e a concentração de ureia no sangue, reduz a taxa respiratória e a contratilidade ruminal, acarretando diminuição no peso corporal e na produção de leite e pode ocasionar agressividade dos animais em torno de bebedouros (RIBEIRO & BENEDETTI, 2010). Embora os ruminantes possam tolerar água de pior qualidade, algumas substâncias presentes na água, em determinados níveis, podem ser fatais (RIBEIRO & BENEDETTI, 2010).

A composição corporal de água em um animal adulto é em torno de 55 a 70%, nos animais jovens entre 80 a 85% e até 90% o peso corporal dos animais recém-nascidos. A restrição de água afeta o desempenho animal de forma mais extremo do que quaisquer outros nutrientes (BOYLES, 1988). Portanto, a ingestão de água é mais importante do que o consumo de alimentos (FARIES, et. al., 1997).

Os ruminantes necessitam do fornecimento constante de água de boa qualidade e abundante. Para manter o bom funcionamento da fermentação e do metabolismo

ruminal, assim como; absorção e digestão de alimentos, controle sanguíneo, e as demandas dos tecidos corporais (TAVARES, et.al.2011).

Dos animais domésticos, os caprinos são os mais eficientes no uso da água. São capazes de conservar água pela redução das perdas urinárias e fecais, como descrito por Aganga (1992), e também o consumo de água nos alimentos é alto, dado a seleção e ingestão de brotos (SILANIKOVE, 2000).

## 1.2 Qualidade da água no Nordeste

A região Nordeste é constituída por nove estados: Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe e Bahia, ocupando uma área correspondente a 18,3% da área total do País. A área ocupada por essa região nordestina é de 1.219.000 km<sup>2</sup>, equivale a aproximadamente um quinto da superfície total do Brasil e desta, 980.133 km<sup>2</sup> é ocupada pela região semiárida (CIRILO, 2007; MALVEZZI, 2007; IBGE, 2009).

A região Nordeste está situada geograficamente na porção central próxima à linha do Equador e localizada sob a influência de diferentes massas de ar, condicionando o predomínio do clima semiárido, por conta das altas temperaturas e maior número de horas de sol por ano, que implica em maior evapotranspiração (SUASSUNA, 2007).

No período de seca, quando são mais elevadas as temperaturas e a evapotranspiração da região, os açudes, rios, barreiros e poços têm seus níveis de concentração de sais mais elevados, que contribuem para a redução do volume de água disponível e para a concentração de solutos, principalmente sais, tornando a água de baixa qualidade. Nesta estação os animais exigem maior demanda de água, a fim de atender às suas necessidades fisiológicas Silva Junior et. al. (1999). O fornecimento de água de má qualidade pode trazer riscos à saúde dos animais, com sérios reflexos econômicos.

Um dos fatores responsáveis pela salinização dos solos do nordeste brasileiro é o processo de concentração por evaporação, observando-se relação direta entre o índice de aridez e o grau de salinização das águas. Portanto, a concentração total de sais varia de acordo com o zoneamento árido, observando-se ainda que o aumento da concentração seja acompanhado pelo aumento de Cl<sup>-</sup>, Na<sup>+</sup> e Mg<sup>2+</sup> (CRUZ & MELO, 1974).

Os sais mais predominantes no solo e na água são: o cloreto de sódio (NaCl), o sulfato de magnésio (MgSO<sub>4</sub>), o sulfato de sódio (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), o cloreto de magnésio

( $MgCl_2$ ) e o carbonato de sódio ( $Na_2CO_3$ ). Fatores como o pH e a temperatura podem afetar a solubilidade destes sais, índices importante no estudo sobre qualidade das águas (ULZURRUN, 2000).

Silva Junior et. al. (1999), analisando águas provenientes de diversas fontes nos Estados da Paraíba, Ceará e Rio Grande do Norte, concluíram que as águas do escudo Cristalino do nordeste brasileiro possuem baixos níveis de sulfatos, carbonatos e potássio, além de constatarem a predominância de águas cloretadas sódicas independentes do nível de salinidade.

### **1.3 Qualidade da água e sua composição para ruminantes**

Qualidade da água é de suma importância para o animal, não apenas pelo fato da ingestão de alimentos, mas também para a saúde deste, porque água pode ser um veículo importante de contaminantes físicos, químicos e biológicos, que devem ser evitados devido aos danos que causam aos animais. Além de colocar em risco a segurança dos produtos de origem animal que servem de alimento aos humanos.

A portaria nº 518 de 25 de março de 2004 do ministério da saúde define água potável para o consumo humano cujos parâmetros microbiológicos, físicos, químicos e radioativos atendam ao padrão de potabilidade e que não ofereça riscos à saúde, aspecto importante para a produção animal.

Portanto, a água de qualidade apropriada além de ser palatável e aceitável, deve estar também em concordância com requisitos relacionados com a sua utilização para produção animal de forma a assegurar a sua distribuição apropriada. A água fornecida aos animais no Semiárido Brasileiro é advinda de barragens, açudes, rios, barreiros e poços.

A qualidade da água pode ser avaliada por suas características físicas, químicas e biológicas. Do ponto de vista microbiológico a água pode conter vários microrganismos contaminantes como bactérias (*Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* e *Salmonella* - 1700 spp.), vírus (adenovírus – 31 tipos, enterovírus – 71 tipos e rotavírus), protozoários (*Balantidium coli*, *Entamoeba histolytica* e *Giardia lamblia*), além de helmintos (*Ancylostoma duodenale*, *Ascaris lumbricoides*, *Dracunculus medinensis*) de acordo com Araújo et.al., (2011). Esses seres utilizam a água como veículo e, quando ingeridos e alojados no organismo animal, podem causar graves danos ao desempenho deste,

algumas das principais enfermidades dos animais podem ser conduzida pela água, a exemplos da leptospirose, tuberculose, febre aftosa e da brucelose.

Um fator determinante como parâmetro de análise da água é o seu aspecto físico-químico. Na avaliação deste critério devem ser levados em consideração: os sólidos dissolvidos totais (SDT), pH, a presença de nitrato, nitrito entre outros minerais.

À medida que o excesso de sólidos (SDT) aumenta, a qualidade da água piora, causando rejeição na ingestão de água e perda do desempenho zootécnico. Acarretando acúmulo de minerais nos órgãos ou até mesmo causando complicações renais.

A salinidade de modo geral é o acúmulo de sais na água ou concentração total de minerais dissolvidos nela, e sendo expressa como a concentração total de sólidos (minerais) dissolvidos (SDT) em unidades de miligramas por litro (mg/L) ou em partes por milhão (ppm), (CARVALHO, 2012). O teor de sais na água pode ser estimado através da condutividade elétrica, sendo utilizadas as unidades de microMHO ( $\mu$ MHO), 18 micro Siemens por centímetro ( $\mu$ S/cm) ou deciSiemens por metro (dS/m) segundo Pedrosa & Caetano (2002).

O Conselho Nacional de Meio Ambiente – CONAMA, por meio da Resolução Nº. 357, de 17 de março de 2005, dispõem sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, podendo classificar a água a partir do seu teor de sal como: doce (água com salinidade igual ou inferior a 0,50%); salobra (água com salinidade superior a 0,5% e inferior a 30%) e salina (água com salinidade igual ou superior a 30 %).

Os animais também podem afetar a qualidade da água com a contaminação urinária e fecal. Os dejetos dos animais podem elevar as concentrações de nitrato e outros poluentes químicos, além de aumentar a quantidade de microrganismos patogênicos e helmintos (ARAÚJO et.al., 2011.).

Todos esses patógenos afetam negativamente o desempenho dos animais por causa da patologia que provocam devido à redução do apetite, sintoma comum nos animais doentes, com conseqüente redução na ingestão de alimentos e perda de peso. Além disso, os animais ainda sofrem com o estresse provocado com o manejo sanitário, agravando ainda mais a situação.

Altos níveis de nitrato ( $\text{NO}_3$  acima de 100 ppm) podem diminuir a capacidade de transporte de oxigênio do sangue causando problemas reprodutivos. Altos teores de nitrito ( $\text{NO}_2$  acima de 4 ppm) podem ocasionar morte de vacas (RIBEIRO et. al., 2012).

O pH expressa a concentração hidrogeniônica de uma solução aquosa, indicando a sua acidez, neutralidade ou alcalinidade. A água designada ao abeberamento dos animais deve apresentar um pH entre 6,5 e 9. Se o valor de pH for menor a 6,5, indicando uma água intensamente ácida, pode acarretar situações de acidose e redução na ingestão dos alimentos. Podendo, acarretar danos das canalizações e dos equipamentos de fornecimento. Água fortemente alcalina, com valores de pH superiores a 9, pode provocar distúrbios digestivos e diarreias, diminuição da eficiência de conversão alimentar e redução da ingestão de alimentos (GOVERNO DE PORTUGAL).

#### **1.4 Efeito da água salina sobre o desempenho de ruminantes**

A salinidade refere-se à quantidade total de sais minerais dissolvidos na água, sendo que a tolerância dos animais à salinidade varia de acordo com a espécie, a idade, a necessidade de água e as condições fisiológicas.

Os principais minerais ou sólidos dissolvidos ocorrem na forma iônica, sendo eles: magnésio, cálcio, bicarbonato, íons de sulfato e o sódio, que normalmente formam 90% da concentração de sólidos totais presentes na água, sendo este último um dos mais potentes, quando presente em altas concentrações na água ingerida pelos animais, podendo causar diarreia, desempenhando um papel laxativo (ALBUQUERQUE, 2012).

Runyan e Bader (1994) relataram que águas com condutividade elétrica (teores de sais) entre 5,0 e 8,0 dS/m são adequadas para o fornecimento aos ruminantes, entre 8,0 e 11,0 dS/m devem ter seu fornecimento limitado aos ruminantes, incluindo os caprinos e bovinos. Já águas com condutividade superior a 11,0dS/m são consideradas como de alto risco para animais jovens, gestantes e lactantes, enquanto que acima de 16,0 dS/m não tem condições de uso para as espécies animais. Animais de aptidão leiteira são mais resistentes ao excesso de sal que os animais de corte. Se a salinidade for apropriada, pode ser uma boa contribuição ao consumo de minerais (CERVONI, 2006).

Bagley et. al. (1997), relataram que águas com teores de 1.000 ppm de SDT são considerados baixos, podendo ser ingerida por quaisquer ruminante. Já, em concentrações de SDT na água que variam de 1.000 a 4.999 ppm são ideais para ingestão apenas de ovinos e bovinos, entretanto podem ocasionar diarreias temporárias ou ter má aceitabilidade pelos animais não adaptados, porém não irá prejudicar o desempenho produtivo dos mesmos. Concentrações que variam entre 5.000 a 6.999 ppm

de SDT na água, também podem ser fornecida aos ovinos e bovinos, porém animais gestantes ou lactantes devem ter o consumo evitado.

Entre os elementos químicos, o magnésio (Mg), quando presente em excesso na água, pode causar distúrbios fisiológicos, especialmente em associação com elevadas concentrações de sais (superior a 10,0 dS/m para caprinos/ovinos) e 6,6dS/m para bovino.

Pierce (1957), analisando quatro níveis de NaCl (0; 1,0; 1,5 e 2,0%) na água de beber para ovinos, o autor relatou que até 1% de NaCl na água não interferiu o consumo de alimentos ou o desempenho produtivo. Já no nível com 2% ocorreu redução no consumo alimentar e diminuição no ganho de peso dos ovinos.

Em resultado idêntico analisado por Wilson (1966), fornecendo diferentes concentrações de sais na alimentação e na água para ovinos, verificou quem em níveis acima de 2% ocorreu um aumento na ingestão de água, em virtude do maior volume necessário para a eliminação dos sais. Acarretando, uma redução na ingestão de alimentos ocasionada pelo aumento das concentrações de sais contidos nas rações ou na água.

Segundo Valtorta et. al. (2008), em estudo com vacas de alta produção fornecendo água com três concentrações de SDT- 1.000, 5.000 e 10.000 mg/L, foi observado um aumento na ingestão de água com elevadas concentrações de SDT, e sem nenhum efeito sobre o consumo e o desempenho animal. Comprovando à adaptação tamponante ruminal à ingestão de diferentes níveis de SDT.

MCGregor (2004) relata que, em comparação com água potável, os caprinos podem apresentar uma aceitabilidade de água salobra com até 12.5dS/m. Estes animais são capazes de adaptar-se ao consumo de água com níveis de salinidade de até 9.5dS/m, mantendo a ingestão de alimentos. Entretanto, níveis de salinidade superiores a esse resultam em um declínio na ingestão de alimentos.

Caprinos e ovinos apresentam diferenças no consumo de água em condições normais de alimentação. Aganga (1992) estudando caprinos da raça Maradi e ovinos da raça Yankasa, observou diferença significativa na ingestão de água, onde caprinos beberam menos água (152,4 mL/Kg, 0,73/dia) do que os ovinos (202,5 mL/Kg, 0,73/dia), evidenciando que caprinos apresentam um melhor mecanismo de conservação de água. Além disso, o autor observou diferença com relação à idade onde animais jovens consumiram um menor volume de água do que animais velhos. O consumo

maior por animais mais velhos deu-se por apresentar tamanhos maiores e por isso, maior exigência de água.

No estudo de Abou Hussien et. al., (1994), a ingestão de água com 9,500 mg/L de sólidos totais reduziu a ingestão de ovelhas, mas não de cabras. O aumento do teor de sal a partir de 9.500 a 17.000 mg /L SDT reduziu o consumo alimentar por ambas espécies.

Abou Hussien et. al. (1994) concluíram que o mecanismo pelo qual as ovelhas e cabras controlam a carga de sal por beber água salina é diferente dos camelos. Ovinos e caprinos excretam mais urina e aumentam a taxa de filtração para reduzir a carga elevada de sal resultante do seu alto consumo de água salina. Já os camelos diminuem a ingestão de água salina para reduzir o stress de sal.

Durante os períodos de seca, as cabras precisam de água adequada para manter a ingestão de alimentos e para permitir refrigeração durante períodos quentes. Quando a sombra é fornecida, cabras parecem consumir menos água do que ovelhas, mas quando a sombra é ausente, cabras parecem beber mais água do que ovelhas. As cabras preferem água salina com até 12.500 mg/L sólidos totais em comparação com água potável. Com água salina, algumas cabras são capazes de manter a ingestão de alimentos com níveis de salinidade até 9.500 mg/L. Os níveis de SDT maiores do que este resultado numa diminuição na ingestão de alimentos (MCGregor, 2004).

Níveis muito elevados de salinidade inibem o consumo de água pelos animais e, conseqüentemente, o consumo de alimentos. Outros sintomas podem ser associados a sede excessiva, como dor abdominal, vômito, diarreia, sinais nervosos (tremor, cegueira, andar em círculos ou para trás, etc.), convulsões e morte. Efeitos prejudiciais da salinidade são decorrentes, principalmente de seu efeito osmótico. Os animais podem se adaptar à salinidade da água a ser ingerida. No entanto, é recomendado o fornecimento gradativo da mesma, já que a mudança abrupta pode causar maiores prejuízos à ingestão de água e alimentos.

### **1.5 Sais e Homeostase microbiana**

A homeostase ácido-base tem função fisiológica com o crescimento, reprodução e lactação, e influência direta no metabolismo e no desempenho animal (FAUCON, et al. 1995). Portanto, qualquer alteração na homeostase pelo equilíbrio ácido-base vai interferir no desempenho animal. Equilíbrio ácido-base é a regulação da concentração

do íon hidrogênio nos líquidos corporais, o pH dos fluidos é o responsável para que os processos vitais ocorram normalmente (DEL CLARO, 2003).

Alguns minerais essenciais são exigidos diariamente em grandes quantidades na alimentação dos animais, sendo responsável pela manutenção da homeostase corporal como: cálcio, fósforo, sódio, enxofre, potássio, cloro e magnésio e em pequenas quantidades o zinco, cobre, cobalto, manganês, selênio, iodo e cromo (MCDOWELL, 1992).

O sódio (Na) é o principal cátion do líquido extracelular e importante componente do esqueleto, e responsável pelo total catiônico do plasma sanguíneo. A concentração do sódio é mantida constante pelo consumo e excreção de alimentos (MEIRELLES, 2005). A excreção do sódio pelos rins envolve a filtração do sódio do plasma nos glomérulos e então, sua reabsorção. A reabsorção de sódio necessita da passagem de íons de hidrogênio ou potássio na direção oposta, portanto, importante para manutenção do equilíbrio ácido-base (DEL CLARO, 2003). A absorção do sódio ocorre também no rúmen.

O potássio (K) é o principal cátion do fluido intracelular, sendo aproximadamente 89% do potássio corporal presente dentro da célula. Em ruminantes a absorção ocorre no rúmen, no omaso e no restante do trato gastrointestinal. Uma grande parte do K no rúmen é advinda da saliva (MEIRELLES, 2005). O excesso de potássio na dieta em comparação ao sódio pode acarretar nos rins uma deficiência de sódio, mesmo em níveis adequados (BLOCK, 1994). A excreção de sódio e potássio na urina obedece a uma relação de reciprocidade, na qual o potássio é mantido pelo organismo em detrimento do sódio.

O cloreto é o principal ânion no plasma e no fluido intracelular. O metabolismo do cloro é controlado pelos níveis de sódio. Quando um excesso de sódio é excretado pelos rins, há um excesso de cloreto também sendo eliminado, a fim de manter a eletroneutralidade. Os ruminantes consomem alimentos pobres em cloretos, sendo necessário a suplementação pelo NaCl (WHEELER, 1980). As principais funções dos cloretos são no controle da pressão osmótica e regulação do equilíbrio ácido-base.

Para que os processos vitais ocorram normalmente é de suma importância que o pH dos fluidos corporais sejam mantidos dentro dos limites (DEL CLARO, 2003). Quando os ruminantes são alimentados por dietas ricas em carboidratos solúveis, pode ocasionar uma acidose láctica, causada pelo aumento do ácido láctico, afetando o pH sanguíneo. Esta acidose ocorre na maioria das vezes de forma aguda, quando há uma

mudança drástica na alimentação. Os fluídos ruminais são tamponados por bicarbonato e o pH dos fluídos corporais podem ou não diminuir durante a acidose, dependendo da capacidade tamponante (DEL CLARO, 2003).

### **1.6 Os substratos e o crescimento microbiano**

Vários fatores podem influenciar a ação da flora ruminal, sendo a dieta, provavelmente, o fator mais importante que influencia o número e a proporção relativa das diferentes espécies de microrganismos presentes no rúmen. VOLTOLINI (2011) afirma que a água é um componente muito importante na dieta de ruminantes, pois está associada às funções relacionadas à digestão e metabolismo animal.

Para que os microrganismos ruminais desenvolvam adequadamente e possam degradar de forma eficiente os alimentos fibrosos, o hospedeiro deve oferecer condições fisiológicas adequadas como pH, temperatura, anaerobiose, substrato e taxa de passagem do alimento pelo trato digestivo.

A partir da digestão dos alimentos, produzem os ácidos graxos voláteis, que servem como fonte de energia, e também dióxido de carbono, metano e amônia. No rúmen, a amônia é convertida em compostos nitrogenados para manter o metabolismo dos microrganismos e seu hospedeiro. Os microrganismos são fonte de proteína natural para os ruminantes. A síntese de proteína microbiana no rúmen depende do crescimento e da eficiência dos microrganismos na utilização dos substratos energéticos e nitrogenados, sendo o principal constituinte corporal do animal e, portanto, vital para os processos de manutenção, crescimento e reprodução (SILVA et. al., 2002; OLIVEIRA et. al., 2007).

A taxa de fermentação da fibra é quem vai determinar a disponibilidade de energia a nível ruminal e conseqüentemente irá influenciar no desenvolvimento da flora microbiana do rúmen. Portanto, se a fibra possuir um baixo potencial fermentativo, o benefício de retenção no rúmen será perdido (VAN SOEST, 1994).

A temperatura ambiente é outro fator que apresenta um grande impacto no consumo de água, pois advém em menor consumo de matéria seca e em aumento do metabolismo da água para a manutenção da temperatura corporal (NRC, 2007). Experimentos realizados com caprinos e ovinos demonstraram que os animais ingeriram um volume maior de água no período mais quente do dia (NEIVA et. al., 2004; POMPEU et. al., 2009; FURTADO et. al., 2012).

Para que os microrganismos se desenvolvam de forma adequada eles necessitam de uma faixa de pH ideal. A utilização de forragem pelos ruminantes depende da atividade dos microrganismos ruminais, os quais são afetados pelas características do ambiente ruminal, e sua atividade fermentativa é sensível às variações do pH do meio (MOULD & ORSKOV, 1983). O pH ruminal varia de acordo com a dieta e com o tempo após a alimentação. As bactérias celulolíticas e protozoários necessitam de pH variando entre 6,2 e 6,8, para atuarem de forma adequada. De acordo com VAN SOEST (1994), pH abaixo de 6,2 aumenta o tempo de colonização da fibra e inibe a sua degradação. No entanto as bactérias amilolíticas atuam em pH mais baixo (5,8), isso demonstra que o pH do líquido ruminal afeta a degradação dos alimentos de forma diferenciada, dando uma faixa de pH ideal entre 5,5 e 7,0 (FURLAN et al., 2006). Os ruminantes matam os níveis de pH do meio ruminal adequados, através da saliva, que é rica em bicarbonato de sódio e possui pH em torno de 8,1.

## 1.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABOU HUSSIEN, E.R.M., GIHAD, E.A., EL-DEDAWY, T.M. AND ABDEL GAWAD, M.H., 1994. Response of camels, sheep and goats ot saline water. 2. Water and mineral metabolism. **Egyptian Journal of Animal Production** 31: Supplement Issue November 387-401.
- ADAMS, R. S.; SHARPE, W. E. **Water intake and quality for dairy cattle**. Penn State Extension Publication DAS, 95-8. 1995.
- AGANGA, A.A. Water utilization by sheep and goats in northern Nigeria - World Animal Review - Revue Mondiale de Zootechnie - **Revista Mundial de Zootecnia**, v.73, 1992.
- ALBUQUERQUE, I. R. R. **Níveis de salinidade da água de beber para ovinos mestiços Santa Inês**. (2012). Universidade Federal da Paraíba; Areia – PB; 2012.
- ARAÚJO, G. G. L.; VOLTOLINI, T. V.; TURCO, S. H. N., et. al. **A água nos sistemas de produção de caprinos e ovinos**. In: Produção de caprinos e ovinos no Semiárido. Petrolina, 2011, 553p.
- ARAÚJO, K. T. A; FURTADO, D.A. Comportamento Ingestivo e Etológico de Ovinos Consumindo Água com Diferentes Níveis de Salinidade. XI CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE. Campina Grande, 2014.
- ARCURI, P.B.; LOPES, F.C.F. E; CARNEIRO, J.C. Microbiologia do rúmen. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V; OLIVEIRA, S.G (Ed). **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2006. P151-179.
- ARJOMANDFAR, M., ZAMIRI, M. J., ROWGHANI, E., KHORVASH, M. AND GHORBANI, Gh. Effects of water desalination on milk production and several

blood constituents of Holstein cows in a hot arid climate. **Iranian Journal of Veterinary Research**, Shiraz University, Vol. 11, No. 3, 2010.

BAGLEY, C. V.; AMACHER, J. K.; POE, K. F. Analysis of water quality for livestock. Logan: Utah State University, **Cooperative Extension**. 7p, 1997.

BARBOSA, J.D; ÁVILA, S.C; DIAS,R.V.C; PFEIFER,I.B; OLIVEIRA,C.M.C. Estudo comparativo de algumas provas funcionais do fluido ruminal e de metabólitos sanguíneos de bovinos e bubalinos. *Pesq. Vet. Bras.* 23(1): 33-37, jan./mar. 2003.

BEEDE, D. K.; COLLIER, R. J. Potencial nutritional strategies for intensively managed cattle during termal stress. **J.Anim. Sci.**,62: 543 -554 , 1986.

BLOCK, E. Manipulation of dietary cation-anion difference on nutritionally reted production diseases, productivity, and metabolic responses of dairy cows. **J.Dairy Sci.**, Champaingn, v. 77, n.5, p. 1437-1450, 1994.

BOYLES, S.; WOHLGEMUTH, K.; FISHER, G. et al. **Livestock and water**. North Dakota State University: Extension Service Bulletin AS-954. 1988.

BRASIL, 2004 **Resolução n. 518, de 25 de março de 2004**. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 26 mar. 2004. n. 59. Seção 1, p. 266-270.

BRASIL. **Resolução CONAMA N° 357/2005. (Conselho Nacional do Meio Ambiente)**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem com estabelece as condições e padrões de efluentes, e dá outras providencias. 2005.

- CARVALHO JUNIOR, Sebastião B. de et al. Produção e avaliação bromatológica de espécies forrageiras irrigadas com água salina. **Rev. bras. eng. agríc. ambient.** [online]. 2010, vol.14, n.10, pp. 1045-1051. ISSN 1807-1929.
- CERVONI, J.E. **Água: fonte de vida (quando não contaminada)**. 4p. 2006. Disponível em: <http://www.limousin.com.br/pages/artigos/vendo.asp?ID=105>. Acessado em 2015.
- CIRILO, J.A.; MONTENEGRO, S. M. G. L.; CAMPOS, J. N. B. et al. **A questão da água no semiárido brasileiro**. Disponível em: [www.abc.org.br/IMG/pdf/doc-811.pdf](http://www.abc.org.br/IMG/pdf/doc-811.pdf). Acesso em: 2015.
- CRUZ, W.B.; MELO F.A.C.F. **Estudos geoquímicos preliminares das águas subterrâneas do Nordeste do Brasil**. Brasil, SUDENE, 1974. 128 p. il. Série Hidrogeologia 19 DIAS, M. **Qualidade da água e desempenho dos bovinos**. Macal Nutrição Animal – Informe Técnico. Campo Grande, 25p. 2006.
- DALY, K.; STEWART, C.S.; FLINT, H. J. et al. Bacterial diversity within equine large intestine as revealed by molecular analysis of cloned 16S rRNA genes. **FEMS Microbiology Ecology**. v.38. p.141-151. 2001.
- DEL CLARO, GUTAVO RIBEIRO. Influência do balanço cátion-aniônico da dieta no desempenho de ovinos. **Dissertação**. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos. Universidade de São Paulo, 2003. 83p.
- ESMINGER, M.E.; OLDFIELD, J.L.; HEINEMANN, J.J. **Feeds and nutrition** 2.ed. Clovis: Esminger Publishing, 1990. 1552p.
- FARIES, F. C.; SWEETEN, J. M. & REAGOR, J. C. **Qualidade da Água: Sua relação com a Pecuária**, Texas Agricultural Extension Service, 1997.
- FAUCHON,C; SEONE,J.R; BERNIER, J.F. Effects of dietary cation–anion concentrations on performance and acid –base balance in growing lambs. **Can. J. Animal.Sci.** v.75, p.145–151, 1995.

- FURLAN, R. L.; MACARI, M.; FARIA FILHO, D. E. **Anatomia e fisiologia do trato gastrintestinal**. IN: Nutrição de Ruminantes. Jaboticabal: Funep, 583p.2006.
- FURTADO, D. A.; LEITE, J.R.S.; NASCIMENTO, J.W.B. et al. Water consumption when exposed to sun and shade for native goats in the semiarid of the state of Paraíba, Brazil. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v.32, n.1, p.21-29, 2012.
- GOVERNO DE PORTUGAL; **Água de Qualidade Adequada na Alimentação Animal**. Rev-2. FEV 2014; 14/03/2014.
- IBGE. **Censo Agropecuário 2006: Agricultura Familiar – Primeiros Resultados**. Brasil, Grandes Regiões e Unidades da Federação. Rio de Janeiro, 2009.
- ÍTAVO, L.C.V. et., al. Aspectos do metabolismo de nitrogênio. In: ÍTAVO, L.C.V. e ÍTAVO, C.C.B.F. (eds.). **Nutrição de Ruminantes: aspectos relacionados à digestibilidade e ao aproveitamento de nutrientes**. Campo Grande: UCDB, 2005. cap. 9, p. 171-184.
- JÚNIOR SILVA; L.G.A. Gheyi; H.R. MEDEIROS, J.F. Composição Química de Águas do Cristalino do Nordeste Brasileiro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.3, n.1, p.11-17, 1999.
- LANA, R. P. **Nutrição e alimentação animal**. 1. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 2005.
- LIMA; E.A. NASCIMENTO; D.A. GUILERA; S.C. BRANDÃO; L.C.R. Mapa de Variação da Concentração Total de Sais das Águas Subterrâneas da Região Nordeste do Brasil. **XV CONGRESSO BRASILEIRO DE ÁGUAS SUBTERRÂNEAS**. Disponível: [aguassubterraneas.abas.org/asubterraneas/article/download/23756/15823](http://aguassubterraneas.abas.org/asubterraneas/article/download/23756/15823). Acessado em 2015.

- MACFARLANE, W.V., 1982. Concepts in animal adaptation. Proceedings of the 3<sup>rd</sup> International Conference on Goat Production and Disease: 375-385. **Dairy Goat Publishing Co.**, Scottsdale, USA.
- MALVEZZI, R. **Semiárido-Uma visão holística**. Brasília: CONFEA, 140p. 2007.
- MANELLA, M. Q.; LOURENÇO, A. J.; LEME, P. R. Recria de bovinos Nelore em pastos de *Brachiaria brizantha* com suplementação protéica ou com acesso a banco de proteína de *Leucaena leucocephala*. Característica de fermentação ruminal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.4, p. 1002-1012, 2003.
- MAYANARD, L. A.; LOOSLI, J. K.; HINTZ, H. F.; et al. **Animal Nutrition**, 7<sup>o</sup> ed. McGraw – Hill, New York: 1979, 602p.
- McDOWELL, L.R. Minerals in Animal and Human Nutrition. **Academic Press. New York**. 1992.
- McGREGOR, B.A. **Water quality and provision for goats**. Australian Government. Rural Industries Research and Development Corporation, p. 19. 2004.
- MEIRELLES, RODRIGO LEMOS. Efeito do balanço cátionaniônico em conjunto com diferentes proporções de volumoso e concentrado na degradabilidade ruminal. **Dissertação**. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de alimentos. Universidade de São Paulo. 2005. 69 p.
- MOULD, F.L.; ORSKOV, E.R. Manipulation of the rumen fluid pH and its influence on cellulosis in sacco, dry matter degradation and the rumen microflora of sheep offered either hay or concentrate. **Animal Feed Science Technology**, v.10, p.1-14, 1983.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NCR. **requerimentos nutricionais de pequenos ruminantes: ovinos, caprinos, cervídeos, camelídeos e novo mundo**. Washington, D.C.; 2007.384p.

- NEIVA, J.N.M.; TEXEIRA, M.; TURCO, S.H.N. et al. Efeito do Estresse Climático sobre os Parâmetros Produtivos e Fisiológicos de Ovinos Santa Inês Mantidos em Confinamento na Região Litorânea do Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.3, p.668-678, 2004.
- NRC, Nutrient requirements of dairy cattle. 7th rev. ed. **National Academy Press**. Washington, D.C. 2001. 242 p.
- NUNES, I. J. **Nutrição animal básica**. 2 ed. Belo Horizonte: UFMG, 1998.
- OLIVEIRA, J. S.; ZANINE, A. M.; SANTOS, E. M. Diversidade microbiana no ecossistema ruminal. **REDVET Revista eletrônica de Veterinária**, v.8, n.6, p.1-12, 2007.
- OWENS, F.N. e ZINN, R. Metabolismo de la proteína em los rumiantes. *In*: CHURCH, D.C (ed.). **El Ruminant Fisiologia Digestiva e Nutrición**. Zaragoza: Acribia, S.A. 1988. cap. 12, p. 255-283.
- OWENS, F.N.; GOETSCH, A.L. Ruminal fermentation. *In*: CHURCH, D.C. (Ed). **The Ruminant animal digestive physiology and nutrition**. 1993.
- PEDROSA, C. A. & CAETANO, F. A. Águas subterrâneas. Agência Nacional de Águas – ANA: **Superintendência de informações hidrológicas**. Brasília, 2002.
- PEIRCE, A. W. Studies of salt tolerance of sheep. I. The tolerance of sheep for sodium chloride in the drinking water. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 8, n. 6, p. 711-722, 1957.
- PEIRCE, A.W., 1968. Studies on salt tolerance of sheep. VIII The tolerance of grazing ewes and their lambs for drinking waters of the types obtained from underground sources in Australia. **Australian Journal of Agricultural Research**, 19: 589-595.

- PEREIRA; E.R. PATERNIANI; J.E.S. DEMARCHI; J.J.A.A. A Importância da qualidade da água de Dessedentação Animal. **BioEng**, Campinas, v.3 n.3, p.227-235, Set/Dez., 2009.
- POMPEU, R.C.F. F.; ROGÉRIO, M.C.P.; CÂNDIDO, M.J.D. et al. Comportamento de ovinos em capim-tanzânia sob lotação rotativa com quatro níveis de suplementação concentrada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.2, p.374-383, 2009.
- RIBEIRO; L. BENEDETTI; E. **A Importância da qualidade da Água na Nutrição de Ruminantes**. Disponível: [http://www.fazu.br/ojs/index.php/posfazu/article/view File/460/352](http://www.fazu.br/ojs/index.php/posfazu/article/view/File/460/352). Acesso em 2014.
- RUNYAN, C.; BADER, J. Water quality for livestock and poultry. In: AYERS, R. S.; WESTCOT, D. W. **Water quality for agriculture**. Rome: FAO, 1976. 1994. (FAO. Irrigation and Drainage Paper, 29).
- SANTOS, E.D.G.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; LANA, R.P.; QUEIROZ, D.S.; FONSECA, D.M. Consumo, digestibilidade e parâmetros ruminais em tourinhos limousin-nelore, suplementados durante a seca em pastagem diferida de *Brachiaria decumbens* stapf. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.3, p.704-713, 2004.
- SANTOS, M. J.; ARAÚJO, L. E.; OLIVEIRA, E. M.; SILVA, B. B. Seca, precipitação e captação de água de chuva no semiárido de Sergipe. **Revista Engenharia Ambiental**, v.6, p.55- 73, 2009.
- SHARE, L. Role of vasopressin in cardiovascular regulation. **Physiol. Rev.**, 68, p.1248 – 1284, 1988.
- SILANIKOVE, N. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. **Livestock Production Science**, v.67, p.1-18, 2000.

- SILVA, L. D. F.; EZEQUIEL, J. M. B.; AZEVEDO, P. S.; CATTELAN, J. W.; BARBOSA, J. C.; RESENDE, F. D.; CARMO, R. G. Digestão Total e Parcial de Alguns Componentes de Dietas Contendo Diferentes Níveis de Casca de Soja e Fontes de Nitrogênio, em Bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.3, p.1258-1268, 2002.
- SILVEIRA, M. F.; KOZLOSKI, G. V.; BRONDANI, I. L.; ALVES FILHO, D. C.; RESTLE, J.; LEITE, D. T.; METZ, P. A. M.; SILVEIRA, S. R. L. Ganho de peso vivo e fermentação ruminal em novilhos mantidos em pastagem cultivada de clima temperado e recebendo diferentes suplementos. **Ciência Rural**, v.36, n.3, 2006.
- SUASSUNA, J. **Semiárido: Proposta de Convivência com a seca**. In: Cadernos de estudos sociais, Recife. V. 21, n. 12, p. 135-138, 2007. SILVA, F.F.; ÍTAVO, C.C.B.F.;
- TEIXEIRA, JÚLIO CÉSAR. **Nutrição dos Ruminantes**, Lavras, MG: ESAL/FAEPE, 1991.
- ULZURRUN, M.D.D. Salinidad e alcalinidad del suelo em relación com el riego de drenaje. In: **V MÁSTER INTERNACIONAL DE RIEGO Y DRENAJE**. Madrid: CENTERMAPYA, 161p. 2000.
- VALTORTA E. S.; GALLARDO M. R.; SBODIO O. A.; REVELLI G. R.; ARAKAKI C.; LEVA E. P.; GAGGIOTTI M.; TERCERO E. J. Water salinity effects on performance and rumen parameters of lactating grazing Holstein cows. **Int. J. Biometeorol**, 2008.
- VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of ruminant**. Comstock: Cornell University, 1994.
- VOLTOLINI, T. V. **Produção de caprinos e ovinos no Semiárido**. Petrolina: **Embrapa Semiárido**. 2011. Disponível em: <[www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/916896](http://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/916896)>. Acessado em 2014.

WHEELER, W.E. Gastrointestinal tract pH environment and the influence of buffering materials on the performance of ruminants. **J.anim.Sci.**, Chaping, v. 51 n.1 p.224-232. 1980.

WILSON, A. D. The tolerance of sheep to sodium chloride in food or drinking water. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 17, n. 4, p. 503-514, 1966.

## **CAPÍTULO II**

---

Efeito de diferentes concentrações de sais sobre os parâmetros ruminais de bovinos

## RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito de diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl), cloreto de magnésio (MgCl<sub>2</sub>) e cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>) sobre a condutividade elétrica, o crescimento e fermentação por microrganismos celulolíticos, glicolíticos e amilolíticos advindas de bovinos. Foram utilizados líquidos ruminais de um bovino, fistulado no rúmen para obtenção do inóculo. Avaliaram-se seis níveis de NaCl, MgCl<sub>2</sub> e CaCl<sub>2</sub> (0 mg/dL, 100 mg/dL, 200 mg/dL, 400 mg/dL, 800 mg/dL e 1600 mg/dL) e três substratos (amido, celulose e glicose), em delineamento inteiramente casualizado, no esquema fatorial 6 x 3 para determinação das variáveis de crescimento microbiano. Observou-se efeito quadrático dos níveis de CaCl<sub>2</sub> sobre a concentração de proteína microbiana nos meios com amido, e efeito quadrático para o MgCl<sub>2</sub> quando no meio se tinha celulose. Ocorreu efeito quadrático dos níveis de NaCl, MgCl<sub>2</sub> e CaCl<sub>2</sub> sobre a concentração de proteína microbiana nos meios com glicose. A concentração de N-NH<sub>3</sub> aumentou linearmente com o incremento dos níveis de NaCl e CaCl<sub>2</sub>, no meio contendo celulose. Já as concentrações de acetato diminuíram linearmente em função do aumento do NaCl nos meios contendo amido, celulose e glicose. Obteve-se efeito quadrático para o substrato amido e celulose sobre as concentrações de propionato nos níveis de NaCl. Concluindo-se que as bactérias fermentadoras de amido e glicose foram mais resistentes em níveis 800 mg/dL e 1600 mg/dL de NaCl, MgCl<sub>2</sub> e CaCl<sub>2</sub>, sem interferir na eficiência microbiana. Entretanto, as bactérias fermentadoras de celulose, na presença do sal NaCl e MgCl<sub>2</sub> acima de 400 mg/dL, prejudica a eficiência microbiana. Contudo, o CaCl<sub>2</sub> ao nível de 1600 mg/dL não interferiu na eficiência microbiana.

**Palavras chave:** Cloretos, fauna ruminal, nitrogênio amoniacal, salinidade

### ABSTRACT

The objective was to evaluate the effect of sodium chloride (NaCl), magnesium chloride (MgCl<sub>2</sub>) and calcium chloride (CaCl<sub>2</sub>) different concentrations on the electrical conductivity, growth and fermentation of cellulolytic, glycolytic and amylolytic bacterias, resulting from cattle. Were used cattle rumen liquid, from a rumen cannulated bovine to obtain the inoculum. Was evaluated six levels of NaCl, MgCl<sub>2</sub> and CaCl<sub>2</sub> (0 mg/dL, 100 mg/dL, 200 mg/dL, 400 mg/dL, 800 mg/dL and 1600 mg/dL) and three substrates (starch, cellulose and glucose) in a completely randomized delineation in a factorial 6 x 3 to microbial growth parameters determination. Was obtained a CaCl<sub>2</sub> quadratic effect levels on microbial protein concentration in the starch medium, and an MgCl<sub>2</sub> quadratic effect in the cellulose medium. Occurred a quadratic levels effect of NaCl, MgCl<sub>2</sub> and CaCl<sub>2</sub> on the microbial protein concentration in glucose medium. Occurred a quadratic levels effect of NaCl, MgCl<sub>2</sub> and CaCl<sub>2</sub> on the microbial protein concentration in glucose medium. While acetate concentrations decreased linearly with the increase of NaCl in starch, cellulose and glucose containing medium. Was obtained a quadratic effect to starch and cellulose medium, above the propionate concentrations in NaCl levels. The NaCl salt presence above of 400 mg/dL reduced the cellulose fermenting bacteria efficiency. While glucose fermenting bacteria are tolerant to NaCl concentrations supporting levels of up to 800 mg/dL and the amylolytic bacteria tolerate levels up to 1600 mg/dL. The CaCl<sub>2</sub> up to 1600 mg/dL does not affect the microbial efficiency of starch, cellulose and glucose fermenting bacteria.

**Keywords:** Ammoniacal nitrogen, chlorides, ruminal fauna, salinity

## 1. INTRODUÇÃO

Um dos principais desafios para a pecuária nas regiões semiáridas é a baixa disponibilidade e qualidade das águas ofertadas para os animais, prejudicando a produção destes. Entretanto, essas águas subterrâneas, que são consideradas marginais, em muitas situações são as únicas fontes hídricas disponíveis para dessedentação animal, pois a baixa qualidade da água é definida pela salinidade que tem uma relação direta com os tipos de rochas presentes nas áreas cristalinas (ARAÚJO, 2011).

De uma maneira geral, as águas subterrâneas dos terrenos cristalinos, cujas salinidades ultrapassam os 4.000 mg/L de sólidos dissolvidos totais, apresentam como principal característica uma grande predominância do íon Cloreto, que em mais de 93% das amostras se destaca com ampla superioridade sobre os demais sais (LIMA et al., 2000). Nessa faixa de salinidade, as águas Cloretadas-Sódicas (48%), Cloretadas Mistas (45%) e Cloretadas-Magnesianas (3%) são os tipos químicos dominantes (LIMA et al., 2000).

Essas águas são as principais fontes da dessedentação animal na maior parte do ano, e devido à essas características salinas, algumas alterações podem ocasionadas, como a mudança do pH na microbiota ruminal que prejudica a capacidade de aproveitamento dos nutrientes da digestão. Quaisquer substâncias que causem alterações no ambiente ruminal prejudicará a fermentação microbiana refletindo no baixo desempenho animal.

Existem poucas informações na literatura sobre o comportamento do ambiente ruminal de animais recebendo água salinas para diferentes sais presentes na água. Este conhecimento é de suma importância para a região semiárida brasileira em função do expressivo rebanho existente.

Desta forma, objetivou-se avaliar o efeito de diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl), cloreto de magnésio (MgCl<sub>2</sub>) e cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>) sobre a condutividade elétrica do meio, fermentação e crescimento de microrganismos celulolíticos, glicolíticos e amilolíticos advindos de bovinos *in vitro*.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados ensaios *in vitro* no Laboratório do Setor de Forragicultura do Departamento de Zootecnia pertencente à Universidade Federal da Paraíba (UFPB), no Centro de Ciências Agrárias, no município de Areia/PB, durante o período de outubro de 2013 a agosto de 2014. O trabalho foi executado obedecendo às normas técnicas de biossegurança e ética e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais, Centro de Biotecnologia (CBiotec) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) (parecer número: 0109/2014).

O animal utilizado foi um bovino fistulado no rúmen, que estava alojado na Unidade de pesquisa de grandes ruminantes do Departamento de Zootecnia da UFPB. O líquido ruminal foi coletado duas horas após o arraçoamento do período da manhã com capim elefante (*Pennisetum purpureum*) triturado e concretado (proporção 70x30). Foi filtrado em tecido de algodão e encaminhado com controle de temperatura até o laboratório, para obtenção de inóculo contendo população microbiana ativa. No laboratório, o líquido ruminal foi colocado em repouso em banho-maria com temperatura média de 39°C. Após formação das interfaces, foi retirada a fração intermediária que serviu como inóculo.

Foi utilizado, como meio de cultura, o tampão de McDougall que contém 9,80g de NaHCO<sub>3</sub>; 4,65g de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>\*2H<sub>2</sub>O; 0,57g de KCl; 0,12g de MgSO<sub>4</sub>\*7H<sub>2</sub>O e 0,04g de CaCl<sub>2</sub>, diluídos com água destilada até o volume de 1000ml, ajustada para obter pH final de 6,8 a 6,9 à 39°C.

Foram realizados três experimentos, no primeiro testados seis níveis de cloreto de sódio (NaCl), no segundo experimento foram testados seis níveis de cloreto de magnésio (MgCl<sub>2</sub>), no terceiro experimento foram testados seis níveis de cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>), todos adicionados no meio para ter concentração final de: 0 mg/dL; 100 mg/dL; 200 mg/dL; 400 mg/dL; 800 mg/dL; e 1600 mg/dL de meio de cultura. Cada tratamento conteve três repetições. Os experimentos foram realizados em delineamento inteiramente casualizado, no esquema fatorial 6 x 3 (seis níveis de sal: NaCl ou MgCl<sub>2</sub> ou CaCl<sub>2</sub>, e três substratos: amido, celulose e glicose) com três repetições. As fontes dos substratos foram o amido PA, carboximetilcelulose PA e a glicose PA.

Foram utilizados em cada frasco de incubação 20 mL do meio de cultura (16mL de tampão de McDougall + 4 mL de inóculo) + 150 mg de substrato e as concentrações

dos sais. Foram utilizados amido, carboximetilcelulose e glicose como substratos para os microrganismos ruminais. Os tratamentos tiveram as seguintes constituições:

1. 4,0 mL de Inóculo + 0,15 g de amido ou carboximetilcelulose ou glicose + 16,0 mL de tampão de Mc Dougall + 0 mg/dL do sal;
2. 4,0 mL de Inóculo + 0,15 g de amido ou carboximetilcelulose ou glicose + 16,0 mL de tampão de Mc Dougall + 100 mg/dL do sal;
3. 4,0 mL de Inóculo + 0,15 g de amido ou carboximetilcelulose ou glicose + 16,0 mL de tampão de Mc Dougall + 200 mg/dL do sal;
4. 4,0 mL de Inóculo + 0,15 g de amido ou carboximetilcelulose ou glicose + 16,0 mL de tampão de Mc Dougall + 400 mg/dL do sal;
5. 4,0 mL de Inóculo + 0,15 g de amido ou carboximetilcelulose ou glicose + 16,0 mL de tampão de Mc Dougall + 800 mg/dL do sal;
6. 4,0 mL de Inóculo + 0,15 g de amido ou carboximetilcelulose ou glicose + 16,0 mL de tampão de Mc Dougall + 1600 mg/dL do sal.

Todos os frascos foram saturados com dióxido de carbono, fechados com auxílio de tampas especializadas e lacrados, evitando o contato com o meio externo. Em seguida, incubados a 39°C no banho-maria, em agitação durante 48 horas. Durante este período, foram avaliados os tempos de 48 horas de incubação, coletados por meio de seringas evitando a entrada de oxigênio.

O potencial hidrogeniônico (pH) foi mensurado por potenciômetro digital nos tempos de 0 e 48 horas. Foram retirados de cada unidade experimental ao longo dos tempos 2,0 mL de amostra do meio de cultura que foram colocadas em tubos eppendorf centrifugadas em microcentrífuga a 1200xg, por 10 minutos, sendo o sobrenadante congelado para análises de nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) e ácidos graxos voláteis (AGV). O *pellet* formado, o qual continha microrganismos predominantes no líquido ruminal, foi ressuspenso em solução salina 0,9% homogeneizados e recentrifugados a 1200xg, por 10 minutos, o sobrenadante foi descartado. O *pellet* formado na última centrifugação foi, ressuspenso em solução salina 0,9% e congelado a -10°C para posterior análise de proteína microbiana.

Para análise de AGV, foram retirados 500µL do sobrenadante, adicionados 500µL de ácido meta-fosfórico a 25% e acondicionados em tubos eppendorf. A análise foi realizada em um Cromatógrafo Líquido de Alto Desempenho (HPLC), marca SHIMADZU, modelo SPD-10A VP acoplado ao Detector Ultra Violeta (UV) utilizando-se um comprimento de ondas de 210nm.

As análises de nitrogênio amoniacal foram determinadas através do método colorimétrico de Chaney & Marbach (1962) e a quantificação de proteína microbiana pelo método de Bradford (1976).

A condutividade elétrica (dS/m) foi mensurada nos tempos de 0 e 48 horas, através de um condutivímetro. No tempo zero (Tabela 1) foram avaliadas a condutividade nos seis níveis de sal, para os experimentos com cloreto de sódio (NaCl), cloreto de magnésio (MgCl<sub>2</sub>) e cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>).

Tabela 1 – Valores médios de condutividade (dS/m) dos meios de cultura, em zero hora de incubação em diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl), cloreto de magnésio, cloreto de cálcio.

	Níveis de NaCl (mg/dL)					
	0	100	200	400	800	1600
Condutividade (dS/m)	9,73	12,70	14,08	17,48	20,55	29,09
	Níveis de MgCl <sub>2</sub> (mg/dL)					
	0	100	200	400	800	1600
Condutividade (dS/m)	12,19	12,62	13,07	13,91	15,70	19,58
	Níveis de CaCl <sub>2</sub> (mg/dL)					
	0	100	200	400	800	1600
Condutividade (dS/m)	5,3	5,35	6,24	6,29	7,62	12,26

Os resultados foram submetidos à análise de variância e de regressão a 5% de probabilidade, pelo procedimento GLM (General Linear Models Procedures) com uso do programa SAS (2002). Quando houve interação entre substrato e níveis realizou-se o teste tukey a 5% de probabilidade.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve efeito linear crescente dos níveis de cloreto de sódio (NaCl), cloreto de magnésio (MgCl<sub>2</sub>) e cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>) sobre a condutividade em 48 horas de incubação (Tabela 2). Quanto maior a concentração dos sais no meio, maior foi a condutividade.

Comparando a condutividade do meio as zero hora e 48 horas de incubação em cada nível de NaCl e MgCl<sub>2</sub> (Tabela 1 e 2), observam-se similaridades na condutividade dos meios. Os níveis do CaCl<sub>2</sub>, aumentaram a condutividade em 48 horas de incubação. Assim, os microrganismos presentes nos diferentes substratos modificaram a condutividade do meio (Tabela 1 e 2) quando o CaCl<sub>2</sub> estava presente.

Tabela 2 - Valores de condutividade elétrica (dS/m) dos meios de cultura, em 48 horas de incubação em diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl), cloreto de magnésio (MgCl<sub>2</sub>), cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>).

Substrato	<sup>1</sup> NaCl/ (mg/dL)						EP	Probabilidade	
	0	100	200	400	800	1600		L	Q
Amido	10,23a	11,31a	12,38a	14,57a	21,03a	33,84a	1,45	<,0001	0,1621
Celulose	9,89a	10,62a	11,45a	13,98a	20,24a	33,20a	1,45	<,0001	0,1003
Glicose	10,39a	11,38a	11,94a	14,10a	16,71b	32,59a	1,45	<,0001	<,0001
	<sup>2</sup> MgCl <sub>2</sub> / (mg/dL)						EP	L	Q
	0	100	200	400	800	1600			
Amido	11,70b	12,04b	12,51b	13,25b	15,26b	18,49b	0,14	<,0001	0,4061
Celulose	13,51a	13,88a	14,11a	14,92a	16,46a	22,61 <sup>a</sup>	0,14	<,0001	<,0001
Glicose	11,44b	11,85b	12,24b	13,05b	14,61c	18,33b	0,14	<,0001	0,0102
	<sup>3</sup> CaCl <sub>2</sub> / (mg/dL)						EP	L	Q
	0	100	200	400	800	1600			
Amido	10,86c	11,43b	11,70b	12,50b	15,54b	28,49b	0,34	<,0001	<,0001
Celulose	13,69a	14,12a	14,43a	14,98a	17,55a	31,01a	0,34	<,0001	<,0001
Glicose	11,62b	12,01b	11,97b	12,53b	16,03b	28,29b	0,34	<,0001	<,0001

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade, <sup>1</sup>CV= 8,72%; <sup>2</sup>CV= 0,98%; <sup>3</sup>CV=2,17%.

Alta pressão osmótica causam mudanças morfológicas, bioquímicas e genéticas, especialmente na membrana e na parte intracelular dos microrganismos. Além de afetar no funcionamento e na reprodução dos microrganismos (CHEFTEL, 1992). As bactérias Gram positivas são mais resistentes à pressão osmótica que as bactérias Gram negativas (EARNSHAW, 1995; SMELT, 1998), devido à morfologia da parede celular.

A resistência dos microrganismos à pressão osmótica varia dependendo de fatores, como: tipo de microrganismo (família, espécie, cepa), fase de crescimento, temperatura, pressão e tempo de tratamento, pH e composição do meio (PATTERSON et al., 1997).

Obteve-se efeito quadrático dos níveis de NaCl sobre a concentração de proteína microbiana em 48 horas de incubação nos meios com glicose (Tabela 3). Os meios com glicose ao nível de 880 mg/dL de NaCl foram os que proporcionaram maior crescimento microbiano, com produção de 1899,04 mg/dL de proteína microbiana, a partir desse nível a produção decaiu.

Os meios que continham celulose não diferiram dos meios com amido até o nível de 400 mg/dL para concentração de proteína microbiana nos níveis de NaCl. Obtiveram menores concentrações microbianas no meio com amido em todos os níveis comparado aos demais meios (Tabela 3), possivelmente os microrganismos que

creceram no meio com amido são menos tolerantes ao NaCl. Os microrganismos que cresceram no meio com celulose tiveram a menor concentração ao nível de 800 mg/dL (572,97 mg de proteína microbiana/dL de meio). Os microrganismos que utilizam celulose podem ter sua produção afetada com altos níveis de NaCl no meio (Tabela 3).

Observou efeito quadrático para o  $MgCl_2$  em 48 horas de incubação quando o meio se tinham celulose e glicose (Tabela 3). A maior concentração microbiana foi ao nível de 588 mg de  $MgCl_2$ /dL.

Os meios com amido foram os que obtiveram os maiores concentrações de proteína microbiana aos níveis de  $MgCl_2$  em relação aos demais meios, sua máxima produção microbiana foi ao nível de 800 mg/dL (4635,83 mg de proteína microbiana/dL). Os meios com celulose obtiveram as menores concentrações de proteína microbianas, na presença de  $MgCl_2$  (Tabela 3).

Foi observado efeito quadrático sobre a concentração de proteína microbiana para os meios com amido, celulose e glicose após 48 horas de incubação em diferentes concentrações de CaCl, (Tabela 3).

Tabela 3- Valores de proteína microbiana (mg/dL), a 48 horas de incubação, em diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl), cloreto de magnésio ( $MgCl_2$ ) e cloreto de cálcio ( $CaCl_2$ )

Substrato	<sup>1</sup> NaCl/ (mg/dL)						EP	Probabilidade	
	0	100	200	400	800	1600		L	Q
Amido	792,1b	872,4b	831,3b	765,8b	876,6b	675,8b	140,7	0,1930	0,3330
Celulose	635,8b	781,3b	826,6b	848,8b	572,9c	526,03b	140,7	0,0139	0,4530
Glicose	1536,1a	1876,1a	1848,7a	1683,5a	1899,0a	1257,6a	140,7	0,0002	<,0001
	<sup>2</sup> MgCl <sub>2</sub> / (mg/dL)						EP	L	Q
	0	100	200	400	800	1600			
Amido	3612,5a	3407,5a	3665,8a	3459,2a	4635,8a	2005,8c	184,7	0,1113	0,4298
Celulose	2279,1c	2580,8b	2764,1b	2844,2b	3150,8b	2702,5b	184,7	0,6445	<,0001
Glicose	3130,8b	3640,8a	4077,5a	2829,2b	2777,5b	3237,5a	184,7	<,0001	<,0001
	<sup>3</sup> CaCl <sub>2</sub> / (mg/dL)						EP	L	Q
	0	100	200	400	800	1600			
Amido	888,9a	871,1a	740,0ab	757,8a	798,9a	894,4a	237,7	0,0081	0,0004
Celulose	317,8b	502,2a	425,6b	534,4a	281,11b	421,1b	237,7	0,1746	0,0039
Glicose	911,1a	841,1a	903,3a	883,3a	674,44a	555,6ab	237,7	0,0005	0,0009

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade, <sup>1</sup>CV= 13,25%; <sup>2</sup>CV= 24,67%; <sup>3</sup>CV= 13,36%.

A menor concentração microbiana para o amido foi ao nível de 300 mg de CaCl/dL, com produção estimada de 740,0 mg/dL, a partir desse nível a concentração

microbiana aumentou. O ponto de máximo crescimento microbiano para celulose foi ao nível com 180 mg/dL e ponto de mínimo para a glicose foi no nível de 609 mg/dL.

Os meios com amido e glicose não diferiram entre si em relação à concentração de proteína microbiana nos níveis de  $\text{CaCl}_2$ , em 48 horas de incubação (Tabela 3). Os meios com celulose obtiveram as menores concentrações de proteína microbiana, demonstrando que estes microrganismos são mais sensíveis às altos níveis de  $\text{CaCl}_2$ .

Segundo Oliveira (2007), bactérias fermentadoras de carboidratos estruturais que degradam a celulose e hemicelulose da parede celular dos vegetais apresentam uma taxa de crescimento relativamente mais lenta e dependem de amônia e de ácidos graxos de cadeia ramificada (isovalerato e 2-metilbutirato) para síntese de proteínas. Os meios com glicose e amido tem maior velocidade de crescimento em comparação com os meios com celulose. Isto proporciona uma maior concentração de microrganismos e conseqüentemente uma maior produção de proteína microbiana no meio.

No rúmen, competição por carboidratos livre é intensa, e mesmo com uma preferência de um substrato sobre o outro, espécies bacterianas com uma afinidade baixa para um determinado substrato podem não ser capazes de competir com outros microrganismos por este substrato. Esse efeito de preferência foi observado em experimento *in vitro* realizado por Thurston et. al. (1993) que observaram que a bactéria *R Albus* tinha uma afinidade menor para celobiose (3,16mM) do que outras bactérias ruminais e uma maior afinidade pela glicose, forma prontamente disponível para ser fermentada. Essa afinidade pode ter interferido na concentração de proteína microbiana do experimento, os meios com glicose nos diferentes níveis de  $\text{NaCl}$ ,  $\text{MgCl}_2$  e  $\text{CaCl}_2$ , em 48 horas de incubação obtiveram concentrações maiores de proteína microbiana em relação aos meios com celulose (Tabela 3).

Não foram observados efeitos dos níveis de  $\text{NaCl}$ ,  $\text{MgCl}_2$  e  $\text{CaCl}_2$ , sobre a concentração de  $\text{N-NH}_3$  em 48 horas de incubação nos meios contendo amido e glicose (Tabela 4).

Obteve-se efeito linear crescente dos níveis  $\text{NaCl}$  e  $\text{CaCl}_2$ , no meio contendo celulose sobre a concentração de  $\text{N-NH}_3$  em 48 horas de incubação (Tabela 4). Porém, os níveis com  $\text{MgCl}_2$  apresentaram efeito quadrático no meio contendo celulose, a menor concentração de  $\text{N-NH}_3$  foi no nível de 400 mg de  $\text{MgCl}_2$ /dL.

Tabela 4 - Valores de nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) em mM às 48 horas de incubação, em diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl), cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>) e cloreto de magnésio(MgCl<sub>2</sub>).

Substrato	<sup>1</sup> NaCl/ (mg/dL)						EP	Probabilidade	
	0	100	200	400	800	1600		L	Q
Amido	9,11a	5,25a	7,86ab	5,06a	5,61b	10,88b	3,13	0,1710	0,0402
Celulose	3,93a	6,23a	6,29b	10,60a	22,46a	26,91a	3,13	<,0001	0,0116
Glicose	7,58a	5,95a	12,83a	8,58a	6,26b	8,26b	3,13	0,7648	0,8670
Substrato	<sup>2</sup> MgCl/(mg/dL)						EP	L	Q
	0	100	200	400	800	1600			
Amido	4,61b	4,94b	5,46b	2,31b	4,18b	5,25b	1,67	0,7430	0,1387
Celulose	13,87a	14,71a	9,47a	7,49a	10,51a	16,35a	1,67	0,0101	<,0001
Glicose	6,14b	4,75b	4,51b	6,19a	4,71b	4,50b	1,67	0,4041	0,9867
Substrato	<sup>3</sup> CaCl <sub>2</sub> /(mg/dL)						EP	L	Q
	0	100	200	400	800	1600			
Amido	1,93a	2,15a	1,84b	5,23a	1,29c	0,37c	1,49	0,0527	0,1075
Celulose	3,60a	4,03a	5,22a	4,29a	10,72a	17,70a	1,49	<,0001	0,2842
Glicose	2,88a	4,46a	2,84ab	4,52a	4,30b	4,25b	1,49	0,3725	0,4336

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade, <sup>1</sup>CV=33,28%; <sup>2</sup>CV= 23.11%; <sup>3</sup>CV= 32,84.

Altas concentrações de amônia e ureia estão relacionadas ao excesso de proteína degradada no rúmen e/ ou às baixas concentrações de carboidratos degradados no rúmen (RIBEIRO et al., 2001). Assim, quanto maior o teor de N-NH<sub>3</sub> no meio tende-se ter uma menor concentração de proteína microbiana, isso pode ser verificado nas Tabelas 5 e 6. Segundo Remond et. al., (1993) em condições *in vivo* constataram que o aumento da osmolaridade após a injeção intraruminal de NaCl diminuiu ligeiramente absorção de N-NH<sub>3</sub>. O aumento da ingestão de sal e, portanto, a pressão osmótica do rúmen pode afetar a população de microrganismos e metabolismo. Bergen (1972), constatou que aumento da pressão osmótica no rúmen até 400 mOsmol /kg inibe a digestão da celulose em bovinos. Verificou-se na Tabela 4 que os níveis de NaCl, MgCl<sub>2</sub> e CaCl<sub>2</sub> não interferiram na digestão da celulose.

Houve efeito linear decrescente da concentração de NaCl nos meios contendo amido, celulose e glicose em 48 horas de incubação sobre a concentração de acetato (Tabela 5).

Tabela 5 - Valores de acetato (mM), a 48 horas de incubação, em diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl).

Substrato	<sup>1</sup> NaCl/ mg/dL						EP	Probabilidade	
	0	100	200	400	800	1600		L	Q
Amido	34,0ab	41,24a	37,83a	31,49a	28,59a	32,23a	3,90	0,0200	0,0300
Celulose	38,99a	35,35ab	37,74a	25,96a	22,31a	25,21a	-	<,0001	0,0002
Glicose	26,77b	31,71b	30,91a	26,52a	25,66a	24,43a	-	0,0488	0,7552

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade, <sup>1</sup>CV=12,63%.

Não ocorreu diferença significativa em relação aos substratos estudados, a partir do nível de 200 mg/dL a 1600 mg/dL de NaCl.

Não houve efeito de substrato nos meios contendo MgCl<sub>2</sub> e CaCl<sub>2</sub> em 48 horas de incubação sobre a concentração de acetato (Tabela 6).

Tabela 6 - Valores de acetato (mM), a 48 horas de incubação, em diferentes concentrações de cloreto de magnésio (MgCl<sub>2</sub>) e cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>).

	Níveis de Minerais/ (mg/dL)						EP	Probabilidade	
	0	100	200	400	800	1600		L	Q
<sup>1</sup> MgCl <sub>2</sub>	26,06	23,65	25,34	22,98	22,42	24,63	2,24	0,3344	0,0018
<sup>2</sup> CaCl <sub>2</sub>	24,56	24,22	24,07	24,35	25,37	19,81	5,10	0,0521	0,1527

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade, <sup>1</sup>CV=9,29% e <sup>2</sup>CV=21,52%.

Houve efeito quadrático dos níveis de MgCl<sub>2</sub> em 48 horas de incubação, com maior concentração de acetato em 130 mg/dL.

Quando se aumentava os níveis de CaCl<sub>2</sub> no meio observou-se menor produção de acetato. Provavelmente os microrganismos que utilizam a rota do acetato para reoxidação do NADH<sub>2</sub> são sensíveis aos níveis de CaCl<sub>2</sub> no meio.

Houve efeito quadrático para o substrato amido e celulose em 48 horas de incubação sobre as concentrações de propionato nos níveis de NaCl (Tabela 7).

Tabela 7 – Valores de propionato (mM), a 48 horas de incubação, em diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl).

Substrato	<sup>1</sup> NaCl/ mg/dL						EP	Probabilidade	
	0	100	200	400	800	1600		L	Q
Amido	22,78ab	25,98a	26,70a	21,67a	18,13a	25,29a	3,10	0,6689	0,0079
Celulose	25,67a	22,43a	26,02ab	16,58a	12,30a	15,04b	-	<,0001	0,0003
Glicose	18,31b	20,68a	20,25b	16,83a	16,64a	14,91b	-	0,0265	0,7176

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade, <sup>1</sup>CV=15,28%.

Nos níveis de NaCl, o propionato comportou-se de forma quadrática para os meios com amido e celulose com menores concentrações estimadas em 660 mg/dL e 464 mg/dL, respectivamente. Não houve efeito de NaCl sobre a concentração de propionato quando se tinha no meio glicose. Porém, os meios que continham amido tiveram maiores concentrações de propionato ao nível de 1600 mg/dL de NaCl do que os meios com celulose e glicose (Tabela 7).

Não houve efeito dos substratos quando no meio tinha  $MgCl_2$  e  $CaCl_2$  sobre as concentrações de propionato (Tabela 8).

Tabela 8 - Valores médios de propionato (mM), a 48 horas de incubação, em diferentes concentrações de cloreto de magnésio ( $MgCl_2$ ) e cloreto de cálcio ( $CaCl_2$ ).

	Níveis de Minerais/ (mg/dL)						EP	Probabilidade	
	0	100	200	400	800	1600		L	Q
<sup>1</sup> $MgCl_2$	17,71	15,64	16,76	14,86	14,75	16,65	2,04	0,5953	0,0025
<sup>2</sup> $CaCl_2$	17,26	15,84	15,47	17,29	16,72	14,98	3,32	0,3326	0,4579

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade, <sup>1</sup>CV=12,75%; <sup>2</sup>CV=20,44%.

Houve efeito quadrático para o  $MgCl_2$  com a maior concentração de propionato no nível de 200mg/dl (16,76 mM). Não houve efeito do  $CaCl_2$  sobre a produção de propionato.

Algumas espécies bacterianas quando o meio não é propício para reoxidação do  $NADH_2$  via rota do acetato, utilizam as rotas do propionato para este fim (MOSS, et. al 2000). Como se pode observar na Tabela 8, a ausência de efeito do  $CaCl_2$  sobre a produção de propionato, demonstra que os microrganismos que utilizavam a rota do acetato não mudaram a rota de reoxidação do  $NADH_2$  para propionato. Isso demonstra que a inibição da produção de acetato está ligada a diminuição de respectivas espécies microbianas que utilizam a rota de acetato para reoxidação do  $NADH_2$ .

Ocorreu efeito quadrático dos níveis de NaCl sobre os meios com amido e efeito linear decrescente sobre a celulose após 48 horas de incubação sobre as concentrações de butirato (Tabela 9).

Tabela 9 - Valores médios de butirato (mM), a 48 horas de incubação, em diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl).

Substrato	<sup>1</sup> NaCl/mg/dL						EP	Probabilidade	
	0	100	200	400	800	1600		L	Q
Amido	11,60ab	13,74a	13,53a	11,22a	9,55a	13,41a	1,64	0,9536	0,0090
Celulose	13,57a	10,89a	13,83a	8,83a	6,38a	7,95b	-	<,0001	0,0004
Glicose	9,41b	11,31a	11,00a	8,84a	8,72a	8,00b	-	0,0263	0,6687

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade, CV=15,41%.

Os meios com amido obtiveram a maior concentração de butirato no nível de 120mg/dl com produção de aproximadamente 13,74mM. O NaCl não influenciou na produção de butirato para os meios com glicose.

As bactérias que utilizam a rota do butirato para reoxidação do NADH<sub>2</sub>, geralmente apresentam apenas esta rota para este determinado fim, não tendo enzimas capazes de fazer este mecanismo e produzindo outro produto final (MOSS, et. al 2000). Assim, provavelmente as bactérias celulolíticas produtoras de butirato são sensíveis ao NaCl no meio.

Não houve efeito dos níveis de MgCl<sub>2</sub> sobre os meios com celulose, em 48 horas de incubação sobre a concentração de butirato (Tabela 10).

Tabela 10 - Valores médios de butirato (mM), a 48 horas de incubação, em diferentes concentrações de cloreto de magnésio (MgCl<sub>2</sub>).

Substrato	MgCl <sub>2</sub> / mg/dL						EP	Probabilidade	
	0	100	200	400	800	1600		L	Q
Amido	9,37	8,07	7,62	6,86	8,01	8,78	1,17	0,6955	0,0470
Celulose	8,24	8,50	9,15	9,55	7,85	8,46	-	0,6475	0,8541
Glicose	10,43	7,92	8,95	7,51	7,67	8,94	-	0,5563	0,0093

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade, CV= 13,92%.

Contudo, ocorreu efeito quadrático do MgCl<sub>2</sub> sobre os meios com amido e glicose com menores concentrações de butirato nos níveis de 240 mg/dL e 180 mg/dL, respectivamente. O efeito quadrático pode estar associado à mudança de população microbiana após os níveis de 240 mg/dL e 180mg/dL de MgCl<sub>2</sub> no meio com amido e glicose, respectivamente.

Não houve efeito sobre a concentração de butirato em 48 horas de incubação em CaCl<sub>2</sub> (Tabela 11).

Tabela 11 - Valores de butirato (mM), a 48 horas de incubação, em diferentes concentrações de cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ).

	$\text{CaCl}_2$ /mg/dL						EP	Probabilidade	
	0	100	200	400	800	1600		L	Q
But, mM	8,82	8,21	9,01	9,21	9,05	8,12	1,70	0,4780	0,2187

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade, CV=19,55%.

Não se obteve efeito das concentrações de  $\text{CaCl}_2$  sobre a produção de butirato, com valor médio de produção para o butirato de 8,73mM (Tabela 11). As bactérias produtoras de butirato não foram sensíveis ao  $\text{CaCl}_2$  até a concentração de 1600 mg/dL no meio (Tabela 11).

Houve efeito linear decrescente dos níveis de  $\text{MgCl}_2$  e  $\text{CaCl}_2$  sobre o pH do meio com amido, em 48 horas de incubação (Tabela 12).

Tabela 12 - Valores de pH, a 48 horas de incubação, em diferentes concentrações de cloreto de sódio ( $\text{NaCl}$ ), cloreto de magnésio ( $\text{MgCl}_2$ ) e cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ).

Substrato	<sup>1</sup> $\text{NaCl}$ / (mg/dL)						EP	Probabilidade	
	0	100	200	400	800	1600		L	Q
Amido	6,90a	6,77b	6,74b	6,83b	6,88b	6,60b	0,19	0,1675	0,3410
Celulose	6,50b	7,37a	7,15a	7,23a	7,43a	7,41a	0,19	0,0004	0,0034
Glicose	7,15a	7,06ab	6,95ab	7,05ab	7,01b	6,70b	0,19	0,0100	0,5479
	<sup>2</sup> $\text{MgCl}_2$ / (mg/dL)						EP	L	Q
	0	100	200	400	800	1600			
Amido	6,86a	6,71b	6,62b	6,89a	6,52b	6,33b	0,12	<,0001	0,6813
Celulose	7,05a	7,05a	7,01a	7,00a	6,95a	6,87a	0,12	0,0468	0,8592
Glicose	6,56b	6,58b	6,64b	6,52b	6,54b	6,32b	0,12	0,0049	0,3521
	<sup>3</sup> $\text{CaCl}_2$ / (mg/dL)						EP	L	Q
	0	100	200	400	800	1600			
Amido	6,32b	6,39b	6,24b	6,22b	5,71b	5,44b	0,10	<,0001	0,1347
Celulose	6,94a	6,94a	6,93a	6,80a	6,61a	6,41a	0,10	<,0001	0,4083
Glicose	6,50b	6,48b	6,13b	6,09b	5,63b	5,23c	0,10	<,0001	0,0015

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade, <sup>1</sup>CV=2,81%; <sup>2</sup>CV= 1,88%; <sup>3</sup>CV= 1,65%.

Não houve efeito do  $\text{NaCl}$  sobre o pH no meio com amido. Entretanto, houve efeito linear decrescente tanto do  $\text{MgCl}_2$  quanto do  $\text{CaCl}_2$  quando no meio tinha celulose, e efeito linear crescente quando o sal foi o  $\text{NaCl}$  (Tabela 12).

Quando se tinha no meio 0 mg/dL de NaCl, o substrato celulose foi o de menor pH quando comparados com os substratos glicose e amido. Nos níveis de 100, 200 e 400 mg/dL de NaCl, o meio com amido proporcionou menor pH do que o meio com celulose. No meio com celulose nos níveis de 800 e 1600 mg/dL de NaCl, foram os de maior pH quando comparados com glicose e amido.

No animal *in vivo*, o potássio é o principal cátion intracelular, sódio é o principal cátion extracelular, e Cloro é o principal ânion extracelular. As concentrações relativas destes três elementos criam um gradiente eletroquímico através das membranas celulares que é essencial para o transporte de nutrientes e geração de energia, e eles indiretamente ajudam na manutenção do equilíbrio do pH. Desequilíbrios destes elementos resultam numa variedade de distúrbios que podem culminar com a morte celular (GRANTHAM E LINSHAW, 1984). Portanto, águas salinas por possuírem altos níveis desses sais podem acarretar em distúrbios metabólicos para os animais.

Nos meios em que se tinha amido como substrato observou-se menor efeito do sal NaCl sobre os microrganismos presentes, mesmo quando se tinha concentrações elevadas deste sal no meio, demonstrando que os microrganismos amilolíticos são menos sensíveis ao NaCl. Por outro lado no meio em que se tinha celulose, a partir de 400 mg/dL de sal no meio, este inibiu o crescimento dos microrganismos. Observa-se este comportamento através das menores concentrações de proteína microbiana e ácidos graxos voláteis, e maior produção de amônia quando se tinha 800 e 1600 mg/dL de NaCl no meio. Os microrganismos celulolíticos parecem ser sensíveis a concentrações superiores a 400 mg/dL de NaCl ou 17,48dS/m no meio.

Da mesma forma, observa-se que no meio em que se tinha glicose, houve queda no crescimento microbiano na concentração de 1600 mg/dL de NaCl. Os microrganismos utilizadores de glicose parecem ser sensíveis a concentrações superiores a 1600 mg/dL de NaCl ou 29,09dS/m no meio.

Assim, provavelmente quando os bovinos estiverem consumindo água com níveis altos de NaCl (acima de 400 mg de NaCl/ml de água), ou com condutividade acima de 17,48 dS/m tendo o NaCl como principal sal, a fermentação microbiana no rúmen poderá ser afetada, principalmente quando a dieta tiver maiores proporções de carboidratos fibrosos. Cardon (1953) avaliou como ingestão elevada de sal afeta a digestão da celulose e verificou que a atividade microbiana no rúmen é afetada negativamente pela elevada ingestão de sal. A Celulose digestível, energia bruta

digestível e pH no rúmen após fermentação são igualmente afetados pela alta ingestão de sal.

Nos meios em que se tinha amido e glicose como substrato observou-se menor efeito do sal  $MgCl_2$  sobre os microrganismos presentes, mesmo quando se tinha concentrações elevadas deste sal no meio, demonstrando que os microrganismos amilolíticos e glicolíticos são menos sensíveis ao  $MgCl_2$ . Por outro lado no meio em que se tinha celulose, a partir de 400 mg/dL de sal no meio, este inibiu o crescimento dos microrganismos. Observa-se este comportamento através das menores concentrações de proteína microbiana e ácidos graxos voláteis, e maior produção de amônia quando se tinha 400 mg/dL de  $MgCl_2$  no meio. Os microrganismos celulolíticos parecem ser sensíveis a concentrações superiores a 400 mg/dL de  $MgCl_2$  ou 13,91 dS/m no meio.

Nos meios em que se tinha amido como substrato observou-se menor efeito do sal  $CaCl_2$  sobre os microrganismos presentes, mesmo quando se tinha concentrações elevadas deste sal no meio, demonstrando que os microrganismos amilolíticos são menos sensíveis ao  $CaCl_2$ . Por outro lado no meio em que se tinha celulose e glicose, a partir de 1600 mg/dL de sal no meio, este inibiu o crescimento dos microrganismos. Observa-se este comportamento através das menores concentrações de proteína microbiana e ácidos graxos voláteis, e maior produção de amônia quando se tinha 1600 mg/dL de  $CaCl_2$  no meio. Os microrganismos celulolíticos e glicolíticos parecem ser sensíveis a concentrações superiores a 1600 mg/dL de  $CaCl_2$  ou 12,26 dS/m no meio.

#### 4. CONCLUSÃO

As concentrações de 800 mg/dL e 1600 mg/dL dos sais NaCl, MgCl<sub>2</sub> e CaCl<sub>2</sub>, não interferiram na eficiência microbiana das bactérias fermentadoras de amido e glicose.

Entretanto, as bactérias fermentadoras de celulose, na presença do sal NaCl e MgCl<sub>2</sub> acima de 400 mg/dL, prejudica a eficiência microbiana. Porém, o CaCl<sub>2</sub> ao nível de 1600 mg/dL não interferem.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGANGA, A.A. Water utilization by sheep and goats in northern Nigeria - World Animal Review - Revue Mondiale de Zootechnie - **Revista Mundial de Zootecnia**, v.73, p.9-14 1992.
- ARAÚJO, G.G.L.; VOLTOLINI, T.V.; CHIZZOTTI, M.L. et al. Water and small ruminant production. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.326-336, 2010 (suplemento especial).
- B. THURSTON, K. A. DAWSON, AND H. J. STROBEL. Cellobiose versus Glucose Utilization by the Ruminal Bacterium *Ruminococcus albus*. **Applied and environmental microbiology**, Aug. 1993, p. 2631-2637. Vol. 59, No. 8.
- BERGEN, W. G. 1972. Rumen osmolality as a factor in feed intake control of sheep. **J. Anita. Sci.** 34:1054.
- BRADFORD, M. M. A rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Day Binding. **Anal Biochem**, v. 72, p. 248-254, 1976.
- CARDON, B. P. 1953. Influence of a High Salt Intake on Cellulose Digestion. **J. Anim Sci.** 12, 536-540.
- CHEFTEL, J.C. High pressure, microbial inactivation and food preservation. **Food Science and Technology International**, v.1, p.75-90, 1995.
- CHANEY, A.L., MARBACH, E. P. Modified reagentes for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, v. 8, p. 33-38, 1962.
- EARNSHAW, R.G. Kinetics of high pressure inactivation of microorganisms. In: HIGH PRESSURE PROCESSING OF FOODS, 1995, Leicestershire. **Proceedings...** Leicestershire: Nothiinghan University Press, 1995. p.20.

GRANTHAM, J and LINSHAW, M. The Effect of Hyponatremia on the Regulation of Intracellular Volume and Solute Composition. *Circulation Research An Official Journal of the American Heart Association*. MAY 1984 VOL. 54 NO. 5

HARRISON; D.J, BEEVER; D.E, THOMSON; D.J, OSBOURN; D.F. 1975. Manipulation of rumen fermentation in sheep by increasing the rate of flow of water from the rumen. *J Agric Sci*, Cambridge 85:93–101.

LIMA; E.A. NASCIMENTO; D.A. GUILERA; S.C. BRANDÃO; L.C.R. Mapa de Variação da Concentração Total de Sais das Águas Subterrâneas da Região Nordeste do Brasil. **XV CONGRESSO BRASILEIRO DE ÁGUAS SUBTERRÂNEAS**. Disponível: [aguassubterraneas.abas.org/asubterraneas/article/download/23756/15823](http://aguassubterraneas.abas.org/asubterraneas/article/download/23756/15823). Acessado em 2015.

MOSS, A.R; JOUANY J.P; NEWBOLD, J. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. INRA, EDP Sciences. **Ann. Zootech.** 49 (2000) 231–253.

PATTERSON, M.F.; QUIN, M.; SIMPSON, R.; GLIMOUR, A. Sensitivity of vegetative pathogens to high hydrostatic pressure treatment in phosphate-buffered saline and foods. **Journal of Food Protection**, v.58, p.524-529, 1995.

OLIVEIRA, J. S.; ZANINE, A. M.; SANTOS, E. M. Diversidade microbiana no ecossistema ruminal. **REDVET Revista eletrônica de Veterinária**, v.8, n.6, p.1-12, 2007.

RIBEIRO; L. BENEDETTI; E. **A Importância da qualidade da Água na Nutrição de Ruminantes**. Disponível: <http://www.fazu.br/ojs/index.php/posfazu/article/viewFile/460/352>. Acesso em 2014.

SMELT, J.P.P.M. Recent advances in the microbiology of high pressure processing. **Trends in Food Science and Technology**, v.9, p.152-158, 1998.

### **CAPÍTULO III**

---

Efeito de diferentes concentrações de sais sobre os parâmetros ruminais de caprinos

## RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito de diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl), cloreto de magnésio (MgCl<sub>2</sub>) e cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>) sobre a condutividade elétrica, o crescimento e fermentação de bactérias celulolíticas, glicolíticas e amilolíticas advindas de caprinos. Foram utilizados líquidos ruminais de um caprino, fistulado no rúmen para obtenção do inóculo. Avaliaram-se seis níveis de NaCl, MgCl<sub>2</sub> e CaCl<sub>2</sub> (0 mg/dL, 100 mg/dL, 200 mg/dL, 400 mg/dL, 800 mg/dL e 1600 mg/dL) e três substratos (amido, celulose e glicose), em delineamento inteiramente casualizado, no esquema fatorial 6 x 3 para determinação dos parâmetros de crescimento microbiano. As concentrações de proteína microbiana cresceram linearmente com o aumento dos níveis do NaCl, MgCl<sub>2</sub> e CaCl<sub>2</sub>, quando o substrato foi o amido. Obteve-se, efeito quadrático do CaCl<sub>2</sub> sobre a concentração de proteína microbiana quando o substrato foi a celulose. Todavia, nos níveis de CaCl<sub>2</sub> sobre a concentração de N-NH<sub>3</sub> existiu efeito linear crescente para amido. Em relação ao MgCl<sub>2</sub>, possuiu efeito linear sobre a concentração de N-NH<sub>3</sub> quando o substrato foi a celulose. Observaram-se efeito quadrático dos níveis de NaCl no meio contendo amido sobre a concentração de acetato. Ocorreu efeito linear decrescente dos níveis de CaCl<sub>2</sub> no meio contendo celulose sobre a concentração de acetato. Obteve-se efeito linear decrescente dos níveis de NaCl e MgCl<sub>2</sub> no meio contendo amido sobre a concentração de propionato. Houve efeito linear decrescente nos níveis de NaCl, MgCl<sub>2</sub> e CaCl<sub>2</sub> no meio contendo amido sobre a concentração de butirato. Obteve efeito linear decrescente do MgCl<sub>2</sub> no meio contendo glicose sobre a concentração de butirato. Concluindo-se que o sal NaCl até 1600 mg/dL não afeta a eficiência microbiana das bactérias fermentadoras de amido, celulose e glicose. Do mesmo modo o MgCl<sub>2</sub> também não afeta a eficiência microbiana das bactérias fermentadoras de celulose e glicose ao nível de até 1600 mg/dL. Mas, a eficiência microbiana das bactérias fermentadoras de amido é inibida a níveis acima de 800 mg/dL. O CaCl<sub>2</sub> até 1600 mg/dL não afeta a eficiência microbiana das bactérias fermentadoras de amido, celulose e glicose.

**Palavras chave:** Amido, celulose, glicose, ruminantes, sais

### ABSTRACT

The objective was to evaluate the effect of sodium chloride (NaCl), magnesium chloride (MgCl<sub>2</sub>) and calcium chloride (CaCl<sub>2</sub>) different concentrations on the electrical conductivity, growth and fermentation of cellulolytic, glycolytic and amylolytic bacterias, resulting from goats. Were used goats rumen liquid, from rumen cannulated goat to obtain the inoculum. Was evaluated six levels of NaCl, MgCl<sub>2</sub> and CaCl<sub>2</sub> (0 mg/dL, 100 mg/dL, 200 mg/dL, 400 mg/dL, 800 mg /dL and 1600 mg /dL) and three substrates (starch, cellulose and glucose) in a completely randomized delineation in a factorial 6 x 3 to microbial growth parameters determination. The microbial protein concentrations increased linearly with NaCl, MgCl<sub>2</sub> and CaCl<sub>2</sub> increasing levels, in starch medium. Occurred a quadratic effect of CaCl<sub>2</sub> concentration on the microbial protein in cellulose medium. However, at CaCl<sub>2</sub> levels on N-NH<sub>3</sub> concentration existed a linear increasing effect for starch. Regarding MgCl<sub>2</sub>, happened a linear effect on the NH<sub>3</sub> concentration in cellulose medium. Was observed a quadratic effect levels of NaCl in starch containing medium on the acetate concentration. There was a decreasing linear effect of CaCl<sub>2</sub> levels in cellulose containing medium on the acetate concentration. Was obtained a decreasing NaCl and MgCl<sub>2</sub> linear effect levels in starch containing medium on propionate concentration. Was obtained a NaCl, MgCl<sub>2</sub> and CaCl<sub>2</sub> linear decrease levels in starch containing medium on the butyrate concentration. Was a MgCl<sub>2</sub> declining linear effect on glucose containing medium above butyrate concentration. Concluding that, the MgCl<sub>2</sub> salt at levels of 1600 mg /dL does not affect the efficiency of starch and glucose fermenting bacteria. At the same way MgCl<sub>2</sub> did not affected the cellulose and glucose fermenting microbial efficiency at the level up to 1600 mg /dL. However, the microbial efficiency of starch fermenting bacteria is inhibited at levels above 800 mg / dL. The CaCl<sub>2</sub> up to 1600 mg /dL does not affect the microbial efficiency of starch, cellulose and glucose fermenting bacteria.

**Keywords:** Cellulose, concentrations, glucose, starch,

## 1. INTRODUÇÃO

A água é um recurso muito importante para a sobrevivência do homem, dos animais e das plantas, só que este recurso a cada dia que se passa se torna mais escasso tanto em quantidade quanto em qualidade.

A qualidade da água é indicada por seus aspectos físicos, químicos e biológicos e sua impureza é diagnosticada quando esses aspectos alcançam valores acima do estabelecido para determinado uso. Os valores de impureza permitido em uma água para irrigação são diferentes dos permitidos para uma água destinada ao consumo animal.

Como em outras regiões semiáridas do mundo, o trópico semiárido brasileiro apresenta grande variação sazonal na distribuição de chuvas durante o ano, culminando com uma irregularidade na disponibilidade de água para o consumo animal (ARAÚJO et al., 2010).

A predominância de rochas cristalinas, no subsolo em grande parte do Semiárido nordestino, atribui características salobras ou salinas às águas subterrâneas, dificultando seu aproveitamento para consumo humano (GHEYI, et al., 2012). Contudo, mesmo com essas limitações, as águas salobras têm importância do ponto de vista social, podendo atender às necessidades das famílias que não dispõem de outras fontes de abastecimento principalmente para consumo dos animais.

A tolerância dos animais à salinidade varia com a espécie, a idade, a necessidade de água e com suas condições fisiológicas (NRC, 2007). As mudanças abruptas na qualidade da água, de pouco para muito salina, são mais prejudiciais aos animais que mudanças graduais, onde níveis muito elevados de salinidade podem inibir o consumo de água pelos animais e, conseqüentemente, o consumo de alimentos (BALSALOBRE et al. 2007), podendo ocasionar redução na produtividade animal, e fazendo com que o produtor venha a ter perdas econômicas, devido ao menor desempenho dos animais.

Desta forma, objetivou-se avaliar o efeito de diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl), cloreto de magnésio (MgCl<sub>2</sub>) e cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>) sobre a condutividade elétrica do meio, fermentação e crescimento de microrganismos celulolíticos, glicolíticos e amilolíticos advindos de caprinos *in vitro*.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados ensaios *in vitro* no Laboratório do Setor de Forragicultura do Departamento de Zootecnia pertencente à Universidade Federal da Paraíba (UFPB), no Centro de Ciências Agrárias, no município de Areia/PB, durante o período de outubro de 2013 a agosto de 2014. O trabalho foi executado obedecendo às normas técnicas de biossegurança e ética e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais, Centro de Biotecnologia (CBiotec) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) (parecer número: 0109/2014).

O animal utilizado foi um caprino fistulado no rúmen, que estava alojado na Unidade de pesquisa de pequenos ruminantes do Departamento de Zootecnia da UFPB. O líquido ruminal foi coletado duas horas após o arraçoamento do período da manhã com capim elefante (*Pennisetum purpureum*) triturado e concretado (proporção 70x30). Foi filtrado em tecido de algodão e encaminhado com controle de temperatura até o laboratório, para obtenção de inóculo contendo população microbiana ativa. No laboratório, o líquido ruminal foi colocado em repouso em banho-maria com temperatura média de 39°C. Após formação das interfaces, foi retirada a fração intermediária que serviu como inóculo.

Foi utilizado, como meio de cultura, o tampão de McDougall que contém 9,80g de NaHCO<sub>3</sub>; 4,65g de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>\*2H<sub>2</sub>O; 0,57g de KCl; 0,12g de MgSO<sub>4</sub>\*7H<sub>2</sub>O e 0,04g de CaCl<sub>2</sub>, diluídos com água destilada até o volume de 1000ml, ajustada para obter pH final de 6,8 a 6,9 à 39°C.

Foram realizados três experimentos, no primeiro foram testados seis níveis de cloreto de sódio (NaCl), no segundo experimento foram testados seis níveis de cloreto de magnésio (MgCl<sub>2</sub>), no terceiro experimento foram testados seis níveis de cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>) adicionado no meio: 0 mg/dL; 100 mg/dL; 200 mg/dL; 400 mg/dL; 800 mg/dL; e 1600 mg/dL de meio de cultura. Cada tratamento conteve três repetições. Os experimentos foram realizados em delineamento inteiramente casualizado, no esquema fatorial 6 x 3 (seis níveis de sal: NaCl ou MgCl<sub>2</sub> ou CaCl<sub>2</sub>, e três substratos: amido PA, celulose PA e glicose PA) com três repetições.

Foram utilizados em cada frasco de incubação 20 mL do meio de cultura (16 mL de tampão de McDougall + 4 mL de inóculo) + 150 mg de substrato e as concentrações dos sais. Foram utilizados amido, carboximetilcelulose e glicose como substratos para os microrganismos ruminais. Os tratamentos tiveram as seguintes constituições:

7. 4,0 mL de Inóculo + 0,15 g de amido ou carboximetilcelulose ou glicose + 16,0 mL de tampão de Mc Dougall + 0 mg/dL do sal;
8. 4,0 mL de Inóculo + 0,15 g de amido ou carboximetilcelulose ou glicose + 16,0 mL de tampão de Mc Dougall + 100 mg/dL do sal;
9. 4,0 mL de Inóculo + 0,15 g de amido ou carboximetilcelulose ou glicose + 16,0 mL de tampão de Mc Dougall + 200 mg/dL do sal
10. 4,0 mL de Inóculo + 0,15 g de amido ou carboximetilcelulose ou glicose + 16,0 mL de tampão de Mc Dougall + 400 mg/dL do sal;
11. 4,0 mL de Inóculo + 0,15 g de amido ou carboximetilcelulose ou glicose + 16,0 mL de tampão de Mc Dougall + 800 mg/dL do sal;
12. 4,0 mL de Inóculo + 0,15 g de amido ou carboximetilcelulose ou glicose + 16,0 mL de tampão de Mc Dougall +1600 mg/dL do sal.

Todos os frascos foram saturados com dióxido de carbono, fechados com auxílio de tampas especializadas e lacrados, evitando o contato com o meio externo. Em seguida, incubados a 39°C no banho-maria, em agitação durante 48 horas. Durante este período, foram avaliados os tempos de 48 horas de incubação, coletados por meio de seringas evitando a entrada de oxigênio.

O potencial hidrogeniônico (pH) foi mensurado por potenciômetro digital nos tempos de 0 e 48 horas. Foram retirados de cada unidade experimental ao longo dos tempos 2,0 mL de amostra do meio de cultura que foram colocadas em tubos eppendorf centrifugadas em microcentrífuga a 1200xg, por 10 minutos, sendo o sobrenadante congelado para análises de nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) e ácidos graxos voláteis (AGV). O *pellet* formado, o qual continha microrganismos predominantes no líquido ruminal, foi ressuspensão em solução salina 0,9% homogeneizados e recentrifugados a 1200xg, por 10 minutos, o sobrenadante foi descartado. O *pellet* formado na última centrifugação foi ressuspensão em solução salina 0,9% e congelado a -10°C para posterior análise de proteína microbiana.

Para análise de AGV, foram retirados 500µL do sobrenadante, adicionados 500µL de ácido meta-fosfórico a 25% e acondicionados em tubos eppendorf. A análise foi realizada em um Cromatógrafo Líquido de Alto Desempenho (HPLC), marca SHIMADZU, modelo SPD-10A VP acoplado ao Detector Ultra Violeta (UV) utilizando-se um comprimento de ondas de 210 nm.

As análises de nitrogênio amoniacal foram determinadas através do método colorimétrico de Chaney & Marbach (1962) e a quantificação de proteína microbiana pelo método de Bradford (1976).

A condutividade elétrica (dS/m) foi mensurada nos tempos de zero e 48 horas, através de um condutivímetro. No tempo zero (Tabela 1) foram avaliadas a condutividade nos seis níveis de sal, para os experimentos com cloreto de sódio (NaCl) cloreto de magnésio (MgCl<sub>2</sub>) e cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>).

Tabela 1 – Valores de condutividade (dS/m) dos meios de cultura, em zero horas de incubação em diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl).

	Níveis de NaCl/mg/dL					
	0	100	200	400	800	1600
Condutividade (dS/m)	10,92	11,67	13,04	14,60	22,69	34,81
	Níveis de MgCl <sub>2</sub> /mg/dL					
	0	100	200	400	800	1600
Condutividade (dS/m)	15,96	16,14	16,22	17,02	18,22	24,11
	Níveis de CaCl <sub>2</sub> /mg/Dl					
	0	100	200	400	800	1600
Condutividade (dS/m)	14,59	15,18	15,25	16,08	17,03	22,95

Os resultados foram submetidos à análise de variância e de regressão a 5% de probabilidade, pelo procedimento GLM (General Linear Models Procedures) com uso do programa SAS (2002). Quando houve interação entre substrato e níveis realizou-se o teste tukey a 5% de probabilidade.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve efeito linear crescente dos níveis de NaCl, MgCl<sub>2</sub> e CaCl<sub>2</sub> sobre a condutividade elétrica (CE) (Tabela 2). Em que quanto mais sais estavam presentes no meio, maior foi a condutividade, em 48 horas de incubação.

Comparando a condutividade do meio à zero hora e 48 horas de incubação em cada nível de NaCl, MgCl<sub>2</sub> e CaCl<sub>2</sub> (Tabela 2), observa-se similaridades na condutividade dos meios, demonstrando que a concentração de sais dissolvidos no meio não foi modificada. Provavelmente, os microrganismos presentes nos diferentes substratos não modificaram a condutividade do meio.

Tabela 2 - Valores de condutividade elétrica (dS/m) dos meios de cultura, em 48 horas de incubação em diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl), cloreto de magnésio (MgCl<sub>2</sub>), cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>) no líquido ruminal.

Substrato	<sup>1</sup> NaCl/(mg/dL)						EP	Probabilidade	
	0	100	200	400	800	1600		L	Q
Amido	11,06a	11,80a	13,14a	14,71a	22,47a	34,48b	0,29	<,0001	<,0001
Celulose	10,42b	11,34a	12,78a	14,39a	22,85a	35,68a	0,29	<,0001	<,0001
Glicose	11,28a	11,87a	13,19a	14,68a	22,75a	34,26b	0,29	<,0001	<,0001
Substrato	<sup>2</sup> MgCl <sub>2</sub> /(mg/dL)						EP	L	Q
	0	100	200	400	800	1600			
Amido	15,68b	15,33b	15,56b	16,04b	17,22b	20,52c	0,56	<.0001	0.0191
Celulose	19,58a	18,85a	19,02a	19,12a	21,55a	25,55a	0,56	<.0001	0.0006
Glicose	15,80b	16,11b	16,07b	16,54b	17,18b	22,67b	0,56	<.0001	<.0001
Substrato	<sup>3</sup> CaCl <sub>2</sub> /(mg/dL)						EP	L	Q
	0	100	200	400	800	1600			
Amido	16,08 b	15,71 b	16,20 b	16,62 b	17,56b	23,72c	0,47	<,0001	<,0001
Celulose	19,56 a	18,76 a	19,48a	21,41a	23,18a	28,03a	0,47	<,0001	0,3159
Glicose	16,38 b	16,50 b	16,96 b	17,0 b	18,06b	25,35b	0,47	<,0001	<,0001

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade, <sup>1</sup>CV= 1,63%; <sup>2</sup>CV= 3,07%; <sup>3</sup>CV= 2,44%.

Nos experimentos com NaCl, MgCl<sub>2</sub> e CaCl<sub>2</sub> (Tabela 2), no meio que continha celulose, as maiores condutividades elétricas (CE) foram ao nível de 1600 mg/dL em relação aos demais substratos, com a condutividade (CE) de 35,68dS/m. Os meios que continham como substrato o amido tiveram a menor condutividade elétrica (CE) com 1600 mg/dL de MgCl<sub>2</sub> e CaCl<sub>2</sub>.

Quanto maior a concentração de sais numa solução, maior é a sua capacidade de conduzir eletricidade, (SANTOS, 2012). Assim, ao adicionar maior quantidade de NaCl, MgCl<sub>2</sub> e CaCl<sub>2</sub> nos meios (Tabela 2), a condutividade aumentou proporcionalmente.

As regiões semiáridas apresentam grandes problemas em quantidade e qualidade de água disponível. Além da escassez de água, normalmente, nestas regiões, uma grande proporção da água apresenta alto índice de salinidade. Segundo Santos (2012), diversas regiões de perfil produtivo, como o semiárido do nordeste brasileiro, sofrem com a escassez de recursos hídricos superficiais em períodos prolongados de estiagem e salinização do solo. Assim, os animais que sobrevivem neste ambiente apresentam adaptações tanto para o consumo restrito de água, quanto à água com alto índice de sais.

Sabe-se que ruminantes conseguem sobreviver sem diminuir seu desempenho produtivo até três dias consecutivos sem consumir água (AGANGA et. al., 1992). Isso

só é possível se tanto o ruminante quanto os microrganismos do rúmen, estiverem adaptados a essas modificações de osmolaridade nos líquidos do organismo. Com isso, os microrganismos presentes no rúmen tendem a ser tolerantes a altas concentrações de NaCl, MgCl<sub>2</sub> e CaCl<sub>2</sub> no meio.

Houve efeito linear decrescente para o NaCl, MgCl<sub>2</sub> e CaCl<sub>2</sub>, quando o substrato foi o amido sobre a concentração de proteína microbiana em 48 horas de incubação (Tabela 3). O NaCl e MgCl<sub>2</sub> a partir do nível de 800 mg/dL ocasionou inibição do crescimento microbiano, e a partir de 400mg/dl para o CaCl<sub>2</sub>. A ingestão de águas com altos teores de salinidade possivelmente podem prejudicar o crescimento microbiano, principalmente quando as dietas fornecidas forem compostas por grandes quantidades de carboidratos solúveis, como observado na Tabela 3.

Tabela 3- Valores de proteína microbiana (mg/dL), a 48 horas de incubação, em diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl), cloreto de magnésio (MgCl<sub>2</sub>) e cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>) no líquido ruminal.

Substrato	<sup>1</sup> NaCl/(mg/dL)						EP	Probabilidade	
	0	100	200	400	800	1600		L	Q
Amido	1423,2	1372,1	1440,4	1423,2	1705,4	1493,8	228,84	0,339	0,2122
Celulose	1346,0	1804,3	1708,2	1549,3	1447,1	1310,4	228,84	0,064	0,5526
Glicose	1383,8	1717,1	1687,1	1911,0	1666,6	1478,8	228,84	0,527	0,0347
	<sup>2</sup> MgCl <sub>2</sub> /(mg/dL)						EP	L	Q
	0	100	200	400	800	1600			
Amido	933,2a	1042,0a	1093,6a	1075,4a	1096,3a	1130,5a	122,3	0,0366	0,3791
Celulose	1031,4a	1048,8a	1030,9a	1008,8a	1122,5a	1144,8a	122,3	0,1242	0,3821
Glicose	1267,4a	1162,5a	1133,6a	1190,9a	1203,9a	1214,5a	122,3	0,9302	0,9460
	<sup>3</sup> CaCl <sub>2</sub> /(mg/dL)						EP	L	Q
	0	100	200	400	800	1600			
Amido	1416,2b	1418,4a	2098,4a	1756,2ab	1825,1a	951,8b	263,3	0,008	0,004
Celulose	1789,6ab	1658,4a	1876,2a	1327,3b	1916,2a	1169,6b	263,3	0,175	0,039
Glicose	2020,7a	1802,9a	1896,2a	1854,0a	1111,8b	2118,4a	263,3	0,005	0,009

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade, <sup>1</sup>CV= 14,78%; <sup>2</sup>CV=12,11%; <sup>3</sup>CV= 15,48%

Não ocorreu efeito do NaCl e do MgCl<sub>2</sub> quando no meio se tinha celulose como substrato. Entretanto, houve efeito quadrático do CaCl<sub>2</sub> sobre a concentração de proteína microbiana quando o substrato foi a celulose em 48 horas de incubação (Tabela 3). CaCl<sub>2</sub>. Portanto, ingestão de águas com teores elevados de sal podem não afetar o crescimento microbiano, quando a dieta fornecida for rica em carboidratos fibrosos, como observado na Tabela 3.

Não houve efeito do NaCl e do MgCl<sub>2</sub> quando no meio se tinha como substrato a glicose. Porém, houve efeito quadrático do CaCl<sub>2</sub> sobre a concentração de proteína microbiana. No nível com 500 mg/dL de CaCl<sub>2</sub> foram as concentrações mínimas estimadas em 48 horas de incubação (Tabela 3).

O decréscimo da concentração de proteína microbiana quando aumentava a concentração de CaCl<sub>2</sub> até 550 mg/dL, demonstra que as espécies bacterianas presentes predominantemente no meio tiveram o crescimento inibido do meio proporcionalmente ao aumento do sal. Quando a concentração do CaCl<sub>2</sub> foi maior que 550 mg/dL, possivelmente obteve-se uma maior concentração de proteína microbiana no meio, devido ao crescimento de outros microrganismos que não eram predominantes no meio até 550 mg/dL, mas que com a inibição de outras espécies bacterianas tiveram condições para seu crescimento. As condições ruminais propiciam um ambiente dinâmico e competitivo, assim, a inibição de algumas espécies microbianas podem favorecer o crescimento de outras que competem pelo mesmo substrato (KAMRA, 2005).

Diversos fatores podem limitar as taxas de crescimento dos microrganismos ruminais. A síntese de proteína parece ser o fator mais importante. Diferentes substratos podem requerer diferentes rotas metabólicas (enzimas, proteínas transportadoras e outras) e considerável quantidade de aminoácidos pode ser desviada das atividades de crescimento para este metabolismo específico (ARGOLÔ 2007). Este fato foi demonstrado por Russell et al. (1979), ao observarem que o crescimento de *Butyrivibrio fibrisolvens* (Gram negativa) foi maior em maltose, celobiose e sacarose, quando comparado com glicose ou pentose. Acredita-se que certos substratos podem causar a ativação e síntese de certas enzimas que podem reduzir a produção de 5'-adenosina trifosfato (ATP) por unidade de tempo.

Não ocorreu efeito dos níveis de NaCl e MgCl<sub>2</sub> sobre as concentrações de amônia (N-NH<sub>3</sub>) em 48 horas de incubação, quando no meio se tinha como substrato o amido (Tabela 4). Isso demonstra que, nos meios propícios para o crescimento de bactérias amilolíticas, as concentrações de até 1600 mg/dL de NaCl no meio não interferem no metabolismo bacteriano do nitrogênio (Tabela 4). Contudo, nos níveis de CaCl<sub>2</sub> sobre a concentração de N-NH<sub>3</sub> em 48 horas de incubação houve efeito linear crescente para amido. O excesso de N-NH<sub>3</sub> pode danificar o metabolismo intermediário e influir nas concentrações de proteína microbiana (Tabela 3).

Não houve efeito do NaCl e do CaCl<sub>2</sub> sobre a concentração de N-NH<sub>3</sub>, quando no meio continha o substrato celulose. Em relação ao MgCl<sub>2</sub>, houve efeito linear decrescente dos níveis sobre a concentração de N-NH<sub>3</sub> em 48 horas de incubação (Tabela 4). Os meios com celulose ao nível de 1600 mg/dL de MgCl<sub>2</sub> foram os que proporcionaram menor produção de amônia. Provavelmente, águas com altos teores NaCl e CaCl<sub>2</sub> não interferem na produção N-NH<sub>3</sub>, recebendo dietas compostas por carboidratos fibrosos, entretanto, água com altos teores de MgCl<sub>2</sub> podem chegar a interferir (Tabela 4).

Não se observou efeito do NaCl e do MgCl<sub>2</sub> sobre a concentração de N-NH<sub>3</sub> no meio com glicose. Entretanto, nos níveis de CaCl<sub>2</sub> houve efeito em 48 horas de incubação (Tabela 4).

A ingestão de níveis elevados de águas salinas CaCl<sub>2</sub>, juntamente com dietas compostas por carboidratos solúveis podem afetar a produção de N-NH<sub>3</sub>. as dietas contendo carboidratos fibrosos podem ter as concentrações de amônia interferidas quando os animais consumirem água com teores elevados de MgCl<sub>2</sub>.

Tabela 4 - Valores de nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) em mM às 48 horas de incubação, em diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl), cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>) e cloreto de magnésio(MgCl<sub>2</sub>) no líquido ruminal.

Substrato	<sup>1</sup> NaCl/(mg/dL)						EP	Probabilidade	
	0	100	200	400	800	1600		L	Q
Amido	10,87	11,84	10,68	11,65	11,73	12,42	3,45	0,5797	0,9906
Celulose	9,54	10,85	9,05	8,97	11,12	15,71	3,45	0,0155	0,3206
Glicose	13,22	10,08	9,40	6,97	10,02	12,33	3,45	0,6092	0,0792
	<sup>2</sup> MgCl <sub>2</sub> /(mg/dL)						EP	L	Q
	0	100	200	400	800	1600			
Amido	3,14b	2,80b	1,48b	2,88a	1,61a	0,78a	2,94	0,3212	0,9495
Celulose	15,70a	19,80a	10,13a	5,82a	2,73a	4,35a	2,94	<.0001	<.0001
Glicose	6,17b	1,98b	1,88b	1,96a	1,34a	1,16a	2,94	0,1696	0,2449
	<sup>3</sup> CaCl <sub>2</sub> /(mg/dL)						EP	L	Q
	0	100	200	400	800	1600			
Amido	2,61 b	4,63b	4,04c	4,06a	10,80b	7,29 a	2,16	0,0089	0,0277
Celulose	1,97b	4,15b	29,57a	7,81a	6,51b	10,74a	2,16	0,8321	0,2326
Glicose	19,09a	14,26a	12,08b	6,24a	12,64a	9,86a	2,16	0,0073	0,0073

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade, <sup>1</sup>CV= 31,62%; <sup>2</sup>CV=61,71%; <sup>3</sup>CV= 29,51%

O acúmulo crescente de N-NH<sub>3</sub> no meio com amido, quando mais CaCl<sub>2</sub> estava presente, é consequência da menor síntese de proteína microbiana (Tabela 3), devido a

inibição dos microrganismos no meio. Da mesma forma, a menor concentração crescente de  $N-NH_3$  no meio com glicose, se deve a utilização da mesma por diferentes espécies bacterianas para seu crescimento.

Ocorreu efeito quadrático dos níveis de NaCl no meio contendo amido sobre a concentração de acetato em 48 horas de incubação (Tabela 5). Com maior concentração estimada no nível de 210 mg/dL. Já nos níveis de  $MgCl_2$  e  $CaCl_2$ , houve efeito linear decrescente sobre a concentração de acetato (Tabela 5). Quando o substrato no meio foi a celulose não houve efeito do NaCl sobre a concentração de acetato. Entretanto, houve efeito quadrático para  $MgCl_2$ , com concentração mínima de acetato no nível 645 mg/dL (Tabela 5).

Tabela 5 – Valores de acetato (mM), a 48 horas de incubação, em diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl), cloreto de magnésio( $MgCl_2$ ) e cloreto de cálcio ( $CaCl_2$ ) no líquido ruminal.

Substrato	<sup>1</sup> NaCl(mg/dL)						EP	Probabilidade	
	0	100	200	400	800	1600		L	Q
Amido	33,43a	41,88a	41,27a	40,84a	41,96a	25,76a	4,98	0,0022	0,0011
Celulose	16,21b	12,84b	10,95b	10,81c	10,78c	14,38b	4,98	0,9635	0,1386
Glicose	28,89a	20,73b	19,79b	30,75b	28,62b	26,59a	4,98	0,3723	0,3341
Substrato	<sup>2</sup> MgCl <sub>2</sub> (mg/dL)						EP	L	Q
	0	100	200	400	800	1600			
Amido	33,41a	33,58a	31,20a	34,34a	34,04a	23,60a	3,54	0,0009	0,0260
Celulose	21,94b	20,37b	17,13b	17,30c	15,49c	20,33a	3,54	0,7567	0,0159
Glicose	24,75b	26,34b	27,91a	26,68b	23,96b	23,25a	3,54	0,1832	0,7671
Substrato	<sup>3</sup> CaCl <sub>2</sub> (mg/dL)						EP	L	Q
	0	100	200	400	800	1600			
Amido	25,35b	24,37b	24,80b	26,43a	23,56a	17,97b	4,04	0,0148	0,2977
Celulose	17,39b	18,27b	16,90b	16,39b	18,10a	26,45a	4,04	0,0032	0,1061
Glicose	33,61a	36,55a	32,96a	27,72a	23,41a	25,77ab	4,04	0,0007	0,0107

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade, <sup>1</sup>CV= 19,64% ; <sup>2</sup>CV= 14,00%; <sup>3</sup>CV= 16,7%.

Obteve efeito linear decrescente dos níveis de  $CaCl_2$  no meio contendo celulose sobre a concentração de acetato em 48 horas de incubação (Tabela 5). Nos experimentos com NaCl e  $MgCl_2$ , o substrato amido proporcionou maior concentração de acetato em relação a celulose e glicose, em relação ao  $CaCl_2$  foi o substrato com menores concentração de acetato 17,97mM.

Observou efeito linear decrescente dos níveis de NaCl e  $MgCl_2$  no meio contendo amido sobre a concentração de propionato em 48 horas de incubação (Tabela

6). A concentração de propionato no NaCl e MgCl<sub>2</sub> diminuiu no nível de 1600mg/dL com produção de 16,94mM e 16,10mM respectivamente, demonstrando que os microrganismos produtores de propionato se mostram sensíveis a esses sais.

Tabela 6 - Valores de propionato (mM), a 48 horas de incubação, em diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl), cloreto de magnésio (MgCl<sub>2</sub>) e cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>) no líquido ruminal.

Substrato	<sup>1</sup> NaCl/(mg/dL)						Probabilidade		
	0	100	200	400	800	1600	EP	L	Q
Amido	26,43a	26,80a	26,03a	26,23a	27,99a	16,94a	3,61	0,0012	0,0267
Celulose	9,52b	7,99b	6,51b	6,32b	7,45c	8,86b	3,61	0,8160	0,3230
Glicose	19,98a	13,25b	13,33b	24,33a	18,06b	16,64a	3,61	0,9317	0,1756
	<sup>2</sup> MgCl <sub>2</sub> /(mg/dL)						EP	L	Q
	0	100	200	400	800	1600			
Amido	22,94a	21,94a	17,51a	23,54a	20,90a	16,10a	2,35	0,0025	0,2028
Celulose	12,61b	10,60b	10,34b	11,42c	11,66b	12,69a	2,35	0,4126	0,5695
Glicose	18,54a	17,76a	17,13a	16,25b	14,72b	14,59a	2,35	0,0236	0,2356
	<sup>3</sup> CaCl <sub>2</sub> /(mg/dL)						EP	L	Q
	0	100	200	400	800	1600			
Amido	20,80a	17,9ab	18,3ab	21,39a	23,01a	11,79b	3,23	0,0067	0,0031
Celulose	12,72b	13,00b	11,95b	12,49b	12,50b	17,60ab	3,23	0,0394	0,2191
Glicose	23,14a	23,85a	19,36a	22,13a	17,87ab	20,51a	3,23	0,1944	0,1150

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade, <sup>1</sup>CV= 21,50%; <sup>2</sup>CV=14,53%; <sup>3</sup>CV= 18,18%

Obteve-se efeito quadrático dos níveis de CaCl<sub>2</sub> no meio contendo amido sobre a concentração de propionato em 48 horas de incubação (Tabela 6). No nível com 720 mg/dL de CaCl<sub>2</sub> obteve-se a maior concentração de propionato (23,01mM).

Não houve efeito do NaCl, MgCl<sub>2</sub> e do CaCl<sub>2</sub> quando no meio tinha como substrato a celulose e glicose sobre a produção de propionato em 48 horas de incubação. Os microrganismos que utilizam a beta-glicose como fonte de energia, geralmente utilizam a rota do acetato ao invés da rota do propionato para reoxidação do NAD, em condições adequadas de pH (MOSS, et. al 2000). Assim, esperava-se menor concentração de propionato no meio quando o substrato era celulose quando comparado aos meios contendo amido e glicose.

Ocorreu efeito linear decrescente nos níveis de NaCl, MgCl<sub>2</sub> e CaCl<sub>2</sub> no meio contendo amido sobre a concentração de butirato em 48 horas de incubação (Tabela 7). Por outro lado não houve efeito de NaCl, MgCl<sub>2</sub> e CaCl<sub>2</sub> no meio contendo celulose sobre a produção de butirato (Tabela 7), demonstrando que os microrganismos

fermentadores de celulose e produtores de butirato não são sensíveis aos diferentes sais até a concentração de 1600 mg/dL.

Tabela 7 - Valores médios de butirato (mM), a 48 horas de incubação, em diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl), cloreto de magnésio (MgCl<sub>2</sub>) e cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>) no líquido ruminal.

Substrato	<sup>1</sup> NaCl/(mg/dL)						EP	Probabilidade	
	0	100	200	400	800	1600		L	Q
Amido	14,09a	13,91a	14,08a	13,35a	14,64a	8,80ab	2,04	0,0016	0,0573
Celulose	4,81b	4,66b	6,55b	5,15b	4,27c	5,01b	2,04	0,7699	0,8478
Glicose	10,61a	7,37b	7,06b	12,87a	9,90b	9,76a	2,04	0,5007	0,2912
	<sup>2</sup> MgCl <sub>2</sub> /(mg/dL)						EP	L	Q
	0	100	200	400	800	1600			
Amido	12,90a	13,91a	10,08a	11,92a	10,87a	8,76a	1,38	0,0002	0,7392
Celulose	6,31b	5,95c	6,28b	5,96b	6,48b	7,13a	1,38	0,2978	0,7131
Glicose	10,23a	10,07b	8,30ab	8,00b	8,31ab	7,12a	1,38	0,0089	0,2978
	<sup>3</sup> CaCl <sub>2</sub> /(mg/dL)						EP	L	Q
	0	100	200	400	800	1600			
Amido	11,60a	10,23ab	8,72a	11,36a	11,42a	6,29b	1,67	0,0022	0,0292
Celulose	6,41b	7,75b	7,05a	7,40b	6,71b	9,4ab	1,67	0,0645	0,3438
Glicose	11,51a	12,79a	10,09a	11,6a	9,81ab	11,53a	1,67	0,6693	0,1697

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade, <sup>1</sup>CV= 22,07%; <sup>2</sup>CV=15,68%; <sup>3</sup>CV= 17,58%.

Observou efeito linear decrescente do MgCl<sub>2</sub> no meio contendo glicose sobre a concentração de butirato, e sem efeito do NaCl e CaCl<sub>2</sub>. Quando se aumentava os níveis de MgCl<sub>2</sub>, a concentração de butirato no meio diminuía. Os microrganismos ruminais que utilizam a rota do butirato como forma de reoxidação do NADH<sub>2</sub>, geralmente, não apresentam enzimas capazes de reoxidar o NAD por outra rota (MOSS, et. al 2000). Assim, o efeito linear decrescente do NaCl, MgCl<sub>2</sub> e CaCl<sub>2</sub> quando o substrato presente era o amido e quando o MgCl<sub>2</sub> no meio com glicose deve-se a inibição dos microrganismos amilolíticos e glicolíticos produtores de butirato.

No ruminante, o propionato é usado principalmente para a gliconeogênese, constituindo sua maior fonte de glicose. Enquanto o acetato e butirato são utilizados principalmente como fonte de energia imediata (RESENDE et al., 2011).

Houve efeito quadrático dos níveis de NaCl no meio contendo amido sobre o pH em 48 horas de incubação (Tabela 8). O maior valor de pH foi observado no nível de

120 mg/dL sendo 7,03. No meio contendo celulose houve efeito linear crescente das concentrações de NaCl sobre o pH.

Não ocorreu efeito dos níveis de MgCl<sub>2</sub> sobre o pH nos três substratos. Este sal não influenciou nos valores de pH após 48 horas de incubação. Houve efeito linear decrescente do CaCl<sub>2</sub> nos substratos amido, celulose e glicose sobre o pH, sendo os menores valores de pH entre 6,40; 6,97 e 6,00 (Tabela 8).

Os microrganismos ruminais que cresceram nos meios contendo glicose e principalmente amido foram sensíveis aos níveis crescentes de NaCl, MgCl<sub>2</sub> e CaCl<sub>2</sub>. Entretanto, os microrganismos no meio contendo celulose demonstraram serem menos sensíveis a essas concentrações de sais, não tendo muitas variações tanto na concentração de proteína microbiana quanto aos produtos finais da fermentação aqui estudados.

Tabela 8 - Valores médios de pH, a 48 horas de incubação, em diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl), cloreto de magnésio (MgCl<sub>2</sub>) e cloreto de cálcio (CaCl<sub>2</sub>) no líquido ruminal.

Substrato	<sup>1</sup> NaCl/(mg/dL)						EP	Probabilidade	
	0	100	200	400	800	1600		L	Q
Amido	6,83ab	7,03a	6,56a	6,50a	6,56b	6,70b	0,17	0,2022	0,0072
Celulose	6,90a	7,00a	6,83a	6,83a	7,30a	7,46a	0,17	<.0001	0,8613
Glicose	6,53b	6,73a	6,56a	6,56a	6,63b	6,56b	0,17	0,8113	0,7976
	<sup>2</sup> MgCl <sub>2</sub> /(mg/dL)						EP	L	Q
	0	100	200	400	800	1600			
Amido	6,66	7,46	6,93	6,63	6,83	6,86	0,34	0,5804	0,5052
Celulose	7,15	7,27	7,10	7,00	6,99	6,91	0,34	0,2454	0,6746
Glicose	7,14	6,94	6,78	6,56	6,96	6,66	0,34	0,2695	0,5978
	<sup>3</sup> CaCl <sub>2</sub> /(mg/dL)						EP	L	Q
	0	100	200	400	800	1600			
Amido	6,98b	7,00b	6,97ab	6,91b	6,72b	6,40 b	0,063	<.0001	0,3174
Celulose	7,15a	7,14a	7,02a	7,11a	7,14a	6,97a	0,063	0,0043	0,1564
Glicose	6,98b	6,95b	6,87b	6,74c	6,55c	6,00c	0,063	<.0001	0,5793

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de tukey a 5% de probabilidade, <sup>1</sup>CV= 2,63% ; <sup>2</sup>CV=4,98%; <sup>3</sup>CV= 0,92%

Assim, quando caprinos estiverem consumindo água com níveis altos de NaCl, MgCl<sub>2</sub> e CaCl<sub>2</sub> (1600mg/dl), ou com condutividade acima de 34,81; 22,95 e 24,11dS/m, a fermentação microbiana no rúmen poderá ser afetada, principalmente quando a dieta tiver maiores proporções de carboidratos não fibrosos, principalmente amido.

Segundo Albuquerque (2012), dentre os animais ruminantes, os caprinos e os ovinos, quando comparados com os bovinos, apresentam um melhor desempenho devido ao seu porte e melhor aproveitamento na utilização de água.

Quando os caprinos estiverem consumindo água com níveis altos de NaCl (acima de 1600 mg de NaCl/ ml de água), ou com condutividade acima de 34,81dS/m tendo o NaCl como principal sal, a fermentação microbiana no rúmen não será afetada, principalmente quando a dieta tiver maiores proporções de carboidratos fibrosos.

Nos meios em que se tinha amido, celulose e glicose como substrato observou-se menor efeito do sal NaCl sobre os microrganismos presentes, mesmo quando se tinha concentrações elevadas deste sal no meio, demonstrando que esses microrganismos são menos sensíveis ao NaCl.

Nos meios em que se tinha amido como substrato observou-se maiores efeito do sal  $MgCl_2$  sobre os microrganismos, a partir de 1600 mg/dL de sal no meio, ou com condutividade de 24,11dS/m, este inibiu o crescimento dos microrganismos, diminuindo o crescimento dos mesmos. Quando se tinha celulose como substrato houve menores efeito do  $MgCl_2$  sobre os microrganismos, mesmo quando se tinha níveis elevados desse sal, demonstrando que os microrganismos celulolíticos e glicolíticos são menos sensíveis a este sal.

Nos meios em que se tinha amido, celulose e glicose como substrato observou-se menor efeito do sal  $CaCl_2$  sobre os microrganismos presentes, mesmo quando se tinha concentrações elevadas deste sal no meio, demonstrando que os microrganismos amilolíticos, celulolíticos e glicolíticos são menos sensíveis ao  $CaCl_2$ .

#### **4. CONCLUSÃO**

A presença do sal NaCl e do CaCl<sub>2</sub> até 1600 mg/dL ou condutividade elétrica de 34,81dS/m e de 22,95dS/m não afetam a eficiência microbiana das bactérias fermentadoras de amido, celulose e glicose.

O MgCl<sub>2</sub> também não afeta a eficiência microbiana das bactérias fermentadoras de celulose e glicose ao nível de até 1600 mg/dL ou condutividade elétrica de 24,11dS/m. Entretanto, a eficiência microbiana das bactérias fermentadoras de amido é inibida a níveis acima de 800 mg/dL ou com condutividade 18,22dS/m.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os experimentos *in vitro* comprovaram que as bactérias fermentadoras de amido, celulose e glicose tiveram maior produtividade microbiana em caprinos quando comparados a bovinos, tolerando níveis de até 1600 mg/dL de sais sem ter a sua eficiência microbiana afetada.

Portanto, fazem-se necessários mais estudos sobre a influência da água salina na microbiota de bovinos e caprinos, *in vitro e in vivo*, para complementar os resultados desta pesquisa.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGANGA, A.A. Water utilization by sheep and goats in northern Nigeria - World Animal Review - Revue Mondiale de Zootechnie - **Revista Mundial de Zootecnia**, v.73, 1992.
- ALBUQUERQUE, I. R. R. **Níveis de salinidade da água de beber para ovinos mestiços Santa Inês**. (2012). Universidade Federal da Paraíba; Areia – PB; 2012.
- AL-KHALASI, SAID SHANNAN et al. Salt tolerant fodder for Omani sheep (Effects of salt-tolerant sorghum on performance, carcass, meat quality and health of Omani sheep). **Published in the Monograph on Management of Salt-Affected Soils and Water for Sustainable Agriculture (Mushtaque A, Al-Rawahi SA, Hussain N (eds))**. Sultan Qaboos University, Oman, p. 67-81, 2010.
- ARAÚJO, G.G.L.; VOLTOLINI, T.V.; CHIZZOTTI, M.L. et al. Water and small ruminant production. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.326-336, 2010 (suplemento especial).
- ARGÔLO, L.S. **Microbiota ruminal de cabras lactantes alimentadas com algaroba (*prosopis juliflora* (sw) d.c.): Análise funcional e molecular**. Dissertação. Universidade Estadual Do Sudoeste Da Bahia – Uesb; 2007.
- BALSALOBRE, M. A.; SANTOS, P. M.; LIMA, N. R. C. B. **Qualidade da água: Salinidade**. Disponível em: <http://www.beefpoint.com.br/radares-tecnicos/pastagens/qualidade-da-agua-3-salinidade-37986/>. Acessado em: 26/out/2013.
- BRADFORD, M. M. A rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Day Binding. **Anal Biochem**, v. 72, p. 248-254, 1976.
- CHANEY, A.L., MARBACH, E. P. Modified reagentes for determination of urea and ammonia. **Clinical Chemistry**, v. 8, p. 33-38, 1962.

GHEYI, H.R., PAZ, V.P.S., MEDEIROS, S.S., GALVÃO, C.O - **Recursos hídricos em regiões semiáridas**- Campina Grande, PB: Instituto Nacional do Semiárido, Cruz das Almas, BA: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2012. 258 p.:

HARRISON; D.J, BEEVER; D.E, THOMSON; D.J, OSBOURN; D.F. 1975. Manipulation of rumen fermentation in sheep by increasing the rate of flow of water from the rumen. **J Agric Sci**, Cambridge 85:93–101.

KAMRA, D.N. Rumen microbial ecosystem. **Current Science**. v.89, n.1, p.124-135. 2005.

MOSS, A.R; JOUANY J.P; NEWBOLD, J. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. INRA, EDP Sciences. **Ann. Zootech**. 49 (2000) 231–253

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of small ruminants**: sheep, goats, cervids, and new world camelids. Washington, D.C.; 2007. 384p.

RESENDE, K.T.; TEIXEIRA, I.A.M.A.; FERNANDES, M.H.M.R. Metabolismo de energia. In: **Nutrição de Ruminantes**, 2ª ed, Jaboticabal: Telma Teresinha Berchielli, Alexandere Vaz Pires e Simone Gisele de Oliveira, 2011, cap 11, p. 311-332.

RUSSELL, J. B., and R. L. BALDWIN. 1978. Substrate preferences in rumen bacteria: evidence of catabolite regulatory mechanisms. **Appl. Environ. Microbiol**. 36:319-329.

RUSSELL, J.B., DELFINO, F.D., and R. L. BALDWIN. 1979. Effects of Combinations of Substrates on Maximum Growth Rates of Several Rumen Bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, Mar. 1979, p. 544-549 Vol. 37, No. 3.

SANTOS, N. M. S. S. **Salinidade da água na adaptabilidade de ovinos e respectivos dejetos no crescimento de plântulas de milho.** 2012. 71f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Campus Ciências Agrárias – Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina-PE, 2012.